



ПЛОВДИВСКИ УНИВЕРСИТЕТ "П. ХИЛЕНДАРСКИ"

**Анотация на материалите по чл. 65 (1) от Правилника за
РАС на ПУ "Паисий Хилендарски", включително
самооценка на приносите**

на гл. ас. д-р Цветелина Георгиева Бацалова

Катедра „Биология на развитието“, Биологически факултет, ПУ „П. Хилендарски“

във връзка с участие в конкурс за заемане на академичната длъжност „доцент“ по област на висше образование **4. Природни науки, математика и информатика,** професионално направление **4.3. Биологически науки,** научна специалност **Клетъчна биология,** обявен в Държавен вестник, бр. 57 от 26.06.2020 г.

I. Съответствие с условията за заемане на академична длъжност „доцент“ по чл. 65. (1) от правилника за развитие на академичния състав на ПУ „П. Хилендарски“

От 2011 г. преподавам в Пловдивски университет „П. Хилендарски“ и съм част от екипа на катедра „Биология на развитието“. Придобих докторската си степен по научна специалност Клетъчна биология през 2012 г. През 2013 г. заех академичната длъжност „главен асистент“.

За участие в конкурса за заемане на академичната длъжност „доцент“ по научна специалност Клетъчна биология представям общо 21 научни труда, които не са използвани при процедурите за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ и за заемане на академичната длъжност „главен асистент“. Те се класифицират в следните групи (в съответствие със списъка на научните трудове):

- ✓ публикации в списания с импакт фактор – 14 броя;
- ✓ публикации в научни списания без импакт фактор – 3 броя;
- ✓ публикации в сборници от конференции и конгреси – 2 броя;
- ✓ учебници и учебни помагала – 2 броя.

Всички представени за рецензиране научни трудове са в съавторство, 19 от тях са на английски език, 2 са на български език. В 10 от представените научни статии съм водещ автор.

НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ В СПИСАНИЯ С ИМПАКТ ФАКТОР

1. **Batsalova T., Dzhambazov B., Klaczkowska D., Holmdahl R. 2010. Mice producing less reactive oxygen species are relatively resistant to collagen glycopeptide vaccination against arthritis. *J. Immunol.*, 185(5): 2701-2709. (Импакт фактор за 2010 г. – 5.745)**

Резюме: Основна роля за изява на колаген-индуциран артрит (КИА) при миши експериментални модели има разпознаването на имунодоминантен епитоп (КII 259-273) от колаген тип II (КII), свързан с МНС клас II молекулата A^q. Предходни изследвания на колектива ни показаха, че посттранслационно гликозилираният лизин на позиция 264 в този епитоп има централно значение за Т-клетъчното разпознаване и индукция на имунологична толерантност спрямо КII, както и за развитие на артрит. Беше доказано, че важна роля за имунологичната толерантност към КII има също генът Ncf1, който контролира процеса на окислителен взрив. За да бъде изследвано влиянието на окислението върху ефективността на имуноспецифична ваксинация с комплекси от МНС клас II молекула и гликозилиран КII пептид, беше използвана мутантна по Ncf1 гена миша линия. Проведените експерименти демонстрираха, че нормалните нива на реактивни кислородни радикали (ROS) допринасят за установяване на имунологична толерантност и предотвратяване развитието на артрит, тъй като само мишките с функционален Ncf1 ген не развиват КИА след ваксинация с комплекси от гликозилиран КII259-273 пептид и МНС клас II молекули. Трансферът на Т-клетки от

ваксинирани мишки с функционален Ncf1 протеин доведе до значимо потискане на клиничните симптоми на артрит при B10.Q мишки, докато при мутантната по Ncf1 миша линия се наблюдаваше по-слаб ефект, което показва, че ROS модифицират вторичния, а не първичния имунен отговор. По време на първичния отговор спрямо ваксинацията както при Ncf1 мутантите, така и при див тип B10.Q мишки беше отчетено наличие на регулаторни Т-клетки, повишено ниво на негативни костимулатони молекули и активизиращи цитокини, което обяснява изявата на независим от ROS слаб ваксинационен ефект.

2. **Batsalova T., Lindh I., Backlund J., Dzhambazov B., Holmdahl R. 2012. Comparative analysis of collagen type II-specific immune responses during development of collagen-induced arthritis in two B10 mouse strains. Arthritis Res. Ther. 14(6):R237. (Импакт фактор за 2012 г. – 4.3)**

Резюме: Имунните реакции спрямо колаген тип II (КII) са от централно значение за развитие на колаген-индуциран артрит (КИА). Целта на изследването бе да бъде изяснена и сравнена специфичната към КII Т-клетъчна и антителина реактивност през различни периоди от развитието на КИА, използвайки две експериментални B10 миши линии – B10.Q, експресиращи A^q МНС клас II молекули и B10.DR4.Ncf1^{*/*}, експресиращи човешки DR4 МНС II молекули (DRA*0101/DRB*0401), за които е установена връзка с развитието на ревматоиден артрит. Анализирани бяха Т-клетъчната специфичност спрямо имунодоминантния епитоп КII 259-273 и нивата на антитела, специфични към Б-клетъчните имунодоминантни епитопи от КII (С1, U1 и J1) на четири различни етапа от развитието на КИА. Получените резултати показаха, че КII-специфичната Т-клетъчна и антителина реактивност значително нараства след изява на клиничните симптоми на КИА и персистира по време на заболяването. При B10.Q мишки доминантната антителина специфичност бе насочена към С1 епитопа по време на всички изследвани етапи на заболяването, докато при B10.DR4.Ncf1^{*/*} мишки бе отчетена значителна реактивност спрямо С1 и U1 епитопите. На етапа на активна изява на клиничните симптоми на заболяването Т-клетъчната реактивност спрямо галактозилирания КII259-273 епитоп беше сходна между DR4- и A^q-експресиращите мишки, докато отговорът спрямо немодифицирания КII пептид беше значително по-висок при DR4 мишата линия. Установено беше, че различната Т-клетъчна специфичност при трансгенните DR4 мишки не се дължи на нивото на гликозилиране на КII, използван за имунизация.

3. **Andersson I.E., Andersson C.D., Batsalova T., Dzhambazov B., Holmdahl R., Kihlberg J., Linusson A. 2011. Design of glycopeptides used to investigate class II МНС binding and T-cell responses associated with autoimmune arthritis. PLoS ONE, 6(3):e17881. (Импакт фактор за 2011 г. – 4.092)**

Резюме: Гликопептидният фрагмент КII259–273 от колаген тип II (КII) взаимодейства с мишите A^q и човешките DR4 клас II протеини от главния комплекс за тъканна съвместимост (МНС II), които са свързани с развитието съответно на миши колаген-индуциран артрит (КИА) и ревматоиден артрит (РА). Известно е, че КII259–273 епитопа може да бъде използван за терапевтична ваксинация при КИА. Този гликопептид предизвиква също Т-клетъчен

имунен отговор при РА пациенти, поради което се смята, че има роля за развитието на РА. Публикацията представя методология за изследване на взаимодействията (глико)пептид-рецептор, основани на комбинация от структурно-базиран виртуален скрийнинг (SAR), лиганд-базиран статистически молекулен дизайн и биологични изследвания. Тази методология включва дизайн на KII259–273 гликопептидна библиотека, в която варират два аминокиселинни остатъка с основна роля за свързването към A^Q и DR4. Синтезата и биологичният анализ на получените гликопептиди предостави нова взаимовръзка между структура и активност при изясняване на свързването към A^Q и DR4. Бяха идентифицирани гликопептиди, които запазват висок афинитет за свързване към МНС II протеините и предизвикват силен отговор при панели от Т-клетъчни хибридоми. Биологичният анализ дефинира групи с различен модел на Т-клетъчен отговор, които са от особен интерес при провеждане на ваксинационни изследвания при КИА.

