

## РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Диана Иванова Стефанова, дбн,  
от Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН

Член на научно жури по конкурс за заемане на академичната длъжност “доцент” по биологични науки, шифър 4.3, научна специалност “Биофизика” за нуждите на секция “Биомеханика и управление на двигателната дейност”, обявен в ДВ, бр. 24/18.03.2014г.

**Единствен кандидат в конкурса е гл. ас. д-р Александър Георгиев Димитров.** Той е получил магистърска степен в СУ “Климент Охридски” през 1997г. по специалност “Физика на ядрото и елементарните частици”. В периода от 1997г.– 2011г. е заемал последователно длъжностите: специалист и научен сътрудник от III до I степен в Централната лаборатория по биомедицинско инженерство при БАН. Придобил е докторската си степен по “Биофизика” през 2009г. на тема: “Аксонална хиперактивност. Интернодални механизми” и от 2011г до момента по новата номенклатура е главен асистент към Институт по биофизика и биомедицинско инженерство. Д-р Димитров е участвал до момента в 3 проекта към Фонд Научни Изследвания и е бил ръководител на 2 проекта към същия фонд на МОН. Част от тези договори са му осигурили необходимите финансови средства за представяне на научните му резултати в национални и международни форуми (общо 10 на брой за периода 2000г. – 2008г.), като това участие за един млад учен съвсем не е малко.

В обявения конкурс д-р Димитров участва общо с 12 научни труда, от които 9 са с импакт фактор (ИФ), 2 без ИФ и една глава публикувана в книгата: “Axons” (2013), H.Yamamoto and A. Oshiro (eds), Nova Science Publishers, Inc, New York (ISBN: 978-1-62948-051-0). Документирани са 53 цитирания като 7 са в чуждестранни докторски дисертации, 7 са в чуждестранни книги, а останалите 39 са в чуждестранни списания. 6 от цитиранията са от български автор, а останалите са от чужденци. От представените научни трудове ще си позволя да не призная статия № 8 от списъка с ИФ, защото тя е отговор даден в списание и не отговаря на критериите за статия и също така статия № 12 от списъка на статиите без ИФ, защото това е доклад от научно мероприятие, който

доклад не е публикуван в книжен, а само в електронен вид. Но въпреки тези мои наложени ограничения, наукометричните показатели на кандидата напълно покриват критериите, а броят на цитиранията му два пъти надвишава критериите, записани в правилника на института ни за заемането на академичната длъжност “доцент”.

Научно-изследователските интереси на гл. асистент Александър Димитров са насочени към изучаването и анализирането на биофизиката на сложните системи – възбудимите човешки структури, чрез прилагането на метода на математичното моделиране. Този метод позволява изучаването и обясняването на механизмите на клинично наблюдаваните промени в аксоналната възбудимост на нервно-мускулната система и свързаните с нея проблеми в патологията. Тези проблеми са изключително актуални, тъй като цялостната ни дейност се определя главно от активацията и взаимодействието на съвкупността от неврони, нерви и мускули. По принцип, изясняването на механизмите на процесите, протичащи при дадено заболяване би могло да доведе до увеличаване на ефективността на лечението на заболяването, както и до изказване на идеи за нови лекарствени средства. Статиите № 1, 3–6 и 11, 12 са за мускулни влакна и свързаните с тях извънклетъчни потенциали, а статиите № 2, 7–10 са за нервни миелинови влакна и свързаните с тях вътреклетъчни потенциали и са обобщени в главата от книгата. Сега по-подробно ще се спра последователно на изследванията от първата и втората група.

Както е известно, сложната теория за извънклетъчни потенциали генерирани от линейен източник, който може да бъде мускулно или нервно влакно, разположено в неограничен хомогенен или хетерогенен обемен проводник, допуска приближено решение, представено като конволюция на втората пространствена производна на интрацелуларния потенциал на линейния източник и тъй наречената тегловна функция. Последната отчита радиалната и аксиалната компоненти в полярни координати на регистриращия електрод в обемния проводник. При изследване на мускулни влакна поради това, че разпределението на интрацелуларния потенциал в пространството и времето е с еднакъв профил, води до допускане за еднозначност на пространствената и времевата производна на интрацелуларния потенциал. Това обаче е невалидно за нервни миелинови влакна, поради съществените различия между пространствените и времевите им профили. Двата параметъра, участващи в конволюцията са предмет на детайлно изследване на д-р Димитров в съавторство.

