

РЕЗЮМЕТА НА НАУЧНИТЕ ПУБЛИКАЦИИ НА БЪЛГАРСКИ ЕЗИК

на гл. ас. д-р **Камелия Тодорова Христова-Панушева**,
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, научна специалност „Биофизика“
към секция „Електроиндуцирани и адхезивни свойства“,
Институт по биофизика и биомедицинско инженерство,
Българска академия на науките,
обявен в ДВ бр. 58/18.07.2025 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)

B4.1. Poornima Budime Santhosh , **Kamelia Hristova-Panusheva**, Todor Petrov, Lyubomir Stoychev, Natalia Krasteva and Julia Genova, Femtosecond Laser-Induced Photothermal Effects of Ultrasmall Plasmonic Gold Nanoparticles on the Viability of Human Hepatocellular Carcinoma HepG2 Cells, *Cells*, 2024, 13(24), 2139, ISSN 20734409, DOI 10.3390/cells13242139, IF₂₀₂₄ 5.1 Q1 (Scopus) 25т
<https://www.mdpi.com/2073-4409/13/24/2139>

Резюме: Лазерно индуцираната фототермална терапия използваща златни наночастици (AuNPs) се очертава като обещаващ подход към терапията на рака. Оптимизирането на различните параметри на лазерното лъчение обаче е от решаващо значение за повишаване на ефективността на фототермичното преобразуване на плазмонните наноматериали. В тази връзка настоящата работа изследва фототермичните ефекти на додеканетиол-стабилизираните хидрофобни ултрамалки сферични AuNP (размер определен чрез ТЕМ $2,2 \pm 1,1$ nm), върху клетъчната морфология и жизнеспособността на човешките хепатоцелуларни карциномни клетки (HepG2), третирани *in vitro*. Златните наночастици са индуцирани от 343 nm ултрабърз фемтосекунден импулсен лазер с нисък интензитет ($0,1 \text{ W/cm}^2$) в продължение на 5 и 10 min. Микроскопските изображения показват значителна промяна в цялостната морфология на клетките, третирани с AuNP и облъчени с лазерна светлина. Измерванията с инфрачервен термометър показват, че температурата на клетъчната среда, третирана с AuNP и изложена на лазер, се повишава постоянно от 22 °C до 46 °C и 48,5 °C съответно след 5 и 10 минути. Резултатите от теста за преживяемост (WST-1 тест) показват значително намаляване на клетъчната жизнеспособност, демонстрирайки синергичен терапевтичен ефект на фемтосекундния лазер и AuNP върху HepG2 клетките. Получените резултати дават възможност да се проектира по-евтин, ефективен и минимално инвазивен фототермален подход за лечение на рак с намалени странични ефекти.

B4.2. Charilaos Xenodochidis; **Kamelia Hristova-Panusheva**; Trayana Kamenska; Poornima Budime Santhosh; Todor Petrov; Lyubomir Stoychev; Julia Genova; Natalia Krasteva, Graphene Oxide Nanoparticles for Photothermal Treatment of Hepatocellular Carcinoma Using Low-Intensity Femtosecond Laser Irradiation, *Molecules*, 2024, 29(23), 5650, ISSN 14203049, DOI 10.3390/molecules29235650, IF₂₀₂₄ 4.2, Q1 (Scopus) 25т
<https://www.mdpi.com/1420-3049/29/23/5650>

Резюме: Фототермалната терапия, използваща фемтосекундни лазери и опосредствена от наночастици на графенов оксид, наскоро показва обещаващи резултати при лечението на хепатоцелуларен карцином. За да се оптимизират параметрите на облъчване за специфичните видове наночастици и различните видове ракови клетки с цел подобряване на фототермалната противоракова терапия, медирана от наноматериали, остава значително количество работа. Това проучване изследва фототермалния потенциал на pGO и pGO-PEG наночастици (NP), комбинирани с фемтосекундно лазерно облъчване при 515 nm и 1030 nm дължини на вълната, с различна мощност (0,1 и 0,2 W/cm²) и продължителност (5 и 10 минути), за да се оптимизира фототермалната терапия за хепатоцелуларен карцином. Ефективността на преобразуване на NP, морфологията и жизнеспособността на HepG2 и нормалните MDCK клетки след третиране са оценени с помощта на електронен термометър, фазово-контрастна микроскопия и WST-1 анализ. Резултатите разкриват, че pGO-PEG NP показват по-добра фототермична ефективност от pGO, като 515 nm облъчване предизвиква повишаване на температурата до 19,1 °C в сравнение с 4,7 °C при 1030 nm светлина. Лазерното излагане на 515 nm значително намалява жизнеспособността на HepG2 клетките, като най-интензивните условия (10 минути при 0,2 W/cm²) причиняват намаление до 58,2% при pGO и 43,51% при pGO-PEG. Нормалните MDCK клетки показват минимално въздействие или леко повишаване на жизнеспособността, особено при pGO-PEG. Комбинираното лечение с лазерно облъчване и NP индуцира значителни морфологични промени в HepG2 клетките, включително клетъчно отделяне и апоптотични характеристики, особено при 1030 nm облъчване. MDCK клетките показват минимални морфологични промени, като известно възстановяване се наблюдава при условия на по-ниска енергия. Тези открития предполагат, че нискоенергийните лазери и инженерните наноматериали могат да осигурят минимално инвазивен подход към фототермалната терапия на рака с намалени странични ефекти

