

## РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд „Фармакологични аспекти на модулаторни и низходящи моторни отговори в ректоанална област” за придобиване на образователната и научна степен „доктор”

*Автор:* д-р Галя Цветанова Ставрева–Маринова

*Рецензент:* проф. д-р Анна Белчева Беровна, дмн  
Катедра по предклинична и клинична фармакология и токсикология  
Медицински университет – Варна

Д-р Галя Цветанова Ставрева– Маринова е родена през 1961 г. Завършила е средно образование в Математическата гимназия гр. Плевен през 1979 г. и висше по медицина във ВМИ – Плевен през 1985 г. От 1985 г. до 1990 г. работи като ординатор във Вътрешно отделение на Районна болница гр. Никопол. През 1990 г. е избрана за асистент в Катедрата по фармакология при ВМИ – Плевен, от 1995 г. е старши асистент, а от 2000 г. главен асистент Има призната специалност по фармакология от 2003 г. Д-р Ставрева е специализирала съвременни дидактически технологии, методики за физиологично-фармакологично охарактеризиране на дейността на висцерални мускули, имунохистохимични методи.

Дисертационният труд на д-р Ставрева е посветен на проучвания за ролята на отделни невротрансмитерни системи и на тяхното фармакологично повлияване върху моториката на ректоаналната област. Проблемът е *актуален*, тъй като нарушенията в двигателната активност на дисталния отдел на стомашно-чревния тракт засягат около 10% от хората, а усилията за овладяване на нарушенията в процесите на коптиненция и евакуация имат все още ограничен успех. Напредък в решаването на този проблем е принос, както за научните изследвания, така и за клиничната практика в здравен и социален аспект.

Представеният дисертационен труд обхваща 174 страници и е структуриран както следва: въведение – 2 страници, литературен обзор – 47 страници, цел задачи и методични подходи – 11 страници, резултати от проучването – 74 страници, обсъждане на резултатите – 38 страници, изводи – 2 страници, заключение – 3 страници, приноси на дисертационния труд – 1 страница и библиография – 20 страници. Онагледен е с 49 фигури и 9 таблици.

*Литературният обзор* е написан с вещина и представя проблема на високо ниво. Библиографията включва 369 литературни източника, от които 8 на кирилица. Трябва да се отбележи, че 40% от посочените публикации са от последните 10 години. Правят впечатление и най-ранни публикации върху проблема от 1877 г., 1899 г., 1912 г. Обзорът е обособен в пет основни раздела В първия раздел са описани структурата и организацията на гладката мускулатура в стомашно-чревния тракт, нейната електрическа активност и механизма на гладкомускулното съкращение. Във втория раздел е представена инервацията на стомашно-чревния тракт. Разгледани са парасимпатиковата и симпатикова инервация и ентералната нервна система. В третия раздел са представени моторните рефлексии, които са

в основата на нормалното двигателно поведение на червата: възходящ и низходящ инхибиращ рефлекс, както и описания наскоро низходящ възбуждащ рефлекс. В четвъртия раздел са представени основните невротрансмитерни системи в стомашно-чревния тракт: холинергичната, нитрергичната, пуринергичната и тахикинергичната невротрансмисия. В петия раздел подробно са разгледани двигателна активност и невротрансмисия в ректоаналната област. Заслужава да се отбележи строгата насоченост на обзора към разглеждания проблем и той представя д-р Ставрева като многостранно отлично подготвен изследовател. Обзорът е онагледен с 5 фигури, на които коректно са посочени източниците, от които са адаптирани.

*Целта* на изследването е логично изведена от данните на литературния обзор. Поставени са осем *основни задачи*, които са ясно и точно формулирани.

Подробно са представени използваните *методични подходи* за реализиране на поставените задачи: електрическа полсва стимулация, раздуване на ректума с балон, единична и двукамерна органични вани, морфологични изследвания. За проучванията са използвани общо 130 мъжки шибредни нормотензивни плъхове порода Wistar, Опитите са осъществени в съответствие с изискванията на Комисията по етика на научно-изследователската дейност на Института по невробиология при БАН. Изследванията са проведени в лабораторията „Периферни синапси“ и лабораторията „Функционална невроанатомия“ при Института по невробиология на БАН.

