

РЕЦЕНЗИЯ

на доц. д-р Иван Тодоров Ламбев, дм, фармаколог
ОТНОСНО: представения за защита дисертационен труд
на гл. асистент д-р Галя Цветанова Ставрева–Маринова,
докторант на самостоятелна подготовка

към катедрата по „Експериментална и клинична фармакология, дерматология и венерология”, сектор „Експериментална и клинична фармакология”, МФ, МУ – Плевен на тема „Фармакологични аспекти на модулари и низходящи моторни отговори в ректоаналната област” с научен ръководител чл.-кор. проф. д-р Радомир Радомиров, дмн

ПРОЦЕДУРНИ ВЪПРОСИ

Процедурата е съобразена с чл. 4 ал. 2 от ЗРАС в Република България, Правилника за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Медицински университет – Плевен и **Заповед № 2099/28.11.2012 г. на Ректора** на същия университет. Тя е за придобиване на образователната и научната степен „**Доктор**” по научната специалност „Фармакология”, професионално направление „7.1. Медицина” и област на висше образование „7. Здравеопазване и спорт”. Структурата на дисертационния труд и на автореферата са съобразени със законовите изисквания. Д-р Ставрева успешно е апробирала своя научен труд пред разширен Катедрен съвет на катедрата по „Експериментална и клинична фармакология, дерматология и венерология” при Медицински факултет, Медицински университет – Плевен.

ПРОФЕСИОНАЛНО РАЗВИТИЕ И КАЧЕСТВА

Д-р Г. Ставрева завършва средно образование в математическа гимназия „Г. Милев” през 1979 г., а висше – **хуманна медицина**, във ВМИ – Плевен през 1985 г. (диплом № 001145). В Катедрата по фармакология работи от 1990 г. **Специалист е по фармакология** от 1994 г. (диплом № 42845) и специализант по клинична фармакология. Избрана е за ст. ас. през 1995 г., а за главен – през 2003 г. Владее английски и руски език. Помощник редактор е на научното списание *«Journal of Biomedical and Clinical Research»* на МУ – Плевен, излизащо на английски език от 5 г. От 22 г. води практически упражнения по фармакология със студенти българоезично обучение и от 13 г. – англоезично. Общият брой на **всички научни трудове** на д-р Ставрева е: *публикации* – 54 (35 върху експериментални изследвания на български и 8 на английски език; 10 участия в учебници и справочници и 1 в монография), *участия в научни форуми* – 65 (52 у нас и 13 в чужбина), *в научно-изследователски проекти* – 8 и *в 1 специализиран интернет-сайт*. Омъжена е. Има дъщеря и син.

НАУКО-МЕТРИЧЕН АНАЛИЗ

Дисертацията е представена върху 176 стандартни страници формат А4 (от които 46 са литературен обзор). Онагледена е с 49 предимно цветни фигури и 9 таблици.

Библиографията обхваща 369 съвременни научни статии, от които 361 са на латиница. Деветнадесет от литературните източници (8 на кирилица и 11 на латиница) са на български изследователи. Цитираните през последните 5 г. литературни източници са 57.

Дисертационният труд е разработен през периода от 2010 до 2012 г. в Института по невробиология към БАН, с който МУ – Плевен има дългосрочен договор за научно сътрудничество. Получените резултати са обобщени в *4 научни статии на английски език*, отпечатани през последните 5 г. Една от тях е поместена в списание на БАН, а три – в авторитетни западни реферативни научни журналы. *Общият IF на всички статии е 4.286, а индивидуалният – 1.549.* В три от публикациите д-р Ставрева е първи, а в една – четвърти автор. Експерименталните изследвания са докладвани на *5 научни форума – 3 в България и 2 в чужбина (Турция, Испания).* Във всички резюмета на доклади д-р Ставрева е първи автор. Дисертационният труд и авторефератът са написани на книжовен български език. Специфичните научни термини са представени с английски акроними, като в раздела „Използвани съкращения” те са преведени и на български език.