B4.3. Hristova-Panusheva, K., Xenodochidis, C., Georgieva, M., Krasteva, N. Nanoparticle-Mediated Drug Delivery Systems for Precision Targeting in Oncology, *Pharmaceuticals*, 2024, 17(6), 677, ISSN 14248247, DOI 10.3390/ph17060677, IF₂₀₂₄ 4.3 Q2 20t
<https://www.mdpi.com/1424-8247/17/6/677>

Резюме: Нанотехнологиите се очертават като трансформираща сила в онкологията, улеснявайки напредъка в специфичната по място терапия на рака и персонализираната онко-медицина. Разработването на нанолечарства, специално насочени към раковите клетки, представлява основен пробив, позволяващ разработването на прецизни интервенции. Тези нано-лекарства, насочени към ракови клетки, работят в сложната туморната микросреда, като допълнително повишават тяхната терапевтична ефикасност. Този изчерпателен обзор представя съвременната перспектива за прецизната медицина на рака и подчертава критичната роля на нанотехнологиите в напредъка на специфичната по място терапия на рака и персонализираната онко-медицина. Той изследва категоризацията на типовете наночастици, като ги разграничава на органични и неорганични варианти и изследва тяхното значение при целенасочената доставка на противоракови лекарства. Предоставена е и актуална информация за стратегиите за разработване на активно насочени нано-лекарства за различни видове рак, като е обърнато и внимание на съществуващите предизвикателства свързани с преодоляването на бариерите пред достигането на лекарството до мястото на действието. Предлагат се обещаващи насоки за нови подходи в персонализираната нано-медицина на рака, като същевременно се подчертава необходимостта от непрекъсната оптимизация на нано-носителите участващи в прецизната медицина на рака. Дискусията подчертава необходимостта от

транслационни изследвания за подобряване на резултатите при пациенти с рак чрез усъвършенстване на нано-транспортните технологии в насочената към конкретни тъкани, базирана на нанотехнологии ракова терапия.

B4.4. Milena Keremidarska-Markova; Iliyana Sazdova; Bilyana Ilieva; Milena Mishonova; Milena Shkodrova; **Kamelia Hristova-Panusheva**; Natalia Krasteva; Mariela Chichova, Comprehensive Assessment of Graphene Oxide Nanoparticles: Effects on Liver Enzymes and Cardiovascular System in Animal Models and Skeletal Muscle Cells, *Nanomaterials*, 2024, 14(2), 188, ISSN 20794991, DOI 10.3390/nano14020188, IF₂₀₂₄ 4.4 Q1 25^т (Scopus) <https://www.mdpi.com/2079-4991/14/2/188>

Резюме: Нарастващият интерес към графеновия оксид (GO) с цел различни приложения в биомедицината изисква задълбочено проучване на неговата безопасност. Ето защо има спешна нужда от надеждни данни за това как наночастиците от GO влияят на здравите клетки и органи. В настоящата работа възприехме цялостен подход за оценка на влиянието на GO и неговата полиетилен гликол-модифицирана форма (GO-PEG) върху няколко биологични аспекта след облъчване със светлина в близката инфрачервена област (NIR). Оценихме контрактилитета на изолирани жабешки сърца, активността на два чернодробни ензима на плъхове – митохондриална АТФаза и диамин оксидаза (DAO) и производството на реактивни кислородни видове (ROS) в клетките на скелетните мускули C2C12 след директно излагане на GO наночастици. Целта беше да се проучи влиянието на GO наночастиците на множество нива – органно, клетъчно и субклетъчно, за да се осигури по-широко разбиране на техните ефекти. Нашите данни показват, че GO и GO-PEG влияят негативно на сърдечния контрактилитет при жабите, предизвиквайки по-силни аритмични контракции. Те увеличават производството на ROS в C2C12 миобластите, тези ефекти намаляват след NIR облъчване. И двата вида наночастици значително стимулират DAO активността в черния дроб на плъховете, като ефекта се усилва след NIR облъчване. GO не декуптира неувредени чернодробни митохондрии при плъховете, но причинява концентрационно зависим спад на активността на АТФазата в митохондрии, които са били замразени и размразени в последствие. Това многостранно изследване предоставя значителна възможност да вникнем в потенциала на GO и за различните последици в биологичните системи.

B 4.5. Gospodinova, Z., **Hristova-Panusheva, K.**, Kamenska, T. *et al.* Insights into cellular and molecular mechanisms of graphene oxide nanoparticles in photothermal therapy for hepatocellular carcinoma. *Sci Rep* 15, 15541 (2025). IF₂₀₂₄ 3.9, Q1 25^т <https://doi.org/10.1038/s41598-025-99317-w>

Абстракт: Производните на графеновия оксид са обещаващи за фототермална терапия на рака поради ефективното им преобразуване на светлината в близкия инфрачервен диапазон (NIR) в топлина. Ето защо в това проучване изследвахме потенциала на новосинтезирани наночастици ПЕГилиран (pGO-PEG) графенов оксид и естествен pGO за фототермална терапия на клетки от хепатоцелуларен карцином (HepG2). Оценихме различни аспекти на клетъчното поведение, включително миграция, растеж, морфология, целостта на клетъчните мембрани, митохондриалната динамика, организацията на актиновия цитоскелет и генерирането на ROS, заедно с експресията на гени, свързани с апоптоза (*CASP8*, *BAX*), автофагия (*BECN1*), спиране на клетъчния цикъл (*CDKN1A*) и метастази (*HMMR*). Нашите открития разкриват, че 5 минути облъчване с 808 nm NIR причинява леко повишаване на температурата, засилващо цитотоксичността на NP, като pGO показва по-висока токсичност чрез нарушаване на клетъчната морфология, намаляване на пролиферацията и повишаване на нивата на

