

РЕЗЮМЕТА НА ИЗБРАНИ НАУЧНИ ТРУДОВЕ

на гл.ас., д-р Румяна Цонева

Секция ”Електроиндуцирани и адхезивни свойства”

Tzoneva R., Heuchel M., Groth T., Altankov G., Albrecht W., Paul D., Fibrinogen adsorption and platelet interactions on polymer membranes, *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.*, 2002, 13, 1033–1050.

Изследвана е кръвната съвместимост на четири полимерни материала с биомедицинско приложение като suprophan (SE), polyether-polycarbonate (PC-PE), polysulphone (PSU) и polyetherimide (PEI), различаващи се по хидрофилно-хидрофобния си повърхностен баланс. Тя е оценявана на базата на количеството и качеството (конформационно/ориентационни промени) на адсорбиран фибриноген (ФНГ) върху полимерните материали, както и на степента на активация/агрегация на адхезираните тромбоцити. Установена е корелация между афинитета на адсорбиран ФНГ и полярната и дисперсионна компонента на повърхностната свободна енергия на полимерната повърхност. Най-значителни конформационно/ориентационни промени в молекулата на ФНГ по време на адсорбция са наблюдавани при хидрофобните материали (PSU и PEI) и е установено, че те играят пряка роля за определяне степента на агрегация и активация на тромбоцитите върху полимерната подложка. Установеният подход за оценяване на кръвната съвместимост чрез изследване на конформационно/ориентационните промени на адсорбирани плазмени белтъци върху полимерни матрици е важен фактор при създаване на тромбо-резистентни полимерни материали.

Tzoneva R., Groth T., Altankov G., Paul D., Remodelling of fibrinogen by endothelial cells in dependence on fibronectin matrix assembly. Effect of substratum wettability, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2002, 13, 1235-1244.

В статията за първи път е демонстрирана взаимосвързана фибриногенеза на фибронектин (ФН) и фибриноген (ФНГ) при ендотелни клетки (ЕК) върху хидрофобен и хидрофилен моделен субстрат. Депозирането на ФНГ в

екстацелуларен матрикс (ЕЦМ)-подобни структури е обвързано с формирането на ФН матрикс от клетките. Показана е диференцираната роля на различните интегринови рецептори при ЕК: докато $\beta 3$ интегриновата субединица е включена при осъществяване на клетъчното прикрепяне към субстрата, то $\beta 1$ играе роля при ФНГ-новата фибрилогенеза. Ясно е показана ролята на субстратния хидрофилно/хидрофобен баланс при реорганизацията на двата белтъка като върху хидрофобния субстрат формирането на ФН/ФНГ матрикс е силно подтиснато. Изучаването на клетъчната морфология показва, че типът на белтъчното покритие на субстрата провокира различен клетъчен фенотип. ФНГ покритие предизвиква мобилен клетъчен фенотип, докато ЕК култивирани върху ФН-покрити моделни повърхности демонстрират типична адхезивна клетъчна морфология. Нашите резултати хвърлят нова светлина върху способността на ЕК да взаимодействат и реорганизируют адсорбиран ФН и ФНГ в пространствено организирани матриксни структури при контакт с биоматериална повърхност. Изследването на тези клетъчни процеси е от съществено значение при оптимизиране на биосъвместимостта на полимерните сърдечно-съдови импланти.

Tzoneva RD, Mishonova – Alexova EI, A calorimetric study of pH-dependent thermal unfolding of leghemoglobin a from soybean, *Biochim Biophys Acta - Bioenergetics*, 1998, 1364 (3), 420-424.

Установено е, че температурната стабилност на молекулата на Leghemoglobin *a* от соя, изследвана чрез диференциална сканираща калориметрия е около 25°C. Над и под тази граница настъпва съответно топлинна и студена денатурация на белтъка. Доказано е, че процеса на температурна денатурация на Leghemoglobin *a* е двустъпален процес, характерен за повечето малки глобуларни белтъци. Изследването на рН – зависима температурна стабилност на Leghemoglobin *a* показва най-висока стабилност между рН 5.9 и рН 9.2. Доказана е на практика стабилизиращата роля на цианидния йон, свързан към молекулата на легхемоглобина, което дава възможност тази белтъчна молекула да бъде изследвана в голям рН диапазон чрез диференциална сканираща калориметрия

Faucheux N, Tzoneva R, Nagel MD, Groth T., The dependence of fibrillar adhesions in human fibroblasts on substratum chemistry, *Biomaterials*, 2006, 27 (2), 234-245.