АКТУАЛНОСТ НА ПРОБЛЕМА

Двигателната активност на сигморекталната и ректоаналната област в голяма степен определя качеството и продължителността на живот, особено като се има пред вид, че именно дисталните отдели на стомашно-чревния тракт (СЧТ) са предилекционно място за развитие на възпалителни заболявания, локални травми, инкотиненция (с честота около 10%), патологични нервно-дегенеративни процеси, малигноми и др. Неоплазмите в тази област заемат водещо място сред често срещаните с напредване на възрастта тумори на СЧТ. Затова *темата на дисертационния труд е значима и изключително актуална.*

ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Обзорът отразява съвременните схващания за чревната гладка мускулатура от висцерален и дискретен тип, нейната инервация и електрохимическите процеси на невротрансмисия, а така също механизмите на фекалната континенция, ректоаналния евакуаторен механизъм и фармакологичните аспекти на ролята на отделни невротрансмитерни системи в моториката на ректоаналната област. Изтъква се, че уникалната роля на съкратителните протеини в СЧТ осигурява предаването на силата на гладкомускулното съкращение във всички посоки. Посочва се, че автоматизмът и пластичността на същите гладки мускули имат съществено значение за осъществяване на нормална резервоарна функция. Тези мускули се съкращават спонтанно, без нервно или ендокринно влияние в отговор на разтягане, а нервната система изпълнява предимно модулираща роля.

В сбита форма и с подходящи фигури са илюстрирани специфичните молекулни механизми на съкращение на циркулярните и лонгитудиналните гладки мускули, което е свързано с участие на калмодулина, калциевите йони, актина, тропомиозина, калдезмона, сАТР- и сGMP-зависимите протеинкинази, медиаторите от втори порядък инозитол-трифосфат и диацилглицерол, лековерижната миозинкиназа и др. Разглеждат се ендогенните лиганди, модулиращи контрактилната активност на чревните гладкомускулни клетки.

Обобщено се представя йерархията на нервната регулация на СЧТ с нейните пет основни нива на интегративна организация, които във възходящ ред включват: ентерална

нервна система, вегетативни ганглии, симпатиков център, парасиматиков център и високо стоящи централно-мозъчни центрове.

С голяма вещина се описват особеностите на невротрансмитерите ацетилхолин, норадреналин, на ко-трансмитерите АТР и NPY и други, и тяхното влияние върху съответните рецептори и субрецептори на основата на модерни данни от имунохистохимични техники. В детайли се разглежда ентэралната нервна система ("minibrain") с различните типове и класове неврони и функционалната организация на тази уникална автономна система, управляваща моторната и секреторната активност на СЧТ по координиран във времето и пространството начин. Описват се различните неврони (сензорни, моторни, интерневрони) с техните невротрансмитери и електрофизиология на органно и на биохимично ниво при *in vivo* и *in vitro* условия.

Невротрансмитерите (ацетилхолин, енкефалини, динорфини, 5-НТ, NO, VIP, АТР, SP и др.) и електрохимическата медиация на нервните импулси в ентэралната нервна система се дискутират на пре- и постсинаптично ниво с оглед на възможността за тяхното фармакологично повлияване *in vivo* и *in vitro*.

Около ¼ от обзора е посветена на дисталния сегмент на СЧТ – ректоаналната област, респ. на нейната анатомия, двигателна активност, нервнотрансмисия, а също на физиологията и патофизиологията на ректоаналния и соматовисцералния рефлекс, континенцията и евакуацията на чревното съдържимо. С оригиналната структура на литературния обзор и анализирания голям брой експериментални данни на наши и чужди автори д-р Ставрева показва висока компетентност по дискутираната тема. Обзорът завършва с обобщено заключение.

ЦЕЛ, ЗАДАЧИ И МЕТОДИЧНИ ПОДХОДИ

Дисертационният труд има за **цел** да охарактеризира основните невромедиаторни системи, модулиращи низходящите моторни отговори в ректоанална област на плъх. Това е постигнато с изпълнение на осем **основни задачи**, включващи адекватни високоинформативни *in vitro* методики (изолирани ринг-препарати, ивици лонгитудинална мускулатура и цялостен аноректум), разнообразни тест-субстанции за повлияване на холинергичната, нитрергичната, тахикининергичната и пуринергичната химическа медиация върху модулаторните отговори на *in vitro* изследваните препарати, електрическа полева стимулация и балонно разтягане на ректалната стена, хистоморфологични изследвания за разпределение и плътност на холинацетилтрансфераза-, никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат-диафараза-, SP- и АТР-синтаза-съдържащи нервни структури в ректоаналната област на плъх. Локалният моторен отговор на аналния канал е изследван при въздействие с атропин, спантадин, NG-нитро-L-аргинин и L-аргинин. Използвани са имбредни мъжки бели плъхове и мишки, като са спазени изискванията на Комисията по етика на научно-изследователската дейност при БАН.