ROS. За разлика от това, nGO-PEG по-ефективно потиска клетъчната подвижност и демонстрира подобрена биосъвместимост. Анализът на генната експресия разкрива повишена регулация на свързаните с апоптозата гени в клетките, третирани с nGO-PEG, което показва увреждане на митохондриите, докато nGO индуцира автофагия, както се вижда от повишената експресия на *BECN1*. Констатациите сочат различни терапевтични потенциали: nGO като мощен цитотоксичен агент, индуциращ автофагия, и nGO-PEG като по-биосъвместима наночастица, насърчаваща апоптозата. Този анализ с двоен път осигурява основа за персонализирани терапевтични стратегии за рак на черния дроб.

Група от показатели Г

Показател Г 7 Резюмета на научни публикации на български език, в издания реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus)

Г7.1. Valtcheva-Sarker, Ralitca, Stephanova, Elena, **Hristova, Kamelia**, Altankov, George, Momchilova, Albena, Pankov, Roumen, Halothane affects focal adhesion proteins in the A 549 cells, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2007, 295(1-2), pp. 59–64, ISSN 15734919, DOI10.1007/s11010-006-9272-x, **IF** ²⁰⁰⁷ **1.707**, **Q1 25т**
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11010-006-9272-x>

Резюме: Халотанът е летлив анестетик, за който е известно, че индуцира промени в плазмените мембрани на клетките, модулира физическото състояние на мембранните липиди и/или взаимодействия директно с мембранно-свързани протеини, като интегриновите рецептори. Интегрин-медираната клетъчна адхезия е свойство присъщо на всички еукариотни клетки и е тясно свързано с клетъчната жизнеспособност. Наши предишни изследвания показаха, че халотанът е токсичен за клетките от белодробната карциномна клетъчна линия А 549, когато се прилага в концентрации сравними с физиологичните и причинява инхибиране на адхезията към колаген IV. Настоящото проучване е фокусирано върху механизмите, лежащи в основата на токсичността на халотана. Резултатите, които получихме показват, че концентрации на халотан подобни на физиологичните нарушават фокалните адхезионни контакти в клетките от линията А 549, което е придружено от потискане активността на фокалната адхезионна киназа и фосфорилирането на паксилена, а не с протеолитични промени или инхибиране на експресията на винкулин и паксилин. Предполагаме, че поне един от токсичните ефекти на халотана се дължи на намалено фосфорилиране на протеините от фокалните контакти.

Г7.2. N A Krasteva, G Toromanov, **K T Hristova**, E I Radeva, E V Pecheva, R P Dimitrova, G P Altankov and L D Pramatarova, Initial biocompatibility of plasma polymerized hexamethyldisiloxane films with different wettability, *Journal of Physics: Conference Series*, 2010, 253(1), 012079, DOI 10.1088/1742-6596/253/1/012079, **SJR** ²⁰¹⁰ **0.288 10т**
<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/253/1/012079>

Резюме: Разбирането на взаимовръзките между повърхностните свойства на материала, поведението на адсорбираните протеини и клетъчните реакции е от съществено значение за проектирането на оптимални повърхности на материала за приложение в тъканното инженерство. В това проучване ние модифицираме тънки слоеве от плазмено полимеризиран хексаметилдисилоксан (PPHMDS) чрез обработка с амоняк, за да увеличим повърхностната омокряемост и съответния биологичен отговор. Физико-химичните свойства на полимерните филми се характеризират с измервания на контактния ъгъл (CA) и FTIR анализ. Като моделна система е използвана линията от човешки ендотелни клетки от вена на пъпна връв (HUVEC) с които са проведени първоначалните изследвания за биосъвместимост като е проследено тяхното поведение при преадсорбция на полимерни филми с три адхезивни протеина: фибронектин (FN), фибриноген (FG) и витронектин (VN). Адхезивното взаимодействие на HUVEC е оценено след 2 часа чрез анализ на

цялостната клетъчна морфология и организацията на фокалните адхезионни контакти и актиновия цитоскелет. Открихме еднакво добър клетъчен отговор на полимерни филми предварително покрити с FN и FG, с по-добре изразена експресия на винкулин върху FN проби. Обратно, върху повърхности предварително покрити с VN омокряемостта повлиява значително първоначалното взаимодействие на клетките и тяхното разстилане. Получените резултати предполагат, че обработката с амонева плазма може да промени биологичната активност на адсорбирания протеин върху PPHMDS повърхностите и по този начин да повлияе на взаимодействието с ендотелните клетки.

