

Резюмета на публикациите на български език

на гл. асистент д-р Соня Николова Апостолова,

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“, за нуждите на лаборатория “Трансмембранна сигнализация” към Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, Българска академия на науките.

Група от показатели В

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

1. [B4.1] Modification of *Rapana thomasiana* hemocyanin with choline amino acid salts significantly enhances its antiproliferative activity against MCF-7 human breast cancer cells

Maya Guncheva, Krasimira Paunova, Paula Ossowicz, Zbigniew Rozwadowski, Ewa Janus, Krassimira Idakieva, Svetla Todinova, Yuliana Raynova, Veselina Uzunova, **Sonia Apostolova**, Rumiana Tzoneva and Denitsa Yancheva

Резюме

Това е първото проучване на взаимодействията на йонни течности с големи металопротеини, по-специално хемоцианини (Hcs). Първоначално бяха получени комплекси на Hc от *Rapana thomasiana* (RtH) с поредица от биосъвместими холин аминокиселинни соли [Chol][AA]. С помощта на UV-vis спектроскопия, Фурие-трансформирана инфрачервена спектроскопия и диференциална сканираща калориметрия беше оценен ефектът на тези органични соли върху структурата и термичната стабилност на RtH. След това беше оценен цитотоксичният ефект на RtH-[Chol][AA] върху клетки от рак на гърдата (MCF-7) и фибробластни клетки 3T3 (неракови). Установихме, че всички [Chol][AA] предизвикват ясни промени в конформацията на RtH, зависещи от времето и концентрацията. Конформацията и термичната стабилност на IL-модифицирания RtH зависят силно от типа на аниона на тестваните съединения. Всички [Chol][AA]-модифицирани RtH проявяват по-ниска термична стабилност от естествения RtH. В същото време установихме добра корелация между структурата на RtH и неговата антитуморна активност. По-конкретно, RtH-[Chol][AA] комплексите проявяват повишена антипролиферативна активност спрямо клетъчната линия MCF-7. Наблюдаваният

антипролиферативен ефект е специфичен за клетките и съединенията нямат ефект или в някои случаи дори имат стимулиращ ефект върху фибробластите.

2. [B4.2] *Rapana thomasiana* hemocyanin modified with ionic liquids with enhanced anti breast cancer activity

Maya Guncheva, Krasimira Paunova, Paula Ossowicz, Zbigniew Rozwadowski, Ewa Janus, Krassimira Idakieva, Svetla Todinova, Yuliana Raynova, Veselina Uzunova, **Sonia Apostolova**, Rumiana Tzoneva, Denitsa Yancheva

Резюме

Това е първото проучване за модифициране на повърхността на хемоцианин от морски охлюв *Rapana thomasiana* (RtH) с различни аминокиселинни йонни течности на базата на имидазол [emim][AA]. Проследихме предизвиканите от [emim][AA] конформационни промени в молекулата на RtH и оценихме ефекта на тези йонни течности (IL) върху термичната стабилност на протеина. Цитотоксичността на всички получени RtH-[emim][AA] комплекси беше оценена спрямо ракови клетки на гърдата (MCF-7) и миши фибробласти (3T3). Като цяло, дори малки количества от тестваните ILs промениха вторичната структура на RtH. Термичната денатурация на RtH в присъствието на [emim][AA] показва многокомпонентни преходи, които бяха изместени към по-ниски температури в сравнение с тези, проследени за естествения RtH. Профилите на калориметричните криви на RtH-IL показват ясна зависимост от структурата на добавените соли. В допълнение, всички RtH-[emim][AA] комплекси проявяват засилена антипролиферативна активност спрямо MCF-7 клетки в сравнение с тази на естествения RtH. Най-добри резултати се наблюдават за RtH-[emim][Leu], RtH-[emim][Trp] или RtH-[emim][Ile], които, приложени в концентрация от 700 µg/mL, инхибират жизнеспособността на MCF-7 клетките (за 24 часа) съответно с 66,63 и 53%. Освен това, тези IL-RtH комплекси са по-малко цитотоксични за 3T3 клетки, т.е. проявяват известна клетъчна специфичност.

