

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Петко Пенков Маринов, д.м.
Катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“
Декан на Факултет по фармация, Медицински университет – Варна

Относно: процедура за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ с кандидат Станислав Йорданов Марчев

Със заповед № Р-109-248/15.07.2020 г. на Ректора на МУ – Варна, въз основа на решение на Факултетния съвет на Факултет „Фармация“ по Протокол № 2/02.07.2020 г. съм избран за член на Научно жури, а по Протокол № 1/24.07.2020 г. от проведено първо заседание на НЖ съм определен да изготвя становище по процедура за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ с кандидат Станислав Йорданов Марчев

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

Област на висшето образование: 7. „Здравеопазване и спорт“

Професионално направление: 7.3. „Фармация“,

Научна специалност: „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“

Научни ръководители: проф. д-р Стефка Вълчева-Кузманова, д.м.н.

доц. д-р Павлина Гатева, д.м.

Форма на докторантурата: самостоятелна форма на обучение

Катедра: „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“, Факултет по фармация, Медицински университет – Варна

Процедурата по конкурса е спазена и е в съответствие с 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.

Биографични данни и професионална квалификация: Станислав Йорданов Марчев е роден през 1989 г. в гр. Пловдив. Завършва магистратура, специалност „Фармация“ през 2017 г. в гр. Берлин, Германия. От 2017 г. е магистър-фармацевт във фармацевтична компания в гр. Берлин. За сравнително краткия професионален път до момента, кандидатът е взел участие в 8 пълнотекстови публикации. Има и 11 участия в международни форуми.

Актуалност на темата: Епилепсията е позната още от древността и е едно от най-сериозните и разпространени неврологични заболявания, характеризиращо се с появата на генерализирани или парциални тонични/клонични гърчове. Пациентите с епилепсия, които се лекуват продължително време с антиконвулсивни медикаменти, са изложени на много по-висок риск за поява на остеопоротични изменения на костната система. Тези изменения намаляват здравината на костта и увеличават значително риска от фрактури при минимална травма. Друга важна клинична характеристика на остеопорозата е болката. Профилактиката на остеопорозата, особено при жени в менопаузата е съпроводена с прилагане на естроген-заместителна хормонална терапия. Тя обаче може да предизвика сериозни нежелани лекарствени реакции, като увеличен риск от карцином на матката и млечните жлези, тромбоемболизъм и менорагия.

Като алтернативна възможност за профилактика на остеопорозата е прилагането на фитопродукти. Последните не предизвикват нежеланите усложнения на заместителното

лечение с естрогени. В този контекст фитопродукти, получени от познати растения, известни със своите кулинарни или лечебни качества, могат да бъдат подходящи за фитохимични и фармакологични изследвания върху експериментални модели на естроген-дефицитна остеопороза.

Плодовете на *Aronia Melanocarpa* са популярни със своите органолептични качества. В последните години интереса към растението е значителен, заради възможността фитопродукти от *Aronia* да намерят реално фармакотерапевтично приложение. Проведените фитохимични анализи показват, че плодовете на *Aronia Melanocarpa* могат да съдържат голям брой биологично активни субстанции, които да обуславят благоприятни терапевтични ефекти. В същия контекст трябва да бъдат интерпретирани и изследвания върху други растения. Налице са експериментални и клинични данни, че продукти от целина (*Apium Nodiflorum*) могат да имат многобройни и разнообразни ефекти върху здравословното състояние. С фитохимични анализи на части или продукти от целина е показано, че в тях се съдържат многобройни химични съединения, представляващи различни групи вторични метаболити. Съществуват убедителни доказателства за благоприятно повлияване на клиничната и параклинична симптоматика при хронично третиране с екстракт на *Apium Nodiflorum* в експериментални модели на постменопаузална остеопороза. Фармакологичните проучвания на фитопродукти от *Aronia Melanocarpa* и *Apium Nodiflorum*, стероидни хормони и новосинтезирани 2-Н субституирани хидразид-хидразони в експериментални модели на епилепсия, болка и остеопороза са полезни във връзка с оценката на вероятния им терапевтичен потенциал за профилактика и/или лечение на жени с постменопаузална остеопороза.

Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд съдържа 129 страници. Онагледен е с 11 фигури и 24 таблици. Литературният обзор включва 170 източника, от които 15 са от български автори и 155 са от чуждестранни автори. Дисертационният труд е структуриран, съобразно класическия модел и включва: Въведение – 3 страници; Литературен обзор – 45 страници; Цел и задачи – 3 страници; Материал и методи – 15 страници; Собствени резултати – 19 страници; Анализ и обсъждане на резултатите – 10 страници; Изводи – 2 страници; Приноси – 1 страница; Литература – 21 страници; Публикации във връзка с дисертацията – 1 страница; Участия в национални и международни научни прояви във връзка с дисертацията – 2 страници; Благодарности – 1 страница;

Глава I. Въведение

Авторът представя накратко медико-социалното значение на епилепсията и остеопорозата, както и аргументира възможността за прилагане на фитопродукти и новосинтезирани 2Н-субституирани хидразид-хидразони в експериментални модели на тези заболявания.

Глава II. Литературен обзор

В тази глава дисертантът задълбочено разглежда няколко проблема:

1. Характеристиките на епилепсията, влиянието на стероидни супраренални и полови хормони върху епилептогенезата, използваните понастоящем в медицинската практика медикаменти с антиепилептично и антиконвулсивно действие, възможностите за повлияване еволюцията на заболяването с новосинтезирани кумаринови 2Н-хромен-субституирани хидразид-хидразони. Анализирани са повишеният риск от остеопороза и костни фрактури при терапия с антиепилептични лекаствени средства.
2. Характеристика на остеопорозата, клинично-епидемиологични данни, патофизиологични механизми, фармакотерапия.
3. Характеристика на болката и възможностите за нейното повлияване.
4. Характеристика на фитопродукти на *Aronia* (*Aronia melanocarpa*) и на *Apium* (*Apium nodiflorum*).

Въз основа на литературния обзор авторът прави следните важни констатации:

1. Лечението на епилепсията е симптоматично и засега не съществуват ефикасна механизъм-базирана терапия и/или ефективна профилактика. Стероидната терапия на епилепсията засега остава недостатъчно изяснена, което налага провеждането на допълнителни изследвания, с възможност да се проучи ефектът на стероидните супраренални и гонадни хормони върху интензитета, динамиката и латенцията на Kainate-евокирани гърчове, и леталитета в експериментален модел на епилептогенеза при плъхове.

2. В последните години има засилен интерес към синтез на нови съединения, които са кумаринови производни с проявен антиконвулсивен ефект. Доказано е, че съединенията с код 4b, 4c и 8b имат реален фармакотерапевтичен потенциал като антиконвулсивни средства, но са необходими допълнителни проучвания за тяхната аналгетична активност, както и изследвания за изясняване на механизма на тяхното действие.

3. Профилактиката на остеопорозата, в редица случаи може да предизвика сериозни нежелани лекарствени реакции. В този контекст фитопродукти, получени от популярни растения, познати със своите кулинарни и лечебни качества, могат да бъдат подходящи за фитохимични и фармакологични изследвания върху експериментални модели на естроген-дефицитна остеопороза. Такива растения могат да бъдат *Aronia* (*Aronia melanocarpa*) и *Apium* (*Apium nodiflorum*).

Глава III. Цел и задачи

Първата цел на дисертационния труд е да бъде изследван ефектът на стероидните супраренални и гонадни хормони върху интензитета, динамиката и латенцията на Kainate-евокирани гърчове и леталитета в експериментален модел на епилептогенеза при плъхове, както и действието на серия новосинтезирани хидразид-хидразонови съединения върху ноцицепцията.

