

РЕЦЕНЗИЯ

относно дисертационния труд ***ИЗСЛЕДВАНЕ ЕФЕКТА НА ТЕЧНИТЕ СЛОЕВЕ В МИЕЛИНОВАТА ОБВИВКА ВЪРХУ МЕМБРАННИТЕ СВОЙСТВА НА СИМУЛИРАНИ СЛУЧАИ НА ДЕМИНЕЛИЗИРАЩИ НЕВРОПАТИИ,***

представен за придобиване на образователната и научна степен **ДОКТОР** по професионално направление *Биологични науки*, шифър 4.3. (стар шифър 01.06.08. – *Биофизика*) от главен асистент **СТЕФАН МИРЧЕВ КРЪСТЕВ**, докторант на самостоятелна подготовка в **ИНСТИТУТ ПО БИОФИЗИКА И БИОМЕДИЦИНСКО ИНЖЕНЕРСТВО, БАН**

Стефан Кръстев е на 58 г., завършил е физика и преподава в Катедрата по физика и биофизика във Варненския Медицински Университет.

Дисертацията обхваща 83 стандартни страници и библиография от 164 заглавия. Тя е основана върху системните изследвания на единия ръководител – проф. Диана Стефанова – по този въпрос през последните двадесетина години. Тези изследвания са публикувани в около 20 статии в международни списания с висок престиж, имат многобройни цитирания и основната им идея е широко известна и призната. Това веднага поставя дисертацията в кръга на напълно обосновани и предварително очаквани като успешни проекти. Трябва да се подчертае и факта, че докторантът няма формално медицинско и биологическо образование и това е поставило допълнителни изисквания и проблеми пред него. Защото се разглежда един твърде интригуващ и, бих казал, "холистично" оцветен въпрос: обяснение на биологични и медицински феномени с помощта на математическо моделиране. Бързам да отбележа, че в ограничения размер на дисертационните изисквания въпросът е решен успешно.

В уводната част се описват много добре анатомичните особености на миелинизираните аксони, вкл. с най-модерните методи на микроскопия и дифракция. Любознателният читател би спечелил и от красивите фигури. Ясно са отграничени интернодалните и паранодалните сегменти, които ще бъдат основа за бъдещите моделни изследвания. Обяснява се също същественият факт за мултиламеларния характер на миелиновата обвивка и за ролята на калциевите йони в извънклетъчните депа. Следва преглед на някои демиелинизиращи заболявания: основния интерес на сравнението болест/модел е насочен към Charcot-Marie-Tooth (наследствена двигателна и сетивна невропатия) и

хроничната възпалителна демиелинизираща полиневропатия (с имунна патогенеза). Ще ми позволите по-нататък да ги наричам съответно CMT и CIDP. И при двете заболявания е налице системна демиелинизация, за разлика от Синдрома на Гилен-Баре (GBS) и мултифокалната моторна невропатия (MMN), при които демиелинизацията е фокална.. Накрая има 4 въвеждащи страници в математическото моделиране на нервното влакно, въведено от Bostock (1991) и доразработено от Стефанова (2001).

Авторът много убедително поставя ЦЕЛТА в своето изследване: "1) познание за електрогенезата на миелиновата обвивка и 2) за ефекта върху мембранните свойства, оказван от течните слоеве на миелиновата обвивка". Тя ще бъде преследвана чрез 4 задачи: симулиране на три типа системни демиелинизации на базата на мултиламеларен модел на миелиновата обвивка; изследване на промените в потенциалите и аксоналната възбудимост при симулация на демиелинизация; отчитане ефекта на течните слоеве върху мембранните свойства; придобиване на нова информация за механизмите на системните заболявания (CMT и CIDP). На тази четвърта и най-амбициозна задача трябва да се гледа с известна резервираност предвид сложността на проблема както от моделна, така и от биологична гледна точка.

Сега трябва да се признае, че следващите 13 страници са доста голямо изпитание за всеки, който не е завършил с отличие математическа паралелка. Така че аз се осланям напълно на описаното от автора, без да съм вникнал достатъчно дълбоко в материята. Единствено се зарадвах на законите на Кирхов за постоянството на електричния заряд, с които се бях разделил преди 40 г., но не мога да кажа същото и за Ойлеровите версии със субцикли...

Резултатите са разделени в отделни групи модели: на интернодална, паранодална, комбинация пара-интернодална системна демиелинизация и сравнението им. Всяка група се разглежда чрез графично представяне на изследваните параметри, следва обсъждане на получените резултати вътре в групата, а накрая има и една суперсравнителна глава, където се обсъждат генерално резултатите и предложените изводи. Представянето на типовете демиелинизация е както следва:

1. Интернодална (ISD) демиелинизация, 3 степени. Изключително ми бе интересно за науча, че дори 80%-на интернодална демиелинизация не се проявява с блок на разпространение на възбудението. Такъв настъпва едва при

93%! и това не е повлияно от отчитането или не на течните слоеве в миелиновата обвивка. Отчетено е и очакваното намаление на скоростта, започващо още в началните, леки степени на демиелинизация (31m/s спрямо нормата от 58m/s при 70%). Също има и прогресивно намаление на амплитудите на интрацелуларните акционни потенциали. От фиг.4.1.2. оставам с впечатлението, че течния слой не оказва съществен ефект върху амплитудата. Това контрастира с намереното увеличение на електротоничните хиперполяризиращи потенциали до 6% при вземане под внимание на течните слоеве (фиг. 4.1.3). Намерено е и прогресивно нарастване на времевите константи с увеличаване на демиелинизацията (отразено чрез праговите токове в кривите сила/продължителност) и тук наличието на течни слоеве значително задържа това нарастване. Друг един показател обаче – реобазният ток - нараства с или без наличие на течен слой. Накрая, за пълнота са моделирани и циклите на възстановяване (измерване на рефрактерността чрез двойка кондициониращ и тестиращ стимули). Демиелинизираните аксони без течни слоеве имат по-голяма супервъзбудимост и по-малка субвъзбудимост в сравнение с норма (тя също така нараства с процента на демиелинизация), а отчитането на течен слой прибавя допълнително само супервъзбудимост (фиг. 4.1.5.).

