

АВТОРСКА СПРАВКА ЗА ПРИНОСНИЯ ХАРАКТЕР НА НАУЧНИТЕ ТРУДОВЕ

Елена Николаева Стоянова-Петрова

главен асистент в секция „Молекулярна имунология“

Институт по биология и имунология на размножаването

„Акад. Кирил Братанов“

БАН

Научните приноси на кандидата могат да бъдат групирани тематично в следните направления:

Изследвания в областта на регенеративната медицина

Регенеративната медицина е интердисциплинарна област, която съчетава биологични и инженерни науки, за да подпомогне възстановяването на увредени тъкани и органи. В основата на нейното развитие лежат разнообразни стратегии, които включват както специализирани клетъчни типове, така и биосъвместими материали.

Ограниченият достъп до клетъчни типове със специфични характеристики е една от пречките пред регенеративната медицина. Разработването на техники за получаване на индуцираните плурипотентни стволови клетки (иПСК) и подобряване на методиките за тяхната диференциация са инструмент за преодоляване на това препятствие. иПСК имат почти неограничена способност за диференциация, което ги прави богат източник на разнообразни специализирани клетки. Те могат да бъдат получени от соматични клетки на даден пациент, което прави възможно моделирането на индивидуални заболявания и разработване на персонализирани терапии.

Чрез ретровирусна трансдукция са препрограмирани човешки мезенхимни стволови клетки, изолирани от мастна тъкан (МТ-МСК) на 75 годишен пациент. След това са селектирани и характеризирани като иПСК, съгласно методики, оптимизирани по време на разработването на дисертационния труд на кандидата.

Установено е, че иПСК, получени от 75 годишен пациент, притежават активирани ендогени на транскрипционни фактори, отговорни за поддържането на плурипотентното им състояние (OCT4, NANOG, SOX2 и KLF4) и проявяват

способност да се диференциация в клетки от трите зародишни листа (Stoyanova E et al. 2017).

иПСК са създадени в лабораторни условия клетки, които имат сходни характеристики с естествените плурипотентни стволови клетки - ембрионалните стволови клетки (ЕСК). Едно от предизвикателствата при работа с плурипотентни стволови клетки и последващото им приложение е използването на продукти с животински произход при тяхното *in vitro* култивиране. Човешки ЕСК рутинно се отглеждат върху слой от подхранващи клетки, като мишите ембрионални фибробласти са едни от най-често използваните за тази цел.

Демонстрирано е, че човешки мезенхимни стволови клетки, изолирани от мастна тъкан, могат да заменят мишите ембрионални фибробласти като подхранващ слой за култивиране на ЕСК. ЕСК от линия BG01V, отглеждани продължително върху МТ-МСК, запазват нормалната си морфология, способности за самообновяване и диференциация в клетки с ендо-, мезо- и ектодермален произход (Oreshkova et al. 2010).

Известно е, че *in vivo* клетките живеят в специфична микросреда (ниша), която прецизно регулира тяхната съдба. Някои от характеристиките на тези клетъчни ниши могат да бъдат възпроизведени с помощта на тъканното инженерство. Например биосъвместими и биоразградими скелети могат да предоставят подходящи условия за адхезия, пролиферация и диференциация на различни клетъчни типове.

Фемтосекундно лазерно микроструктуриране е използвано за получаване на пореста структура в повърхностни слоеве на биосъвместими материали (колаген и еластин). Полученият триизмерен порест скелет предоставя необходимите условия за адхезия и пролиферация на човешки фибробластни клетки (Daskalova et al. 2014).

Изследвания върху ракови клетки

Разработването и прилагането на методики за ранна диагностика, мониторинг и успешно лечение на онкологични заболявания са предизвикателства пред съвременната медицина.

Диференциалната сканираща калориметрия (ДСК) е високо-чувствителна техника, която дава възможност да се характеризира стабилността на белтъци и нуклеинови киселини в тяхната нативна форма. Чрез нея се измерва специфичния термален капацитет на термично-индуцирани събития като функция от температурата.

Чрез диференциална сканираща калориметрия са дефинирани общи черти в термодинамичните профили на ракови клетки от линии HeLa, JEG-3, HepG2, SSC-9, PC-3, HT-29 и MCF7. Въз основа на тези профили са установени значителни промени в характеристиките на цитоплазмените белтъци, компонентите на ядрения матрикс и ДНК компактизацията на ракови клетки от линия HT-29, третирани с антитуморни агенти - оксалплатин и 5-флуоро-1Н-пиримидин-2,4-дион.