4. Andersson I.E., **Batsalova T.**, Haag S., Dzhabazov B., Holmdahl R., Kihlberg J., Linusson A. 2011. (E)-Alkene and Ethylene Isosteres Substantially Alter the Hydrogen-Bonding Network in Class II MHC A^Q/Glycopeptide Complexes and Affect T-Cell Recognition. *J. Am. Chem. Soc.*, 133(36):14368-78. (Импакт фактор за 2011 г. – 9.907)

Резюме: Структурната основа на антигенната презентация чрез клас II МНС протеини спрямо CD4⁺ Т-клетки е от особена важност за изясняване патогенезата и възможностите за лечение на автоимунни заболявания. Изследванията, представени в тази публикация, се основават на използването на изостери с (Е)-алкенови и етиленови връзки за проучване на ефектите от отстраняване на възможностите за формиране на водородни връзки между KII259-270 гликопептид, свързан към миши A^Q клас II МНС протеини. Модифицираните с изостери гликопептиди проявиха различно и неочаквано високо ниво на загуба на способност за свързване към A^Q, което може да бъде свързано с динамиката на изследваната система. Симулации на молекулярната динамика (MD) показаха, че скелетите на KII259-270 и A^Q протеина са способни да формират до около 11 водородни връзки, но реалният им брой е по-малък. Повечето взаимодействия, базирани на водородни връзки, бяха отчетени в N-крайната част на гликопептида, където бяха осъществени по-голямата част от изостерните замени. Данните от структурната динамика също показаха, че водородните връзки са свързани една с друга и загубата на едно взаимодействие от този тип има сериозен ефект върху цялата мрежа от водородни връзки. Данните за свързване към A^Q засвидетелстваха, че гликопептидът, съдържащ етиленов изостер, неочаквано се свързва с по-висок афинитет към A^Q в сравнение със съответния (Е)-алкен, което контрастира на тенденцията, отчетена при останалите изостери. Анализ на MD траекториите показа, че комплексната конформация на етиленовия изостер е структурно различна и е налице изменен модел на молекулно взаимодействие в сравнение с други A^Q/гликопептид комплекси. Изостерите, съдържащи amidна връзка, също повлияха взаимодействието на гликопептид/A^Q комплексите с Т-клетъчните рецептори. Динамичните изменения на взаимодействията, базирани на водородни връзки, в МНС клас II системата са от критично значение за сигналната система клас II МНС/пептид/Т-клетъчен рецептор.

5. Kostova Zh., **Batsalova T.**, Moten D., Teneva I., Dzhambazov B. 2015. Ragweed-allergic subjects have decreased serum levels of chemokines CCL2, CCL3, CCL4 and CCL5 out of the pollen season. *Cent Eur J immunol*, 40(4):442-446. (Импакт фактор за 2015 г. – 0.309)

Резюме: СС-хемокините са важни посредници при алергичните реакции. Целта на изследването, представено в тази публикация е да бъдат проучени серумните нива на CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β и CCL5/RANTES, както и да бъде определено дали е налице разлика между алергичните към амброзия индивиди и здравите такива в периода извън поленовия сезон. Проби от периферна кръв бяха колекционирани от 24 алергични към амброзия индивиди и 12 здрави контроли. Серумните концентрации на хемокини/цитокини бяха измерени чрез ELISA. Бяха отчетени значително занижени концентрации на CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β и CCL5/RANTES в серумите на алергични към амброзия пациенти в сравнение със здравите индивиди (32.2 vs. 106.4 pg/ml, 89.5 vs. 135.7 pg/ml, 63.4 vs. 119.2 pg/ml и 11.2 vs. 18.1 ng/ml, съответно, $p < 0.01$). За разлика от СС-хемокините, серумните нива на IL-8/CXCL8 бяха значително завишени ($p < 0.05$) при групата алергични индивиди в сравнение с контролите. Бяха отчетени сходни нива на интерлевкин-4 при двете изследвани групи. При алергичните пациенти бяха отчетени значително по-високо количество амброзия-специфични ИгЕ и ИгГ антитела. Въпреки това, понижените серумни концентрации на четири СС-хемокина и завишените нива на IL-8/ CXCL8 могат да бъдат използвани като биомаркери за по-точна оценка на алергичния статус на пациенти с поленова алергия извън активния поленов сезон, за изследване механизмите на активиране/инхибиране на субклиничните алергични отговори и развитие на терапевтични стратегии.

6. Zhelev I., **Batsalova T.**, Georgieva L., Dzhambazov B., Stoyanova A., Dimitrova-Dyugerova I. 2016. Chemical composition, cytotoxicity and antioxidant activity of essential oil from *Vitex agnus-castus* fruits, growing in Bulgaria. *Oxidation Communications* 39, 1-I: 145-156. (Импакт фактор за 2015/2016г. – 0.489)

Резюме: Етерични масла от плодовете на растението *Vitex agnus-castus* L. бяха получени чрез водна дестилация и анализирани чрез газ хроматография. Идентифицирани бяха 35 компонента при пробата, изолирана от плодов материал от Южна България, с 1% съдържание на масло и основни съставки: 1.8-cineole (20.39%), α -pinene (15.12%), β -pinene (9.40%), (Z)- β -farnesene (6.88%), bicyclogermacrene (6.08%), β -caryophyllene (5.27%) и terpinyl acetate (4.13%). Тридесет и три компонента бяха идентифицирани при етеричното масло от плодове от Северна България, с 0.5% съдържание на масло и основни компоненти: (Z)- β -farnesene (16.38%), bicyclogermacrene (12.26%), limonene (7.51%), α -pinene (6.24%), germacrene (4.12%), eicosane (4.03%), heneicosane (3.97%), β -pinene (3.99 %) и nonadecane (3.66%). Беше изследвана цитотоксичността на етеричното масло от Южна България спрямо 3 аденокарциномни клетъчни (LS180, HeLa, A549), както и нормална амниотична клетъчна линия. Отчетен беше цитотоксичен ефект спрямо всички 4 клетъчни линии като най-висока чувствителност демонстрираха HeLa клетките. При анализ на антиоксидантната активност ABTS тестът показва по-добри резултати от DPPH теста.

