

СТАНОВИЩЕ

от доц. инж. хим. Юличка Събева Събева, д. м.,
научна специалност „Токсикология“

член на Научно жури съгласно Заповед № Р-109-14 от 22.01.2020 г.
на Ректора на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна

Относно: Дисертационен труд на тема: *„Кардиопротективен ефект на липидна емулсия при остри екзогенни интоксикации с медикаменти“*, за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по докторска програма „Токсикология“, в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.3. Фармация, Научна специалност „Токсикология“

Становището е изготвено според изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за приложението му в МУ – Варна.

Автор на дисертационния труд е д-р Габриела Красиминова Кехайова, асистент и докторант в самостоятелна форма на обучение към Катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“, Факултет „Фармация“ при МУ – Варна, зачислена със заповед № Р-109-201/09.06.2016 г. на Ректора на Медицински университет – Варна.

Научен ръководител на докторанта е проф. д-р Снежана Златева Златева д. м.

Кратки биографични данни и кариерно развитие. Д-р Габриела Красиминова Кехайова е родена на 04.05.1986 год. в гр. Русе. Средно образование завършва през 2005 г. с Диплома за владеене на немски език ниво В2. През 2011 год. завършва медицина в Медицински университет "Проф. д-р П. Стоянов" – Варна. От м. февруари 2015 г. до момента е редовен асистент в „Катедра фармакология, токсикология и фармакотерапия“ към факултет „Фармация“ при МУ – Варна, където провежда упражнения по основните учебни дисциплини „Фармакология“ и „Фармакотерапия“ за специалността „Магистър-фармацевт“. Докторант е по докторска програма „Токсикология“ и специализант по специалността „Фармакология“. Провела е Летен стаж в Университетска болница „G. Rodolico“, Катания, Италия (2009 г.). Завършила е курс по Морска медицина с придобит сертификат (2009 г.) и по Хомеопатия към Европейската школа по Клинична хомеопатия към Laboratories Voiron (2011 - 2013 г.). Владее писмено и говоримо английски и немски език. Притежава необходимите компютърни умения.

Актуалност и значимост на тематиката. Избраният за проучване от докторанта проблем, отразен в темата на дисертационния труд *„Кардиопротективен ефект на липидна емулсия при остри екзогенни интоксикации с медикаменти“*, е свързан с един сравнително нов за токсикологичната практика метод на лечение при остри интоксикации с липофилни ксенобиотици – интравенозната инфузия на мастни емулсии. Отравянията със сърдечно-съдови медикаменти са на трето място по честота в световен мащаб, като най-висок леталитет се регистрира при калциевите антагонисти, сърдечните гликозиди и β -блокери. Независимо от съвременните методи за лечение, изразената

кардиотоксичност при редица от тях, респективно усложненията от страна на сърдечно-съдовата система, са една от основните причини за настъпване на смърт при острите екзогенни интоксикации (ОЕИ). Настоящото проучване е провокирано и от липсата на специфичен антидот при този вид отравяния, което също е основание за внедряване в рутинната практика на по-ефективни методи на лечение.

Способността на някои мастни емулсии да намаляват токсичността на липофилни лекарства, открит за лечебната практика преди около 15 години, се дължи на способността им да ги „улавят“ и да ги извличат от зоните с високо натрупване (сърце, мозък). Прилагането на интравенозните липидни емулсии (ЛЕ) като антидот в клиничната токсикология, в последните години се разглежда като нов алтернативен метод за лечение на отравяния с липофилни токсични съединения. У нас, независимо от съобщенията за положителния терапевтичен ефект на ЛЕ при остри интоксикации с някои липофилни ксенобиотици, методът все още намира ограничено приложение. От 2012 г. ЛЕ се прилагат епизодично при лечение на остри отравяния с някои невролептици, антидепресанти и бензодиазепини, а през 2014 г. и 2018 г. се включват, съответно в лечението при пациенти след отравяне с фосфоорганични съединения (Fenitrothion, Агрия 1050) и с мастноразтворими морски токсини (отравяне от мекотели и след консумация на някои рифови риби).

В научната литература не е налична достоверна информация за предполагаема кардиопротективна роля на ЛЕ. Към момента в България не са извършвани проучвания върху кардиопротективния ефект на ЛЕ при ОЕИ с липофилни агенти, както при експериментални животни, така и при хора.

Във връзка с изложеното дисертационният труд на д-р Габриела Кехайова е посветен на решаването на много важен и актуален проблем за клиничната практика – подобряване качеството и ефективността на лечението при пациенти с индуцирани сърдечни увреждания в хода на ОЕИ с липофилни медикаменти чрез изучаване кардиопротективния ефект на липидна емулсия.