Демонстриран е потенциалът на ДСК за използване като средство за диагностика на ракови заболявания и за оценка на въздействието на лекарствени средства върху ракови клетки (Todinova et al. 2016).

Една от стратегиите за подобряване на изследванията върху тумори и разработване на методики за лечение на ракови заболявания, включва прилагането на наноразмерни системи за транспортиране на лекарствени средства. Важни характеристики на тези системи са: постигане на висока доза на локална концентрация, минимални загуби от лекарството при трансфер, биосъвместимост и ниска токсичност.

Квантовите точки (quantum dots- QDs) са наночастици, излъчващи светлина със специфични честоти, които могат да бъдат прецизно регулирани чрез промяна на размерите им. Това ги прави подходящи за приложение при *in vitro* и *in vivo* имиджинг с висока резолюция и при ранна диагностика на онкологични заболявания. Такива наночастици могат да бъдат насочени в живи клетки чрез електропорация.

Оценен е ефектът на електропорация с електричен пулс с интензитет 200 V/cm; 500 V/cm и 1000 V/cm върху преживяемостта на ракова клетки от линия Colon 26 (модел за рак на дебелото черво).

Проследен е процесът на пасивно или стимулирано чрез електропорация навлизане на QD⁷⁰⁵ и QD⁷⁰⁵- натоварени наночастици в раковите клетки и е визуализирана тяхната локализация в клетките.

Демонстрирани са възможностите на електропорацията за неинвазивно насочване на терапевтични наноматериали в ракови клетки (Atanasova et al. 2016).

Изследване на въздействието на прогестерон върху прогестерон-индуциран блокиращ фактор (Progesterone Induced Blocking Factor-PIBF) и HLA-G в човешки мезенхимни стволови клетки

Прогестеронът играе важна роля по време на нормалното развитие на бременността. Неговият имуномодулиращ ефект се медира чрез прогестерон индуциран блокиращ фактор (Progesterone induced blocking factor-PIBF). PIBF е имуносупресивен белтък, активно експресиран от плацентата по време на бременност.

Установен е прогестерон-зависим механизъм, който регулира освобождаването на конститутивно експресирания от човешки пре-децидуални мултипотентни стромални клетки (Pre-decidual multipotent stromal cells -pre-DMSCs) PIBF в извънклетъчното пространство (E. Ivanova-Todorova et al. 2009).

HLA-G е неklasическа HLA клас I молекула, която при алогенни условия като бременност или алогографна трансплантация, подпомага създаването на подходяща имунологична среда за приемането на плода или алогографа. Нейната експресия се модулира от разнообразни цитокини и хормони.

Доказано е, че прогестеронът повишава експресията на HLA-G в човешки мезенхимни стволови клетки, изолирани от няколко различни източника - мастна тъкан, костен мозък и децидуа. Това е един от първите доклади, описващи въздействието на прогестерона върху имуномодулаторната активност на мезенхимни стволови клетки (Ivanova-Todorova et al. 2009; Mourdjeva et al. 2009).

Изследване на въздействието на полифенол орегонин върху експресията на ДНК метилтрансферази в миши фибробласти

Орегонинът [1,7-бис-(3,4-дихидроксифенол)-хептан-3-он-5-ксилопиранозид] е един от основните компоненти на хидрофилния екстракт от кората на *Alnus incana* (сива елша).

Този естествен диарилхептаноид е с доказани анти-оксидативни и анти-възпалителни свойства.

За първи път е изследвано въздействието на орегонин, извлечен от кора на *Alnus incana (L.)* върху експресията на ДНК метилтрансферази - Dnmt1, mtDnmt1, Dnmt3a, Dnmt3b.

Установено е, че той влияе върху нивата на мРНК за ДНК метилтрансферазите в миши фибробласти (1, 2, 3 от списъка на участия в научни форуми).

Получените резултати за въздействието на орегонина върху количеството на Dnmt1 мРНК в миши фибробластни клетки са използвани при подготовка на патентна заявка № P-17-44 от 11.07.2017г. "Substances decreasing hypermethylation of DNA in mammal cells".