Г7.3. L D Pramatarova, N A Krasteva, E I Radeva, E V Pecheva, R P Dimitrova, T A Hikov, D P Mitev, **K T Hristova** and G Altankov, Study of detonation nanodiamond - Plasma polymerized hexamethyldisiloxane composites for medical application, *Journal of Physics: Conference Series*, 2010, 253(1), 012078, DOI 10.1088/1742-6596/253/1/012078, **SJR** ₂₀₁₀ **0.288 10^т**

<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/253/1/012078>

Резюме: Настоящото проучване разглежда как композитите изградени от детонационните нанодиаменти (DND) и плазмен поли(хексаметилдиксилоксан) (PPHMDS) влияят на поведението на остеобластните клетки. Установено е, че различни модифицирани DND наночастици (Ag-DND и Si-DND) могат лесно да бъдат интегрирани в почти всички полимерни матрици. По-специално, PPHMDS композитите са разработени през последните няколко години поради разнообразието на приложението им като медицински изделия и импланти. Чрез инкубация на MG-63 остеобласто-подобни клетки на повърхността на DND (Ag-DND и Si-DND) - PPHMDS композит, тествахме хипотезата, че DND-базираните полимерни композити могат да повлияят на адхезионното поведение на остеобласто-подобни клетки от линията MG-63. Морфологичната и структурна характеристика на праховете DND, Ag-DND и Si-DND е извършена от XRD, HRTEM и EDS. За изследване на композитните слоеве, нанесени върху покривно стъкло (CG), е извършена FTIR спектроскопия, с цел определяне дали DND нанопълнителят може потенциално да промени структурната и химическата динамика на полимерната матрица. Измерена е кинетиката на статичния воден контактен ъгъл на композитната повърхност като функция на използвания нанопълнител DND в полимерна матрица. Резултатите с MG-63 остеобласто-подобни клетки предполагат потенциала за използване на полимерните композити, базирани на DND, за приложение в разработването на имплантируеми устройства и структури.

Г7.4. N. Krasteva; **K. Hristova**; E. Radeva; E. Pecheva; R. Dimitrova; L. Pramatarova, Effect of ammonia plasma treatment on the biological performance of plasma polymerized hexamethyldisiloxane, *AIP Conf. Proc.* 1203, 688–693 (2010), DOI 10.1063/1.3322536, **SJR** ₂₀₁₀ **0.166 10^т**

<https://pubs.aip.org/aip/acp/article-abstract/1203/1/688/928598/Effect-of-Ammonia-Plasma-Treatment-on-the?redirectedFrom=fulltext>

Резюме: Плазмено полимеризираният хексаметилдиксилоксан (PPHMDS) е полимер, който често се разглежда като подходящ за биомедицинско приложение поради лесното си производство, ниската цена и биосъвместимост. Въпреки това, недостатък в използването на PPHMDS при инженерството на костно-заместващи материали е неговата висока хидрофобност, причиняваща изключително ниско клетъчно

взаимодействие. Повърхностната омокряемост може да бъде променена по много начини като обработката с плазма, повърхностно покритие, въвеждане на хидрофилни или хидрофобни групи чрез самоорганизиращи се монослое и др. Сред всички тези методи обработката с плазма е един от най-ефективните и икономични начини за модифициране на повърхностната омокряемост на материала. Тук изследвахме три различни слоя PPHMDS, приготвени чрез плазмена полимеризация (PP) на HMDS върху покривно стъкло (CG) при два различни технологични режима. За да се подобрят клетъчните взаимодействия, PPHMDS филмите, получени чрез втория режим на работа, са допълнително хидрофилизирани в NH₃ плазма. Като моделна система за характеризиране на взаимодействията на биоматериала с клетки е използвана клетъчната линия MG63 от човешки остеобласто-подобни клетки при които беше проследена общата клетъчна морфология, жизнеспособност, пролиферация и алкална фосфатазна активност след 1, 3, 7 и 10 дни култивиране. Резултатите подчертават потенциала на обработката с амониева плазма за хидрофилзация на полимери и за подобряването на взаимодействието между остеобласти и материал, с цел приложение в костно тъканното инженерство.

Г7.5. Keremidarska-Markova, M., **Hristova-Panusheva, K.**, Vladkova, T., Krasteva, N., Adipose-derived mesenchymal stem cell behaviour on PDMS substrates with different hardness, *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*, 2017, 70(5), pp. 663–670, ISSN 13101331, IF₂₀₁₇ **0.270 Q2 20r**

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85019770637&origin=recordpage>

Резюме: Оптимизирането на свойствата на материалите за приложение в тъканното инженерство изисква цялостно разбиране на поведението и реакциите на клетките, култивирани върху тези материали. Напоследък механичните свойства на субстрата, в допълнение към биохимичните сигнали, се доказват като чувствителен регулатор на поведението на стволовите клетки. Целта на тази работа е да се изследват ефектите от обемната твърдост на полидиметилсилоксановите (PDMS) материали върху поведението на човешките мезенхимни стволови клетки добити от мастна тъкан (hAD-MSCs) и да се намери корелация със свойствата на повърхността на материала. За целта са изготвени PDMS субстрати с различна твърдост по Шор (40, 55 и 70), които са характеризирани по отношение на повърхностните им свойства и ефективността на клетките да секретират фибронектинов матрикс, клетъчната пролиферация и остеогенната диференциация. Установено е, че повърхностните свойства на PDMS субстратите се променят нелинейно с увеличаване на обемната твърдост. Синтезът на FN и остеогенната диференциация са увеличени върху PDMS субстрати със средно твърдост (55), докато клетъчната пролиферация намалява с увеличаване на твърдостта на PDMS. Тези открития показват, че ефектът от твърдостта на субстрата върху поведението на стволовите клетки е сложен и е тясно свързан с повърхностните свойства на материала, които също трябва да бъдат взети предвид при разработването на биоматериали за костно-тъканното инженерство.

