

РЕЦЕНЗИЯ

От проф. Георги Цветанов Момеков, дфн

Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология, Фармацевтичен факултет при Медицински университет-София

Външен член на Научно жури, в изпълнение на Заповед № Р109-248/15.07.2020 г. на Ректора на МУ-Варна

Относно дисертационен труд на тема „Фармакологични проучвания на стероидни хормони, природни продукти и новосинтезирани 2Н-субституирани хидразид-хидразони в експериментални модели на епилепсия, болка и остеопороза“

за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“

Област на висше образование „Здравеопазване и спорт“, професионално направление 7.3.Фармация по докторска програма „Фармакология, вкл. фармакокинетика и химиотерапия“

на маг. фарм. Станислав Йорданов Марчев

докторант на самостоятелна форма на обучение при Катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“, Медицински университет-Варна „Проф. д-р Параскев Стоянов“.

Кратки биографични данни

Маг. фарм. Станислав Марчев е роден на 04.09.1989, в гр. Пловдив. През 2017 придобива магистърска степен по фармация от Свободния университет в Берлин, Германия. Докторантът е зачислен през 2019 в самостоятелна форма на обучение по докторска програма „Фармакология, вкл. фармакокинетика и химиотерапия“ при Катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“ при Медицински университет-Варна „Проф. д-р Параскев Стоянов“ с научни ръководители проф. д-р Стефка Вълчева Кузманова, дмн и доц. д-р Павлина Гатева, дм. и научен консултант чл. кор. проф. д-р Мила Власковска, дмн. Видно от представените документи, Маг. фарм. Станислав Марчев е отчислен с право на защита в изпълнение на заповед № Р-109-248/15.07.2020 г.

Структура и раздели на труда

Дисертационният труд на маг. фарм. Станислав Марчев е базиран на изследователска програма в две до голяма степен автономни направления: от една

страна проучване на ефектите на гонадни и адренални стероидни хормони, както и на серия от новосинтезирани хидразид-хидразони върху интензитета, динамиката и латенцията на каинат-евокирани гърчове и леталитета в експериментален модел на епилептогенеза при плъхове; другото направление е фокусирано върху оценка ефектите на фитопродукти на *Aronia melanocarpa* и *Apium nodiflorum* по отношение на остеодензитометрични и алгометични крайни точки при експериментален модел на естроген-дефицитна „пост-менапаузна“ остеопороза

Обем и раздели. Дисертационният труд на маг. фарм. Марчев е написан на 129 страници, и е онагледен с 11 фигури и 24 таблици. Дисертацията е структурирана в съответствие с възприетите у нас стандарти. Съдържа следните основни раздели: Въведение – 3 стр.; Литературен обзор – 46 стр.; Цели и задачи – 3 стр.; Материали и методи – 15 стр.; Собствени резултати – 19 стр.; Обобщение и обсъждане на резултатите – 10 стр.; Изводи – 2 стр.; Приноси – 2 стр.; Литература – 21 стр. Библиографията съдържа 155 публикации на чуждестранни автори и 15 публикации на български автори. Приложени са и справки за публикациите, участията на научни конференции.

Литературен обзор. Докторантът с достатъчна задълбоченост разглежда теоретичните основи по двете автономни направления – влияние на стероидните хормони върху епилептогенезата, преглед на съществуващите терапевтични стратегии за фармакотерапия на епилепсията, както и потенциалния риск от остеопороза и фрактури на фона на лечение с антиепилептични лекарства. В този контекст е направен и стегнат преглед на новосинтезираните хидразид-хидразони, съдържащи кумаринов или 2Н-хроменов фармакофор с формулиране на теоретична хипотеза за тяхното проучване в контекста на този труд. По другото направление е направен задълбочен преглед на клиничната значимост, патогенетичните основи и съществуващите подходи за хормонална и нехормонална фармакотерапия на остеопорозата. На кратко са прегледани продуктите от арония и целина, по отношение на съдържащите се вторични метаболити, етнофармакология и терапевтично приложение. Обзорът съдържа и значителен по обем раздел, посветен на болката, ноцицептивните и невропатни механизми, съответните аферентни и еферентни пътища и стратегиите за фармакологична модулация.

Методи на изследване. Усвоеният и използван набор от изследователски методи е внушителен. Проведено е проучване при експериментален модел на каинат-индуциран епилептиформен синдром при плъхове като освен апробацията на методичната постановка е приложен и валидиран оригинален алгоритъм кумулативна количествена оценка на когнитивните и соматичните симптоми. Аналгетичният ефект на новосинтезираните хроменови и кумаринови хидразид-хидразони е проучен с формалинов и hot-plate тест.

Експерименталната естроген-дефицитна остеопороза е проучена при модел на билатерална овариектомия, като фармакологичната оценка е базирана на остеоденситометрично измерване на костната минерална плътност и костното минерално съдържание като количествени крайни точки. По отношение ефектите на сока от арония е проведено проучване на ноцицепцията при животните с експериментална естроген-дефицитна остеопороза по два алтернативни метода. Методичният раздел е описан образцово, като представените експериментални протоколи позволяват възпроизвеждането на използваните методики. Описани са детайлно и тестваните съединения и фитопродукти със съответните аналитични и стандартизационни параметри.

