

# 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)