

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Анелия Александрова Димитрова, дм

Катедра „Физиология и патофизиология“ при

Медицински факултет на

Медицински университет – Плевен

Относно: Дисертационен труд на д-р Ивелина Иванова Химчева на тема: „**Ефекти на нови аналоги на ноцицептина върху болковата перцепция при остър и хроничен имобилизационен стрес**“, представен за придобиване на научната степен „Доктор“ в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина, по докторска програма „**Физиология на човека**“

I. Процедурни въпроси

На основование на чл. 4(2) и чл. 29а от ЗРАСРБ и чл. 61 от Правилника на прилагане на ЗРАСРБ, със заповед № 4432 от 25.11.2025 г. на Ректора на Медицински университет - Плевен и решение на Председателя на Научното жури съм определена да представя рецензия на дисертационен труд във връзка с придобиване на научна степен „Доктор“ на д-р Ивелина Иванова Химчева.

Д-р Ивелина Иванова Химчева е представила всички необходими документи съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав и правилника на МУ-Плевен.

II. Биографични данни

Д-р Ивелина Иванова Химчева е родена през 1977 г. в Силистра. През 2001 г. завършва висше образование, медицина в Медицински Университет, Плевен. През 2002 година постъпва на работа в ЦСМП – гр. Силистра, където работи до 2007 г. През същата година започва работа в СБАЛК по „Кардиология“, гр. Плевен за няколко месеца.

През 2008 г. след успешно издържан конкурс постъпва на работа в Медицински университет – Плевен, Факултет по медицина, катедра „Физиология и патофизиология“, сектор „Физиология“, където работи и до сега. От 2013 г. има специалност „Физиология“ Свидетелство за призната специалност рег. № 016835, 01.03.2013 г. Стажът ѝ по специалността е 18 години.

Тя е член на Българско пептидно дружество, Дружеството по хранене и диететика и Българския лекарски съюз. Д-р Химчева има много добра езикова подготовка - владее писмено и говоримо, английски и отлично френски език.

III. Актуалност на тематиката

Темата на дисетационния труд е актуална, касаеща регулацията на болковата перцепция при състояния на остър и хроничен стрес. Стрес-индуцираната аналгезия (SIA) се характеризира с временно понижение на болковата чувствителност в отговор на остри стресови стимули. В тази реакция участват множество невромодулаторни системи, като най-голямо значение има ендогенната опиоидна система. Друга важна система е ноцицептивната система, съставена от невропептида ноцицептин/орфанин FQ (N/OFQ) и неговия специфичен рецептор NOP. При активиране на този рецептор се потиска освобождаването на невротрансмитери. Той модулира също болковата, поведенческата, емоционалната и ендокринната реактивност към стрес.

Разработването на нови синтетични аналоги на N/OFQ се очертава като перспективен фармакологичен подход, защото тези съединения са с повищена биостабилност и рецепторна селективност, което създава условия за по-прецизна модулация на болката в условия на стрес.

Затова считам, че темата на дисертацията е изключително актуална.

IV. Характеристика на дисетационния труд

Представеният за рецензия дисетационен труд е написан на 188 стандартни страници, онагледен е с 2 таблици и 42 фигури. Библиографският списък съдържа 573 литературни източника на латиница.

V. Литературен обзор

Литературният обзор е написан компетентно. Прави впечатление широкото ползване и познаване на световната литература по проблема. Представени са най-съществените данни от последните години, показващи нивото на съвременните познания за невропептида ноцицептин/орфанин FQ (N/OFQ) и неговия специфичен рецептор NOP; видовете болка, ноцицептори и пътища на болката; молекулярни и ендокринни механизми, лежащи в основата на стреса и стрес-релаксиращите системи. Разгледано е и значението на хормонални и невроендокринни механизми при стрес – индуцираната аналгезия и системите, които медиират и модулират това състояние..

