

## РЕЦЕНЗИЯ

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

Член на Научно жури съгласно Заповед № Р-109-106 от 23.03.2021 г.  
на Ректора на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна

**Относно:** Дисертационен труд на тема: *„Проучване ефектите на интравенозна липидна инфузия при остри интоксикации с някои ксенобиотици“* за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.3. Фармация, Научна специалност „Токсикология“

Рецензията е изготвена според изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за прилагането му и Правилника за развитие на академичния състав на МУ – Варна, и на основание Протокол № 1/29.03.2021 г. от проведеното първо заседание на Научното жури.

Автор на дисертационния труд е *маг. фарм. Симеонка Димитрова Димитрова, асистент и докторант в самостоятелна форма на обучение в докторска програма по научна специалност „Токсикология“* в Катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“, Факултет „Фармация“ при МУ – Варна, зачислена със заповед № Р-109-177/18.05.2016 г. на Ректора на Медицински университет – Варна.

**Научен ръководител на докторанта е проф. д-р Петко Пенков Маринов, д. м.**

**Кратки биографични данни и кариерно развитие.** Симеонка Димитрова Димитрова е родена в гр. Варна. През 1992 г. завършва VII СОУ „Найден Геров“ (с разширено изучаване на немски и руски език), през 1994 г. Полувисш медицински институт – Варна с бакалавърска степен „Помощник-фармацевт“, а през 2003 г. – висше образование в МУ – София, специалност „Магистър-фармацевт“. От 1994 до 2016 г. работи като заместник управител и управител в аптечната мрежа, и в Болничната аптека на УМБАЛ ”Света Марина“ ЕАД – Варна, където от 2019 г. е на длъжност „Клиничен фармацевт“ и като такава участва в 18 клинични изпитвания по програми на университетската болница. От 2015 г., до момента, след спечелен конкурс, 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“ и води лекции по учебната

дисциплина „Фармакология“ на студенти по специалностите „Помощник-фармацевт“ и „Рентгенов лаборант“. През 2016 г. е зачислена за *докторант* по научна специалност „Токсикология“ в задочна форма на обучение. През 2019 г. придобива *специалност* „Клинична фармация“ и същата година е зачислена като *специализант* по научна специалност „Фармакология и фармакотерапия“. Провела е обучение (с взет изпит и сертификат) в Master class по Онкологична фармация – основен курс на тема "Фармацевтична практика при приготвяне и безопасна работа с цитотоксични лекарства", организирано от Европейската асоциация по онкологична фармация (ESOP), София, 26 – 28 юни, 2016 г. и обучение с придобиване на сертификат на тема "Роля на болничната фармация и болничния фармацевт в клиничните проучвания: Добра клинична практика и местно законодателство", организирано от Българската асоциация по клинични проучвания, проведено в МУ – Варна, 11.02.2017 г. Член е на Български фармацевтичен съюз и на Професионална организация на болничните фармацевти в България. Владее писмено и говоримо английски и руски език, ползва немски език. Притежава необходимите компютърни умения.

**Актуалност и значимост на тематиката.** Предственият ми дисертационен труд е посветен на амбициозната цел да се проучат терапевтичните ефекти на един сравнително нов и предизвикателен за клиничната токсикологична практика метод – интравенозната инфузия на мастни емулсии при остри отравяния с някои липофилни ксенобиотици, проявяващи невротоксично действие – лекарства и фосфорорганични пестициди (по клинични данни и в експериментален модел). Открит за лечебната практика преди около 16 години за овладяване на локалната анестетична системна токсичност, методът се базира на феномена „липидна мивка“, който се състои в това, че инфузията с липидна емулсия (ЛЕ) създава разширена вътресъдова липидна фаза, в резултат на което възникналият концентрационен градиент тъкан/кръв, изтегля липидоразтворимите вещества от прицелните тъкани към водната плазмена фаза и оттам към новообразуваната липидната фаза. Така токсичните вещества се отдалечават от областите с висока концентрация (сърце и мозък) към "липидната мивка", която ги поглъща („улавя“) и по този начин предотвратява свързването им с таргетните рецептори. Впоследствие този иновативен метод се екстраполира към интоксикации и с други мастноразтворими ксенобиотици, като прилагането му се препоръчва при появата на неврологични или сърдечно-съдови симптоми. Налична е научна информация за ефективността на мастните емулсии при остри отравяния с антиепилептични лекарства. Все по-често интравенозната липидна емулсия (ИЛЕ) се предлага като нов подход при лечение на остри екзогенни интоксикации (ОЕИ) с липофилни инсектициди и в частност, с органофосфати (ОФ). Обект на настоящото проучване са лекарства от фармакологичните групи Бензодиазепини (BZD) и Антиепилептици (АЕ) с изявени ЦНС-ефекти. Вниманието към първата група се дължи на регистрираната най-висока честота на острите отравяния с BZD сред медикаментозните интоксикации, което се потвърждава и от данните на Клиника за интензивно лечение на остри отравяния и токсикоалергии при ВМА – МБАЛ – Варна (КИЛООТ). Изборът на