7. Georgiev Y. N., Paulsen B. S., Kiyohara H., Ciz M., Ognyanov M. H., Vasicek O., Rise F., Denev P. N., Lojek A., **Batsalova T. G.**, Dzhambazov B. M., Yamada H., Lund R., Barsett H., Krastanov A. I., Yanakieva I. Z., Kratchanova M. G. 2017. *Tilia tomentosa* pectins exhibit dual mode of action on phagocytes as β -glucuronic acid monomers are abundant in their rhamnogalacturonans I. *Carbohydr Polym.*, 175:178-191. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.07.073. (Импакт фактор за 2017/2018 г. - 5.158)

Резюме: Цветовете на сребролистната липа съдържат различни пектини (PSI-PSIII) с имуномодулаторни свойства. PSI е слабо естерифициран пектинов полизахарид с преобладаващ хомогалактуронанов регион, след който се разполагат рамно-галактуронан I (RGI) с арабиногалактан II и RGII домени. PSII и PSIII са необичайни глюкуронидирани RGI полимери. PSIII е уникален високомолекулен RGI с почти изцяло O-3глюкуронидирани GalA единици с >30% O-3 ацетилиране на Rha остатъци. Липовите пектини предизвикаха продукция на реактивни кислородни радикали (ROS) и NO при нестимулирани фагоцити, но потиснаха OZP (опсонизирани зимозанови частици)-активираната продукция на ROS, LPS-индуцираната iNOS експресия и NO продукция. Този двустранен модел на действие предполага антивъзпалителна активност, която е доказана при екстрактите от сребролистна липа. PSI показва най-високо ниво на фиксация на комплемента, стимулираща активност по отношение на макрофаги и прояви активност спрямо интестинални клетки, изолирани от Пайерови плаки. За PSIII беше отчетена активност спрямо нестимулирани неутрофили, индицирайки експресия на β 2-интегрин, което демонстрира, че ацетилираните и високо глюкуронидираните RGI проявяват имуномодулаторни свойства на фагоцитно ниво.

8. Georgiev Y. N., Ognyanov M. H., Kiyohara H., **Batsalova T. G.**, Dzhambazov B. M., Ciz M., Denev P. N., Yamada H., Paulsen B. S., Vasicek O., Lojek A., Barsett H., Antonova D., Kratchanova M. G. 2017. Acidic polysaccharide complexes from purslane, silver linden and lavender stimulate Peyer's patch immune cells through innate and adaptive mechanisms. *Int J Biol Macromol.*, 105 (Pt 1):730-740. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.07.095. (Импакт фактор за 2017/2018 г. - 3.909)

Резюме: Публикацията представя проучване върху три полизахаридни проби (ПЗП), изолирани от надземни части на обикновена тученица (*Portulaca oleracea* L.) и от цветове на лавандула (*Lavandula angustifolia* Mill.) и сребролистна липа (*Tilia tomentosa* Moench) чрез екстракция в кипяща вода и преципитация с етанол. Химичния състав и имуномодулиращите ефекти на изолираните полизахариди бяха характеризирани. Беше установено, че трите проби съдържат основно пектинови полизахариди. При концентрация 100 μ г/мл те изявиха *ex vivo* имуномодулаторна активност, отчетена чрез пролиферационен тест с клетки, изолирани от миши Пайерови плаки. Заедно с това, изследваните полизахариди показаха *ex vivo* стимулиращ ефект върху човешки Т-клетъчни популации ($CD4^+/CD25^+$ и $CD8^+/CD25^+$), фагоцитиращи левкоцити ($CD14^+$ и $CD64^+$) и индуцираха продукция на интерлевкин-6 при човешки левкоцити и клетки от Пайерови плаки. Билковите ПЗП стимулираха *ex vivo* ROS продукция от изолирани от кръв фагоцити и проявиха неспецифична анти-пролиферативна активност спрямо нормални и туморни клетъчни линии.

9. **Batsalova T.**, Bardarov K., Bardarov V., Moten D., Dzhambazov B. 2017. Cytotoxic properties of *Clinopodium vulgare* L. extracts on selected human cell lines. *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*, 70 (5): 645-650. (Импакт фактор за 2017 г. – 0,27)

Резюме: Научната статия изяснява *in vitro* ефекти, които бяха отчетени при панел от клетъчни линии, третирани с подкислен, алкализирани или липофилни екстракти от медицинското растение *Clinopodium vulgare* L. При проведените изследвания беше анализирана *in vitro* цитотоксичността на екстрактите чрез МТТ тестове, използвайки клетъчните линии CaOV, HeLa, HT-29 и FL. Беше установено, че два от екстрактите (подкисленият и липофилният) проявяват избирателна цитотоксична активност спрямо CaOV (IC₅₀: 225–260.86 µg/mL) и HeLa (IC₅₀: 360.27–388.5 µg/mL). Всички изследвани екстракти не оказваха цитотоксично действие върху HT-29 клетки и нераковите FL клетки. Тези резултати показват, че екстрактите от *Clinopodium vulgare* притежават избирателна противоракова активност и могат да се използват като източник на вещества с терапевтичен антитуморен потенциал.

10. Teneva I., Klaczkowska D., **Batsalova T.**, Kostova Z., Dzhambazov B. 2016. Influence of captopril on the cellular uptake and toxic potential of microcystin-LR in non-hepatic adhesive cell lines. *Toxicon*, 111: 50-57. (Импакт фактор за 2015/2016 г. – 2.309)

Резюме: Публикацията представя проучвания върху ролята на мембранни транспортни протеини за цитотоксичния ефект на микроцистин-LR (MC-LR). За целта бяха проведени МТТ и Неутрал ред тестове с три клетъчни линии - A549 (човешка белодробна карцинома), SK-Nep-1 (човешка чернодробна карцинома), FL (човешки амниотични клетки), при които бяха използвани два инхибитора на транспортери за органични анионни полипептиди /OATP/ (циклоспорин А и каптоприл). Заедно с това, беше проведено оцветяване на клетъчните митохондрии с флуоресцентното багрило JC-1. Беше отчетен доза-зависим цитотоксичен ефект при всички тествани клетъчни линии, като този ефект беше най-силно изразен при A549 клетките. Цитотоксичен ефект не бе налице, когато каптоприл бе добавен към клетките 2 часа преди третиране с MC-LR. От друга страна, беше установено засилване на цитотоксичния ефект при добавяне на каптоприл 2 часа след третиране на клетките с MC-LR. Беше доказано редуциране на митохондриалния мембранен потенциал след третиране с MC-LR и при трите клетъчни линии. Резултатите от Неутрал ред тестовете за цитотоксичност показаха, че MC-LR не повлиява клетъчните лизозоми.

11. Ivanova A., Mikhova B., **Batsalova T.**, Dzhambazov B., Kostova I. 2011. New furostanol saponins from *Smilax aspera* L. and their *in vitro* cytotoxicity. *Fitoterapia*, 82(2): 282-287. (Импакт фактор за 2011 г. – 1.848)

Резюме: Статията разкрива наличието на два нови фураностанолови сапонина ((25S)-26-O-β-D-глюкопиранозил-5β-фураностан-1β,3β,22α,26-тетраол-1-O-β-D-глюкопиранозид и (25S)-26-O-β-D-глюкопиранозил-5β- фураностан-1β,2β,3β,5β,22α,26-хексаол) и други известни вещества ((25S)-26-O-β-D-глюкопиранозил-5β-фураностан-3β,22α,26-триол-3-O-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-O-β-D-глюкопиранозил-(1→2)-O-β-D-глюкопиранозид и (25S)-26-O-β-D-глюкопиранозил-5β-фураностан-3β,22α,26-триол-3-O-β-D-глюкопиранозил-(1→2)-O-β-D-

глюкопиранозид, транс-ресвератрол, (+) катехин и (-) епикатехин) в ризомите на *Smilax aspera*. Всички сапонини бяха изолирани под формата на 22-ОМе производни, които бяха обект на интензивен спектроскопски анализ. Чрез МТТ и Неутрал ред тестове беше проучена цитотоксичната активност на изолираните фуростанолови сапонини спрямо човешки нормални амниотични клетки и клетки от човешка белодробна карциномна линия. Проведените *in vitro* експерименти отчетоха значителна цитотоксичност с IC₅₀ стойности в диапазона 32.98-94.53 µM.