2. При втория модел на симулация на паранодална системна демиелинизация (PSD) намаляването на паранодалното съпротивление води до увеличена скорост на разпространение на интрацелуларните акционни потенциали. Същевременно наличието на течни слоеве изменя специфично функционалните свойства на влакното; при силна демиелинизация от 90%, проявена с блок на разпространението, течните слоеве го възстановяват. Това се обяснява с повишение на надлъжния ток, преминаващ през паранодалната аксолема към периаксоналното пространство. Отбелязва се също, че за разлика от ролята на калиевите канали за изходящия ток при интернодална демиелинизация, тук при паранодалната съществена роля за генериране на акционни потенциали в нодалните сегменти играят натриевите канали (нодален входящ ток). Тези моделни находки съответстват на намерените експериментално по-големи електротонични отговори, по-къси времеконстанти и по-високи реобазни токове и аксонални супервъзбудимости при клинични случаи със сегментална демиелинизация (CIDP).

3. В третия модел се разглежда смесена форма на демиелинизация (паранодална плюс интернодална, PISD); в този случай пълен блок на разпространението настъпва при редукция от 82%. Тук отчетливото и прогресивно намаляване на амплитудата на акционния потенциал започва още от 70% намаление и скоростта на разпространение пада до 25, съответно 13 m/s. Наблюдава се още нарастване на ранните фази на деполяризиращите и на хиперполяризиращите отговори и – характерната и за нормалните аксони на двигателните нерви – реципрочност между времеконстанти и реобазен ток. Моделирането на възбудимостта чрез цикли на възстановяване показва липса на относителен рефрактерен период и голяма супервъзбудима фаза и при трите степени на демиелинизация от 70 до 82%. Интересно е, че за всички изследвани параметри няма установени разлики според това отчетено ли е или не наличие на течни слоеве.

4. Накрая са сравнени трите възможни типа модела. Показват се различни ефекти на течните слоеве: при интернодална демиелинизация разпространението на възбудението намалява до пълно блокиране, а при паранодална демиелинизация благодарение на течния слой става ускоряване до почти възстановяване. Логично, комбинацията от двата вида води до взаимно неутрализиране при смесен тип. Това се обяснява с протичането на надлъжни токове през паранодалното и периаksonалното пространство. Намаляването на паранодалното съпротивление, съчетано с намалено периаksonално съпротивление спомага за усилване на салтаторния тип провеждане през възлите на Ранвие. При симулация на възбудимостта чрез цикли на възстановяване категорично е посочено, че течните слоеве влияят съществено за моделите на интернодална и несъществено за паранодална демиелинизация.

Авторът посочва четири приноса според собствената си оценка: 1)новаторство в методиката на изследването; 2)противоположно различни ефекти на демиелинизацията според нейната локализация (интер/пара – нодална); 3)компенсаторен ефект при смесен тип демиелинизация; 4)влияние върху възбудимостта, оказвано от наличието на течни слоеве.

Всички постижения, описани до тук, са публикувани във формата на 4 статии в списания с Импакт-фактор, и представени на 2 доклада (единия на международен конгрес) - напълно достатъчно количество за изискваната научна степен. Библиографската справка, която започва още преди 50 г. и –

забележително! – включва и 2011 г. – очевидно изчерпва всичко казано по въпроса. Авторефератът на 36 страници отразява добре всички страни на дисертацията.

Бележки по изписването: Да се говори за *прищъпването* на *Louis Ranvier* (1885-1922) като за НОД е не твърде уместно: НОД значи "кимвам, клюмвам", а това, че в световната литература - естествено – се употребяват понятията *ИНТЕРНОДАЛНО* и *ПАРАНОДАЛНО* просто показва латинския произход на *NODUS* ("възел, чеп"). Това е критика не към автора, а към научната общност, която вероятно и в момента се опитва да ми се противопоставя, поради незнание.

Други: стр.15:"*скоростта е 10-30 m/s при норма 58-62 m/s*" КЪДЕ?
(Скоростта е различна в зависимост от дебелината на влакното).

"*имунен патогенеЗИС*" По-добре е - патогенеза

стр. 19: "*фактори....по демиелинизираните влакна*" Тези фактори са валидни ПО ВСИЧКИ влакна!

стр. 47: "*генетични фактори – промени в интернодалните сегменти – клинични нарушения СМТ1А*" (?). Това не е интерпретация, както е написано, а тривиална констатация.

стр. 74: "*фитваца*" (!) *парабола*". Моля, използвайте българския език.

стр. 86. Първият абзац е аграматичен. Вероятно авторът вече се е поуморил към края на ръкописа.

Достойнствата на дисертационния труд са няколко:

1. Добро владение на фактите от физиологичните дадености, болестните разстройства и методите на математическото моделиране
2. Ясно поставяне на целите и задачите и използване на най-съвременни методи за постигането им
3. Кратко представяне на убедителен илюстративен материал и добро систематизиране на разнопосочните данни
4. Убедително защитаване на първоначалните концепции в заключителната част; наличие на реални приноси.

В заключение, имайки предвид гореизложеното, ще си позволя да препоръчам на членовете на уважаемото научно жури да присъди на главния асистент Стефан Мирчев Кръстев образователната и научна степен "ДОКТОР".

София, 11.11. 2011.

проф. д-р Божидар Димитров, д.м.н.
ИИНЧ, БАН