В обзора са отбелязани и липсващите данни и са посочени мотивите за настоящия труд. Детайлното познаване на проблема се вижда ясно и от богата библиографична справка към дисертацията, която съдържа 573 източника, като са включени и публикации от последните години.

Целта на дисертацията, която е изследване на аналгетичните ефекти на нови аналоги на ноцицептина – $[Orn^9]N/OFQ(1-13)NH_2$ и $[Orn^9, Orn^{13}]N/OFQ(1-13)-NH_2$ върху болковата перцепция и взаимодействието им с опиоидната, ноцицептивната и азотноокисната системи при остръ и хроничен имобилизационен стрес, определят актуалността на разработката, а възможността за прилагане на получените резултати в практиката определят високата ѝ стойност. **Задачите** на дисертационния труд са формулирани ясно и конкретно.

VI. Материали и методи

Изследването е проведено на 402 мъжки плъхове порода Wistar (180-200g), разпределени по 6 във всяка група. Използвани са адекватни и информативни различни по характер методи и техники. Приложени са *in vivo* ноцицептивни тестове като: метод с прилагане на механично дразнене – тест за натиск върху лапата (Paw Pressure test), метод с прилагане на термично дразнене - Hot plate (HP) test. Използвани са и два утвърдени модела на остръ и хроничен имобилизационен стрес. Други методи, които са приложени са имунологичните за определяне концентрацията на адренокортикотропния хормон (АСТН), кортизол и адреналин в серумните пробы от плъхове. И един от най-важните методи е синтез на аналоги на ноцицептин N/OFQ(1-13)NH₂, който е извършен от екипа

на проф. д-р инж. Емилия Найденова, дхн, от катедра „Органична химия“, Факултет по химични технологии, Химикотехнологичен и металургичен университет – София.

VII. Резултати от проучването

Резултатите в дисертацията са представени в логична последователност. Представените данни показват, че експерименталното многопластово патофизиологично изследване е много добре планирано. Данните от проучването са описани точно и ясно. Резултатите са представени в 42 комбинирани графики и 2 таблици, които са информативни, с посочване броя на използваните животни и S.E.M. За яснотата и по-лесното възприемане на получените резултати, допринасят обзорните части към отделните глави на резултатите и обобщаването на данните след всяка глава. Получените данни, прецизно обработени с подходящи статистически методи са убедителни.

VIII. Обсъждане на резултатите

Д-р Химчева, използвайки обширните си литературни познания е обсъдила компетентно и критично собствените си резултати. В обобщеното обсъждане е направен анализ на получените данни и става ясно, кои данни са пионерни и непознати в литература. В резултат на обсъждането на данните са формулирани 13 основни извода. Приемам изводите. Те отразяват точно и пълно основните постижения на представения труда, като притежават достойнството да не преразказват получените експериментални резултати.

Особен интерес представляват проучванията, които са проведени у нас и за сега са единствени в литературата за ноцицептина и новосинтезираните аналоги – $[Orn^9]$ и $[Orn^9, Orn^{13}]$, които статистически значимо повишават болковия праг и удължават латентното време, като индуцират аналгезия при интактни животни. Най-сilen аналгетичен ефект проявява аналогът $[Orn^9, Orn^{13}]$. Важни са и резултатите получени от изследване на наркозона при интактни животни, които статистически значимо понижава болковия праг и скъсява латентното време спрямо контролата, което води до хипералгезия. Съвместното приложение на наркозон с пептидите статистически значимо повишава болковия праг и удължава латентното време на 10-та минута спрямо контролата, по-изразено при аналогите.

Приносите са седем на брой и много реално отразяват постигнатото за първи път в науката. **Приноси с оригинален характер:** Сравнени са аналгетичните ефекти на новосинтезирани аналоги на ноцицептин N/OFQ(1-13)NH₂ – [Orn⁹]N/OFQ(1-13)NH₂ и [Orn⁹,Orn¹³]N/OFQ(1-13)NH₂ при интактни животни. За първи път са изследвани ефектите на новосинтезирани аналоги на ноцицептин N/OFQ(1-13)NH₂ – [Orn⁹]N/OFQ(1-13)NH₂ и [Orn⁹,Orn¹³]N/OFQ(1-13)NH₂ върху SIA, предизвикана от остръ и хроничен имобилизационен стрес.