антиепилептичните медикаменти се базира на широкото им използване при социално значими заболявания, фармакологичната им свързаност с бензодиазепините и на техни основни НЛР, характеризиращи се със симптоми от страна на ЦНС. Интензивната употреба на пестициди в стопанството и бита, и в частност на ОФ в днешно време, непроменената от десетилетия терапия на острите отравяния (с антихолинергични агенти и оксими), техните сериозни последици и високата смъртност (10 ÷ 40 %), въпреки най-добрите поддържащи грижи, са основната причина за текущите усилия на учените в посока намирането и въвеждането на други, по-ефективни клинични подходи за противодействие. Целта е намаляване не само на краткосрочните, но така също и на дългосрочните токсични ефекти на експозицията. Тъй като голяма част от ОФ са липофилни съединения, според някои учени изглежда разумно да се проучат антидотните свойства и ефективността на ИЛЕ при остри отравяния. Поради все още епизодичното приложение на масните емулсии в клинична практика наличната научна информация (case reports) за ефектите им при ОЕИ, както с лекарствени вещества, така и с пестициди, проявяващи невротропно действие, е твърде оскъдна, а данните недостатъчно достоверни. Към момента, в България не са извършвани подобни проучвания, както при експериментални животни, така и при хора. Във връзка с това считам, че дисертационният труд на м. ф. С. Димитрова е посветен на изключително актуален проблем – изясняване протективната роля на ИЛЕ в качеството ѝ на антидот при ОЕИ с липофилни ксенобиотици и може да бъде важен принос за подобряване качеството и ефективността на лечението при пациенти с индуцирани токсични неврологични увреждания.

**Структура и съдържание на дисертационния труд.** Дисертационният труд по наукометрични показатели отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника за приложението му в МУ – Варна. Написан е на 189 стандартни машинописни страници, текстът е много добре онагледен със 7 таблици, 67 фигури и 6 снимки, което допълнително илюстрира мащабността на изследването. Структуриран е съгласно правилата за оформяне на докторска дисертация и съдържа всички основни елементи. Разработен е на базата на **внушителна Библиографска справка** от 329 литературни източници, от които 13 на кирилица и 316 на латиница (повечето от последните 15 години, а 72 от всички или 22 % – от последните 6 години). **Въведението** от 2 1/2 страници кратко и точно обосновава целта и актуалността на проучвания проблем. **Литературният обзор** (62 страници) е изключително богат на информация и обхваща всички аспекти на разработваната тема. Подкрепен е с 4 таблици и 5 информативни фигури. В отделна глава, в рамките на 6 страници, е направено оригинално обобщение на литературните данни, включващо съвременни текущи препоръки и практически съображения за приложението на ИЛЕ в клиничната токсикология, анализ на безопасността им, посочени са перспективите в приложението им и е изведено заключение. Обзорът е разработен в 4 раздела. Първият раздел разглежда проблемите, свързани с токсичното увреждане на нервната система – количествените промени в съзнанието, усложненията на екзотоксичната кома с акцент върху мозъчния оток. Обект на втория раздел са ОЕИ с лекарствени продукти с