3. [B4.3] Effects of riboflavin on hyperalgesia and serum glutamine-to-glutamate ratio in rats with painful diabetic neuropathy

Milen Hristov, Zafer Sabit, Tsvetomir Kirilov, Dimitar Bakalov, Rumiana Tzoneva, **Sonia Apostolova**, Irina Georgieva, Pavlina Andreeva-Gateva

Резюме

Предишни проучвания са изследвали антиноцицептивните ефекти на рибофлавин (витамин B2) в различни експериментални модели. Въпреки това, в литературата все още липсват данни по отношение на потенциала му за облекчаване на невропатна болка при диабет. Настоящото проучване има за цел да изследва ефектите на рибофлавин върху хипералгезията и съотношението на глутамин към глутамат в серума при плъхове с болезнена диабетна невропатия. При гладуващи плъхове е индуциран модел на болезнена диабетна невропатия чрез интраперитонеално инжектиране на стрептозотцин.

На петата седмица след инжектирането диабетните плъхове, страдащи от невропатна болка, са получавали дневни дози рибофлавин (25 или 50 mg), разтворен в питейната им вода, в продължение на две седмици. Резултатите показват, че рибофлавинът значително намалява механичната и предизвиканата от студ хипералгезия при диабетни плъхове в сравнение с контролната група. Хипералгезията, предизвикана от формалин, е облекчена от рибофлавин във втората фаза. Освен това, добавката с рибофлавин увеличава съотношението на глутамин към глутамат в серума при тези животни. Тези резултати подчертават терапевтичния потенциал на рибофлавина при лечението на невропатната болка, свързана с диабета.

4. [B4.4] The Influence of Anti-cancer Agent Erufosine on Graffi Myeloid Tumour Cells Behaviour. Cytotoxicity and Cytoskeleton Reorganisation Study

Veselina Uzunova, **Sonia Apostolova**, Ani Georgieva, Martin R.Berger, Reneta Toshkova, Rumiana Tzoneva

Резюме

В настоящото проучване имаме за цел да оценим ролята на цитотоксичността на еруфозин за предизвикване на промени в организацията на цитоскелета и индуциране на апоптоза в миелоидни туморни клетки на Graffi. Цитотоксичността на еруфозин беше установена чрез МТТ тест. Ефектът на еруфозин върху цитоскелета и клетъчните ядра беше оценен чрез имунооцветяване за тубулин и F-актин, както и чрез DAPI оцветяване. Показахме, че IC_{50} дозата на EPC3 за лечение на туморни клетки Graffi е 20 μ M. Флуоресцентните изображения показаха наличието на апоптоза при същата концентрация на EPC3. Индуцирането на апоптоза от EPC3 беше придружено от реорганизация на актина и тубулина. Получените резултати разкриват реорганизация на актиновия цитоскелет и индуциране на адхезивен клетъчен фенотип чрез прилагане на еруфозин.

5. [B4.5] HPC Hybrid Hydrogels with Embedded Silver Nanoparticles for Antibacterial Scaffolds. Biocompatibility Testing

Uzunova V., **Apostolova S.**, Angelova Ts., Toshkova R., Georgieva N., Tzoneva R.