1. За първи път са изследвани съвместните ефекти на JTC-801 с ноцицептин или с новосинтезираните аналоги при интактни животни и върху SIA, предизвикана от остръ и хроничен имобилизационен стрес.
2. За първи път са изследвани съвместните ефекти на налоксон с ноцицептин или с новосинтезираните аналоги при интактни животни и върху SIA, предизвикана от остръ и хроничен имобилизационен стрес.
3. За първи път са изследвани съвместните ефекти на L-arginine с ноцицептин или с новосинтезираните аналоги при интактни животни и върху SIA, предизвикана от остръ и хроничен имобилизационен стрес.
4. За първи път са изследвани съвместните ефекти на L-NAME с ноцицептин или с новосинтезираните аналоги при интактни животни и върху SIA, предизвикана от остръ и хроничен имобилизационен стрес.
5. За първи път са изследвани ефектите на ноцицептин и новосинтезираните аналоги върху серумните нива на ACTH, кортизол и адреналин при остръ и хроничен имобилизационен стрес.

IX. Публикационна активност

Наукометричните показатели, свързани с дисертационния труд, са изпълнени в значително по-висока степен от съответните изисквания на Правилника за развитие на академичния състав на МУ-Плевен. Във връзка с дисертационния труд са отпечатани 5 пълнотекстови публикации, една от които е с IF=1.1 и 19 научни съобщения и доклади на национални форуми.

X. Автореферат

Авторефератът отразява най-съществените методични подходи, резултати, обсъждане, изводи и приноси, представени в дисертацията. Обемът му е от 68 стр.

XI. Заключение

Представеният ми за становище дисертационен труд съдържа значителни научни и практически приноси и отговаря на качествените и количествените критерии, заложени в Правилника за развитие на академичния състав на МУ- Плевен към Закона за развитие на академичния състав на Р. България. Предвид добре проведеното научно изследване, задълбочения анализ на получените резултати, цялостното оформление на разработката и научните публикации, въз основа на които е базирана, с дълбока убеденост препоръчвам на почитаемите членове на Научното жури да гласуват положително за присъждането на научната степен „Доктор” на д-р Ивелина Иванова Химчева.

Като член на журито декларирам, че вотът ми ще е положителен.

На основание чл.59 от ЗЗЛД

21.01.2026 г.

Проф. д-р Анелия Димитрова, д.м.

Плевен

R E V I E W

by Prof. Aneliya Alexandrova Dimitrova, MD, PhD

Department of Physiology and Pathophysiology

Faculty of Medicine

Medical University – Pleven

Subject: Dissertation of Dr. Ivelina Ivanova Himcheva on the topic: "**Effects of novel nociceptin analogues on pain perception in acute and chronic immobilization stress**", submitted for the acquisition of the educational and scientific degree "Doctor" (PhD) in the field of higher education 7. Healthcare and Sport, professional field 7.1. Medicine, doctoral program "Human Physiology".

I. Competition procedures

In accordance with Art. 4(2) and Art. 29a of the Act on Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria and Art. 61 of the Regulations for its implementation, by Order No. 4432 dated 25.11.2025 issued by the Rector of the Medical University - Pleven and by decision of the Chairperson of the Scientific Jury, I have been appointed to provide a review of the dissertation for the acquisition of the scientific degree "Doctor" (PhD) by Dr. Ivelina Ivanova Himcheva.

Dr. Ivelina Ivanova Himcheva has submitted all necessary documents in compliance with the requirements of the the Act on Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the internal regulations of MU-Pleven.