Втората цел на настоящия труд е да се проучи действието на фитопродукти на *Aronia melanocarpa* и *Apium nodiflorum* върху костната минерална плътност (КМП) и костното минерално съдържание (КМС) при животни с експериментална естроген-дефицитна „пост-менапаузна“ остеопороза.

Задачите, поставени за разрешаване имат експериментален характер. Те са в две основни групи и са общо 11 на брой.

Целта и задачите са конкретни и правилно формулирани.

Глава IV. Материали и методи

Използваните в експерименталните модели опитни животни /мъжки плъхове, мъжки албино мишки, женски плъхове/, общо 260 на брой са третирани след одобрение на Комисията по биоетика на научните изследвания при Медицински университет - София и Комитета по биоетика на Института по невробиология при БАН. Изследванията са проведени чрез следните основни експериментални модели:

1. Експериментален модел на Kainic acid-индуцирана епилептогенеза. Методи на експериментални фармакологични и конгитивни изследвания.

2. Фармакологични методи за изследване на аналгетично действие на 2Н-хромен-субституирани хидразид-хидразони.

3. Експериментален модел на естроген-дефицитна остеопороза. Остеодензитометрични и алгометрични изследвания.

Използваните експериментални, инструментални, фармакологични, когнитивни и статистически методи спомагат и позволяват решаването на поставените цели и задачи.

Глава V. Собствени резултати:

Отстраняването на супрареналните жлези и тестисите силно влошава клиничните и патологични параметри на протичането на Kainic acid-индуциран експериментален епилептиформен синдром. На този фон третирането с естрогени или андрогени има силно

изразено неблагоприятно действие върху тези параметри. За разлика от това, прилагането на глюкокортикоиди може да антагонизира напълно неблагоприятното действие на тези хормони върху клиничната картина и патологичните параметри на Kainic acid-индуцирания конвулсивен синдром. В серията оригинални новосинтезирани хромен-субституирани хидразид-хидразони има съединения с проявен антиноцицептивен ефект. Чрез тест „Hot Plate“ е установено, че проявено антиноцицептивно действие имат три от новосинтезираните хромен-субституирани хидразид-хидразони - 4c, 8a и 8b. По сила на антиноцицептивното действие тези съединения се нареждат като $8b > 8a > 4c$. Чрез тест „Formalin“ е показано, че съединенията 4a и 4c проявяват умерено аналгетично действие, верифицирано като $4a > 4c$. Новосинтезираните хромен-субституирани хидразид-хидразони имат терапевтичен потенциал и могат да представляват интерес за създаване на нови антиепилептични агенти. Установено е, че естроген-дефицитна експериментална остеопороза на плъх може да бъде използвана като достоверен модел на пост-менопаузна остеопороза при жени. Продължителното третиране със сок от *Aronia* 10 ml/kg може да забави развитието на остеопоротични изменения на костите. В унисон с резултатите от изследванията на минералната костна плътност са и данните за промени в болковата чувствителност. При остеопороза ноцицептивните прагове, измерени с тест „Hot Plate“, са понижени статистически достоверно. Третирането със сок от *Aronia* 10 ml/kg може да действа благоприятно, като облекчава болката при състояние на проявена остеопороза. Приложената схема на фармакологичното третиране със сок от *Aronia* 10 ml/kg и *Aronia* 5 ml/kg не предизвиква съществени промени в минералното съдържание. Налице е известна тенденция за понижаване на КМС във фемура, която би могла да спре след третиране със сок от *Aronia* 10 ml/kg. Фармакотерапията с екстракт на *Arium* като антиостеопорозно средство има несигурен ефект при третиране, което вероятно се дължи на недостатъчна продължителност на терапията.