невротоксично действие. Стегнато и в достатъчен обем са представени кратката фармакологична характеристика на основните представители на класическите антиепилептици, проявяващи невротоксичност, механизмът на действие, симптомите и усложненията при острите отравяния с бензодиазепини, барбитурати, карбоксамиди (Carbamazepine и Oxcarbamazepine), валпроати, Lamotrigine и хидантоини (Phenytoin). В третия раздел на обзора са описани и анализирани острите интоксикации с пестициди, като вниманието на докторанта е насочено към фосфорорганичните, причина за ~ 74 % от всички отравяния с тези препарати, които протичат тежко и с висок леталитет, поради което са предизвикателство за клиничната токсикология. По литературни данни самоотравянията, в частност суицидните перорални интоксикации с ОФ инсектициди, които са с нарастваща честота през последните години, са най-важната глобална форма на остро отравяне, засягаща ежегодно над 1 000 000 души и завършваща летално при около 100 000. Във връзка с това е разгледан водещият патогенетичен механизъм, обуславящ невротоксичното действие на ФОП, фазите в развитието на клиничната картина при ОЕИ и лечението им. Оценено е водещото място на органофосфатния инсектицид *диметоат*, който е важна част от обекта на настоящия дисертационния труд, като е анализирана наличната информация за механизмите на острата токсичност, токсикокинетиката, симптомите на отравянето и усложненията. Посочени са редица литературни данни за LD<sub>50</sub> (инхалаторна, дермална, перорална, интраперитонеална) за различни животински видове (гризачи, зайци, котки, кучета). Последният раздел от 41 страници, насочен към липидните емулсии, включва исторически данни за експериментално им използване като източник на енергия в парантералното хранене на пациенти, датиращи от 1712 г. Подробно е разгледан състава на различните видове мастни емулсии, видовете, физиологичните ефекти и ползите от приложението им. С особено внимание са анализирани потенциалната невропротективна роля и приложението на ЛЕ при остри интоксикации. Установено е, че съобщенията в научната литература са предимно за случаи или поредици от случаи с предполагаеми положителни ефекти на интравенозното приложение на ЛЕ при остро отравяне с редица вещества, но при липса на достатъчно надеждни доказателства. Отсъствието на сериозни клинични изпитвания с ИЛЕ е подкрепено с таблични данни, илюстриращи оскъдното им приложение при остри интоксикации с невро- и кардиотоксични лекарства. Подробно и с необходимата компетентност са разгледани различните механизми на действие на ИЛЕ при остра системна токсичност, с акцент върху основния механизъм, базиран на феномена на липидното „поглъщане“/„улавяне“. Анализът на алтернативните механизми при остри отравяния (повлияване на биоенергетиката, активиране на Ca<sup>2+</sup>-канални, повлияване на ензима транслоказа, инотропен ефект) показва, че реанимацията, базирана на липиди, е много по-сложен клиничен феномен от първоначално предполагащото, което налага допълнителни проучвания. На този етап ефектите от въвеждането на ЛЕ могат да се разделят на вътреклетъчни (метаболитни, сигнални), вътресъдови (разделяне, „мивка“) и мембранни (канални). Подробно са разгледани ефектите от приложението на мастните емулсии в клиничната практика при ОЕИ с кардиотоксични лекарства (локални анестетици, ТСА, лекарства, повлияващи



сърдечно-съдовата система). Особено внимание е отделено на приложението на ИЛЕ при остри интоксикации с антиепилептични медикаменти, влияещи върху нервната система, като за целта са обобщени и анализирани данните от доклади за ефектите им при остро отравяне с барбитурати, Lamotrigine, бензодиазепини, Carbamazepine, валпроати и Phenytoin. Също толкова обстойно са разгледани възможностите за използването на ИЛЕ при острите отравяния с ФОП. Акцентирано е върху необходимостта от намирането на най-добрата и ефективна терапия при тези тежки и често животозастрашаващи интоксикации, при които липсата на надеждни антидотни средства, продължава да е важен клиничен проблем и в днешно време. На фона на анализирания класическа лечебна схема с известните от 50-те години на миналия век периферно антихолинергично лекарство Atropine (антагонист на мускариновите рецептори), оксими (реактиватори на инхибираната ChE, за ефективността на които не са налични категорични данни) и бензодиазепини (прилагани симптоматично за купиране на индуцираните от органофосфатите гърчове), е разгледана липидната емулсия като потенциален нов антидот. Представени са експериментални проучвания с използване на животински модели при различни начини на приложение на мастната емулсия. Направен преглед върху възможната роля на ИЛЕ като допълнение към вътреболничната терапия на остри отравяния с ФОП. Описани са наличните към момента неголям брой единични, при това противоречиви изследвания, при пациенти с ОЕИ.

**Целта** е ясно дефинирана и напълно обосновава необходимостта от такова проучване. За достигането ѝ са формулирани 3 основни задачи и 6 подзадачи.