II. Biographical Data

Dr. Ivelina Ivanova Himcheva was born in 1977 in Silistra. In 2001, she completed her higher education in Medicine at the Medical University - Pleven. In 2002, she began her professional career at the Center for Emergency Medical Care (CEMC) – Silistra, where she worked until 2007. During the same year, she worked at the Specialized Hospital for Active Treatment in Cardiology (SHATC) – Pleven for several months.

In 2008, after successfully passing a competitive examination, she joined the Medical University – Pleven, Faculty of Medicine, Department of Physiology and Pathophysiology, Physiology Sector, where she has been working to date. Since 2013, she has held a specialty in "Physiology" (Specialty Certificate Reg. No. 016835, 01.03.2013). Her professional experience in the specialty spans 18 years.

She is a member of the Bulgarian Peptide Society, the Society of Nutrition and Dietetics, and the Bulgarian Medical Association. Dr. Himcheva has excellent language proficiency – she is fluent in written and spoken English and has an excellent command of French.

III. Relevance of the Topic

The topic of the dissertation is highly relevant, as it concerns the regulation of pain perception during states of acute and chronic stress. Stress-induced analgesia (SIA) is characterized by a temporary decrease in pain sensitivity in response to acute stress stimuli. Multiple neuromodulatory systems are involved in this reaction, with the endogenous opioid system being of paramount importance. Another significant system is the nociceptin system, composed of the neuropeptide nociceptin/orphanin FQ (N/OFQ) and its specific receptor, NOP. Activation of this receptor inhibits neurotransmitter release and modulates pain, behavioral, emotional, and endocrine reactivity to stress.

The development of new synthetic N/OFQ analogues emerges as a promising pharmacological approach because these compounds possess increased biostability and receptor selectivity, enabling more precise pain modulation under stress conditions.

Therefore, I consider the topic of the dissertation to be exceptionally relevant.

IV. Characteristics of the Dissertation

The dissertation presented for review consists of 188 standard pages and is illustrated with 2 tables and 42 figures. The bibliography includes 573 literary sources in Latin script.

V. Literature Review

The literature review is competently written. The extensive use and knowledge of global literature on the subject are impressive. The most significant data from recent years are

presented, showcasing the level of contemporary knowledge regarding the neuropeptide nociceptin/orphanin FQ (N/OFQ) and its specific NOP receptor; types of pain, nociceptors, and pain pathways; and molecular and endocrine mechanisms underlying stress and stress-relieving systems. The significance of hormonal and neuroendocrine mechanisms in stress-induced analgesia and the systems that mediate and modulate this state are also examined.

The review notes missing data and provides the rationale for the current study. The detailed understanding of the problem is clearly visible from the rich bibliographic reference, which contains 573 sources, including publications from recent years.

The aim of the dissertation—to investigate the analgesic effects of new nociceptin analogues – [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂ and [Orn9,Orn13]N/OFQ(1-13)-NH₂ on pain perception and their interaction with the opioid, nociceptin, and nitric oxide systems in acute and chronic immobilization stress—defines the relevance of the work. The possibility of applying the results in practice determines its high value. The tasks of the dissertation are formulated clearly and specifically.

VI. Materials and Methods

The study was conducted on 402 male Wistar rats (180-200g), divided into groups of 6. Adequate and informative methods and techniques of various types were used. In vivo nociceptive tests were applied, such as: mechanical stimulation method – the Paw Pressure test, and thermal stimulation method – the Hot Plate (HP) test. Two established models of acute and chronic immobilization stress were also utilized. Other methods applied include immunological tests to determine the concentration of adrenocorticotrophic hormone (ACTH), cortisol, and adrenaline in rat serum samples. One of the most important methods is the synthesis of nociceptin analogues N/OFQ(1-13)NH₂, which was carried out by the team of Prof. Emilia Naydenova, DSc, from the Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemical Technologies, University of Chemical Technology and Metallurgy – Sofia.

VII. Study Results

The results in the dissertation are presented in a logical sequence. The data show that the experimental multi-layered pathophysiological study is very well planned. The study findings are described accurately and clearly. The results are presented in 42 combined graphs and 2

tables, which are informative and specify the number of animals used and S.E.M. The review sections for individual chapters and the summaries of data after each chapter contribute to the clarity and ease of comprehension of the results. The obtained data, precisely processed with appropriate statistical methods, are convincing.