Резюме

Биосъвместимостта на хибридни хидроксипропилцелулозни (HPC) хидрогелове с различно съдържание на вградени сребърни наночастици (AgNPs) беше установена чрез тестване на цитотоксичността и индуцирането на клетъчна смърт. Ефектът на цитотоксичността и клетъчната смърт е проучен върху L929 фибробласти чрез използване на МТТ цитотоксичен тест, морфологични наблюдения на клетките и оцветяване на живи клетки с акридин оранж/етидиев бромид (AO/EtBr). Резултатите показват добра биосъвместимост на хидрогелите, съдържащи AgNPs в диапазона 0,5-1,5 wt % Ag. Клетките, инкубирани с HPC хидрогелове с по-високо съдържание на AgNPs (2-2,5 wt % Ag), показват морфологични промени, характерни за клетъчна смърт и по-висока цитотоксичност, установена чрез МТТ тест. Всички тези данни показват, че съдържанието на AgNPs в HPC материалите проявява дозо-зависим праг, над който биосъвместимостта на хидрогелите

се нарушава. Хибридните материали с ниско съдържание на сребро – 0,5 wt % до 1,5 wt % Ag доказват своята биосъвместимост и биха били подходящи кандидати за биомедицински приложения.

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. [Г7.1] Tuning of the Anti-Breast Cancer Activity of Betulinic Acid via Its Conversion to Ionic Liquids

Paula Ossowicz-Rupniewska, Joanna Klebeko, Irina Georgieva, **Sonia Apostolova**, Łukasz Struk, Svetla Todinova, Rumiana Dimitrova Tzoneva, Maya Guncheva

Резюме

Бетулиновата киселина (BA) е естествен пентацикличен тритерпен с разнообразни биологични свойства. Нейната ниска водоразтворимост, обаче ограничава фармацевтичното ѝ приложение. Превръщането на фармацевтично активни молекули в йонни течности (IL) е обещаваща стратегия за подобряване на техните физикохимични свойства, стабилност и/или ефикасност. Тук представяме синтеза и характеристиките на 15 нови IL, съдържащи катион - етил естер на полярна, неполярна или заредена аминокиселина [AAOEt] и анион - BA. С изключение на [ValOEt][BA], наблюдавахме запазена или до 2 пъти повишена цитотоксичност спрямо хормоно-зависимите ракови клетки на гърдата MCF-7. Изчислените IC_{50} (72 h) стойности варираха между 4,8 и 25,7 μM . Установихме, че най-цитотоксичната IL, [LysOEt][BA]₂, намалява клоногенната ефективност до 20% в сравнение с тази на BA. Освен това, оценихме ефекта от 72-часово третиране с BA или [LysOEt][BA]₂, най-цитотоксичното съединение, върху термодинамичното поведение на MCF-7 клетките. Въз основа на нашите данни, предполагахме, че заредената аминокиселина лизин, включена в новите IL, провокира цитотоксичност чрез механизъм, включващ промяна в организацията на мембранните липиди, която може да бъде придружена от модулация на вискоеластичните свойства на цитоплазмата.

2. [F7.2] Antinociceptive Behavior, Glutamine/Glutamate, and Neopterin in Early-Stage Streptozotocin-Induced Diabetic Neuropathy in Liraglutide-Treated Mice under a Standard or Enriched Environment

Pavlina Gateva, Milen Hristov, Natasha Ivanova, Debora Vasileva, Alexandrina Ivanova, Zafer Sabit , Todor Bogdanov, **Sonia Apostolova**, Rumiana Tzoneva