12. Moten D., Batsalova T., Basheva D., Mladenov R., Dzhambazov B., Teneva I. 2018. Outer membrane efflux protein (OMEP) is a suitable molecular marker for resolving the phylogeny and taxonomic status of closely related cyanobacteria. *Phycological research*, 66 (1): 31-36. DOI: 10.1111/pre.12203. (Импакт фактор за 2017/2018 г. – 1,275)

Резюме: Целта на изследванията, описани в тази публикация, бе да дефинира възможността за използване на ефлуксия протеин на външната мембрана (ОМЕР) като молекулен маркер за изясняване филогенетичния и таксономичен статус на близко родствени цианобактерии. Бяха проведени филогенетични анализи, базирани на аминокиселинни секвенции на ОМЕР и ДНК секвенции на гена за 16S рРНК от 86 цианобактериални вида с напълно секвенирани геноми. Филогенетичните дървета, основани на ОМЕР секвенциите, показаха, че повечето цианобактериални видове, принадлежащи към различни родове, се групират в отделни клади. При сравнение на ОМЕР- и 16S рДНК-базирани филогенетични дървета беше установено, че ОМЕР е по-подходящ маркер за изясняване на филогенетичните връзки при цианобактерии.

13. Batsalova T., Basheva D., Bardarov K., Bardarov V., Dzhambazov B., Teneva I. 2019. Assessment of the cytotoxicity, antioxidant activity and chemical composition of extracts from the cyanobacterium *Fischerella major* Gomont. *Chemosphere*, 218: 93-103. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.11.097. (Импакт фактор за 2017/2018 г. - 4.427)

Резюме: Във връзка с тази публикация, бяха проведени *in vitro* анализи върху цитотоксичната, антиоксидантната и антигуморна активност на четири екстракта от *Fischerella major* Gomont. Заедно с това, бяха изследвани общото фенолно съдържание и потенциала за продукция на цианотоксини. Беше проведен GC/MS анализ, който идентифицира 45 вещества с различна химична структура и биологична активност. Във всички екстракти бе установено наличие на микроцистини и сакситоксини. *In vitro* тестове демонстрираха значителен концентрация- и доза-зависим цитотоксичен ефект върху различни клетъчни линии, култивирани за различен период от време (24, 48 и 72 ч.) в хранителна среда, съдържаща екстракт. Проведените изследвания доказаха за първи път биологичната активност на екстракти от *Fischerella major* Gomont, което определя този цианобактериален вид като интересен обект за следващи изследвания, включително оценка на екологичния риск (като продуцент на цианотоксини) и възможността за получаване на вещества с фармацевтично приложение.

14. Sredkova P., Batsalova T., Moten D., Dzhambazov B. 2020. Prebiotics can change the immunomodulatory properties of the probiotics. CEJ-00817-2017-02 (приета за печат през

2017 г.) – decision letter 103111. (Импакт фактор за 2019/2020 г. – 1.455 /Статията ще бъде публикувана в трета книжка на списанието за 2020 г./)

Резюме: При конкретното научно изследване беше изяснено, че метаболитни продукти от различни щамове *Lactobacillus brevis*, култивирани в присъствие на различни пребиотици, проявяват сходни имуномодулаторни свойства при здрави мишки и в условия на възпаление, при развитие на колаген-индуциран артрит (КИА). *Lactobacillus brevis* 3448 и *Lactobacillus brevis* 8429 бяха култивирани в хранителна среда, съдържаща четири различни пребиотика (ксилоолигозахариди, инулин, пектин и хитозан). Стерилни супернатанти, съдържащи различни метаболитни продукти от култивираните пробиотични щамове, бяха директно добавени към клетъчни култури, изолирани от имунизирани с колаген тип II мишки и неимунизирани такива (контролна група). В резултат, беше установено, че метаболитните продукти от ксилоолигозахариди понижават нивата на IFN- γ , IL-6, IL-17 и TNF- α както при култури от имунизирани мишки, така и при контролните клетки от неимунизирани мишки. За разлика от тях, метаболитните продукти от инулин, пектин и хитозан повишиха продукцията на тези цитокини, като най-високи нива бях отчетени за пектин. Секрецията на IL-10 не бе повлияна от изследваните пребиотици. Заедно с това, бяха установени изменения в популацията на макрофагите, които се различаваха между пробите от различните пребиотици. Също така, беше отчетено понижаване на общата Т-клетъчната популация в резултат от третиране с метаболитни продукти от пектин и хитозан, съчетано с нарастване на популациите на CD4⁺CD25⁺ регулаторни Т-клетки и CD8⁺CD279⁺ анергични Т-клетки. В обобщение, тези данни демонстрираха, че имуномодулаторните свойства на пробиотиците са видово-специфични и пребиотик-зависими.

НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ В СПИСАНИЯ БЕЗ ИМПАКТ ФАКТОР

15. **Batsalova T., Ivanova P., Antova P., Dzhambazov B.** 2016. Humoral autoimmune response against specific collagen type II epitopes in Bulgarian patients with rheumatoid arthritis. *J BioSci Biotechnol.* 5(1):45-52.

Резюме: Целта на публикуваните в тази статия проучвания бе анализ на КII епитоп-специфичния хуморален имунен отговор при субгрупа от български пациенти с РА. Бяха отчетени значително завишени нива на анти-КII антитела при пробите от пациенти с РА в сравнение със здрави индивиди и пациенти с друг тип автоимунно заболяване. Преобладаващата част от анти-КII антителата при български РА пациенти проявиха специфичност към U1 и J1 епитопите. При проведеното изследване също така беше установено, че D8 епитоп-специфичните антитела реагират спрямо тройноверижната структура на епитопа, поради което беше установено разпознаване както на нативната, така и на посттранслационно цитрулинираната форма на D8.

16. **Batsalova T., Kostova Z., Moten D., Teneva I., Dzhambazov B.** 2017. Serum levels of certain CC and CXC chemokines in birch pollen allergic individuals out of the pollen season. *Advances in Biology & Earth Sciences*, Vol.2, No.1, p. 22-33.