Формулираните, за достигане на амбициозната цел 4 основни задачи (7 подзадачи на първа задача и 4 подзадачи на четвърта), са ясно дефинирани и включват попълване и обогатяване на информацията за ЛЕ и техния състав, изясняване механизма на действието им и свързаните с него оптимални терапевтични дози, продължителността на прилагане, идентифициране на възможните рискове, свързани с употребата на ЛЕ, установяване на краткосрочните и дългосрочните ефекти, а също и възможните нежелани реакции, свързани с инфузионната скорост и евентуалното предозиране на ЛЕ.

Структура и съдържание на дисертационния труд. Представеният дисертационен труд по наукометрични показатели отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника за развитието на академичния състав в Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна. Написан е на 193 стандартни печатни страници, текстът е много добре подкрепен и онагледен от 38 таблици, 42 фигури и 23 снимки, което не само улеснява анализа на резултатите и тяхното обобщаване, но и допълнително илюстрира мащабността на изследването. Структуриран е съгласно правилата за оформяне на докторска дисертация и съдържа всички основни елементи, допълнени от 6 приложения. Разработен е на базата на **внушителна Библиографска справка** (21 страници) от 298 съвременни литературни източници, свързани с приложението на ЛЕ при експериментални животни и при пациенти с остри отравяния с липофилни токсични

съединения, от които 11 на кирилица и 287 на латиница (повечето от последните 10 години, а 1/3 от всички – от последните 5 години). **Въведението** в 2 страници кратко и точно обосновава актуалността на проблема. **Литературният обзор** (46 страници) е изключително актуален, особено изчерпателен и изцяло насочен към разработваната тема във всичките ѝ аспекти. Проучени са пораженията на редица кардиотоксични и церебротоксични субстанции върху сърдечно-съдовата система и патогенетичните механизми на увреждащото им действие, основните клинични прояви на това действие и усложненията от страна на дихателната система. Подробно са описани и анализирани ЛЕ, обобщена и систематизирана е богатата информация за техния състав и видовете за парентерално приложение, наличните във фармацевтичната мрежа конвенционални ЛЕ и последните поколения иновативни липидни емулсии. Анализирани са фармакологични данни за ЛИ, както и данни за острата и подострата токсичност. Разгледани са фармакокинетиката и фармакодинамиката на ЛЕ, ефектите и индикациите за използването им, начините на дозиране, приложението им в клиничната практика в качеството на антидот при ОЕИ с липофилни съединения и установените НЛР. Считам, че тази част от обзора е един от особено ценните приноси на дисертационния труд, който заслужава адмирации. Представен е подробен анализ на всички предполагаеми механизми на антидотно действие на ЛЕ, с акцент върху механизма на “липидно поглъщане. Данните от задълбочения и впечатляващ литературен обзор, изготвен с необходимата компетентност, от една страна, определят избраната тема като съвсем навременна и особено необходима и от друга, показват отличната подготовка и осведоменост на докторанта по проблема в световен и в национален мащаб. Следствие от това са очертаните и ясно формулирани 3 важни групи нерешени проблеми при приложението на ЛЕ за лечение на остри отравяния с липофилни лекарствени средства. **Разделът Материали и методи** е развит стегнато в рамките на 6 страници, като съответните техники и методи са описани подробно и по възпроизводим начин. Много точно и детайлно е представен дизайна на проведения лабораторен експеримент, онагледен и с две оригинални снимки. *Проучването е извършено в два етапа – клиничен и експериментален.* *Клиничната част* обхваща всички групи кардиотоксични медикаменти, с акцент върху калциевите антагонисти. Специалното внимание на докторанта е насочено към Verapamil, който поради изразения кардиотоксичен ефект, тежките сърдечно-съдови нарушения при предозиране и високия леталитет, е избран като модел за кардиотоксичност, както при клиничното проучване, така и в експерименталния модел с опитните животни. Клиничният контингент (1100 пациенти) с остри медикаметозни интоксикации, лекувани в КИЛООТ – ВМА – Варна, по стандартната терапевтична схема, е проследен в ретроспективно проучване за 8 годишен период (2010 - 2018 година). За клинична преценка на ефективността на ЛЕ, болните са разпределени в две групи – контролна, при които не е приложена ЛЕ (1051), разделена по тежест на интоксикацията на 3 подгрупи и група от 49 пациенти, при които ЛЕ е включена в базовата терапевтичната схема. Приложени са необходимите за целта изследователски методи – документални и клинични. За установяване на самостоятелните кардиопротективни ефекти на ЛЕ е реализиран *експериментален модел на индуцирана с Verapamil кардиотоксичност* при 30 здрави мъжки Wistar лабораторни плъхове, при които като реанимационна терапия, е приложена 20 % ЛЕ в ниска и висока доза. Използвани са инструментални, биохимични и хистологични методи. И за двата етапа на проучването са подбрани подходящи съвременни статистически методи, които осигуряват необходимата достоверност на изследването.