VIII. Discussion of Results

Dr. Himcheva, utilizing her extensive literature knowledge, has discussed her results competently and critically. The general discussion includes an analysis of the data, clarifying which findings are pioneering and previously unknown in the literature. As a result of the discussion, 13 main conclusions have been formulated. I accept these conclusions. They accurately and fully reflect the primary achievements of the presented work, possessing the merit of not merely recounting the experimental results.

Of particular interest are the studies conducted in Bulgaria, which are currently unique in the literature regarding nociceptin and the newly synthesized analogues – [Orn9] and [Orn9,Orn13], which statistically significantly increase the pain threshold and prolong latency time, inducing analgesia in intact animals. The [Orn9,Orn13] analogue exhibits the strongest analgesic effect. Important results were also obtained from the study of naloxone in intact animals, which statistically significantly lowers the pain threshold and shortens latency time compared to the control, leading to hyperalgesia. The combined administration of naloxone with peptides statistically significantly increases the pain threshold and prolongs latency time at the 10th minute compared to the control, an effect more pronounced with the analogues.

IX. Scientific Contributions

There are seven contributions in total, which realistically reflect achievements recorded for the first time in science. The contributions of an original nature are:

1. The analgesic effects of the newly synthesized nociceptin N/OFQ(1-13)NH₂ analogues – [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂ and [Orn9,Orn13]N/OFQ(1-13)NH₂ were compared in intact animals.
2. For the first time, the effects of the newly synthesized nociceptin N/OFQ(1-13)NH₂ analogues – [Orn9]N/OFQ(1-13)NH₂ and [Orn9,Orn13]N/OFQ(1-13)NH₂ on SIA induced by acute and chronic immobilization stress were investigated.

3. For the first time, the combined effects of JTC-801 with nociceptin or with the newly synthesized analogues were investigated in intact animals and on SIA induced by acute and chronic immobilization stress.
4. For the first time, the combined effects of naloxone with nociceptin or with the newly synthesized analogues were investigated in intact animals and on SIA induced by acute and chronic immobilization stress.
5. For the first time, the combined effects of L-arginine with nociceptin or with the newly synthesized analogues were investigated in intact animals and on SIA induced by acute and chronic immobilization stress.
6. For the first time, the combined effects of L-NAME with nociceptin or with the newly synthesized analogues were investigated in intact animals and on SIA induced by acute and chronic immobilization stress.
7. For the first time, the effects of nociceptin and the newly synthesized analogues on serum levels of ACTH, cortisol, and adrenaline in acute and chronic immobilization stress were investigated.

X. Publication Activity

The scientometric indicators related to the dissertation have been met to a significantly higher degree than the requirements of the Regulations for the Development of Academic Staff at MU-Pleven. In connection with the doctoral thesis, 5 full-text publications have been printed, one of which has an IF of 1.1, along with 19 scientific communications and reports at national forums.

XI. Abstract

The abstract reflects the most essential methodological approaches, results, discussion, conclusions, and contributions presented in the dissertation. It comprises 68 pages.

XII. Conclusion

The dissertation presented to me for review contains significant scientific and practical contributions and meets the qualitative and quantitative criteria set forth in the Regulations for the Development of Academic Staff of MU-Pleven and the Act on Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria. Given the well-conducted scientific research, the

in-depth analysis of the results, the overall structure of the work, and the scientific publications on which it is based, I recommend with deep conviction that the honorable members of the Scientific Jury vote positively for the awarding of the educational and scientific degree "Doctor" (PhD) to Dr. Ivelina Ivanova Himcheva.

As a member of the jury, I declare that my vote will be positive.

На основание чл.59 от ЗЗЛД

21.01.2026 Pleven

Prof. Anelia Dimitrova, MD, PhD