**Разделът Материали и методи** е развит в рамките на 9 страници, като съответните методи, протоколи и техники са адекватно избрани, описани са подробно и по възпроизводим начин. Дисертационният труд е реализиран в два етапа – *клиничен и експериментален. Клиничното проучване е ретроспективно и обхваща 10-годишен период (2010 ÷ 2020 година)*. Обект на изследването са 321 пациенти с ОЕИ с невротоксични вещества, преминали през КИЛООТ при ВМА – МБАЛ – Варна. При 301 отравянето е с лекарствени средства от фармакологични групи с изразени ЦНС-ефекти – BZD (226) и АЕ (75), при 20 – с пестициди. При 286 пациенти (BZD – 201, АЕ – 69, ФОП – 16) е приложена стандартната реанимационна и детоксично-депурационна терапия (група без ИЛЕ), а при 35 (BZD – 25, АЕ – 6, пестициди – 4) ЛЕ е включена в базовата лечебна схема в качеството ѝ на антидот (група с ИЛЕ). За анализа на клиничните данни са използвани документални методи – извършен е сравнителен анализ на основните параметри, вписани в медицинската документация на болните (лекувани без ИЛЕ и тези с приложена ИЛЕ) – демографски, причина за отравянето, вид на токсичния агент, коморбидност, клинични и клинично-лабораторни изследвания при постъпването, проведено лечение. За установяване на НЛР, свързани с приложението на ИЛЕ като антидот, са проследени усложненията в хода на терапията (неврологични, сърдечно-съдови, чернодробни), продължителността на болничния престой и изхода от интоксикацията, с акцент върху леталитета. За проучване протективния ефект на препоръчаната за реанимационна терапия на остри отравяния в хуманната медицина

болус доза 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ, е реализиран *in vivo експериментален модел на индуцирана с диметоат остра токсичност* при 42 мъжки полово зрели плъхове от порода Wistar. Изследванията са проведени в съответствие с всички правила и изисквания за работа с лабораторни животни. За достигане на целта са използвани утвърдени поведенчески експериментални протоколи, инструментални и биохимични методи. Дизайнът на проведения лабораторен експеримент, онагледен с 6 оригинални снимки, е представен точно и детайлно. И за двата етапа на проучването са подбрани подходящи съвременни статистически методи, които осигуряват необходимата достоверност на изследването.

**Резултати и обсъждане** (71 страници). Анализирани са клиничните данни и тези от предклиничното проучване (експерименталния модел) и са сравнени ефектите на липидната емулсия при хора и опитни животни с остра интоксикация с ФОП.

**Резултати от клиничните проучвания.** За оценка на терапевтичната ефективност на ИЛЕ са извършени голям по обем изследвания, позволяващи да се направи сравнителен анализ между двете обособени групи пациенти (лекувани по стандартната терапевтична схема и такива с приложена ИЛЕ), умело структурирани в 2 раздела: **Остри екзогенни интоксикации с бензодиазепини и антиепилептици** и **Остри екзогенни интоксикации с пестициди**, като във всеки от тях са обособени по 3 аналогични части: **1.** Анализ на основните демографски и клинични данни, вписани в медицинската документация на пациентите; **2.** Анализ на промените в измерените клинично-лабораторни показатели; **3.** Продължителност на болничния престой и леталитет при пациентите. Етиологичното разпределение на ОЕИ с изследваните 2 групи медикаменти (BZD и АЕ) показва 3-кратно по-висока честота при жените, за разлика от отравянията с пестициди, които преобладават при мъжкия пол. Средната възраст на пациентите с ОЕИ с BDZ (групата над 45 години) е по-голяма от тази с АЕ, при която честотата на отравянията при по-младите пациенти (до 45 години) е 3 пъти по-висока, докато интоксикациите с пестициди са характерни за най-възрастните пациенти (над 60 г.). Установено е, че водеща причина за ОЕИ при изследвания контингент са суицидните опити. При BZD с най-висока честота са отравянията с Clonazepam, Bromazepam и Diazepam. При АЕ голямата част от случаите са свързани с предозиране на Valproic acid, следвани от Carbamazepine. 45 % от случаите на остри отравяния с пестициди са резултат от прием на органофосфати, 40 % – на синтетични пиретроиди и по 5 % – на бромадиолон (антикоагулантен родентицид) и на смесена интоксикация (пиретроид и ОФ). Органофосфатният инсектицид *диметоат* е причина за 88.89 % от ОЕИ с ФОП (8 от 10 пациенти). ИЛЕ, в качеството ѝ на антидот, е използвана за лечение при 2-ма пациенти с остри отравяния с *диметоат*, при 1 – с *фенитроцион* (Агрива 1050) и при 1 – с комбинацията *циперметрин* и *хлорпирифос етил* (пиретроид и ОФ). Протективната роля на ИЛЕ е оценена чрез проследяване и анализ на основни клинични прояви на интоксикацията при изследваните пациенти – промени в съзнанието, симптоми от страна на ЦНС и на периферната нервна система (мускулен тонус и двигателна активност), промени в двете вегетативни функции (дихателна и сърдечна честота), на фона на съпътстващи заболявания и усложнения в хода на терапията. Много