Г7.6. Keremidarska-Markova, M.; Radeva, E.; Mitev, D.; **Hristova-Panusheva, K.**; Paull, B.; Nesterenko, P.; Šepitka, J.; Junkar, I.; Iglič, A.; Krasteva, N., Increased elastic modulus of plasma polymer coatings reinforced with detonation nanodiamond particles improves osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells, *Turkish Journal of Biology*, 2018, 42(2), pp. 195–203, ISSN 13000152, DOI 10.3906/biy-1711-26, SJR₂₀₁₈ **0.268 Q3 15r**

<https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol42/iss2/10/>

Резюме: В настоящото проучване демонстрираме, че композитните PPHMDS/DND

покрития с еластични модул, близък до този на зряла костна тъкан (0,2-2,8 GPa), стимулират растежа и остеогенната диференциация на човешки мезенхимни стволови клетки добити от мастна тъкан (hADMSC). Композитните покрития са получени по метод на плазмена полимеризация (PP), при който детонационни нано диамантени (DND) частици в различни количества (0,1, 0,5 и 1 mg/ml) се добавят към хексаметилдисилоксан (HMDS) преди плазмено отлагане. Този метод позволява вариации само в намаления модул на еластичност (E_f) с увеличаване на концентрацията на частиците, докато другите повърхностни свойства, включително повърхностна омокряемост и топография, не се променят. Отговорът на hAD-MSC към нарастващата твърдост показва ефект върху адхезията и остеогенната диференциация, но не и върху клетъчната пролиферация. Матричната минерализация и клетъчното разпространение са максимални при PPHMDS/DND покрития с най-висок модул на еластичност (2,826 GPa), докато разликите в скоростта на пролиферация между пробите са незначителни. Като цяло PPHMDS/DND покритията осигуряват по-добри условия за растеж и остеогенна диференциация на hAD-MSC в сравнение с покривните стъкла, потвърждавайки тяхната пригодност за приложения за остеоинтеграция. Освен това нашите открития подкрепят хипотезата, че биоматериалите с еластичност, подобна на тази на нативната тъкан, могат да подобрят потенциала за диференциация на мезенхимните стволови клетки.

Г7.7. Milena Keremidarska-Markova; **Kamelia Hristova-Panusheva**; Tonya Andreeva; Giorgio Speranza; Dayong Wang; Natalia Krasteva, Cytotoxicity Evaluation of Ammonia-Modified Graphene Oxide Particles in Lung Cancer Cells and Embryonic Stem Cells, *Advances in Condensed Matter Physics*, 2018, 9571828, ISSN 16878108, DOI 10.1155/2018/9571828, *SJR* 2018 **0.289 Q3 15т**

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2018/9571828>

Резюме: Потенциалната токсичност на графеновия оксид (GO) е обект на нарастващ изследователски интерес през последните години. В настоящето изследване оценихме цитотоксичността на амонево-модифицирани GO (GO-NH₂) и натурални GO частици в човешки ракови клетки на белия дроб, A549 и ембрионални стволови клетки, Lep3, изложени на различни концентрации на частици (0,1, 1, 10, 20 и 50 µg/ml) за различно време (24 и 48 часа). В сравнение с GO, частиците GO-NH₂ притежават по-малък размер, положителен повърхностен заряд и по-голяма дебелина. Установена е и повишена склонност към агрегация в клетъчни култури за GO-NH₂ частици. Оценката на цитотоксичността показва, че частиците GO-NH₂ са по-токсични от натуралните GO. Приложени в концентрации от 10, 20 и 50 µg/ml в продължение на 24 часа, те влияят значително върху клетъчната морфология на жизнеспособните ембрионални стволови клетки, докато A549 клетките изглеждат са относително по-устойчиви на краткотрайна експозиция. След 48-часово въздействие обаче клетъчната пролиферация на A549 клетките е силно потисната пропорционално на концентрацията, докато пролиферационната способност на ембрионалните стволови клетки не е засегната. Тези резултати предполагат, че и двата вида частици GO упражняват различна степен на цитотоксичност, която зависи от времето, дозата и клетките. Като цяло модифицираните с амоняк частици GO са по-токсични от натуралните GO, което трябва да се вземе предвид за бъдещи биомедицински приложения.

Г7.8. Hristova-Panusheva, K., Keremidarska-Markova, M.; Andreeva, T., Speranza, G., Wang, D., Georgieva, M., Miloshev, G., Krasteva, N., Dose-dependent genotoxicity of ammonia-modified graphene oxide particles in lung cancer cells, *Journal of Physics: Conference Series*, 2019, 1186(1), 012009, ISSN 17426588, DOI 10.1088/1742-

6596/1186/1/012009, SJR₂₀₁₉ 0.227 10^т<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1186/1/012009>

Резюме: Графеновият оксид (GO), водоразтворимата форма на 2D графен, привлече много внимание поради атрактивните си свойства за широк спектър от приложения и продукти. Модификацията на повърхността с различни функционални групи може да подобри биосъвместимостта на GO за допълнителни биомедицински приложения. В настоящото проучване оценихме генотоксичността на естествени и модифицирани с амоняк наночастици графенов оксид (GO-NH₂) в клетки от човешката белодробна епителна клетъчна линия, A549, изложени в продължение на 24 часа на различни концентрации на наночастици (NP) (0,1, 1, 10, 20 и 50 µg/ml). Количественото определяне на отделените кислородни радикали (ROS) показва, че излагането на по-високи концентрации на двата вида NP води до засилено генериране на ROS. Наблюдаваната миграция в опашката на кометата при метода на едноклетъчна гел електрофореза в клетките, третирани с 20 и 50 µg/ml GO и GO-NH₂, показва наличие на увреждания в ДНК. Анализът на клетъчния цикъл показва, че след третиране на A549 клетки с нарастващи концентрации на NP в продължение на 24 часа, води до намаляване на процента на клетките във фаза G0/G1 от клетъчния цикъл и увеличаване на процента на клетките в G2/M. Представените резултати показват, че модифицираните с амоняк GO NP, приложени в концентрации по-високи от 20 µg/ml, предизвикват по-силен ефект на токсичност в клетките от линията A549 в сравнение с естествения GO и че използването на ниски концентрации на GO и GO-NH₂ NP е важно, за да се избегнат неблагоприятни биологични ефекти.