Резюме: Целта на изследването, описано в тази публикация, е проучване на серумните нива на CCL11/Eotaxin, CCL17/TARC, CCL22/MDC, CXCL1/GRO α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 и CXCL11/I-TAC извън поленовия сезон. Бяха установени значително завишени концентрации на CCL11/Eotaxin ($p<0.01$), CCL17/TARC ($p<0.01$), CCL22/MDC ($p<0.01$), CXCL9/MIG ($p<0.05$) и CXCL10/IP-10 ($p<0.05$) в серумите на пациенти с алергия към брезов полен в сравнение със здрави индивиди. За разлика от тях, серумните нива на CXCL1/GRO α бяха занижени ($p<0.05$) при групата от алергични индивиди. В допълнение, нивата на IFN- γ и IL-17 бяха значително повишени ($p<0.05$) в серумните проби от пациенти, страдащи от алергия към брезов полен. Тези резултати свидетелстват за продължителна Th17 активност при групата от алергични индивиди и роля на изследваните хемокини при субклиничните алергични отговори, което предоставя основа за развитие на нови терапии и стратегии за мониторинг на заболяването.

17. Sredkova P., Iliev I., Dzhambazov B., Batsalova T. 2017. Prebiotic Treatment Influence the Adhesion Properties of Three Lactobacillus strains. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci, 6(9): 2914-2924.

Резюме: Адхезията към интестинални клетки е често анализиран параметър при изследвания върху пробиотичния потенциал на определени видове бактерии. Изследванията, представени в тази публикация имаха за цел анализиране влиянието на пребиотици върху адхезията на три вида лактобацили (*Lactobacillus rhamnosus* 1010, *Lactobacillus acidophilus* 11 и *Lactobacillus paracasei* 8458). Чрез *in vitro* моделна система, базирана на клетъчни линии, изолирани от епител на дебело черво, беше определена способността за адхезия на трите бактериални вида след третиране с шест различни пребиотика (инулин, пектин, хитозан, галактоолигозахариди, ксилоолигозахариди и бета-глюкан). Резултатите от проведеното изследване демонстрираха значителна редуция на бактериалната адхезия след третиране с бета-глюкан и хитозан. Противоположен ефект беше отчетен при третираните с ксилоолигозахариди и галактоолигозахариди бактерии – по-добра способност за адхезия към ентероцито-подобни клетъчни линии. При третиране с инулин не беше отчетен ефект върху адхезията на лактобацилите. Като цяло, трите тествани бактериални вида демонстрираха сходни отговори спрямо третиране с пребиотици. Единствено, при третиране с пектин бяха отчетени видово-специфични ефекти – редуцирана адхезия на *L. rhamnosus* 1010 и *L. acidophilus* 11, несъществено повлияна адхезия при *L. paracasei* 8458. Тези резултати дават основание да бъде предположено, че различните типове пробиотични вещества индуцират различни механизми, модулиращи способността за адхезия и вероятно пробиотичната активност на представители от род *Lactobacillus*.

НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ В СБОРНИЦИ ОТ КОНФЕРЕНЦИИ И КОНГРЕСИ

18. Batsalova T., Moten D., Mateev B., Dzhambazov B. 2018. Effects of iron oxide (II, III) nanoparticles exposure: in vitro evaluation using algal and human cells. 18th International multidisciplinary scientific geoconference SGEM 2018, Conference proceedings, vol. 18, issue 6.1, pp. 177-183. DOI: 10.5593/sgem2018/6.1/S24.024. (SJR 0.21)

Резюме: Публикацията представя изследване върху *in vitro* цитотоксичността на наночастици от железен оксид (II, III) /ION/ спрямо различни типове клетки. Бяха използвани три човешки клетъчни линии (A549, HeLa, нормална неракова линия от дермални фибробласти) и култури от три вида микроводорасли (*Dunaliella salina*, *Chlamydomonas asymmetrica*, *Scenedesmus obtusiusculus*). Клетките бяха инкубирани за период от време 15 и 72 часа в хранителна среда, съдържаща наночастици в различни концентрации. *In vitro* цитотоксичността на ION беше анализирана чрез МТТ тестове. Резултатите от тях показаха значително редуциран растеж както на водораслови, така и на човешките клетки след 72 часа култивиране в присъствие на ION. Клетъчната продукция на АТФ беше редуцирана в резултат на третирането с ION. Наличието на наночастици в културалната среда беше асоциирано с понижена подвижност при клетките от вида *Dunaliella salina* and *Chlamydomonas asymmetrica*. Беше показано, че третирането с ION индуцира по-висока обща продукция на протеини при водораслови клетки, което предполага активиране на специфична реакция спрямо индуцираната от наночастици цитотоксичност.

19. Batsalova T., Moten D., Mateev B., Dzhambazov B. 2018. Biofunctionalized nanoparticles as diagnostic tools for autoimmune diseases. 18th International multidisciplinary scientific geoconference SGEM 2018, July 2-8, 2018. Conference proceedings, vol. 18, issue 6.1, pp. 83-89. DOI: 10.5593/sgem2018/6.1/S24.012. (SJR 0.21)

Резюме: Публикацията описва методика за ефективна биофункционализация на наночастици (ION) от железен оксид (II, III) с молекули, използвани за детекция на биомаркери за ревматоиден артрит (РА). Пречистени биофункционализирани ION бяха тествани със серумни проби от здрави индивиди, пациенти с ревматоиден артрит и проби от пациенти с друго аутоимунно заболяване. В резултат на това, чрез биофункционализирани ION бяха успешно детектирани РА-специфични биомаркери. Ефективността на проведената методика, базирана на наночастици, беше подобна на конвенционалния ензимно-свързан имуносорбентен тест. Тези резултати поставят основа за развитие на нов тип бързи и чувствителни диагностични тестове за аутоимунни заболявания.

УЧЕБНИЦИ И УЧЕБНИ ПОМАГАЛА

20. Джамбазов Б., Бацалова Ц. 2014. Практически занятия по Клетъчна биология (второ допълнено и преработено издание), 94 стр. Университетско издателство „Паисий Хилендарски“. ISBN 978-954-423-969-5.

Практическото ръководство по Клетъчна биология е предназначено за студенти от специалности “Биология” и “Медицинска биология” в Пловдивски университет “Паисий Хилендарски”, но може да се използва и от студенти по различни биологични направления и сродни специалности от други висши учебни заведения. В него се разглеждат теоретично и се демонстрират на практика основните структурни елементи на клетката и техните функции.

21. Бацалова Ц., Мотен Д., Джамбазов Б. 2020. Ръководство за лабораторни занятия по Животински клетъчни култури, 88 стр. Университетско издателство "П. Хилендарски". ISBN 978-619-202-590-8.

Ръководството е предназначено за практически занятия по дисциплините Животински *in vitro* култури, Клетъчни и тъканни култури, Животински клетъчни култури и хибридомни технологии, Стволови клетки и регенерация, както и по други биологически дисциплини, включващи приложение на техниките за *in vitro* култивиране на животински и човешки клетки. То представя методиките за поддържане на стерилност при работа с *in vitro* култури, както и основни техники за установяване на клетъчни линии, методиките за манипулиране и поддържане на животински и човешки клетки в култура.