Резюме

Диабетната невропатия (DN) е често срещано усложнение при продължителен диабет тип 1 и тип 2, за която няма лечение. Тук ние тествахме ефекта на инкретиновия миметик лираглутид при DN при мишки с диабет тип 1 в ранен стадий, отгледани в стандартна лабораторна или обогатена среда. Диабетът при мишките беше индуциран с еднократна интраперитонеална инжекция от 150 mg/kg стрептозотоцин. Добавянето на лираглутид (0,4 mg/kg веднъж дневно, интраперитонеално в продължение на десет дни, считано от осмия ден след инжектирането на стрептозотоцин) не успя да понижи гликемията при диабетните мишки, но облекчи тяхното антиноцицептивно поведение, както бе тествано с формалин. Във втората фаза на експеримента с формалин се наблюдават значително по-ниски резултати при мишките, третирани с лираглутид и отглеждани в обогатена среда, в сравнение с мишките, третирани с лираглутид при стандартни условия [2,00 (0,00-11,00) срещу 29,00 (2,25-41,50) s, $p = 0,016$]. Третирането с лираглутид, обаче понижи прага на реактивност в теста на вон Фрай. Значително по-високо ниво на неоптерин беше демонстрирано в контролната група с диабет в сравнение с контролите и мишките с диабет, третирани с лираглутид ($p < 0,001$). Съотношението глутамин/глутамат и в двете групи, третирани с лираглутид, отглеждани при стандартни условия ($p = 0,003$) или в обогатена среда ($p = 0,002$), беше значително по-високо в сравнение с диабетните контроли. Това проучване демонстрира ранния ефект на лираглутид върху усещането за болка при два модела на мишки с диабет, предизвикан от стрептозотоцин, чрез понижаване на някои параметри на възпалението и оксидативния стрес.

3. [F7.3] Pinealectomy-Induced Melatonin Deficiency Exerts Age-Specific Effects on Sphingolipid Turnover in Rats

Jane Tchekalarova, Irina Georgieva, Teodora Vukova, **Sonia Apostolova**, Rumiana Tzoneva

Резюме

Данните от литературата и нашите скорошни проучвания, показват, че дисфункцията на мелатонина може да ускори процеса на стареене, като този ефект зависи от конкретната възраст на индивида. Настоящото проучване има за цел да установи въздействието на пинеалектомията върху обмяната на сфинголипидите (SL) при млади възрастни (3-месечни), средно възрастни (14-месечни) и стари (18-месечни) плъхове. Нивата на церамид (Cer), неутрална (NSMase) и кисела сфингомиелиназа (ASMase), кисела церамидаза (ASAH1) и сфингозин-1-фосфат (S1P) в хипокампуса и/или плазмата бяха измерени чрез ензимно-свързан имуносорбентен тест. Натрупването на Cer и неговия метаболит вторичен месинджър S1P в хипокампуса и плазмата беше свързано с повишени

нива и активност на хипокампалната NSMase в хипокампуса и плазмата. Въпреки това, такава връзка не беше наблюдавана за хипокампалната ASMase, чиито нива и активност бяха понижени при плъхове на средна възраст и възрастни плъхове в сравнение с млади възрастни плъхове. Дефицитът на мелатонин, предизвикан от пинеалектомия при млади възрастни плъхове, показва повишаване на съдържанието на Ser в хипокампуса в сравнение с контролната група. Въпреки това, за разлика от младите възрастни плъхове, пинеалектомията има обратен ефект върху свързаните с възрастта промени в Ser, NSMase и ASMase в хипокампуса при плъхове на средна възраст. Освен това, пинеалектомията засилва свързаното с възрастта повишаване на S1P в хипокампуса на 18-месечни плъхове. Като цяло, резултатите от настоящото проучване показват, че дефицитът на мелатонин може да повлияе на процеса на стареене чрез модулиране на обменът на SL по възрастово-специфичен начин.

4. [Г7.4] Novel Fluorescent Benzimidazole-Hydrazone-Loaded Micellar Carriers for Controlled Release: Impact on Cell Toxicity, Nuclear and Microtubule Alterations in Breast Cancer Cells

Rayna Bryaskova, Nikolai Georgiev, Nikoleta Philipova, Ventsislav Bakov, Kameliya Anichina, Maria Argirova, **Sonia Apostolova**, Irina Georgieva, Rumiana Tzoneva