*Експериментите* са проведени *in vitro* върху изолирани гладкомускулни сегменти от ректум и анален сфинктер на плъх и върху цялостен аноректум, състоящ се от ректум и анален канал. Препаратите са с интактни нервни плексуси и гладка мускулатура, без отстранена мукоза. *Имунохистохимични и хистохимични изследвания* са проведени за доказване наличието на нервни структури съдържащи холинацетилтрансфераза, никотин-амид аденин динуклеотид фосфат-диафороза, субстанция Р и аденозин трифосфат- синтаза в ректоаналната област на плъх. Описаните методи са подходящо илюстрирани с 2 фигури и 2 таблици.

Статистическата обработка на данните е извършена перфектно, с подходящи методи. Особено прецизното представяне на механографските записи е резултат на удачно използвания програмен продукт.

*Резултатите* от проучването са описани изчерпателно и точно в 5 раздела. В раздел 1. са представени модулните моторни отговори на изолирани *циркулярни гладкомускулни ринг-препарати* от ректум, анален канал и вътрешен анален сфинктер. Установено е, че тези препарати проявяват спонтанна моторна активност, като амплитудите се увеличават в анална посока и са доминиращи в аналния канал. Препаратите от вътрешен анален сфинктер развиват устойчив спонтанен тонус с насложени фазични съкращения. Амплитудите на електрически-предизвиканите честотно-зависими модулари съкращения на ринг-препаратите нарастват в дистална посока. Моторните отговори на дистален ректум превишават тези на аналния канал. М-холиноблокерт атропин намалява амплитудите на електрически предизвиканите модулари моторни отговори на ринг-препаратите от ректум и анален канал и повишава амплитудата на релаксация на вътрешния анален сфинктер.

Блокерът на азотоксидната синтаза NG-nitro-L-arginine (L-NNA) увеличава амплитудата на съкращения на ринг-препаратите от ректум и анален канал и намалява амплитудата на релаксация на вътрешния анален сфинктер. Донорът на азотен оксид L-arginine (L-arg) има обратен ефект.

В раздел 2. са проучени моторните отговори на *ивици лонгитудинална мускулатура*. Амплитудите на електрически-индуцираните съкращения при тях са значимо по-големи от моторните отговори на ринг-препаратите от циркулярната мускулатура. Данните на авторката показват още, че в лонгитудиналната мускулатура холинергичната медиация превалява над нитрергичната.

В раздел 3. са представени моторните отговори на *цялостен аноректум*. Резултатите сочат, че локалните електрически-индуцирани моторни отговори в цялостен препарат на аноректум са твърде сходни с тези на модулариите моторни отговори наблюдавани в ринг-препарати от циркулярна мускулатура, вътрешен анален сфинктер, анален канал и в ивици от лонгитудинална мускулатура. Това дава основание на д-р Ставрева да предположи участието на едни и същи нервни мрежи в тяхното реализиране. Низходящите моторни отговори на вътрешния анален сфинктер и апалния канал в цялостен аноректум са проследени при електрическа стимулация и при разтягане на стената на ректума. Електрически-индуцираните отговори на вътрешния анален сфинктер са проучени при въздействие с блокера на P2Y-пуринергичните рецептори cibacron blue и с неселективния P2 рецепторен антагонист suramin. В апалния канал тези отговори са изучени при въздействие с агенти повлияващи холинергичната (atropine), нитрергичната (L-NNA и L-arg) и тахикинергичната (NK<sub>1</sub> рецепторния блокер spandide) медиация. Отговорите на апалния канал са проследени под същите въздействия, но в условия на разтягане на стената на дисталния ректума чрез раздуване с балон.

В раздел 4. е установено, че при третиране с блокера на потенциал-зависимите бързи натриеви канали тетрадоксин (TTX) не се наблюдават електрически-предизвикани модулариите отговори на изолирани циркулярни ринг-препарати и на ивици лонгитудинална мускулатура от аноректума.

Раздел 5. включва хистохимични и имунохистохимични изследвания, резултатите от които са морфологично потвърждение на механографските данни за участието на ацетилхолин, субстанция P, азотен оксид и аденозин трифосфат в двигателната активност на аноректум на плъх.

Резултатите от проведените изследвания са онагледени с 42 фигури, от които 4 микроснимки и 7 таблици. Фигурите са ясни, с много добро качество и подпомагат възприемането на изложението.