II Самооценка на научните приноси

Приносите на представените материали за участие в конкурса за заемане на академичната длъжност “доцент” по научна специалност Клетъчна биология могат да бъдат групирани в няколко направления:

- 1) Приноси за анализ на автоимунния отговор и установяване клетъчно-молекулните механизми на автоимунните заболявания.
- 2) Приноси в областта на *in vitro* цитотоксикологията и анализ на биологична активност.
- 3) Приноси за изясняване ролята на различни типове хемокини при поленови алергии извън поленовия сезон.
- 4) Приноси за разрешаване таксономичния статус на цианобактериални видове.
- 5) Приноси за установяване ефекта на пребиотици върху имуномодулаторните свойства и адхезията на различни видове и щамове от род *Lactobacillus*.
- 6) Приноси в областта на бионанотехнологията – *in vitro* анализи на цитотоксичността на наночастици от железен оксид; биофункционализация на наночастици и разработване на методики за диагностика на автоимунни заболявания.
- 7) Приноси в областта на учебната дейност.

1) Приноси за анализ на автоимунния отговор и установяване клетъчно-молекулните механизми на автоимунните заболявания.

Имунната система защитава организма от патогени чрез уникалната си способност да различава собствени и чужди структурни компоненти. Тази способност се основава на комплексни взаимодействия, при които Т-лимфоцитите играят ключова роля в активирането или неактивирането на имунни реакции. Представените научни публикации по тази проблематика включват изясняване на клетъчно-молекулните механизми при автоимунното заболяване ревматоиден артрит и разработването на методи и средства за третиране и диагностика на това заболяване.

Ревматоидният артрит е системно аутоимунно заболяване, което се дължи най-често на нарушение в механизмите за изграждане на толерантност. В резултат на това се увеличава количеството на автореактивните Т-клетки, атакуващи основно ставите, но също и други части на организма.

Колаген тип II (КII) е считан за основен кандидат-автоантиген при патогенезата на ревматоиден артрит (РА). Той е главен структурен протеин в състава на ставния хрущял. По време на развитието на РА КII бива атакуван от антитела и Т-клетки. Експерименти с миши модели идентифицираха имунодоминантен Т-клетъчен епитоп от КII, както и няколко Б-клетъчни епитопа, разпознавани от по-голямата част КII-специфичните антитела. Беше доказано, че някои епитоп-специфични анти-КII антитела са артритогенни и имат роля за развитие на хроничен артрит. От друга страна, имунодоминантния Т-клетъчен КII епитоп може да бъде посттранслационно модифициран и е известно, че модифицираните му форми биха могли да участват в индукцията и/или поддържането на аутоимунния хуморален отговор и артритната патология. Например, беше доказано, че гликозилираният лизин на позиция 264 в този епитоп има централно значение за Т-клетъчното разпознаване и индукция на имунологична толерантност спрямо КII. Заедно с това, важна роля за имунологичната толерантност към КII има и генът *Ncf1*, който кодира една от субединиците на фагоцитния НАДФН оксидазен комплекс NOX2.

В **Публикация № 1** е изследвано влиянието на окислението върху ефективността на имуноспецифична ваксинация с комплекси от МНС клас II молекула и гликозилиран КII пептид. Проведените експерименти демонстрираха, че нормалните нива на реактивни кислородни радикали (ROS) допринасят за установяване на имунологична толерантност и предотвратяване развитието на артрит, тъй като само миши модели с функционален *Ncf1* ген не развиват колаген-индуциран артрит (КИА) след ваксинация с комплекси от гликозилиран КII259-273 пептид и МНС клас II молекули. Трансферът на Т-клетки от ваксинирани мишки с функционален *Ncf1* протеин води до потискане на клиничните симптоми на артрит при B10.Q мишки, докато при мутантна по *Ncf1* миша линия (*Ncf1*^{*/*}) се наблюдава значително по-слаб ефект, което изяснява, че ROS модифицират вторичния, а не първичния имунен отговор. Заедно с това, публикацията изяснява, че по време на първичния отговор спрямо ваксинация с гликозилиран КII259-273 пептид и МНС клас II молекули както при *Ncf1* мутантни мишки, така и при див тип B10.Q мишки са налице регулаторни Т-клетки, повишено ниво на негативни костимулатори молекули и активизиращи цитокини, което обяснява наличието на независим от ROS ваксинационен ефект.

Получените при тези изследвания резултати могат да намерят приложение при третиране на пациенти с ревматоиден артрит, тъй като гликозилираната форма на пептида КII259-273 се свързва към човешките МНС II молекули (DR1 и DR4). Освен това при пациенти с ревматоиден артрит са установени специфично реагиращи спрямо този пептид Т-клетки.

С цел увеличаване чувствителността на съществуващите „хуманизиран“ миши модели за изследване на ревматоиден артрит при човека е създаден нов „хуманизиран“ миши модел (щам B10.DR4.*Ncf1*^{*/*}) чрез въвеждане на ген (*Ncf1*^{*/*}), усилващ податливостта към аутоимунни заболявания (**Публикация № 2**). Проведен е сравнителен анализ, който показва,

че С1-специфичните анти-КП антители доминират при А^q-експресиращия модел В10.Q в сравнение с антителата срещу останалите два КП В-клетъчни епитопа (U1, J1). При В10.DR4.Ncf.1^{*/*} модела доминират С1- и U1-специфичните анти-КП антители. Установено е, че немодифицираният СII259-273 епитоп от колаген тип II има основна роля за активиране на КП-специфични патогенни Т-клетки при развитие на колаген-индуциран артрит, когато експресираният *in vivo* МНС II хаплотип е DR4, като активацията на DR4-рестриктираните КП-специфични Т-клетки зависи основно от лизиновият остатък на позиция 264 от КП259-273 епитопа, който се разпознава както в немодифицирана, така и в хидроксилираната си форма.

Посттранслационните модификации на протеините имат изключително значение за индуцирането и патогенезата на редица автоимунни заболявания, включително РА. Приносът на **Публикация № 3** е свързан с разработване на методология за изследване на взаимодействията между гликозилирани пептиди и рецептори на базата на комбинация от структурно-базиран виртуален скрининг, лиганд-базиран статистически молекулен дизайн и биологични изследвания. Методологията включва дизайн на КП259-273 гликопептидна библиотека, в която са варирани две ключови позиции от решаващо значение за свързване с А^q и DR4 молекулите. Синтезът и биологичната оценка на разработените гликопептиди, дават възможност за установяване на взаимовръзката структура-активност (SAR) и за разбиране на начина на свързване с А^q и DR4. Подбрани са групи от гликопептиди с различен отговор, които са от голям интерес за провеждане на изследвания свързани с колаген-индуциран артрит по отношение на разработването на специфични ваксини. Взаимовръзката структура-активност (SAR) установена при направеното проучване предоставя платформа за разработването на второ поколение гликопептиди с определен МНС II афинитет и Т-клетъчни отговори. Тази стратегия може да се прилага за дизайн на нови лиганди за всякакъв тип протеин-лиганд система, за които има установен структурен модел.

Структурният анализ на представяните антигени от МНС клас II протеините е от изключителна важност за изясняване същността и възможностите за лечение на РА. В **Публикация № 4** са използвани (Е)-алкен- и етилен-амидно свързани изостери за изследване на ефекта от премахване на възможностите за формиране на водородни връзки от страна на КП259-270 гликопептида, който се свързва с миши А^q МНС клас II молекулите при развитие на КИА. Установено е, че динамичната промяна в начините и силата на взаимодействие на КП259-270 с МНС клас II е от критично значение за сигналната система МНС клас II – пептид – Т-клетъчен рецептор.