Глава VI. Анализ и обсъждане на резултатите:

Анализът на постигнатите резултати показва, че *Corticosterone* има по-силно антиепилептично действие отколкото *Progesterone*. *Testosterone* притежава значителна про-конвулсивна активност. Това налага внимателно дозиране при лица, които получават анаболни стероиди. Хормоналният дисбаланс може да има съществено значение за прояви на епилептиформената конвулсивна активност при лица с епилепсия. Създадената кватнитативна кумулативна скала дава възможност за детайлизиран и адекватен анализ на соматичната и когнитивна симптоматика при експериментален модел на Kainate-индуцирана епилептогенеза. Част от новосинтезираните кумаринови 2Н-хромен-субституирани хидразид-хидразони - 4a, 4c, 8a и 8b могат да намалят ноцицепцията. Това може да бъде използвано като допълнителна полезна характеристика при създаването на нови антиконвулсивни средства. Резултатите от проведените изследвания показват, че при третиране на животните с 10 ml/kg сок от *Aronia*, развитието на остеопороза настъпва по-късно в съчетание с по-слабо изразена костна деструкция. Това е верифицирано със значително подобрени параметри на КМП и КМС, установени след третиране с 10 ml/kg сок от *Aronia*. Данните за благоприятно действие на 5 ml/kg сок от *Aronia* при остеопороза са неубедителни. Фармакотерапията с екстракт от *Arium* с кратка продължителност, приложена за превенция на потенциални остеопорозни изменения, има слаб и несигурен ефект.

Глава VII. Изводи:

Направените от автора 9 извода от експерименталните изследвания са логичен завършек на резултатите от дисертационния труд.

Глава VIII. Приноси:

Въз основа на дисертационния труд Станислав Марчев извежда и формулира 3 приноса, които напълно одобрявам. Установено е, че новосинтезираните хидразид-хидразонови съединения 4a, 4b, 4c, 8a и 8b, показали *in silico* профил на антиконвулсанти, притежават

умерено изразена противоболкова активност. Експериментално е доказано, че продължителното третиране с екстракт на *Aronia melanocarpa* 10 ml/kg може значително да забави развитието на остеопоротични изменения в костите и понижава болковата чувствителност при експериментална „пост-менопаузна“ остеопороза. Валидирана и приложена е ново-създадена квантитативна скала за количествена оценка на клиничната симптоматика при експериментален епилептиформен синдром. Квантитативната кумулативна скала дава възможност за детайлизиран и адекватен анализ на соматичните/конвулсивни и когнитивни прояви при експериментална „епилепсия“. Тези приноси обогатяват фармакологичната наука у нас и имат определен научно-практически характер.

Публикационна активност:

Авторът представя 5 публикации във връзка с дисертационния труд, като в две от тях е първи автор, а в две е втори автор, което доказва личния принос на дисертанта при разработване на настоящата работа. Две от публикациите са в списание "Biotechnology & Biotechnological Equipment" с импакт фактор, съответно 1,277 и 1,327, което е атестат за високото научно ниво на представените резултати. Резултатите от дисертационния труд са представени и на 9 научни форума, шест от които са в чужбина, като в четири случая има публикувани абстракти в списания с импакт фактор, съответно 3,83; 3,83; 3,83; 2,997. Считаю, че научните трудове на Станислав Марчев притежават съвременни научно-приложни достойнства и са с оригинален принос.

Авторефератът е изготвен съгласно изискванията и отговаря напълно на целите, задачите и резултатите в дисертационния труд.

Заклучение: Дисертационният труд на тема „Фармакологични проучвания на стероидни хормони, природни продукти и новосинтезирани 2-Н субституирани хидразид-хидразони в експериментални модели на епилепсия, болка и остеопороза“ е актуален и третира проблеми на често срещани в клиничната практика заболявания. Представеният труд напълно 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 и заложените в него критерии за ОНС „Доктор“. Ето защо давам своята положителна оценка и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да гласуват положително за защитата на дисертационния труд на Станислав Йорданов Марчев и да му присъдят образователната и научна степен „Доктор“ в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.3. „Фармация“ по научна специалност „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“.

18.08.2020 г.
гр. Варна

Проф. д-р Петко Маринов, д.м.