високо оценявам и съм особено впечатлена от избория от м. ф. С. Димитрова оригинален подход да подкрепя обобщени резултати от собственото изследване с представяне на по-интересни и показателни случаи от клиничната практика на КИЛООТ, илюстриращи протективната роля на ИЛЕ (8 случая) и сравняването им с аналогични клинични случаи, докладвани в наличната литература (12 случая). Интерес представлява отравянето при 20-годишна бременна жена, с придружаващо заболяване епилепсия, погълнала умишлено с цел прекратяване на бременността, около 2 часа преди хоспитализацията, Trileptal (600 mg tabl. film) или общо около 36.0 g Oxcarbamazepine. В терапевтичната схема, в качеството на антидот, се включва липобаза *Intralipid* 20 %, след което се наблюдава стабилна хемодинамика, състоянието на пациентката не прогресира към влошаване. Анализът на кръвната проба показва повишени концентрации на Oxcarbamazepine и Carbamazepine, което потвърждава ефекта на „улавяне“ на липофилни лекарства от мастната емулсия. Консултът с акушер-генеколог също не установява наличие на очакваните токсични синдроми, матката е в нормално състояние, а плодът е жив, с фетални движения. Пациентката е изписана след 2-дневен престой в клиниката, хемодинамично стабилна, без болков синдром, без прояви на енцефалопатия, без гърчови еквиваленти. Представеният случай по категоричен начин демонстрира способността на ИЛЕ да неутрализира токсичните вещества, така, че те да не достигнат до прицелните органи, в случая мозък и плацента, което се доказва от липсата на ЦНС-симптоми при майката и от състоянието на плода. Считаю, че търсената и установената от докторанта корелация между собствените и литературните данни потвърждава достоверността на изведените на място убедителни изводи. Резултатите от проучването показват, че при всички разглеждани етиологични групи ИЛЕ е избор на лечение приоритетно при симптоматика от страна на ЦНС. При острите медикаментозни интоксикации ИЛЕ се прилага по преценка на лекуващия лекар при по-тежките случаи на потиснато съзнание – сомнолентност, сопор и кома, докато при острите отравяния с пестициди, поради високия токсичен потенциал на ноксата, ИЛЕ се включва в терапията още при първите симптоми на потиснато съзнание – обнубулация (75 %). По отношение на отравянията с пестициди, резултатите от проучването и анализа на представените клинични случаи (от наличните в литературата единични съобщения) показват, че ИЛЕ, използвана в качеството на антидот, демонстрира ефективна невро- и сърдечно-съдова протекция. Установено е, че коморбидността при ОЕИ с BDZ е от страна на ЦНС и ССС, при отравянията с АЕ преобладават заболявания на ЦНС, а при тези с пестициди, водещи са сърдечно-съдовите патологии. Анализираният от докторанта данни очертават основните критерии за включване на ИЛЕ при ОЕИ с невротоксични медикаменти и с пестициди – тежка клинична картина и/или прием на високи дози токсично вещество, съчетани или не, със сериозни съпътстващи заболявания, а също и критично състояние с висок риск от бързо прогресиране до смърт. Проучването показва, че промените в клинично-лабораторните параметри (хематологични и биохимични, както и регистрираните метаболитни изменения), при постъпването на пациента, не са определящи решението на лекуващия лекар за включване на ИЛЕ в терапевтичната схема, от една страна и от друга, че инфузията на мастната емулсия не повлиява негативно лабораторните



показатели. По отношение продължителността на хоспитализацията, при ОЕИ с медикаменти не е регистрирана особено отчетлива разлика между двете изследвани групи. Болничният престой при 4-мата пациенти с органососфатна интоксикация, при които е приложена ИЛЕ, в сравнение с всички останали, е значително по-дълъг ( $> 5$  дена) ( $P < 0.01$ ), което докторантът свързва с високата токсичност на ноксата, респективно по-голяма тежест на остро то отравяне, наложили включване на липидна емулсия. Тези резултати са убедително илюстрирани чрез проследяване развитието на клиничната картина и приложеното лечение с болус доза 20 % ИЛЕ при 3-мата преживели отравянето пациенти. Отчитането на фактора „смъртност“ потвърждава по-високата ефективност на ИЛЕ при ОЕИ с АЕ, в сравнение с ВЗД, като отново се подчертава, че ЛЕ трябва да се прилага при най-тежките форми на интоксикация, както и това, че за изхода от лечението, от особено значение са вида и тежестта на съпътстващите заболявания, които често пъти са повече от едно. При ОЕИ с пестициди, ефективността на ИЛЕ е оценена чрез изчисления коефициент на риска (рисков фактор) за летален изход, който при пациентите, лекувани без липидна инфузия, е 2. И тук разгледаните случаи показват, че резултатите от проучването при пациенти с ОЕИ с пестициди, са в съответствие с данните от публикуваните в литературата изследвания и потвърждават протективния ефект на ИЛЕ по отношение преживяемостта и леталитета при тези отравяния.