Собствени резултати. Данните, които са добре онагледени с 11 таблици и 4 фигури, са включени последователно в 2 раздела и 4 подраздела. По първото направление авторът представя валидирането на ново-създадена количествена скала за оценяване на интензитета на соматичните и когнитивни прояви на експериментален каинат-индуциран епилептиформен синдром. Фармакологичното проучване показва, че третирането с 17- β -естрадиол влошава клиничните и патофизиологични характеристики на експериментален каинат-индуциран епилептиформен синдром. Прилагането на андрогена 5- α -дихидротестостерон е асоциирано с потенциране на про-конвулсивното действие. Същевременно прилагането на глюкокортикоиди атенюира проявите на каинат-индуцирания епилептиформен синдром в т.ч. на съответните животозастрашаващите реакции. Това дава основание на авторът да заключи, че хормоналният дисбаланс е основен патогенетичен фактор за развитие на епилептиформена/конвулсивна активност.

Новосинтезираните хидразид-хидразонови хибриди, съдържащи хроманов или кумаринов фармакофорен фрагмент **4a**, **4b**, **4c**, **8a** и **8b** които са показали профил на антиконвулсанти при проведен виртуален скрининг *in silico*, проявяват умерена аналгетична активност.

По другото направление е описано апробирането и валидирането на естроген-дефицитният модел на експериментална „пост-менопаузна“ остеопороза със съответните фармакологични тестове на проучените фитопрепарати. Представените данни показват, че продължителното третиране със сок от *Aronia melanocarpa* оказва протективен ефект по отношение на костната минерална плътност. Тестовите за модулация на ноцицептивната активност показват, че сокът от арония атенюира болковата сетивност при модела на остеопороза.

Прилагането на екстракт на *Apium nodiflorum* показва маргинална активност при използвания модел на експериментална „пост-менопаузна“ остеопороза.

В анализът и обсъждането авторът прави анализ на собствените резултати и ги интерпретира в светлината на прегледаните литературни данни.

Изводите /9 на брой/ са логичен резултат от проведеното изследване. **Приносите** /3 на брой/ произхождат пряко от направените изследвания.

Критични бележки и въпроси

Независимо от това, че за серията от новосинтезирани хидразин-хидразони има предварителни *in silico* данни за антиконвулсантни свойства и публикувани антиепилептични ефекти при модели на максимален електрошок и пентилентетразол, настоящият труд би спечелил от включването на тези съединения в проучванията с каинат-индуциран епилептиформен синдром. Нещо повече, клинично използваният хидразид *isoniazide* предизвиква деплеция на витамин В6, невротоксичност и гърчове, които поне отчасти се дължат на формиране на хидразонови адукти с алдехидната функция на пиридоксалфосфата, което дава основание хидразидната функционална група да се разглежда като токсикофор. В този смисъл, охарактеризирането на даден хидразид като потенциално лекарство следва да включва проучване на директни и сурогатни биомаркери на витамин В6 статуса, което разбира се би могло да е обект на отделен труд.

Тъй като се касае за оригинални, новосинтезирани съединения е редно да се упомене поименно колективът, който ги е синтезирал, охарактеризирал и предоставил за фармакологична оценка.

В обзора има известен дисбаланс в някои от отделните глави – така напр. ноцицептивните пътища и подходите за фармакотерапия на болката, както и подразделът за остеопорозата са развити твърде подробно, докато съществуващите антиепилептични лекарства са представени доста лаконично

Могат да се направят някои стилистични забележки – трудът изобилства от чуждици (*voltage-dependent Na⁺ и/или Ca²⁺ channels*; тридимензионален; деривати; трипикат и мн. др.), освен това наименованията на хормони, ендогенни вещества, растителни биологично-активни вещества и химически наименования по IUPAC би могло спокойно да се напишат на кирилица. Тези чисто редакционни забележки са минимални и по никакъв начин не омаловажават качеството и приносите на труда.

Научна продукция.

Във връзка с дисертационния труд маг. фарм. Марчев е публикувал 3 реални пълнотекстови статии на български и 2 на английски език. Двете публикации на английски език са в списание с импакт фактор (Thomson-Reuters/Clarivate analytics). В две от публикациите докторантът е първи автор. Представени са и 9 участия на

международни конгреси, два у нас, 7 в чужбина (Полша, Франция, Чехия, Швеция, Япония).

Автореферат

Представеният от докторанта автореферат е изготвен съгласно изискванията на релевантната нормативна уредба, има адекватен обем и резюмира удачно данните от дисертационния труд.

Проектно финансиране

Отлично впечатление прави фактът, че проучванията на основата на които е оформен дисертационният труд са получили финансова подкрепа от ФНИ и СМН.

Заключение:

Дисертационният труд на маг. фарм. Станислав Йорданов Марчев е актуален, оригинален и е базиран на адекватен методичен набор. Представеният в своята цялост труд, както и приложените публикации правят личният принос на докторанта несъмнен. Докторантът показва отлична литературна осведоменост по научната проблематика като същевременно е усвоил и апробирал завиден брой изследователски методи и е съумял убедително да представи своите резултати, да ги интерпретира, с формулиране на съответните изводи и приноси. Всичко това ми дава основание убедено да дам *своята положителна оценка и да препоръчам на уважаемите членове на научното жури да гласуват за присъждане на образователната и научна степен „доктор” на маг. фарм. Станислав Йорданов Марчев.*



София, 01.09.2020 год.

Проф. д-р Георги Момеков, дфн