В настоящата работа е изследвана ролята на моделни повърхности носещи различни функционални крайни групи като аминни (NH₂) или карбоксилни (COOH), за формирането на фибриларни адхезионни контакти при човешки фибробласти. Чрез проследяване на транслокацията на α_v и α_5 интегринови субединици в адхерентни клетки е установено, че при клетки, прикрепени към субстрати имащи COOH крайни групи, се наблюдава пространствено разделение на фибриларните клетъчни контакти (α_5 интегриновите субединици и тензин) от фокалните адхезионни контакти (α_v интегриновите субединици и фосфотирозинови белтъци), докато при клетки адхезирали върху NH₂-носещи субстрати такова разделение не се наблюдава. Анализът на ФН фибрилогенеза потвърждава също, че фибробласти, култивирани върху COOH-субстрат, формират в значително по-добра степен матриксни фибрили. В допълнение е установена корелация между вида на повърхностната функционална група и клетъчната миграция. В тази връзка е показано, че COOH – носещите повърхности предизвикват по-добра клетъчна миграция поради по-слабия интегринов афинитет към субстрата.

Резултатите могат да бъдат полезни при подбора на биоматериали с подходяща химична композиция подпомагаща клетъчната функция при специфични биомедицински приложения като заздравяване на рани и реваскуларизация на сърдечно-съдови протези.

Tzoneva R., Faucheux N., Groth T., Wettability of substrata controls cell-substrate and cell-cell adhesions, *Biochim Biophys Acta-General Subject*, 2007, 1770 (11), 1538-1547.

В статията за първи път е показано, че повърхностната умокряемост на субстрата играе определяща роля за установяването и укрепването на междуклетъчните контакти при HUVEC (human umbilical vein endothelial cells). Демонстрирано е, че субстратната умокряемост (хидрофилно/хидрофобен баланс) контролира и определя адхезията и цитоскелетната организация при HUVEC, което има пряко отношение към способността на клетките да установяват стабилни междуклетъчни

контакти. Установено е, че докато хидрофобният субстрат провокира създаването на по-силни междуклетъчни контакти, то при хидрофилния субстрат доминира клетка-субстрат адхезията. Открити са доказателства за влиянието на повърхностната умокряемост върху комуникацията (“cross talk”) между интегриновите и кадхериновите клетъчни рецептори в ендотелни клетки.

Tzoneva R., Seifert B., Albrecht W., Richau K., Lendlein A., Groth T., Poly(ether imide) membranes: studies on the effect of surface modification and protein pre-adsorption on endothelial cell adhesion, growth and function, *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, 2008, 19, 7, 837-852.

Статията разглежда възможността за формиране ин витро на ендотелен монослой върху полимерни мембрани от PEI (polyetherimide), повърхностно модифицирани с карбоксилни групи. Резултатите показват намалена белтъчна адсорбция и клетъчна адхезия, растеж и функционалност с увеличаване плътността на повърхностния заряд на полимерната мембрана (съдържанието на карбоксилни групи). Установено е, че ФН-покритите мембрани провокират по-добра клетъчна адхезия и функционалност (простациклинова продукция), докато ФНГ-покритите повърхности - по-добър клетъчен растеж.

Tzoneva R., Seifert B., Albrecht W., Richau K., Groth T., Lendlein A., Hemocompatibility of poly(ether imide) membranes functionalized with carboxylic groups, *J Mater Sci Mater Med*, 2008, 19, 10, 3203-3210.

В статията е използван химичен подход за копиране и създаване на хепарин - подобна антикоагулантна полимерна повърхност чрез функционализиране с карбоксилни групи на PEI (polyetherimide) мембрана. Чрез проследяване на ключовите стъпки при формирането на кръвен съсирек върху PEI (polyetherimide) повърхност бе установено влиянието на повърхностния заряд на полимера върху процесите на контактна активация, коагулационна каскада и адхезия/активация на тромбоцити. Изследването допринася за подобряване на стратегията при избора и разработването на рационален дизайн на биоматериала според неговото биомедицинско приложение.

Tzoneva R., Weckwerth C, Seifert B, Behl M, Heuchel M, Tsoneva I, Lendlein A., In vitro evaluation of elastic multiblock co-polymers as a scaffold material for reconstruction off blood vessels, *J Biomater Sci Polym Ed.*, 2011, 22, 2205-2226.

В статията е разработена методика за синтез на термопластични и биоразградими ко-полимерни материали на базата на poly (ϵ -caprolactone) с еластичност близка до естествената еластичност на кръвоносните съдове. Фазово - разделената структура на тези ко-полимери ги причислява към новия клас на така наречените «интелигентни» полимерни материали (shape memory polymers), способни да променят формата си под влиянието на външни стимули (напр. при нагряване). Установено е, че изследваните термопластични «интелигентни» материали PDC (poly(*p*-dioxanone) (PPDO)/poly(ϵ -caprolactone) поддържат много добра адхезия, растеж и функционалност на култивирани ендотелни клетки, като това ги прави отличен кандидат за биоматериал, който може да бъде използван в минимално инвазивната хирургия.

Pehlivanova V., Tsoneva I., Tzoneva R. Influence of electroporation on cell adhesion, growth and viability of cancer cells and fibroblasts, *Compt. rend. Acad. Bulg. Sci.*, 2011, 4, 64, 581-590.