Обаче, задачата е усложнена значително с изследване на извънклетъчните потенциали на двигателна единица, т.е. на сумата на извънклетъчните потенциали на всяко отделно влакно, изграждащо двигателната единица, като разглежданите влакна са от различен тип – с хомогенна или хетерогенна функционална и геометрична структура, а самите влакна са в норма или в условие на умора и при миопатии. Всичко това води до изменението на първата компонента в конволюцията, т. е. до изменението на профила във времето на интрацелуларния потенциал на единично мускулно влакно и от там на промени в екстрацелуларните потенциали на двигателната единица. Само в статията № 3, интрацелуларният потенциал на мускулно влакно се симулира чрез използването на йонната теория за единичен кабел. В останалите публикации тези потенциали се симулират с аналитична функция, която е полином от трета степен по отношение на времето, като скоростта на разпространение на потенциала не е включена в този полином, а е отчетена във втората компонента на конволюцията, което според мен е недопустимо. В самата конволюция се използва първата, а не както би трябвало втората производна на функцията. В тази връзка е необходима по-детайлна обосновка защо тази аналитична функция е точно полином от трета, а не от друга степен и защо се използва първата, а не втората производна на функцията, участваща в конволюцията. Втората компонента, участваща в конволюцията, както беше вече казано, е свързана с определянето на координатите на разположения в обемния проводник отвеждащ електрод, което е направено прецизно в изследванията. Електродът също е от различен тип – точков, правоъгълен, мулти-електрод, симулиращ съответно иглов, повърхностен електрод, а мулти-електродът дава възможност за симулиране на пространствена филтрация на извънклетъчните потенциали на двигателната единица, а отделните влакна са наклонени или успоредни спрямо мускулната повърхност. Със симулираните интерферентни ЕМГ сигнали се провежда търн-анализ чрез техния брой и амплитуда. Дадените обяснения за промените в извънклетъчните потенциали на двигателна единица при горе изброените комплексно изследвани параметри разширява познанието за човешки мускулни влакна като възбудими структури. Интересен е резултатът свързан с ефекта на симулирана мускулна умора върху броя на търновете на ЕМГ сигналите при миопатии, според който резултат броят на търновете съществено

намалява, а когато той расте над дадено лимитиращо ниво се допуска, че ефектът на умората върху търновете се дължи по-скоро на невропатия отколкото на миопатия. Направено е заключението, че търн-анализът на ЕМГ сигналите регистрирани с иглови електроди е по-добър за диагностични цели от този когато ЕМГ сигналите се регистрират с повърхностни електроди. При иглов електрод, броят на търновете на ЕМГ сигнала е по-добър от амплитудата им като индикатор за невропатии. Коментирано е също, че терминалната фаза на екстрацелуларните потенциали на двигателна единица е полезна за разграничаването на пациенти с невропатия от тези с миопатии. Това са само част от съществените получени резултати.

Втората група от изследванията са насочени към изясняване на механизмите на хиперактивност на миелинов аксон при вътреклетъчна точкова стимулация на аксона, реализирана с къс импулс (0.05 ms), в условието на фокално (частично) блокиране на бързите калиеви канали в определени части от даден интернод, в цял интернод, в два последователни или през един интернода, като влакното е при нормална температура (37°C) или при по-ниски от тази (до 33°C). В дисертацията на д-р Димитров, (обобщаваща 3 публикации) тази аксонална хиперактивност е проследена при блокиране на същите канали, но по цялата дължина на влакното, т.е. в условие на системна дисфункция на аксолемата. Както в дисертацията така и в настоящите изследвания за симулирането на интрацелуларните потенциали се използва двойнокабелен модел, базиращ се на модела на Halter and Clarck (1991), отчитащ сложната структура на паранодалната аксолема. Сегментацията на един интернод е отново достатъчно голяма (общо 260 сегмента под 20  $\mu\text{m}$ , а броят на интернодовете е 20) така, че аксолемата може да се разглежда като съставена от последователно наредени, възбуждащи се “нодове” поради съизмеримостта на интернодалните сегменти с нодовите. Според д-р Димитров получаваните трансаксонални и трансмиелинови потенциали се дължат на възбуждането на натриевите канали под миелиновата обвивка, въпреки малката им плътност. Като една от слабостите на представените резултати считам липсата на кинетиката на токовете, обуславящи получаваните потенциали. Тези токове със сигурност са пресметнати, но те никъде не са представени. Друга слабост според мен е използването на терминология която не е общоприетата за потенциалите, а именно:

трансмембранните потенциали се наричат интрацелуларни, трансаксоналните се наричат трансмембранни, а трансмиелиновите се наричат периаksonални. Това поне за мен първоначално беше доста объркващо. Като обща забележка към представянето на пространствените разпределения на трансмембранните, трансмиелиновите и трансаксоналните потенциали е необходимостта от координатна система за потенциалите съпоставяни в дадените моменти, а не те да се представят като отделни картинки, като при това моментите на пространствено разписаните потенциали не са дадени в текста. Не съм съгласна и с нагледното им обяснение, а именно, че потенциалите прескачат от нод в нод, а симетрията им относно центъра на интернода се дължи на тяхното движение от краищата на нодовете в противоположна посока, като се сблъскват и самоунищожават в центъра. За един теоретик физик какъвто е д-р Димитров такова обяснение е недопустимо, защото решаването на електрична схема, базираща се на законите на Кирхов не допуска по никакъв начин такова обяснение. Както е известно, получаваната от схемата система от частни диференциални уравнения дава възможност за проследяване на потенциалите във всяка последователна точка в пространството и времето. Разбира се всичките изказани до тук забележки са само технически и не повлияват по никакъв начин на важността на получените резултати. Отново, от пространствените разпределения на трансаксоналните и трансмиелиновите потенциали представени в условието на блокиране на бързите калиеви канали в дадена част от интернода, се вижда, че се реализира периодичен вид на еднаква поляризация на влакното с изразено изкривяване на пространството в мястото на блокирането на каналите, докато стойностите на интрацелуларните потенциали в норма във всяка точка по дължината на влакното са еднакви т.е. пространственото им разпределение е права линия, и с изразено закривяване отново в мястото на блока на йонните канали. Също така от бърстовата активност на нодалните времеви разпределения на интрацелуларните потенциали, отново ясно се вижда, че се реализира периодичен вид на еднаква поляризация на влакното, а такава поляризация е характерна за процесите на адаптация, протичащи във влакното. Това ми дава основание да си позволя да предложа по-друг начин на тълкуване на резултатите, а именно, че при кратка стимулация, приложена точково само в първия нод, и при достатъчно голяма дискретизация на интернодалната

аксолема се получава едновременно надпрагово възбуждане на всичките сегменти по дължината на влакното, което възбуждане е еквивалентно на това когато се прилага дългодействащ надпрагов токов стимул във всичките интернодални сегменти на влакното. Според мен тези два начина на стимулация реализират процесите на адаптация във влакното. При фокалното блокиране на бързите калиеви канали в интернодалната аксолема, след определен момент от време се наблюдава бърстова активност на влакното с изразени промени в мястото на блока. Сравняването на бърстовата активност получавана теоретично с тази експериментално регистрираната за дадено заболяване дава възможност за по-детайлно проследяване на механизмите на процесите, протичащи в това заболяване. На базата на такова сравнение в представените резултати се допуска, че препаратът “оксалиплатин”, като високоефикасен противотуморен препарат за дебелото черво, води до силна болка в нервите на пациента, т.е. води до остър невротоксичен ефект, който може би се дължи на фокалното блокиране на бързите калиеви канали в интернодалната аксолема, което пък от своя страна води до свръхвъзбудимостта на аксолемата и до бърстовата активност в нея. На тази база е изказано и друго предположение, а именно, че медикаменти, блокиращи натриевите интернодални канали или такива, забавящи блокирането на интернодалните бързи калиеви канали или ускоряващи тяхното отваряне може би ще са в противовес на невротоксичния ефект предизвикван от оксалиплатина.

#### **Заключение:**

Познавам Александър Димитров отдавна и съм напълно убедена, че приносът му към представените съвместни научни трудове е съществен, а получените резултати от актуалната тематика са значими. Добрата му теоритична подготовка, дългогодишния натрупан опит в специалността му и реалната възможност за разширяване на изследванията му, ми дава основание убедено да препоръчам на Почитаемото жури да предложи на Научния съвет на ИБФБМИ да избере гл. ас. д-р Александър Георгиев Димитров на академичната длъжност “Доцент”.

13.06.2014 г.

София

РЕЦЕНЗЕНТ:

/проф. Д. И. Стефанова, дбн/