*Обсъждането* на резултатите е направено много компетентно и задълбочено в светлината на най-съвременни данни по проблема. Прави впечатление изразяването собствено становище на авторката. *Направените изводи* точно и коректно отразяват получените експериментални резултати и дават отговор на поставените задачи.

В *заключението* д-р Ставрева обобщава резултатите от проведените експериментални изследвания на модулариите моторни отговори върху широк набор от изолирани препарати на сегменти от анален канал и ректум и на аноректум на плъх и участието на основни

възбуждащи и потискащи невротрансмитери в тях, като поставя и логични въпроси за тяхната интерпретация в светлината на реални ситуации *in vivo*. Това представя д-р Ставрева като задълбочен изследовател фармаколог, който търси в провежданите проучвания, както теоретични така и практически приноси.

*Основни приноси* на дисертацията са:

- доказано е, че модулаторните моторни отговори на ринг-препаратите от циркуларна мускулатура на ректум на плъх, се дължат на нарастващо в дистална посока, зависимо от честотата на стимулация участие на възбуждащи невротрансмитери. В моториката на вътрешния анален сфинктер участват честотно-зависими механизми на ентерална нервна регулация, водещи до отделяне на потискащи и възбуждащи невротрансмитери;
- установена е водещата роля на възбудната холинергична медиация в локалните нервни мрежи, контролиращи моторната активност на ректум на плъх и водещата роля на нитрергичната трансмисия в релаксацията на вътрешния анален сфинктер;
- установено е, че ефектът на нитрергичните агенти върху изолираните препарати по дължината на ректума доминира в проксималната част, което способства за адаптиране на ректума към навлизащите от колона маси;
- установена е водеща роля на лонгитудиналния мускул във функционалната координация на лонгитудинален и циркуларен мускули в локалните моторни отговори в препарат от цялостен аноректум на плъх, като в лонгитудиналната мускулатура холинергичната медиация е по-изразена от нитрергичната;
- доказани са функционално различни ректоанални пътища в реализиране на низходящия отговор на анален канал – холинергично и тахикининергично съкращение при прилагане на електрическа стимулация и предимно нитрергична релаксация в отговор на разтягане на стената на дистален ректум на плъх;
- за провеждане на проучванията от докторантката е разработен и приложен експериментален модел за характеризиране и фармакологично повлияване на модулаторните моторни отговори в ректоаналната област на плъх.

Дисертационният труд е написан ясно и стегнато, на много добър литературен български език. Всички препоръки направени на предварителното обсъждане (предзащитата) са изпълнени.

Във връзка с дисертацията д-р Ставрева е представила 4 публикации, от които 3 в международни списания. Всички публикации са в списания с импакт фактор (общ IF = 4,201, индивидуален IF = 2,549). На 3 от публикациите д-р Ставрева е първи автор. Резултатите от дисертационния труд са докладвани на 5 научни форума, 2 от които в чужбина, като докторантката е водещ автор на всички съобщения.

Представеният автореферат отразява вярно и точно съдържанието на дисертационния труд. Приложеното резюме на английски език разширява възможностите за запознаване с резултатите от направеното проучване.

## **Заключение**

Дисертационният труд на д-р Галя Ставрева–Маринова е задълбочено и много прецизно проведено с адекватни методи експериментално проучване върху актуален проблем. Целта и задачите са точно поставени. Получените резултати са убедителни и имат приносен характер. Те могат да бъдат обсъждани и с оглед значението им за клиничната практика в здравен и социален аспект. Онагледяването на дисертационния труд е много добро. Резултатите от проучването са отразени в 4 публикации в списания с импакт фактор и са докладвани на 5 научни форума, от които 2 в чужбина, като докторантката е водещ автор в тях. Дисертационният труд напълно покрива количествените показатели за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ съгласно Правилника за развитието на Академичния състав в Медицински университет – Плевен.

Като имам предвид горсизложеното давам **положителна оценка** на дисертационния труд на д-р Галя Цветанова Ставрева-Маринова за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ по научната специалност „Фармакология“ от професионално направление 7.1. Медицина и област на висшето образование 7.3.Здравеопазване и спорт.

30.11.2012 г.

Рецензент:



/ проф. д-р Анна Белчева, дмн/