Наборът от **експериментални модели и апарати** впечатлява. *Моделите са описани кратко, но с голяма прецизност, като по учебник.* Те позволяват да се получи многостранна информация. Използвани са препарати на цялостен аноректум от плъх със съхранен анално-сфинктерен комплекс (анатомична цялост на вътрешния и външния сфинктер) и препарати със съхранен вътрешен и отстранен външен анален сфинктер. Направен е паралел между СЧТ на плъх и човек, вкл. на ректоаналните области с оглед на разликите и приликите и правилното екстраполиране на експерименталните данни. Прецизно са представени *използваните субстанции* с фирмите – производителки.

Опитните in vitro постановки и експерименталният дизайн са представени детайлно. Подробно е описана техниката, по която са проведени също имунохистохимичните и хистохимичните проучвания в Института по невробиология на БАН. Получените данни са обработени с помощта на оптимално подбрани компютърни статистически методи, което позволява на авторката да отговори прецизно на поставените задачи.

АНАЛИЗ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Резултатите от проучването са описани ясно. Те са много добре онагледени с високо информативни предимно цветни фигури и таблици с изрично посочване на броя на използваните *in vitro* препарати, които са най-малко осем, а това е напълно достатъчно за статистическа обработка. Благодарение на разработения от д-р Ставрева *нов експериментален модел* за охарактеризиране и фармакологично повлияване на модулаторните моторни отговори в ректоаналната област на плъх, е установено че спонтанните фазични контракции на изолираните циркулярни ринг-препарати нарастват в анална посока. Спонтанният тонус на вътрешния анален сфинктер и мощната спонтанна съкратителна активност на аналния канал в същите препарати и в цялостен аноректум осигуряват поддържане на високо анално налягане и континенция при покой.

Амплитудите на електрически предизвиканите модулаторни моторни отговори на ринг-препаратите, изолирани по дължината на ректума, се увеличават в дистална посока. Амплитудите на модулаторните отговори на ринг-препарати от дистален ректум превишават тези на аналния канал. Във вътрешния анален сфинктер преобладава потискаща неврохимическа медиация.

Холинергичната възбуждаща невротрансмисия участва главно в контрола на контрактилната активност на ректума и е по-изразена в нервните модули, контролиращи моторните отговори в дисталния ректум. Нитрергичната потискаща невротрансмисия съществува в целия аноректум и има водещо значение в локалните нервни модули, контролиращи вътрешния анален сфинктер, респ. пропульсивния капацитет на аналния канал.

Експерименталните резултати относно електрически индуцираните съкращения на ивици от лонгитудинална мускулатура, както и локалните отговори, показват водещата роля на лонгитудиналния мускулен слой в двигателната активност на аноректума. Препаратите от двата мускулни слоя – циркулярен и лонгитудинален, отговарят със съкращение при електрическа стимулация; липсва релаксация, което потвърждава функционалната роля на ректума по-скоро като транзитен орган.

Локалните електрически индуцирани моторни отговори в цялостен препарат от аноректум на плъх са твърде сходни с тези на модулаторните моторни отговори в ринг-препарати от циркулярна мускулатура, вътрешен анален сфинктер, анален канал и ивици от лонгитудинална мускулатура, което най-вероятно се дължи на участие на едни и същи нервни мрежи в реализирането им.

Аденозинтрифосфат или свързани пурины участват чрез P2-рецепторите в неадренергичната-нехолинергична невротрансмисия в аноректума на плъх. Дисертантката потвърждава потискащия ефект на АТФ върху вътрешния анален сфинктер чрез инхибиторни P2Y рецептори.

Резултатите от изследваните локални и низходящи отговори на аналния канал,

индуцирни посредством прилагане на електрическа стимулация в проксимален и дистален ректум показват, че силата на моторните отговори е обратно пропорционална на разстоянието между точката на прилагане на стимула и точката на регистрация на отговора.