**Резултати от лабораторния експеримент.** За изследване невропротективния ефект на мастната емулсия при индуцирана с *диметоат* остра токсичност, плъховете са третирани с препоръчаната в хуманната медицина за лечение на ОЕИ болус доза от 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ, като за целта е избрана най-широко използваната емулсия *Intralipid*. Резултатите от поведенческите тестове показват, че приложената доза ЛЕ не повлиява увредената от диметоата обща двигателна активност при плъховете (*Open field test*), докато подобрението в изследователското им поведение (*Hole board test*) е проявено чрез 3-кратно нарастване на показателя (брой поглеждания в дупките, разположени на пода на експерименталната постановка) непосредствено след въвеждането на ЛЕ, като на 20-та минута той е повишен със 72 %. Дозата 1.5 mL/kg възстановява потиснатите дихателна и сърдечна честота при гризачите до стойности, близки до тези при контролите, с по-бързо повлияване на дихателната честота. Според докторанта установените протективни ефекти спрямо двете вегетативни функции и върху изследователското поведение, както и отсъствието на позитивен ефект върху общата двигателна активност (периферно нервно-мускулно предаване), насочват към потенциални невропротективни свойства на ЛЕ, локализиращи в ЦНС. При всички опитни гризачи са измерени стойностите на ChE, глюкоза, урея, креатинин, общ и директен билирубин, общ холестерол, триглицериди, GGT, ASAT и ALAT. Регистрираното достоверно възстановяване на повишените от органофосфата нива на плазмената глюкоза и на тоталния холестерол, в резултат на въведената болус доза 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ, предполага наличие на органопротективен потенциал. Установена е нефро- и хепатопротекция, изразена и тук чрез достоверно възстановяване на повишените от токсичния агент концентрации на уреята и на креатинина, както и на активността на трансaminaзите (ASAT и ALAT). Резултатите показват, че ИЛЕ ефективно повлиява



основния токсичен механизъм на ФОП – блокиране на холинестеразната активност, като повишението в стойностите на ензима може да се интерпретира като проява на антидотното действие на мастната емулсия. Позитивните ефекти на ЛЕ спрямо леталитета са демонстрирани чрез отчетената 100 % преживяемост на експерименталните плъхове. Правилно планираният и прецизно реализиран експериментален *in vivo* модел категорично потвърждава установените, в резултат на клиничното проучване, невропротективни свойства на 20 % ИЛЕ, локализиращи в ЦНС и подкрепя не само нейната ефективност, но и безопасността ѝ за клинично приложение в препоръчаната в хуманната медицина при остри интоксикации болус доза от 1.5 mL/kg.

***Сравняване ефектите на липидната емулсия при хора и опитни животни с остра интоксикация с ФОП.*** С цел проучване на възможна екстраполация на данните от експерименталния модел при плъховете с диметоат-индуцирана остра интоксикация върху хората, докторантът сравнява някои основни характеристики на острото екзогенно отравяне с ФОП от клиничното проучване и от лабораторния експеримент. Приветствам тази идея, тъй като проблемът на екстраполацията между животински видове и хората, е принципно важен и съществен. Независимо от налагащото се мнение през последните години, че в повечето случаи токсичните ефекти, наблюдавани при животни, с голяма вероятност могат да се проявят и при хора, на този етап проблемът с екстраполацията на токсикологичните данни, получени в експериментален модел, върху човека, все още не е решен. Във връзка с това оценявам направения опит да бъдат сравнени ефектите на ИЛЕ върху общата двигателна активност, върху симптомите от страна на ЦНС и върху двете вегетативни функции в ЦНС (дихателната и сърдечната честота), както и върху преживяемостта. По отношение на смъртността, категорично е установена ролята на ЛЕ в посока положителен изход от интоксикацията. Според м. ф. С. Димитрова установените несъвпадения между част от клиничните данни и експерименталните резултати се дължат най-вече на видовете различия и свързаните с тях различен обем на разпределение на ксенобиотиците, особености в активността на отделни плазмени ензими, както и в метаболизма на токсичната нокса. В случая, освен по-бързия метаболизъм при плъховете, като допълнителен фактор се отчита и липсата на корелация между възрастта на опитните гризачи и пациентите, тъй като експериментът е проведен с млади и здрави животни, докато пациентите с остри органофосфатни интоксикации са на възраст над 60 години и с придружаващи заболявания, които също оказват влияние, макар и в различна степен, върху тежестта на интоксикацията, респективно протичането и изхода. Опитът за сравняване на някои основни характеристики на острите отравяния с ФОП от клиничните данни и от лабораторния експеримент приемам като стремеж и умения да се анализират и обобщават придобити от научното изследване данни.