Резултати, дискусия и обсъждане (85 страници).

Резултати от клиничните проучвания. Извършени са голям по обем изследвания, целящи да се направи сравнителен анализ между двете обособени групи пациенти. Етиологичното разпределение на ОЕИ показва най-голяма честота на отравянията с кардиотоксични медикаменти, независимо от механизма на действие (бензодиазепини, невролептици, антидепресанти, калциеви- и β -блокери, и сърдечни гликозиди). По тези причини, според д-р Г. Кехайова, включването на ЛЕ към стандартната терапия е от изключително значение за клиничната токсикология. Двете групи са сравними и по показателя „придружаващи заболявания“. Депресията е най-разпространеното заболяване, следвана от артериалната хипертония и шизофренията. От това произтича препоръката за добавянето на ЛЕ към кардиопротективните средства при най-честата коморбидност депресия, при хора в млада възраст с ОЕИ, което може да бъде от изключителна полза за лечебната практика. Клиничната ефективност на ЛЕ е оценена чрез анализ на тежестта на ОЕИ с Verapamil, настъпилите усложнения в хода на интоксикацията, промените в лабораторните показатели (белег за кардиотоксичност), ЕКГ, артериално налягане, продължителност на болничен престой и леталитет. Използван и анализиран е опита на КИЛООТ – ВМА – Варна по отношение дозирането на ЛЕ, прилагани като антидот. В зависимост от тежестта на ОЕИ са използвани три дозови режима – при леки, средно тежки и тежки, като при всички пациенти е установено стабилизиране на хемодинамиката още през първите часове. Изчисленият Рисков коефициент за смъртността показва, с 95 % вероятност, 2.29 пъти по-нисък леталитет при лекуваните с ЛЕ в сравнение с останалите, което определя важната роля на интравенозните ЛЕ като антидотно средство. Според докторанта, включването им в терапевтичната схема при ОЕИ с кардиотоксични медикаменти, независимо от механизма на осъществяваното действие, е от решаващо значение за развитието на клиничната картина и за изхода от интоксикацията. Установено е, че при нито един от пациентите с остри медикаментозни интоксикации, лекувани с ЛЕ, не се наблюдават НЛР свързани с нарушения в хемодинамиката, белодробната, бъбречната и чернодробната функция, и в мастната обмяна.

Видно е, че предложената от д-р Габриела Кехайова терапевтична схема, от една страна, допринася за подобряване качеството на лечение и за понижаване на риска от фатален изход при пациентите с остри липофилни медикаментозни интоксикации, и от друга – за намаляване продължителността на болничния престой, респективно себестойността на лечението.

Резултати от лабораторния експеримент. Според протокола опитните плъхове са третирани с ниска и висока доза ЛЕ Intralipid 20 %. Резултатите потвърждават, установените при клиничното проучване, кардиопротективни свойства на ЛЕ при остра интоксикация с Verapamil. Проведеното ЕКГ-мониториране на сърдечната честота при различни дози ЛЕ показва положителния инотропен ефект емулсията. Абсолютната преживяемост (100 %) при животните, претретирани и третирани с ЛЕ, нормалните стойности на КФК-МВ и хистологичния анализ на вътрешните органи на плъховете подкрепят положителните ефекти на ЛЕ, в т. ч. на ефективната висока доза 10 m/kg и нейната безопасност по отношение на мастната обмяна, чернодробните и бъбречните показатели. Установена е „доза – ефект“ зависимост на Intralipid 20 %, при отсъствие на нежелани клинични реакции. По индиректен начин са доказани основните механизми на ЛЕ, а именно феноменът на „липидно поглъщане“ и вазоконстрикторните ефекти. Правилно планирания и прецизно проведен лабораторен експеримент доказва

самостоятелните кардиопротективни свойства на ЛЕ и убедително подкрепя клиничното приложение на ЛЕ на базата на нейната ефективност и безопасност.