Резюме

Флуоресцентни мицеларни носители с контролирано освобождаване на ново противораково лекарство бяха разработени с цел да се позволи едновременна вътреклетъчна визуализация и лечение на рак. Наноразмерните флуоресцентни мицеларни системи бяха вградени с ново противораково лекарство чрез самосглобяване на добре дефинирани блок-кополимери на базата на амфифилен поли(акрилова киселина)-блок-поли(н-бутил акрилат) (PAA-b-PnBA) кополимер, получен чрез радикална полимеризация с пренос на атоми (ATRP) и хидрофобно противораково лекарство бензимидазол-хидразон (BzH). Чрез този метод бяха получени добре дефинирани наноразмерни флуоресцентни мицели, състоящи се от хидрофилна PAA обвивка и хидрофобно PnBA ядро, вградено с лекарството BzH благодарение на хидрофобните взаимодействия, като по този начин се постигна много висока ефективност на капсулиране. Размерът, морфологията и флуоресцентните свойства на празните и натоварените с лекарство мицели бяха изследвани съответно чрез динамично разсейване на светлина (DLS), трансмисионна електронна микроскопия (TEM) и флуоресцентна спектроскопия. Освен това, след 72 часа инкубация, натоварените с лекарство мицели освобождават 3,25 μM BzH, което беше определено спектрофотометрично. Установено е, че мицелите, натоварени с лекарството BzH, проявяват повишени антипролиферативни и цитотоксични ефекти върху MDA-MB-231 клетки, с дълготрайни ефекти върху организацията на микротубулите, с апоптотични промени и преференциална локализация в перинуклеарното пространство на раковите клетки. За разлика от това, антитуморният ефект на BzH самостоятелно или вграден в мицели върху нераковите клетки MCF-10A е относително слаб.

5. [Г7.5] *In Vitro* Cytotoxicity Assessment of Betulinic Acid Organic Salts on Triple-Negative Breast Cancer Cells

Sonia Apostolova, Irina Georgieva, Paula Ossowicz-Rupniewska, Joanna Klebeko, Svetla Todinova, Rumiana Tzoneva, and Maya Guncheva

Резюме

Превръщането на бетулиновата киселина (BA) в органични соли е стратегически подход за модулиране на нейните физикохимични свойства и биологична активност. В нашето предишно проучване демонстрирахме повишената цитотоксичност на определени аминокиселинни етил естери бетулинати ([AAOEt][BA]) в сравнение с BA спрямо хормоно-зависими ракови клетки на гърдата (MCF-7). В настоящото проучване имаме за цел да разширим изследването си, за да оценим цитотоксичния отговор и термодинамичните свойства на хормоно-независими ракови клетки на гърдата (MDA-MB-231) след 72-часово третиране със същата серия бетулинати. Нашите данни разкриват по-ниска цитотоксичност при MDA-MB-231 клетките, изразена чрез по-високи стойности на половината от максималната инхибираща концентрация (IC_{50}), които варират между 31 и 109 μ M. Анализът на диференциалната сканираща калориметрия подкрепи тези резултати, показвайки незначителни промени в термодинамичните параметри на третираните MDA-MB-231 клетки. Въпреки това, в съответствие с нашите предишни наблюдения, [LysOEt][BA]₂ проявява най-висока цитотоксичност и предизвиква най-изразени морфологични промени в раковите клетки. Като цяло, нашите резултати показват, че MDA-MB-231 клетките са по-малко чувствителни към [AAOEt][BA] в сравнение с MCF-7 клетките, вероятно поради техните различни фенотипни и генотипни профили и разлики в онкогенните сигнални пътища. Въпреки това, фактът, че [LysOEt][BA]₂ повишава цитотоксичната активност на BA дори в хормоно-независими ракови клетки на гърдата, подчертава неговия терапевтичен потенциал и оправдава по-нататъшни проучвания, особено в контекста на адювантното лечение на рак на гърдата.