Низходящите моторни отговори на аналния канал в цялостен аноректум, индуцирани от електрическа стимулация, имат контрактилен характер. При запазен анатомичен и функционален интегритет между ректума, вътрешния и външния анални сфинктери функционират „дълъг“ и „къс“ възбуден ректоанален път, провокирани от електрическа стимулация. Ацетилхолинът и SP участват във възбудните нервни пътища, които контролират функционалната активност на аналния канал. Нитрергичните субстанции, повлияват значително съкратителните и релаксиращи компоненти на моторните отговори на аналния канал, което потвърждава участието на азотния оксид като важен инхибиращ медиатор и модулатор в низходящите невронални мрежи в аноректума на плъх. Разтягането на стената на дисталния ректум активира механорецептор-зависимия низходящ „къс“ нитрергичен инхибиторен рефлекторен път, отговорен за релаксацията на аналния канал.

Получените хистохимични и имунохистохимични данни морфологично подкрепят механографските резултати за участие на ACh, SP, NO и ATP в двигателната активност на аноректум на плъх. *Всички резултати са внимателно анализирани и обсъдени. Те са съпоставени с данните на голям брой наши и чужди автори. Търсени и намерени са какато оригинални, така и потвърдителни данни.*

ИЗВОДИ И ПРИНОСИ

Изводите и заключението отразяват най-същественото от получените резултати. Те показват, че д-р Ставрева е овладяла *методите за анализ, синтез и обобщение*, изключително необходими при научните изследвания. Приемам за *значими всички приноси с оригинален характер*, посочени от нея. Сериозен принос на настоящия дисертационен труд е и фактът, че той недвусмислено показва живата и ползотворна връзка между МУ – Плевен и Института по невробиология при БАН.

АВТОРЕФЕРАТ

Авторефератът *отразява прецизно и коректно същността на дисертационния труд*. Обемът му от 56 стр. е оптимален. Онагледен е с 33 цветни високо информативни фигури и таблици. Голям негов плюс е и анотацията на английски език.

КРИТИЧНИ БЕЛЕЖКИ И ПРЕПОРЪКИ

Критичните бележки, които отбелязах в отзива си при апробиране на дисертационния труд на 19.10.2012 г., имаха предимно лингвистичен характер и бяха свързани с прецизиране на някои термини например: СЧТ (вместо хараносмилателна система), дебело, респ. тънко черво (вместо дебели, респ. тънки черва) и др. Основните ми *препоръки* се отнасяха до оформяне в съответствие със ЗРАС на титулната страница на дисертационния труд и разработване на резюме, респ. анотация на английски език, което да се добави както в дисертацията, така също и в автореферата. Независимо, че посочените критични бележки и препоръки *не засягат научната стойност* на

дисертационния труд, те са съобразени в представената за защита дисертация и в автореферата.

ЛИЧНИ ВПЕЧЕТЛЕНИЯ

Познавам д-р Галя Ставрева–Маринова от около 20 г., от времето когато специализираше експериментална фармакология в едноименната катедра при МФ на МУ – София за придобиване на специалност по същата научна дисциплина, както и от нейните участия в разработване на учебници, лекарствени и фармакотерапевтични справочници. Добре известен ми е нейният активен принос при организиране издаването на научното списание *«Journal of Biomedical and Clinical Research»* на МУ – Плевен и участието ѝ в Web-сайта по медицинска фармакология и лекарствена токсикология <http://www.medpharm-sofia.eu>. Нямам съвместни публикации в областта на експерименталната фармакология с дисертанката.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният дисертационен труд и авторефератът към него на гл. ас. д-р Галя Цветанова Ставрева–Маринова „Фармакологични аспекти на модулари и низходящи моторни отговори в ректоаналната област” *покриват напълно качествените и количествените критерии на ЗРАС за придобиване на образователната и научната степен «Доктор»* по научната специалност „Фармакология”, професионално направление „7.1. Медицина” и област на висше образование „7. Здравеопазване и спорт”. Темата е значима и актуална. Обзорът е стегнат и изчерпателен. Целта на дисертацията е точно и конкретно формулирана с адекватно подбрани задачи. Експериментите са изпълнени със съвременни методи и материали. Резултатите, дискусиата, изводите и приносите са представени коректно и аналитично. Високата оценка, която дават колегите за д-р Г. Ставрева–Маринова както в катедрата по „Експериментална и клинична фармакология, дерматология и венерология”, така и в други катедри на МУ – Плевен отразява нейния богат опит в областта на фармакологията като ерудиран учен и преподавател. *Всичко това ми позволява уверено да предложа на членовете на научното жури да гласуват положително за присъждане на д-р Галя Цветанова Ставрева–Маринова на образователната и научната степен «Доктор».*

София, 29.11.2012. г.

Рецензент: 

(Доц. д-р Ив. Ламбев, дм)