Г7.9. Natalia Krasteva, Milena Keremidarska-Markova, **Kamelia Hristova-Panusheva**, Tonya Andreeva, Giorgio Speranza, Dayong Wang, Milena Draganova-Filipova, George Miloshev, Milena Georgieva, Aminated Graphene Oxide as a Potential New Therapy for Colorectal Cancer, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Vol 2019, 2019, 3738980, ISSN 19420900, DOI 10.1155/2019/3738980, IF₂₀₂₄ 5.07 Q1 25^т

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2019/3738980>

Резюме: Базираните на нанотехнологии системи за доставяне на лекарства за лечение на рак са тема на интерес за много изследователи и учени. Графеновият оксид (GO) и неговите производни са сред най-широко проучените системи за доставяне от този тип. Увеличената повърхност, повишения капацитет за натоварване и способността за функционализация на повърхността, заедно със способността да индуцира реактивни кислородни видове, правят GO обещаващ инструмент за разработване на нови противоракови терапии. Освен това наночастиците GO не само функционират като ефективни носители на лекарства, но също така имат потенциала да упражняват свои собствени инхибиторни ефекти върху туморните клетки. Последните резултати показват, че функционализацията на GO с различни функционални групи, а именно с аминокислотни групи, води до повишена реактивност на наночастиците. Последното води до различни хипотези за механизмите, чрез които тази функционализация на GO може да доведе до по-добър противораков ефект. В това изследване оценихме потенциала на аминирани наночастици графенов оксид (GO-NH₂) като нови молекули за лечение на рак на дебелото черво. За тази цел анализирахме влиянието на аминирани слоеве графенов оксид (GO) върху жизнеспособността на раковите клетки на дебелото черво, техния потенциал да генерират реактивни кислородни видове (ROS) и потенциала им да влияят върху клетъчната пролиферация и преживяемост. За да изясним механизма им на действие върху клетъчните системи, ние изследвахме

техните генотоксични и цитостатични свойства и ги сравнихме с натуралния GO. Нашите резултати разкриха, че и двете GO проби (натурални и аминирани) са съставени от многослойни листове с различни размери на частиците, дзета потенциал и повърхностни характеристики. Освен това открихме повишена цито- и генотоксичност на аминираните наночастици след 24-часово излагане на въздействие на клетъчната линия Colon 26. Това ни позволява да заключим, че излагането на раковите клетки на въздействието на GO, а именно аминиран GO, има цитотоксичен ефект, който се проявява в следствие на индуцираното производство на ROS, последван от увреждане на ДНК и апоптоза.

Г7.10. Hikov, T., Krasteva, N., **Hristova-Panusheva, K.**, Ivanov, N., Petrov, P., Study on the biocompatibility of TiN/TiO₂ bilayer coatings deposited by DC magnetron sputtering on stainless steel, *AIP Conference Proceedings*, 2019, 2075, 160022, ISBN 978-073541803-5, DOI 10.1063/1.5091349, SJR₂₀₁₉ 0.19 без Q 10т

<https://pubs.aip.org/aip/acp/article-abstract/2075/1/160022/695677/Study-on-the-biocompatibility-of-TiN-TiO2-bilayer?redirectedFrom=fulltext>

Резюме: Многослойните покрития като TiN/TiO₂ се използват широко в съвременната медицина и стоматологията. Те подобряват механичните свойства на субстрата и неговата биосъвместимост. Субстратите могат да бъдат различни видове метали, сплави, които се използват за производство на импланти, ротационни зъбни инструменти, ендодонтски инструменти, стави и др. Очаква се материалите да бъдат добре приети и да не причинят вреда или нараняване на околните структури. В това проучване многослойните покрития TiN/TiO₂ бяха нанесени върху неръждаема стомана 304 чрез магнетронно разпрашаване с постоянен ток. Структурата на покритията е наблюдавана чрез XRD (рентгенова дифракция) с характерно излъчване на Cu K α (1,54 Å). Измерванията са проведени в симетричен режим на Браг-Брентано (В-В), от 20° до 80° в мащаб 2 θ . Стъпката е избрана 0,1° с време за броене 10 секунди на стъпка. Биосъвместимостта на покритията е изследвана чрез анализ на преживяемостта на остеобластни MG63 клетки, инкубирани в продължение на 72 часа върху пробите. Нашите резултати показаха, че получените TiN/TiO₂ многослойни покрития са стехиометрични и не потискат клетъчния растеж и разстилане, което означава, че покритията не са цитотоксични и са биосъвместими.