Изводи и приноси. Направените от докторанта изводи (7 от клиничното проучване и 5 от експерименталните изследвания) са логични, точно и ясно формулирани. Изведените приноси на дисертационния труд са 5, които независимо от твърде скромното им представяне, оценявам като значими. Принос с научно-теоретична стойност е изключително изчерпателния и впечатляващ литературен обзор, който поради своята информативност и актуалност може да се приеме и като отделна студия по темата, демонстрираща възможностите на автора за събиране, анализиране и обобщаване на литературни данни. Реализираният за първи път у нас експериментален модел за проучване ефектите на ЛЕ при лабораторни животни с индуцирана от Verapamil остра токсичност, е научно-приложен принос с висока стойност и особено важно значение не само за клиничната токсикологична практика. Категорично доказаните, за първи път, кардиопротективен ефект на ЛЕ и голяма терапевтична ширина при еднократно приложение (в ниски и високи дози), предложените 3 дозови режима, установената безопасност на ЛЕ и отсъствието на НЛР по отношение на хемодинамика, белодробна, бъбречна и чернодробна функция, мастна обмяна и тромбоцитопения приемам като приноси с подчертано научно-приложен характер. Считаю, че тази ценна информация трябва да бъде предоставена на вниманието и на други специалисти – анестезиолози, терапевти, фармаколози и други. Високо оценявам и финала на този дисертационен труд. Според мен 6-те оригинални практически приложения под формата на информационни таблици с данни, обобщаващи световния и националния опит, в т. ч. този на докторанта, съставени и представени по възможно най-перфектния начин, в синтезиран и удобен за използване вид, са много важен принос, с изцяло практическа насоченост. Те са, и могат да бъдат изключително полезни, както за лекарите-клиницисти, така също и за други медицински специалисти, включително магистър-фармацевти.

Преценка на публикационната дейност, свързана с дисертационния труд и личния принос на докторанта. Във връзка с дисертационния труд са публикувани 4 статии, в 2 от които докторантът е първи автор. Д-р Г. Кехайова е участвала в 9 различни научни форуми като първи презентиращ автор, има и едно самостоятелно участие. Това дава основание научната активност на докторанта да бъде оценена като много добра. Очевидно е, че дисертационният труд и приносите са лично дело на докторанта.

Автореферат. Авторефератът, който съдържа 84 стандартни печатни страници с включени 23 таблици, 8 графики и 20 снимки, е правилно структуриран, възпроизвежда напълно съдържанието на дисертационния труд и е оформен според изискванията.

Критични забележки и препоръки. Нямам забележки по същество, които биха се отразили на общата ми много висока оценка за качествата на разработения дисертационния труд. Бих искала да видя една по-активна публикационна активност от д-р Г. Кехайова. Част от докладите представени на различни форуми, през 2018 и 2019 година, следва в най-скоро време да бъдат допълнени и оформени като научни публикации, където тя да разкрие и да демонстрира, на база и на придобития вече опит, възможностите си при оформянето на научни разработки. Обобщаването на световния и на българския опит, установената на практика ефективност на ЛЕ при ОЕИ с липофилни лекарствени вещества, както и препоръката за прилагането ѝ като допълнителен метод за овладяване на кардиотоксичните увреждания при остри тежки отравяния, е безспорен принос на дисертационния труд. И във връзка с всичко казано от мен дотук, считаю, че това задълбочено и обстойно научно проучване, в т. ч. впечатляващия литературен

обзор, напълно покрива изискванията за монографичен труд и горещо препоръчвам в обозрими срокове дисертационната работа да бъде прецизирана, оформена и публикувана (обнародвана за по-широк достъп) като монография.

Заключение. Считам, че представения дисертационен труд е собствена разработка на изключително актуална тема, с важни научно-теоретични, оригинални и съществени научно-практически приноси. Д-р Габриела Кехайова демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научни изследвания – клинични и експериментални, в т. ч. анализиране и интерпретиране на научни данни. Направеното за първи път у нас подробно систематизирано разглеждане на ЛЕ (състав, механизъм на действие, фармацевтични продукти, НЛР, безопасен профил на приложение) и задълбочената оценка на кардиопротективния им ефект с важно значение за клиничната практика, в съчетание с получените резултати от клиничните и експерименталните проучвания, направените изводи и очертаните приноси показват, че докторантът притежава необходимите теоретични знания и професионална компетентност в областта на научните интереси.

Комплексната положителна оценка на дисертационния труд, а така също моето лично мнение, базирано на професионалните контакти, ми позволяват напълно убедено да предложа на уважаемото Научно жури да присъди образователната и научна степен „Доктор“ на д-р Габриела Красиминова Кехайова по научна специалност „Токсикология“, в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.3. Фармация.

Варна, 31 март 2020 г.

Изготвил становището:

(доц. Юличка Събева, д. м.)