На база резултатите от цялостното проучване считам, че дисертационният труд убедително насочва към способността на ИЛЕ да проявяват антидотни свойства при остри отравяния с медикаменти и с пестициди, действащи върху нервната система, което според мен е особено важно не само за подобряване качеството на лечението, но и за понижаване на риска от фатален изход при пациентите с този вид интоксикации.

**Изводи и приноси.** Направените от докторанта изводи – по 7 за двата етапа на проучването са логични, точно и ясно формулирани. Приносите на дисертационния труд са 8, които оценявам като значими. Принос с много висока научно-теоретична стойност е изключително информативния и много задълбочен литературен обзор, в който са проучени възможностите за прилагането на ЛЕ като антидот при остри интоксикации с липофилни ксенобиотици, проявяващи невротоксично действие и който убедително демонстрира способността на автора за събиране, обработване, анализиране и обобщаване на литературни данни. Сериозен научно-приложен принос е проведеното за първи път у нас ретроспективно проучване върху невропротективния потенциал на ИЛЕ в ролята ѝ на антидот, при пациенти с остри отравяния с лекарства от групите BZD и АЕ, проявяващи изразени ЦНС-ефекти и с пестициди, характеризиращи се основно с невротоксичност, с акцент върху органофосфатния инсектицид *диметоат*, причина за най-честите отравяния с тези съединения. Оригинален принос е анализирания ефективност на ИЛЕ при ОЕИ с проучваните вещества при отчитане на съпътстващите заболявания при пациентите и усложненията в хода на терапията, продължителността на болничния престой и смъртността. Очертаните основни клинични критерии за включване в лечебната схема на ИЛЕ при ОЕИ с невротоксични медикаменти и с пестициди, а именно тежка клинична картина и/или прием на високи дози токсично вещество, съчетани или не, със сериозни съпътстващи заболявания, както и при критично състояние с висок риск от бързо прогресиране до смърт, определям като съществен принос за клиничната практика. Изключително високо оценявам научно-приложния принос на реализирания за първи път у нас *in vivo* експериментален модел на индуцирана с *диметоат* остра интоксикация при опитни плъхове, чиято цел е да се проучат, както протективните свойства на препоръчаната за реанимационна терапия в хуманната медицина болус доза 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ, така и нейното безопасно приложение в качеството ѝ на антидот при ОЕИ с ФОП. За първи път, на база наблюдаваните положителни ефекти на ЛЕ в приложената доза спрямо двете вегетативни функции и върху изследователското поведение, както и отсъствието на позитивен ефект върху общата двигателна активност (периферно нервномускулно предаване), са установени локализираните в ЦНС невропротективни свойства на мастната емулсия, което квалифицирам като научно-приложен принос с особено важно значение. За първи път при експериментални условия *in vivo* е оценена ефективността на липидната емулсия чрез измерване на клинично-лабораторни показатели, свързани с основни жизненоважни функции. Считаю, че установените, в резултат на тези изследвания, органопротективни ефекти на болус дозата 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ и в частност на нефро- и хепатопротективен потенциал на мастната емулсия, могат да бъдат важен принос в лечението на органофосфатни интоксикации, при които често се регистрират увреждания на бъбреците и на черния дроб. Данните от литературния обзор показват, че за потенциална нефропротекция на ИЛЕ при остро отравяне с ФОП се съобщава само в един доклад. Поради липсата на специфичен антидот за терапия на тези тежки и животозастрашаващи интоксикации, настоящото изследване подчертава значението на ИЛЕ като навременна системна поддържаща мярка и единствен метод за постигане на успешен резултат при