В **Статия № 15** за първи път е публикуван анализ на КП-специфичния хуморален имуен отговор при български пациенти с ревматоиден артрит. Доказани са значително завишени нива на анти-КП антители при РА пациентите в сравнение със здрави индивиди и пациенти с друг тип автоимунно заболяване. Изяснено е, че преобладаващата част от анти-КП антителата при български РА пациенти проявяват специфичност към U1 и J1 имунодоминантните В-клетъчни епитопа. Заедно с това е установено разпознаване на тройноверижната структура на D8 епитопа и наличие на реактивност както спрямо нативната, така и спрямо посттранслационно цитрулинираната му форма.

2) Приноси в областта на *in vitro* цитотоксикологията и анализ на биологична активност.

Изясняването на цитотоксичността и биологичната активност на екстракти, етерични масла и пречистени нови молекули от различни растителни видове и микроводорасли е актуална научна област с висок потенциал за идентифициране на нови кандидат-лекарствени агенти и разработване на хранителни добавки с благоприятно действие върху имунната система и общото състояние на организма. Принос в това направление имат **Публикации № 6, 7, 8, 9, 11, 13.**

Статия №6 дефинира състава на етерични масла, изолирани от плодовете на растението *Vitex agnus-castus* L, развиващо се в Южна и Северна България. За първи път е изследвана антиоксидантната активност на етеричното масло от Южна България и *in vitro* цитотоксичността му спрямо човешки клетъчни линии. Най-високо ниво на токсичност бе отчетено спрямо аденокарциномната клетъчна линия HeLa, което стимулира допълнителен анализ на изследваната проба и пречистване на биологично активни молекули с цел приложение при терапията на рак на шийката на матката.

В **Публикация №7** за първи път се доказват имуномодулиращите свойства на пектини, изолирани от цветове на сребролистна липа (*Tilia tomentosa*). Характеризиран е химичния състав на три липови полизахарида. Показано е, че изолираните пектини предизвикват продукция на реактивни кислородни радикали (ROS) и NO при нестимулирани фагоцити, но потискат OZP (опсонизирани зимозанови частици)-активираната продукция на ROS, LPS-индуцираната iNOS експресия и NO продукция – двустранен модел на действие, който предполага антивъзпалителна активност

Публикация №8 представя нови знания за химичната и биологичната активност на три полизахаридни проби (ПЗП), изолирани от надземни части на обикновена тученица (*Portulaca oleracea* L.) и от цветове на лавандула (*Lavandula angustifolia* Mill.) и сребролистна липа (*Tilia tomentosa* Moench). Получените резултати доказват имуномодулаторните свойства на изследваните полизахариди и предоставят перспектива за приложение на тези вещества при терапии, стимулиращи и поддържащи дейността на имунната система.

Растенията от семейство *Lamiaceae* са често използвани като източник на нови фармацевтични препарати, поради широкоспектърната им биологична активност. Във връзка с това, **Публикация №9** изяснява *in vitro* ефекти върху панел от клетъчни линии, третирани с подкислен, алкализирани или липофилни екстракти от медицинското растение *Clinopodium vulgare* L. Докладваните резултати показват, че подкисленият и липофилният екстракт от *Clinopodium vulgare* притежават избирателна противоракова активност спрямо HeLa и CaOV клетки и могат да се използват като източник на вещества с терапевтичен антитуморен потенциал.

Стероидните сапонини притежават редица биологични активности като хемолитична активност, антидиабетна, антисъсирваща и антитуморна активност, както и формиране на комплекси с холестерина. В **Публикация №11** е изследвана биологичната активност на два новоизолирани фуростанолови сапонина от *Smilax aspera* (*Liliaceae*), като са тествани за цитотоксичност върху човешки нормални амниотични клетки и човешки белодробни

карциномни клетки чрез МТТ и NR. Резултатите показват значителна цитотоксичност с доза-зависим ефект и IC₅₀ стойности в границите на 32.98-94.53 μM.

Микроводораслите, в това число представителите на отдел *Cyanoprokaryota*, са известни като богат източник на биологично активни пептиди, макролиди, алкалоиди, фунгициди и ензимни инхибитори с терапевтично приложение. Напоследък все по-голямо внимание се отделя на цианопрокарите като потенциални източници на фармацевтични продукти с различна структура и биологична активност, включително цитотоксичност, имуносупресия, антипролиферативна активност, както и антитуморна активност.

Статия №13 съобщава за първи път биологичната активност на екстракти от *Fischerella major* Gomont. Представя се анализ на цитотоксичната, антиоксидантната и антитуморна активност, съдържание на цианотоксини на четири различни екстракта. Получените данни определят този цианобактериален вид като интересен обект за следващи изследвания, включително оценка на екологичния риск (като продуцент на цианотоксини) и възможността за получаване на вещества с фармацевтично приложение.

Микроцистин-LR (MC-LR) представлява токсин, който се синтезира от много цианобактериални видове. Неговата цитотоксичност се дължи на инхибиране на протеиновите фосфатази PP1 и PP2A, водещо до хиперфосфорилиране на редица функционални и цитоскелетни протеини. За да навлезе в клетката, MC-LR преминава плазмалемата през специфични транспортери като транспортера за органични анионни пептиди (OATP), който активно се експресира на повърхността на хепатоцити. Каптоприл е ефективен инхибитор на OATP *influx* мембранни транспортни протеини, както и на P-gp *efflux* помпите, участващи в транспорта на MC-LR. **Публикация №10** доказва за първи път защитен ефект на каптоприл по отношение токсичния потенциал на MC-LR.

3) Приноси за изясняване ролята на различни типове хемокини при поленови алергии по време на и извън поленовия сезон.

Поленовата алергия е една от най-често срещаните алергии в световен мащаб и се свързва с кръстосана реактивност на IgE. Този тип алергия може да причини развитие на свръхчувствителност и към растителни храни, предизвиквайки първична сенсибилизация на чувствителни индивиди, което от своя страна да доведе до крос-реактивност и вторична алергия към храни от растителен произход.

Хемокините играят основна роля при регулацията на клетъчния трафик по време на имунните отговори. При индивидите с поленова алергия значението на хемокините е изследвано главно по време на активните алергични реакции. Малко е известно за нивата на хемокините и ефекта им върху имунния отговор извън поленовия сезон, когато алергичните индивиди не проявяват клинични симптоми. Информация по тази научна проблематика предоставя **Публикация №5**, в която е представен анализ на серумните концентрации на CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1α, CCL4/MIP-1β и CCL5 RANTES и IL-8/ CXCL8 при алергични към амброзия пациенти в сравнение със здравите индивиди извън активния поленов сезон. Отчетени са понижени концентрации на CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1α, CCL4/MIP-1β и CCL5 RANTES и завишените нива на IL-8/ CXCL8, поради което посочените хемокини могат да

бъдат използвани като биомаркери за по-точна оценка на алергичния статус на пациенти с поленова алергия извън сезона, за изследване механизмите на активиране/инхибиране на субклиничните отговори и развитие на терапевтични стратегии.