Г7.11. Świerczek-Lasek, B.; Keremidarska-Markova, M.; **Hristova-Panusheva, K.**; Vladkova, T.; Ciemerych, M.A.; Archacka, K.; Krasteva, N., Polydimethylsiloxane materials with supraphysiological elasticity enable differentiation of myogenic cells, *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 2019, 107(12), pp. 2619–2628, ISSN 15493296, DOI 10.1002/jbm.a.36768, IF₂₀₁₉ 3.525 Q1 25т

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85070742212&origin=recordpage>

Резюме: Миогенната диференциация по време на мускулната регенерация се ръководи от различни физични и биохимични фактори. Напоследък еластичността на субстрата предизвика интереса на учените като физически сигнал, който влияе както върху клетъчната диференциация, така и върху регенерацията на тъканите. В настоящата работа изследвахме влиянието на еластичността на субстрата върху пролиферацията и диференциацията на миогенни клетки; миши миоласти от клетъчната линия C2C12 и миши първични миоласти, получени от сателитни клетки – мускулни стволови клетки, играещи ключова роля в мускулната регенерация. Като клетъчен субстрат са използвани материали на базата на полидиметилсилоксан (PDMS) с различни модули на еластичност в рамките на МПа скалата и са характеризирани с набразденост на повърхността, омокряемост и микромеханични характеристики. Открихме, че повърхностните свойства на PDMS субстратите се

променят нелинейно с увеличаването на модула на еластичност на материала. Използвайки тази система, ние предоставяме доказателства, че материали с модул на еластичност, по-висок от този на физиологичната скелетна мускулна тъкан, не нарушават миогенната диференциация на двата вида миоласти, следователно може да се използва като биоматериали в инженерството на мускулна тъкан. PDMS материали с еластичност в диапазона от 2,5–4 МПа могат временно да ограничат пролиферацията на миоластите, но не и ефективността на тяхната диференциация. Не се наблюдава пряка връзка между еластичността на субстрата и ефективността на миогенната диференциация, но другите повърхностни свойства на PDMS материалите като наногравитост и омокряемост също са различни.

Г7.12. Hristova-Panusheva, K., Keremidarska-Markova, M., Krasteva, N., Differential Effect of Novel Plant Cystatins on the Adhesive Behaviour of Normal and Cancer Breast Cells, *International Journal Bioautomation*, 2024, 28(1), pp. 59–67, ISSN 13141902, DOI 10.7546/ijba.2024.28.1.000971, SJR 2023 0.139, Q4 12т

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85190236753&origin=recordpage>

Резюме: В настоящата работа изследвахме нов рекомбинантен цистатин dgECP1 и неговата мутантна форма, dgECP1m1, като се фокусирахме върху тяхното въздействие върху адхезивното поведение на две клетъчни линии от гърда: ракова MDA-MB-231 и нормална MCF-10A. DgECP1 цистатин е интересен поради наличието на RGD мотив, отговорен за клетъчната адхезия и типичен за протеините на извънклетъчния матрикс на бозайниците, но необичаен за растителните цистатини. Наличието на RGD последователност предполага потенциала на dgECP1 да повлияе на адхезията на раковите клетки и съответно на раковите метастази. Изследвана е и мутантна форма на dgECP1 цистатин, dgECP1m1, при която RGD се заменя с HGD трипептид. Установихме, че двата фитоцистатина имат различни ефекти върху адхезионното поведение на нормалните и раковите клетки. В случай на dgECP1 цистатини, ефектът върху адхезията на раковите клетки също зависи от начина на приложение на цистатина към клетките. Когато dgECP1 е предварително адсорбиран върху субстрат, той подобрява прикрепването на раковите клетки на гърдата и индуцира клетъчна агрегация, което е по-характерно за нормалните клетки на гърдата, и обратно потиска адхезията на раковите клетки, когато се добави към средата. Мутантната форма, dgECP1m1, инхибира адхезията на раковите клетки независимо от начина на приложение. От друга страна, и двата растителни цистатина само леко намаляват адхезията на нормалните клетки от млечна жлеза, което показва по-високата чувствителност на раковите клетки към двата цистатина. Тези предварителни резултати отварят възможността за разглеждане на растителния цистатин dgECP1 като средство в разработването на нови противоракови стратегии.

Г7.13. Krasteva, N.; Shkodrova, M.; Keremidarska-Markova, M.; Doncheva-Stoimenova, D.; Hristova-Panusheva, K.; Mishonova, M.; Chichova, M. Effect of Graphene Oxide and Ammonia-modified Graphene Oxide Particles on ATPase Activity of Rat Liver Mitochondria, *International Journal Bioautomation*, 2024, 28(1), pp. 45–58, ISSN 13141902, DOI 10.7546/ijba.2024.28.1.000957, SJR 2023 0.139, Q4 12т

https://biomed.bas.bg/bioautomation/2024/vol_28.1/files/28.1_03.pdf

Резюме: През последното десетилетие графенът и неговите производни се превърнаха в обещаващи материали за различни биомедицински приложения. Преди да навлязат широкото в приложение обаче е наложителна оценка на тяхната токсичност и механизмите, лежащи в основата на взаимодействията с клетъчните компоненти. Целта на настоящето проучване е да се оцени ефекта на два вида