В статията се изследва ефектът на прилаганите електрични импулси, използвани при електрохимиотерапия на тумори върху адхезивното поведение на туморните клетки. Направен е важният извод, че подходящият избор на параметрите на прилаганите електрични импулси е определящ фактор, който може да провокира промяна в адхезията, растежа и преживяемостта на туморните клетки. По този начин промененото адхезивно поведение би довело до ограничаване на туморната инвазия. Настоящото изследване има практическо значение за оптимизиране на ефекта от прилаганата туморна електрохимиотерапия.

Krasteva V., Pehlivanova V., Seifert B, Lützow K., Tsoneva I., Richau K., Lendlein A., Tzoneva R. Influence of AC electric fields on the adsorption of plasma proteins onto nanofiber biomaterials, *Compt. rend. Acad. Bulg. Sci.*, 2011, 4, 64, 535-544.

В статията се изследва адсорбцията на плазмени белтъци върху 2D и 3D полимерни матрици използвани в тъканното инженерство и регенеративната медицина и ефекта на прилаганото външно променливо електрично поле. Показано, че при използването на 3D полимерни матрици (в сравнение с конвенционалните 2D подложки), се увеличава адсорбцията на плазмени белтъци като албумин, фибриноген и фибронектин, което е предпоставка за създаване на хибриден изкуствен екстрацелуларен матрикс (ЕЦМ), съчетаващ предимствата на 3D полимерната матрица (механична здравина, еластичност, контролирано разграждане) с тези на биологичната компонента (адхезивни белтъци). Това е оригинално изследване на влиянието на ниско честотно променливо електрично поле за белтъчната адсорбция върху 3D и 2D полимерни матрици. Установено е, че честоти на електричното поле между 1 и 10 Hz повлияват положително белтъчната адсорбция, което е предпоставка за създаването на устойчив хибриден ЕЦМ.

US Патент № 6,417,415 B1, “Methods of solidifying low-boiling-point hydrocarbon and handling the same, and regeneration thereof”, Sakaguchi H., Yoshimura T. and Tzoneva R., Jul.9, 2002

Представен е метод за обратимо получаване в твърдо състояние на въглеводороди (включително и такива, които при стайна температура са в газообразно състояние) с ниска точка на кипене чрез довеждането им в контакт с метални соли на алифатни карбоксилни киселини. Горепосоченият метод може да се използва за безопасно съхранение и транспортиране на твърдите агрегати на въглеводородите. Регенерацията на въглеводородите до изходното им състояние се извършва чрез излагане на агрегатите на атмосферно налягане или при загряване. С предложените методи голям брой газообразни и високо летливи течни въглеводороди могат лесно да бъдат приведени в твърдо състояние, без да бъдат използвани вредни реагенти и по този начин да бъдат безопасно транспортирани и съхранявани.

Практическо значение и приложение на патента

Замърсяването на околната среда от произвеждащите се в огромен обем петролни продукти и продукти на земния газ застрашава все повече глобалното екологично

равновесие. Ето защо от изключителна важност е въпросът за безопасното съхранение и транспортиране на различни опасни органични продукти, още повече, че много от тях са високо летливи течности или газове. Чрез настоящия патент се предлага лесен, сигурен и безопасен начин за съхранение на тези опасни летливи и газообразни въглеводороди в твърдо състояние, за техният транспорт и при нужда регенерацията им отново в основното им състояние.

Neitchev V. Tzoneva R., The role of viral components of new castle disease virus on the lipid structure during fusion, *Compt. rend. Acad. Bulg. Sci*, 48, 4, 1994.

Установен е различен ефект на вирусните компоненти на вируса “new castle disease” върху флуидитета на липидния бислой по време на вирусна фузия. Главна роля при вирусната инфекция играе негликозилирания белтък М, който прониква дълбоко в липидния бислой и значително увеличава флуидитета на слоя. Наблюдавано е усилване на горния ефект в присъствието на друг вирусен компонент – F – белтък (fusion protein).

Sakaguchi H., Tzoneva R., Yoshimura T., Sakurazawa S., Itoh K., Orientation Control of Surfactant/Hydrocarbon Crystal in High Magnetic Field, *Proc Meet Int Symp New MAGNETO SC*, 3, 379-385, 2000.

За първи път е показана кристализацията на смес от сърфактанта натриев карбоксилат и течни въглеводороди в чиста вода и в силно магнитно поле. Показано е, че горните органични молекули могат да кристализират само ако са смесени в точно определено съотношение, а при подлагането им на силно магнитно поле (10 Tesla) кристалите се ориентират във високо подредени макроскопски структури. Този феномен, при който прости органични молекули могат да се организират и да образуват нов тип ко-кристали, и освен това могат да бъдат организирани във високо подредени структури в силно магнитно поле, разкрива много различни възможности за производство на нов тип органични материали, а също така дава възможност да се развият нов тип фундаментални изследвания в органичната химия.