

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Стефан Тодоров Сивков, дм
Катедра по анатомия, хистология, цитология и биология
Медицински университет-Плевен

Относно: дисертационен труд за присъждане на ОНС „Доктор” в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина, научна специалност Анатомия, хистология и цитология

Автор: Д-р Искрен Боянов Великов

Тема: „РОЛЯ НА ТРАНСКРИПЦИОНЕН ФАКТОР ZBTB20 В РАЗВИТИЕТО НА ИНТЕРНЕВРОНИ В КРАЙНОМОЗЪЧНА КОРА НА МИШКА”

Научен ръководител: доц. д-р Ирина Стоянова-Ван Дер Лаан, дм (Катедра по анатомия и клетъчна биология, Медицински университет-Варна)

1. **Общо представяне на процедурата и докторанта.** Със заповед № Р-109-222/ 28.04.2025 г. на Ректора на Медицински университет - Варна, съм определен за член на Научното жури във връзка с процедурата за защита на дисертационния труд на тема „Роля на транскрипционния фактор Zbtb20 при развитието на малък мозък” за придобиване на ОНС „Доктор” в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина, научна специалност Анатомия, хистология и цитология. Автор на дисертационния труд е д-р Искрен Боянов Великов – докторант в самостоятелна форма на обучение към Катедра „Анатомия и медицинска биология” на Медицински университет-Варна с научен ръководител доц. д-р Ирина Стоянова-Ван Дер Лаан, дм (Катедра по анатомия и клетъчна биология, Медицински университет-Варна). За изготвяне на рецензията получих материалите, изискващи се от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени заемаме на академични длъжности в Медицински университет-Варна .

Представеният от автора Искрен Боянов Великов комплект включва следните документи:

1. Молба по образец до ректора за откриване на процедура;
2. Автобиография по европейски формат;
3. Протокол от предварителното обсъждане в катедрата;
4. Автореферат;
5. Декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
6. Справка за спазване на минималните национални изисквания;
7. Списък на публикациите;
8. Дисертационен труд;
9. Копия на публикациите по темата на дисертационния труд;

Представените документи покриват изискванията на Закона за Развитие на академичния състав в РБ и Правилника за прилагането му и Правилника на МУ-Варна за допускане до защита на ОНС „Доктор”.

Докторантът Искрен Великов е роден в гр. Разград, където завършва средното си образование. През 2007 г. завършва висше образование в Медицински университет-Пловдив, Факултет по дентална медицина с придобита ОКС „Магистър“ и професионална квалификация „Лекар по дентална медицина“.

Работил е като лекар по дентална медицина в Селски здравен участък в Разградска област (2007-2008). От 2008 до 2009 г. е работил като асистент в Катедра по анатомия, хистология и ембриология на Медицински университет-Пловдив. От 2009 г. до сега е редовен асистент към Катедра по анатомия и клетъчна биология, Медицински университет-Варна. През 2013 г. придобива специалност по Анатомия, хистология и цитология..

Със заповед № Р-109-23 от 01.02.2019 г. е зачислен като докторант към Катедра „Анатомия и клетъчна биология“, Медицински университет-Варна. Отчислен е от докторантура с право на защита със заповед Р-109-44/14.02.2024 г. след успешно премината вътрешна защита.

2. Актуалност на тематиката. Неврогенезата представлява интерес за проучване във връзка с морфологичните изменения, които настъпват в резултат на активно модифициране на състава му. Съвременните молекулярни, генетични, физиологични и анатомични методи непрекъснато се развиват. Въпреки това множество процеси, свързани с неврогенезата, невроналната миграция и формирането на синапсите в развиващия се мозък остават неизяснени. Дисертацията е посветена на изследване на ролята на транскрипционните фактори и по-специално *Zbtb20* в развитието на малкия мозък.