графенови производни, естествен графенов оксид (GO) и амониево-модифицирани частици GO (GO-NH₂), върху АТФазната активност на чернодробните митохондрии на плъхове и производството на кислородни радикали (ROS). Методи: Чернодробните митохондрии са изолирани от мъжки плъхове албиноси и третирани с различни концентрации на GO и GO-NH₂ частици (4, 10, 25 и 50 µg/ml). АТФазната активност както на неповътнатите, така и на некупираните чрез замразяване/размразяване митохондрии е определена чрез измерване на неорганичен фосфат (Pi), освободен от АТФ. Генерирането на водороден пероксид (H₂O₂) след излагане на митохондриите на въздействието на частиците GO и GO-NH₂ е определено чрез DCFH-D анализ. Резултати: Частиците GO и GO-NH₂, приложени в концентрации от 4 и 50 µg/ml, не влияят на АТФазната активност на интактните митохондрии. За разлика от това, в некупираните митохондрии те демонстрират стимулиращ ефект върху активността на АТФазата. Въздействието на GO-NH₂ е по-съществено и зависи от концентрацията. Производството на ROS също е по-високо в митохондриите, третирани с GO-NH₂. Заключение: Настоящото проучване показва, че GO и GO-NH₂ частиците могат да упражняват цитотоксичен ефект върху митохондриите дори след кратко време на въздействие на двата вида частици.

Г7.14. Bela Vasileva; Natalia Krasteva; **Kamelia Hristova-Panusheva**; Penyo Ivanov; George Miloshev; Atanas Pavlov; Vasil Georgiev; Milena Georgieva, Exploring the Biosafety Potential of *Haberlea rhodopensis* Friv. In Vitro Culture Total Ethanol Extract: A Comprehensive Assessment of Genotoxicity, Mitotoxicity, and Cytotoxicity for Therapeutic Applications, *Cells*, 2024, 13(13), 1118, ISSN 20734409, DOI 10.3390/cells13131118, **IF 2024 5.1, Q1 25th**
<https://www.mdpi.com/2073-4409/13/13/1118>

Резюме: Застаряващото население в световен мащаб предизвиква увеличен интерес към медицината на дълголетието. Целта ѝ е да промени скоростта на стареене, като я забави или дори да обърне съпътстващите го ефекти. Тази област на науката бързо расте и се разпространява в различни клонове. Един от тях е използването на хранителни добавки като лекарства против стареене. Този отрасъл набира огромна популярност в днешно време, тъй като хората се насочват към по-естествен начин на живот и се стремят да използват натурални продукти като медицински средства. Настоящата статия се фокусира върху клетъчното въздействие на тотален етанолов екстракт от *in vitro* култура на *Haberlea rhodopensis* Friv., произведен чрез устойчив биотехнологичен подход. Екстрактът показва фитохимичен профил подобен на екстракта от растителни листа и е богат на първични биоактивни съставки - кофеейл фенилетаноидни гликозиди, миконозид и пауцифлорозид. Това проучване изследва потенциала за безопасност, цитотоксичността, генотоксичността и митохондриалната активност на екстракта, използвайки *in vitro* клетъчни култури. Резултатите показват високи нива на преживяемост на клетките и минимални цитотоксични ефекти върху *Lep3* клетките, без индукция на реактивни кислородни видове или генотоксичност. Освен това екстрактът влияе положително на митохондриалната активност, което показва потенциални ползи за клетъчното здраве. Резултатите са обещаващи и показват благоприятния ефект на екстракта без да се наблюдават неблагоприятни ефекти, което поставя основата за по-нататъшното му тестване и потенциални терапевтични приложения.

Показател Г 8: Публикувана глава от книга или колективна монография

Г8.1. Milena Keremidarska, **Kamelia Hristova**, Todor Hikov, Ekaterina Radeva, Dimitar Mitev, Ivailo Tsvetanov, Radina Presker, Damjana Drobne, Barbara Drašler, Sara Novak,

Veno Kononenko, Kristina Elerši , Lilyana Pramatarova, Natalia Krasteva, Development of Polymer/Nanodiamond Composite Coatings to Control Cell Adhesion, Growth, and Functions, *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*, 2015, 21, pp. 1–26, /doi.org/10.1016/bs.adplan.2015.01.001 **глава от книга 15т**
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1554451615000022?via%3Dihub>

Резюме: Идентифицирането на биоматериали, които поддържат подходящо клетъчно прикрепване, пролиферация и функции, е от решаващо значение за тъканното инженерство и клетъчната терапия. Има нарастващ интерес към функционални композити изградени от органичен/неорганичен компонент, при които малко количество от материала с размер от няколко нанометра подобрява физикохимичните характеристики, така че клетките да се прикрепят, растат и диференцират успешно. В тази работа подготвихме полимерни/нанодиамаментни композитни слоеве на базата на хексаметилдисилоксан и детонационно генерирани нанодиамаментни (DND) частици, в които частиците са или вградени в полимерна матрица, или се отлагат върху предварително образувания плазмено-полимеризиран (PP) слой. Изследвани са повърхностните свойства на композитите, като грапавост и омокряемост, както и адхезията, растежа и функционалността на остеосаркомни MG-63 клетки и първични мезенхимни стволни клетки изолирани от плъхове в резултат от взаимодействието с тези слоеве. Имахме за цел да проучим влиянието на методите за вграждане на DND в полимера върху повърхностните свойства на материала и клетъчния отговор, за да ги контролираме чрез манипулиране на композитните повърхности, съдържащи диаманти. Открихме разлики между двата композита по отношение на техните физикохимични свойства и поведението на клетките, което предполага, че методът на вграждане на частици в полимери трябва да се вземе предвид при разработването на нови биоматериали за конкретно приложение.