проявена нефро- и хепатотоксичност. Експерименталният модел подкрепя резултатите от клиничното проучване и потвърждава наличието на антидотни и невропротективни свойства на ИЛЕ. Категорично са доказани, както протективния ефект на препоръчаната за лечение на ОЕИ болус доза 1.5 mL/kg ИЛЕ по отношение преживяемостта и леталитета при остри отравяния с ФОП, а така също и безопасното ѝ прилагане. Споделям научното твърдение, че е особено важно използването на ЛЕ и методите на терапията да се ръководят от лабораторни доказателства и от клиничен опит. Съпоставянето и анализа на изчерпателна база данни от предклинични и клинични проучвания за случаи на липидна реанимация, може да бъде сериозен напредък за постигането на тази цел. По тези причини считам, че дисертационния труд на м. ф. Симеонка Димитрова, реализиран чрез проведените значителни по обем изследвания – при пациенти (по клинични данни) и при експериментални гризачи, е особено значим принос за разкриване на непроучени и/или недостатъчно проучени ефекти на мастните емулсии. Сами по себе си и като цяло, те са особено съществени за изучаване терапевтичната роля на мастните емулсии при остри отравяния с някои липофилни ксенобиотици (бензодиазепини, антиепилептични лекарствени продукти и пестициди, в т. ч. ФОП), поради което са важна стъпка в посока подобряване качеството и ефективността на лечението и оттук – за минимизиране на риска от смъртен изход при пациенти с индуцирани токсични неврологични увреждания, а предклиничните данни могат да бъдат основа за по-нататъшни експериментални и клинични проучвания, което заслужава моята изключително висока оценка.

**Преценка на публикационната дейност, свързана с дисертационния труд и личния принос на докторанта.** Във връзка с дисертационния труд са публикувани 3 статии, в 1 от които докторантът е първи автор. По темата на дисертационния труд м. ф. С. Димитрова е представила 3 участия в специализирани научни форуми, едното с устен доклад, а в останалите 2 е първи, презентиращ автор. Научната активност оценявам като добра, а приносите като лично дело на докторанта.

**Авторефератът,** написан на 73 стандартни печатни страници с включени 3 таблици, 62 фигури и 6 снимки, е правилно структуриран и оформен според изискванията. Възпроизвежда напълно съдържанието на дисертационния труд, представя най-важните аспекти от научната разработка, резултатите, изводите и приносите на проучването.

**Критични забележки и препоръки.** Нямам забележки по същество, които биха се отразили на общата ми много висока оценка за качествата на разработения дисертационния труд. Редно е да отбележа известната несъразмерност на литературния обзор спрямо обема на дисертацията. От друга страна обаче, от позицията на учен, съм впечатлена от професионално свършената работа. Събрана, систематизирана и правилно структурирана, анализирана и обобщена е на практика цялата наличната информация в световен мащаб, свързана с един особено актуален проблем – антидотната роля на ИЛЕ в лечението на ОЕИ с липофилни ксенобиотици, обект на вниманието на немалък брой учени. На този етап обаче, тази информация е твърде оскъдна, базирана е предимно на единични съобщения, при отсъствието на достатъчно достоверни, включително рандомизирани контролирани клинични изпитвания с липидни емулсии. Ето защо, препоръчвам изключително

задълбочения и богат литературен обзор, с акцент върху невропротективните свойства на ИЛЕ, който изчетех много внимателно и с интерес, който показва осведомеността и компетентността на докторанта, и който разбрах, че е представен в съкратен формат, да бъде публикуван най-скоро и в целия обем като отделна студия по темата в престижно научно издание. И във връзка с това, бих искала да видя една по-активна публикационна активност на м. ф. С. Димитрова, а така също демонстрация на възможностите и на придобития вече опит чрез повече участия в научни форуми.

**Заключение.** Представеният дисертационен труд е собствена разработка на изключително актуална тема, с важни научно-теоретични, оригинални и съществени научно-практически приноси. Докторантът Симеонка Димитрова демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научни изследвания, в т. ч. систематизиране, анализиране и интерпретиране на научни данни. Особено високо оценявам усвояването и целесъобразното прилагане на експериментални модели и процедури, включително поведенчески протоколи, свързани с използване на опитни животни за конкретните научни цели. Резултатите, както от клиничните, така и от експерименталните проучвания, направените изводи и очертаните значими приноси, показват наличие на необходимите теоретични знания и високо ниво на професионална компетентност в областта на научните интереси, поради което цялостната ми оценка на работата е безусловно положителна.

Комплексната положителна оценка на дисертационния труд, който изцяло съответства и дори надхвърля в известна степен специфичните за целта критерии, а така също моите лични впечатления за докторанта, базирани на професионалните контакти, ми позволяват напълно убедено да гласувам „за“ и да предложа на уважаемото Научно жури да присъди образователната и научна степен „Доктор“ на м. ф. Симеонка Димитрова Димитрова по научна специалност „Токсикология“, в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.3. Фармация.

Варна, 29 април 2021 г.

Изготвил рецензията:

  
(доц. Юличка Събева, д. м.)