3. Познаване на проблема. Уводът, както и творческото използване на цитирания литературен материал показват познаване на състоянието на проблема, третиран в дисертацията от докторанта. Докторантът представя достатъчно ерудирано процесите на пренатално развитие на малкия мозък, с ролята и съдбата на невронални стволови клетки в неврогенезата. Отчетени са пространствените и времеви различия в образуването на коровите неврони. Обсъден е молекулярния контрол на формирането на малкомозъчната кора. Представена е ролята на транскрипционните фактори в развитието на малкия мозък.

4. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите. Дисертационният труд е структуриран според общоприетите изисквания - въведение, литературен обзор, цел и задачи, материал и методи, резултати, обсъждане, изводи, литературни източници. Представен е върху 146 стандартни страници и е онагледен с 97 фигури. Използваната литература включва 264 източника на латиница.

В Литературния обзор са разгледани особеностите и отбелязани етапите в ембрионално развитие на малкия мозък при мишка. Отделено е внимание на морфологията на невроналните и глиални клетки, като е отбелязано разположението, морфологията и отношението между различните прогенитори. Представен е и произхода на кортикалните интерневрони в зрелия малкомозъчен кортекс, като успоредно са посочени пространствените и времеви различия в генерирането на кортикалните интерневрони.

Разгледана миграцията на невроните и формирането на невронални вериги процес по време на ембрионалното развитие на ЦНС. Новогенерираните неврони мигрират от тяхната герминативна зона към малкомозъчната кора под влиянието на контролирани процеси. Специално внимание е отделено на особеностите в миграция на кортикалните интерневрони. Детайно е разгледана ролята на транскрипционният фактор *Zbtb* в редица процеси, включително неврогенеза, глюкозен метаболизъм и постнатален растеж. Дискутирана е връзката между експресия и наблюдаван фенотип при дефекти в *Zbtb20* и определени заболявания при хора. Данните обсъдени в литературния обзор позволяват на докторанта да изведе целта на научното изследване и очертае задачите за нейното изпълнение.

Целта на настоящото изследване е да се установи ролята на *Zbtb20* в развитието на невроналните и глиалните (олигодендроцити) клетъчни популации, както и в процеса на малкомозъчната фолиация.

Материалът на изследването е достатъчен по обем, правилно подбран и структуриран, добре документиран и прецизно регистриран, което гарантира достоверност на резултатите. Влиянието на *Zbtb20* върху нормалното развитие на кортикалните интерневрони е изследвано чрез експериментален модел на „knock-out“ мишка, на които липсва функционално важния ВТВ/POZ домейн на протеина, както и първият от петте цинкови пръстена, заменени с касета lacZ-неомусин. Като контроли са използвани диви мишки на четвърти, осми и дванайсти постнатален ден. Използвани са и мишки от див тип на шестнайсети пренатален и трийсети постнатален ден. Всички опитни животни бяха третирани според „Немския закон за защита на животните“, след получаване на одобрение от етичната комисия.

Методика на изследването. Методологията се отличава с детайлно и компетентно представяне на процеса на проучването. Докторантът е използвал надеждни и достатъчни за постигане на поставената цел методи изследване, с които получава адекватен отговор на задачите, решавани в дисертационния труд. Добитите и изготвени препарати са изследванията се извършени с методите на имунофлуоресценция. Микрографиите са извършени с флуоресцентен микроскоп Zeis. За измерване на площите и изброяване клетките е използван софтуерен продукт Image J (Fiji).

Статистическите методи са подходящо подбрани с информативност необходима за изследването. Извършена е статистическа обработка на данните с Microsoft Excel, като са приложени дескриптивна статистика и параметричен (Student's t-test, $p < 0,05$) анализ.

Резултати. Получените данни са нагледно демонстрирани и анализирани в представената документация (фигури, графики и таблици). Резултатите са представени много информативно, като дават възможност за представяне на ролята, значимостта и взаимовръзките между изследваните показатели. Снимковият материал е представен в модерен дизайн и достатъчно илюстративен, като ясно визуализира тезите на дисертационния труд.