6. [Г7.6] Phenolic Content, Antioxidant Activity and In Vitro Anti-Inflammatory and Antitumor Potential of Selected Bulgarian Propolis Samples

Yulian Tumbarski, Ivan Ivanov, Mina Todorova, Sonia Apostolova, Rumiana Tzoneva, Krastena Nikolova

Резюме

Увод/цели: Прополисът (пчелен клей) е ценен пчелен продукт, широко използван като естествено лекарство, козметична съставка, подобрител и биоконсервант за храни. Настоящото изследване има за цел да проучи фенолното съдържание, антиоксидантната активност и *in vitro* противовъзпалителния и антитуморен потенциал на шест проби прополис от три региона в България (Видин, Габрово и Ловеч).

Методи: Анализът на фенолните съединения в прополиса беше определен чрез високоефективна течна хроматография (HPLC); антиоксидантната активност на етанолните екстракти от прополис беше оценена чрез теста за улавяне на радикали 2,2-дифенил-1-

пикрилхидразил (DPPH) и теста за желязо-редуцираща антиоксидантна сила (FRAP); противовъзпалителната активност *ин vitro* беше оценена чрез метода на инхибиране на денатурацията на албумина; противотуморната активност *ин vitro* беше определена при човешка метастатична клетъчна линия на рак на гърдата MDA-MB-231 чрез тест за цитотоксичност 3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиев бромид (MTT). Резултати: Етанолните екстракти от прополис показаха общо фенолно съдържание от 190,4 до 317,0 mg GAE/g, общо флавоноидно съдържание от 53,4 до 79,3 mg QE/g и общо съдържание на производни на кафеената киселина от 5,9 до 12,1 mg CAE/g. Изследваните екстракти от прополис показаха значителна антиоксидантна активност (между 1000,3 и 1606,0 mM TE/g, определена чрез DPPH теста, и между 634,1 и 1134,5 mM TE/g, определена чрез FRAP теста). Анализът на химичния състав показва високи концентрации на бензилов естер на кафеена киселина, хризин, пиноцембрин и пинобанксин-3-О-пропионат, предимно в три от прополисовите проби, произхождащи от регионите Габрово и Ловеч. Всички прополисови проби показаха обещаваща *ин vitro* противовъзпалителна активност, изразена като инхибиране на термично индуцираната денатурация на албумина с 73,59% до 78,44%, която е по-висока от това на конвенционалните противовъзпалителни лекарства Аспирин (58,44%) и Преднизолон Кортико (57,34%). Прополисните проби показаха висока *ин vitro* цитотоксичност срещу раковите клетки MDA-MB-231 с IC₅₀ стойности между 9,24 и 13,62 µg/mL, както е определено чрез MTT теста.

Заключение: Като цяло можем да предположим, че високото полифенолно съдържание на българския прополис от съответните райони допринася за неговата повишена антиоксидантна, противовъзпалителна и антитуморна активност. Нашите резултати подкрепят благоприятните свойства на българския прополис, с потенциално приложение като обещаващо терапевтично средство.

7. [Г7.7] A Standardized Extract of *Petasites hybridus* L., Containing the Active Ingredients Petasins, Acts as a Pro-Oxidant and Triggers Apoptosis through Elevating of NF-κB in a Highly Invasive Human Breast Cancer Cell Line

Sonia Apostolova, Tsvetelina Oreshkova, Veselina Uzunova, Irina Georgieva, Liliana Maslenkova, Rumiana Tzoneva

Резюме

Увод: Чобанката (*Petasites hybridus* L.) е традиционно лечебно растение с многобройни терапевтични свойства, сред които е и неговата наскоро открита антитуморна активност. Настоящото проучване има за цел да изследва активността на стандартизиран български екстракт от корен на *Petasites hybridus* L., съдържащ активните съставки петазини, върху човешка клетъчната линия от рак на гърдата MDA-MB-231 и неракова клетъчна линия MCF-10A. По-конкретно, ние изследвахме клетъчната смърт, оксидативния стрес и сигнализацията на ядрения фактор капа-В (NF-κB).