Публикация №16 представя проучване на серумните нива на CCL11/Eotaxin, CCL17/TARC, CCL22/MDC, CXCL1/GRO α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 и CXCL11/I-TAC при алергични към брезов полен индивиди извън поленовия сезон. Измерени са значително завишени концентрации на CCL11/Eotaxin ($p < 0.01$), CCL17/TARC ($p < 0.01$), CCL22/MDC ($p < 0.01$), CXCL9/MIG ($p < 0.05$) и CXCL10/IP-10 ($p < 0.05$), както и е отчетена Th17 активност в серумите на пациенти с алергия към брезов полен в сравнение със здрави индивиди. Получените данни предоставят основа за развитие на нови терапии и стратегии за мониторинг на този тип алергия.

4) Приноси за разрешаване таксономичния статус на цианобактериални видове.

В продължение на дълъг период от време, таксономията на цианобактериите представлява съществен научен проблем, поради тяхната проста морфология, висока вариабилност и адаптивност към разнообразни екологични ниши. След въвеждане на полифазния подход, базиран на комбинация от няколко критерия (молекулярни изследвания /секвениране/, морфологични и екологични критерии), цялата класификационна система на тези организми се превърна в обект на реорганизация. По отношение на тази научна проблематика, **Публикация №12** допринася за изясняване на нови биомаркери, базирани на полифазния подход. Научният труд представя филогенетични анализи, базирани на аминокиселинни секвенции на ефлуксия протеин на външната мембрана (ОМЕР) и ДНК секвенции на гена за 16S рРНК от 86 цианобактериални вида с напълно секвенирани геноми и доказва, че ОМЕР е по-подходящ маркер за изясняване на филогенетичните връзки при цианобактерии.

5) Приноси за установяване ефекта на пребиотици върху имуномодулаторните свойства и адхезията на различни видове и щамове от род *Lactobacillus*.

Положителните ефекти от прием на пребиотици и пребиотици се дължат главно на модулиране на състава и активностите на чревната микробиота, както и модулиране на имунологичната реактивност при автоимунни заболявания. **Публикация №14** доказва, че имуномодулаторните свойства на пробиотични бактериални щамове са видово-специфични и пребиотик-зависими. Предоставя се нова информация за ролята на метаболитни продукти от щамове *Lactobacillus brevis*, култивирани в присъствие на различни пребиотици. Изяснява се, че метаболитните продукти от ксилоолигозахариди понижават нивата на IFN- γ , IL-6, IL-17 и TNF- α при култури от имунизирани мишки и при контролни левкоцитни култури. За разлика от тях, метаболитните продукти от инулин, пектин и хитозан повишават продукцията на тези цитокини. Секрецията на IL-10 не се повлиява от изследваните пребиотици. Заедно с това, на база на проведен имунофенотипен анализ е доказано понижаване на общата Т-клетъчната популация в резултат от третиране с метаболитни продукти от пектин и хитозан, съчетано с нарастване на популациите на CD4⁺CD25⁺ регулаторни Т-клетки и CD8⁺CD279⁺ анергични Т-клетки.

Адхезията към интестинални клетки е често анализиран параметър при изследвания върху пробиотичния потенциал на определени видове бактерии. Във връзка с това, **Публикация №17** допринася за изясняване влиянието на различни типове пребиотици върху адхезионните способности на пробиотични видове лактобацили. Съобщава се за негативен ефект върху бактериалната адхезия след третиране с бета-глюкан и хитозан, докато третиране с ксилоолигозахариди и галактоолигозахариди подобрява адхезия на лактобацили към ентероцито-подобни клетъчни линии.

б) Приноси в областта на бионанотехнологията – *in vitro* анализи на цитотоксичността на наночастици от железен оксид; биофункционализация на наночастици и разработване на методики за диагностика на автоимунни заболявания.

Наночастиците (ION) от железен оксид (II, III) имат широко биомедицинско и индустриално приложение (напр., при разработване на генни терапии, методики за маркиране и проследяване на клетки, визуализация чрез магнитен резонанс, терапии за насочено въвеждане на лекарства, *in vitro* диагностични тестове, адсорбенти за третиране на отпадни води, наноадюванти за продукцията на ваксини и антитела, специфични покрития, магнитни записващи устройства, газови сензори, магнитни устройства за съхранение на данни и т.н.). Поради това, налице е необходимост от повече информация относно потенциалните токсични ефекти на ION. В тази област, принос има **Публикация №18**, която дефинира *in vitro* цитотоксичността на наночастици от железен оксид (II, III) /ION/ спрямо различни типове човешки и микроводораслови клетки. Получените резултати показват значително редуцирани клетъчен растеж и продукция на АТФ под влияние на третирането с ION, както и понижена подвижност при клетките от вида *Dunaliella salina* and *Chlamydomonas asymmetrica*. Установено е, че ION индуцират по-висока обща продукция на протеини при водораслови клетки, което предполага активиране на специфична реакция спрямо индуцираната от наночастици цитотоксичност. Резултатите, представени в тази статия дефинират цито- и екоотоксикологичния потенциал на ION и доказват необходимостта от по-детайлно проучване на биологичната им активност.

Автоимунните заболявания засягат средно между 3 и 5% от населението в световен мащаб. За преобладаващата част от тях няма ефективно лечение, поради което засегнатите пациенти са обречени на доживотно страдание и необходимост от медицински грижи. Тези факти определят значителната социална и икономическа тежест на автоимунните заболявания за съвременното общество, сходна с тази на раковите и сърдечно-съдовите заболявания. Точната диагноза на специфичен автоимунен отговор е от критично значение за адекватната терапия на пациента. Затова, активно се работи върху усъвършенстването и повишаване специфичността на диагностичните тестове за автоимунни заболявания. Ново направление в тази насока са биофункционализираните наночастици. Във връзка с това, **публикация №19** допринася за развитие на нов тип бързи и чувствителни диагностични тестове за ревматоиден артрит. Разработена е методика за ефективна биофункционализация на наночастици (ION) от железен оксид (II, III) с молекули, използвани за детекция на биомаркери за РА. Получените

модифицирани наночастици специфично свързват и доказват наличието диагностични маркери за РА в серумни проби.

7) Приноси в областта на учебната дейност.

Представени са две ръководства (**Трудове №20 и 21**) за практически занятия съответно по Клетъчна биология и Животински клетъчни култури, предназначени за студенти от различни биологични специалности на Пловдивски университет “Паисий Хилендарски”. Те са съобразени с учебната програма на студентите и броя учебни часове, но може да се използват и от студенти по различни биологични направления и сродни специалности от други висши учебни заведения.

В учебното помагало по Клетъчна биология се разглеждат теоретично и се демонстрират на практика основните структурни елементи на клетката и техните функции. Представени са класически и нови методики за изследване на клетъчните структура и процеси.

Учебното помагало по Животински клетъчни култури запознава студентите с методиките за поддържане на стерилност при работа с *in vitro* култури, както и с основните техники за установяване на клетъчни линии, методиките за манипулиране и поддържане на животински и човешки клетки в култура.

гр. Пловдив,

2020 г.

Изготвил:

/гл. ас. д-р Цветелина Бацалова/