В постнаталния период на 4, 8, 12 и 30 ден Zbtb20 се експресира от невроглиалните клетки, докато невроните не експресират Zbtb20. Липсата на Zbtb20 повлиява пролиферацията на клетките на Пуркиние избирателно във времеви и пространствен аспект. В началото се наблюдава повишен общ брой клетки и селективно в определени фолия (3, 8, 9 и 10). Към края на изследвания период (ден 12) този ефект стихва и определи фолия (10) броят на клетките на Пуркиние е значително по-нисък от този при контролите.

Липсата на Zbtb20 не променя общия брой зърнести клетки (Pax6+), но води до значителното им редуциране във фолия 6 и 10 на P12. Zbtb20 вероятно потиска развитието на външния зърнест слой избирателно в определени участъци от кората. Zbtb20 не оказва въздействие върху пролиферацията на астроцитите, но избирателно потиска пролиферацията на олигодендроцитите в постнаталния период от развитието на малкия мозък.

Транскрипционният фактор Zbtb20 повлиява развитието на малкомозъчните листа. При липса на Zbtb20 се наблюдават допълнителни нагъвания в някои от малкомозъчните листа на възраст 4, 8 и 12 ден.

Обсъждането се характеризира с пълнота и задълбоченост в разсъжденията върху резултатите от изследването в контекста на целта на проучването и литературните данни. Оформените изводи са логични и отговарят на поставените задачи и проведените проучвания.

Приноси. Авторът има своя **принос** в създаването на оригинална опитна постановка и методика върху малък мозък на Zbtb20 +/- мишки на четвърти, осми и дванадесети постнатален ден. Чрез нея докторантът за първи път прави **количествен анализ на невроналните и глиални клетки**.

За първи път се прави **анализ на разпределението на зърнените неврони** в малкия мозък на Zbtb20 +/- мишки.

За първи път се прави анализ на **глиални клетки (астроцити и олигодендроцити)** върху малък мозък на Zbtb20 +/- мишки.

За първи път се прави анализ на **пролифериращите клетки** върху малък мозък на Zbtb20 +/- мишки.

За първи път се прави **измерване на площта на малкия мозък**, както и на отделните корови слоеве. Измерванията са направени върху хистологични препарати на Zbtb20/- мишки.

Преценка на публикациите и личния принос на докторанта. Основните резултати от дисертацията са публикувани в *Trakia Journal of Sciences, 2023*, в която докторантът е единствен автор. Резултати от изследванията се представени и в шест съобщения на научни форуми в страната. Те са в съавторство, като във всички докторантът е водещ автор, което ми дава основание да смятам, че има основен принос в резултатите.

Авторефератът е структуриран правилно, като отразява съдържанието, основните резултати и приносите на дисертационния труд.

Препоръките ми за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати са за прилагането им в по-нататъшното изучаване и разширяване на тази проблематика, при което получените резултати да се публикуват и в самостоятелни научни статии.

Заклучение. Дисертационният труд на д-р Искрен Великов разглежда проблем, който е с научен и практически интерес в областта на неврогенезата. Приложена е оригинална опитната постановка и методика за установяване на ролята на *Zbtb20* чрез експериментален модел на „knock-out“ мишка. Получени са научни резултати, обогатяващи познанията върху развитието на клетъчните малкомозъчни популации, както и в процеса на малкомозъчната фолиация. Това е реален научен принос. Изложението и оформлението на дисертационния труд и на автореферата е много добро. Извършена е голяма по обем и трудна за изпълнение работа. Това показва, че докторантът притежава теоретични знания и професионални умения по научната специалност, както и умения за самостоятелни научни изследвания. Представените материали и документи по процедурата отговарят напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за прилагане на този закон, Регламента за придобиване на ОНС „Доктор“ в Медицински университет-Варна.

Въз основа на изложеното давам положителна оценка за проведеното научно изследване в дисертационния труд, като предлагам на почитаемото научно жури **да присъди** на д-р Искрен Великов образователната и научна степен „Доктор“ в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1 Медицина, научна специалност Анатомия, хистология и цитология.

Проф

Заличено на основание чл. 5,
§1, б. „В“ от Регламент (ЕС)
2016/679

04.06.2025 г.