Методи: Използвахме стандартизиран прахообразен екстракт от Чобанка, съдържащ минимум 15% петазини. Липофилният екстракт беше получен от подземните части на

растението *Petasites hybridus* от български популации чрез течно-течна екстракция след пълно отстраняване на пиролизидиновите алкалоиди. Индукцията на апоптоза и некроза беше анализирана чрез поточна цитометрия, а биомаркерите за оксидативен стрес и NF-κB бяха измерени чрез ензимно-свързан имуносорбентен тест (ELISA).

Резултати: Екстрактът от корен на *Petasites hybridus* L. предизвиква апоптоза по специфичен за рака начин и индуцира умерен оксидативен стрес, характеризиращ се с понижени нива на глутатион (GSH) и повишени нива на малондиалдехид (MDA) при MDA-MB-231 след 72 часа третиране. Нивата на NF-κB бяха по-високи в раковите клетки след третиране с дози IC₅₀ и IC₇₅, което предполага, че NF-κB пътя се активира в отговор на оксидативния стрес, водейки до индукция на апоптоза. Екстрактът от *Petasites hybridus* оказва по-нисък ефект при MCF-10A клетките и адаптивният отговор на тяхната антиоксидантна защитна система неутрализира оксидативния стрес.

Заклучения: Като цяло, тези резултати показват, че екстрактът от корен на *Petasites hybridus* L. действа селективно като про-оксидант в раковите клетки на гърдата и по този начин представлява потенциален терапевтичен подход за лечение на рак с по-малко странични ефекти.

8. [7.8] Statins and Alkylphospholipids as New Anticancer Agents Targeting Lipid Metabolism

Sonia N Apostolova, Reneta A Toshkova, Albena B Momchilova, Rumiana D Tzoneva

Резюме

Недостатъчната ефикасност и високата токсичност на настоящите противоракови химиотерапевтични средства, както и развитието на множествена лекарствена резистентност, са основните проблеми в лечението на рака. Това налага спешна необходимост от разработване на нови, противоракови средства с добра поносимост и с различен механизъм на действие, които да могат да се използват успешно в комбинация с други лекарства като адювантна терапия. Инхибирането на вътреклетъчните сигнални пътища, свързани с растежа и инвазивността на рака, е основен терапевтичен подход в лечението на рака. Известно е, че липидният метаболизъм участва в регулирането на ключови клетъчни процеси като пролиферация, диференциация и апоптоза. Статините и алкилфосфолипидите са относително нови синтетични средства със значителни противоракови свойства, които нарушават липидния метаболизъм и впоследствие модулират сигналните пътища за пролиферация и оцеляване на клетките, което води до апоптоза. Многобройни *ин витро* и *ин vivo* проучвания са показали обещаващи резултати за използването на статини и алкилфосфолипиди като потенциални терапевтични средства при лечението на различни злокачествени заболявания при човека. Необходими са обаче повече изследвания и клинични проучвания, за да се оцени оптималната им безопасна доза и максималната им ефикасност, както и да се разберат по-добре молекулярните механизми, лежащи в основата на антитуморните ефекти на тези лекарства.

9. [F7.9] Angiogenic potential of endothelial and tumor cells seeded on gelatin-based hydrogels in response to electrical stimulations

Rumiana Tzoneva, Veselina Uzunova, **Sonia Apostolova**, Anne Krüger-Genge, Axel T Neffe, Friedrich Jung, Andreas Lendlein

Резюме

Ангиогенезата е един от ключовите процеси по време на развитието, заздравяването на рани и образуването на тумори. Предпоставка за нейното съществуване е наличието на ендогенни електрически полета (EF), генерирани от активен йонен транспорт през поляризиран епител и ендотел, и появата на трансклетъчни потенциали. По време на ангиогенезата клетъчни фактори като ендотелен растежен фактор (VEGF), синтезата на адхезивни протеини и мембранни металопротеинази (MMP) управляват ангиогенната реакция към различни външни стимули като взаимодействия с биоматериали и/или екзогенни EF. Хидрогелове на базата на желатин с еластичност, сравнима с тази на човешките тъкани, са показали, че влияят на поведението на клетките, както и на клетъчното прикрепване, синтеза на протеини, производството на VEGF и MMP след прилагането на EF. Матрици на базата на желатин с 3 (G10_LNCO3), 5 (G10_LNCO5) и 8 (G10_LNCO8) пъти повече изоцианатни групи на мол аминокислотни групи, присъстващи в желатина бяха използвани, както и човешки ендотелни клетки от вена на пъпна връв (HUVEC) (Lonza Basel, Швейцария) и силноинвазивни клетки от рак на гърдата MDA-MB-231 (ATCC® HTB-26TM). За оценка на количеството VEGF, освободено от клетките, е използван търговски наличен VEGF ELISA (Thermo Fisher Scientific, Германия) кит. За анализ на количеството на фибронектин (FN), секретирано от клетките, посяти върху материалите, беше използван ензимен имуноанализ (EIA) на FN. Секретираните MMP бяха анализирани чрез зимография. Хидрогелите на базата на желатин привличаха адхезията на HUVEC и намаляваха адхезията на MDA-MB-231 клетки. Приложеното постоянно (DC) EF предизвика почти 5-кратно увеличение на образуването на VEGF от HUVEC, посяти върху хидрогелове на желатинова основа. За разлика, приложеното EF намалява продукцията на VEGF от раковите клетки. Синтезът на FN беше повишен в HUVEC клетки, посяти върху материали на желатинова основа, в сравнение със синтеза на FN от раковите клетки. HUVEC, посяти върху желатинови хидрогели, показаха експресия главно на MMP-2. Прилагането на EF повиши секрецията на MMP-2 в HUVEC, посяти върху желатинови материали. Посяването на MDA-MB-231 върху желатинови материали доведе до по-ниско образуване на MMP в сравнение с контролните материали. С прилагането на EF нивата на MMP-9 бяха понижени, но експресията на MMP-2 се повиши значително за желатиновите материали. Като цяло, резултатите показаха, че изследваните желатинови материали потискат прикрепването на раковите клетки, както и потискат техния ангиогенен потенциал, изразен чрез намаленото производство на VEGF и MMP. По този начин, това проучване потвърждава, че желатиновите хидрогелове с подходящи характеристики на еластичност и различно поведение на разграждане са подходящи матрици за регенерация на съдови тъкани или за ограничаване на растежа на тумора след туморна резекция.

10. [Г7.10] Testing biocompatibility in terms of cell viability and nuclei alterations of materials for the development of artificial hip joints

Alexander Gerchev, **Sonia Apostolova**, Irina Georgieva, Vanya Milanova, Veselina Uzunova, Rumiana Tzoneva

В това проучване оценихме *ин vitro* биосъвместимостта на различни материали, които са били подложени на механична обработка и са били използвани за производството на изкуствени тазобедрени стави. МТТ-тестът беше използван като количествен анализ за оценка на жизнеспособността на клетките след третиране на миши фибробластни клетки L929 с екстракти от Ti6Al4V, неръждаема стомана и UHMWPE материали. Въздействието на имплантантните материали върху ядрената морфология беше анализирано чрез оцветяване с DAPI. Показахме, че всички тествани материали проявяват висока биосъвместимост и нетоксичност след 72 часа и 5 дни инкубация. Това бе потвърдено от анализа на клетъчните ядра, който не показва промени в формата и размера на ядрата след 72 часа и 5 дни, съответно. Освен това, в екстрактите от трите различни материала бяха наблюдавани дялящи се клетки, което показва, че клетъчната пролиферация не е засегната и съответните имплантационни материали позволяват нормален клетъчен растеж. Нашите резултати демонстрират, че всички изследвани материали са биосъвместими и нетоксични за фибробластите и следователно могат да бъдат успешно използвани като ортопедични импланти за подмяна на тазобедрена става.