

СТАНОВИЩЕ

от проф. Иван Илков Масларски
Катедра по Анатомия, хистология, патологоанатомия и съдебна медицина,
Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“

Относно:

Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор“
в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт,
професионално направление 7.1. Медицина,
докторска програма „Анатомия, хистология и цитология“

Автор: д-р Десислава Маринова Маринова

Тема: „Проучване експресията на получените чрез алтернативния сплайсинг иРНК
варианти на холинацетилтрансферазата в ентeралната нервна система на мишка“

Научен ръководител: доц. д-р Стефан Трифонов

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният дисертационен труд е подготвен и внесен в съответствие с изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България и вътрешните правила на Медицински университет – Плевен. Всички необходими документи, включително автореферат, справки за публикации и цитирания, са налице и коректно оформени.

Дисертационната работа е резултат на многогодишен експериментален труд, изпълнен под ръководството на доц. д-р Стефан Трифонов – специалист с утвърден опит в областта на невроанатомията и молекулярно-генетичния анализ.

Дисертантът д-р Десислава Маринова Маринова е доказан преподавател и изследовател в катедра „Анатомия, хистология, цитология и биология“, сектор „Анатомия, хистология и цитология“ на Медицински университет – Плевен. Нейното присъствие в академичната общност се характеризира с висок професионализъм, коректност и стремеж към задълбочено разбиране на сложните морфофункционални процеси в човешкия организъм. Процедурата за присъждане на степента „доктор“ е открита при спазване на всички нормативни изисквания и научни стандарти.

2. Кратки биографични данни за дисертанта

Д-р Десислава Маринова Маринова е родена на 8 юли 1976 г. в гр. Плевен. Завършва Медицински университет – Плевен, където придобива квалификация „лекар“. Професионалната ѝ кариера е изцяло свързана с университета – първоначално като асистент, а впоследствие и като старши асистент в катедра „Анатомия, хистология и цитология“. В своята академична дейност д-р Маринова съчетава преподаване, изследователска работа и активно участие в административната дейност в катедрата, като административен асистент. Тя е позната на студентите с отговорното си отношение

и ясният си подход към преподаването на трудна материя и дисциплина, каквато е Анатомията на човека.

Научните ѝ интереси са насочени към невроанатомията и по-специално към изследването на ентералната нервна система. В тази област тя развива оригинален изследователски подход, комбиниращ класическите хистологични методи със съвременни молекулярно-генетични подходи. Научната продукция на д-р Маринова включва 4 публикации по темата на дисертационния труд, участие в редица национални и международни научни форуми. Статията ѝ в *Journal of IMAB (Web of Science, Q4, IF 0.2, 2022)*, има **три международни цитирания** – показател за научна значимост и видимост на резултатите ѝ.

3. Технически характеристики на дисертационния труд

Дисертационният труд обхваща **126 стандартни страници**, илюстрирани с **33 фигури, 5 таблици и 270 литературни източника**, голяма част от които са международни публикации от последните десетилетия. Включени са две приложения. Структурата на труда отговаря на академичните стандарти и включва:

- Увод
- Литературен обзор
- Цел, задачи и методични подходи
- Резултати
- Обсъждане на резултатите
- Изводи и приноси
- Бъдещи насоки и перспективи
- Библиография

Текстът е написан на ясен, точен и научно издържан език. Авторката поддържа последователен стил на изложение, който улеснява проследяването на логическата връзка между отделните части. Фигурите и таблиците са естетично оформени и коректно означени, като подпомагат визуалното възприемане на резултатите.

4. Актуалност на тематиката

Темата на дисертационния труд е изключително актуална и отговаря на едни от най-съвременните направления в биомедицинската наука – интеграцията на морфологични и молекулярни подходи в изследването на нервната система. Холинацетилтрансферазата (ChAT) е основният ензим, отговорен за синтеза на ацетилхолин – ключов невротрансмитер в централната и периферната нервна система. Ентералната нервна система (ENS), от своя страна, притежава значителна автономност и контролира голям спектър от физиологичните функции на гастроинтестиналния тракт. Изучаването на получените чрез **алтернативен сплайсинг иРНК варианти на ChAT в ENS** е от фундаментално значение за разбирането на молекулярната регулация на холинергичната невротрансмисия. В последните години се натрупват доказателства, че различните ChAT сплайсинг варианти имат специфични пространствени и функционални характеристики, а нарушенията в тяхната експресия могат да бъдат свързани с редица заболявания – от гастроинтестинални дисмотилитети до невродегенеративни заболявания. Дисертацията на д-р Маринова стъпва именно върху

тази актуална научна основа и я развива чрез експериментален модел с висока доказателствена стойност.

5. Познаване на проблема

В литературния обзор дисертантката демонстрира изключително добро познаване на съвременното състояние на изследванията в областта. Текстът е структуриран аналитично – не просто като преглед на наличната литература, а като логически аргументиран анализ, извеждащ научната празнина, която трудът цели да запълни. Обзорът проследява еволюцията на знанията за холинергичната система, основните класове неврони и функционалната организация на ENS. Описана е детайлно невротоксичната принадлежност на ентэралните неврони. Специално внимание е отделено организацията на гена, кодиращ синтеза на ChAT. Авторката обръща внимание на механизмите на **алтернативния сплайсинг** – процес, който дирижира генната експресия на ниво РНК. В работата са описани основните молекулярни подходи за визуализиране на сплайсинг вариантите на ензима ChAT. Д-р Маринова умело свързва молекулярните данни с морфологичния контекст и така поставя своята работа в междудисциплинарна рамка, която обединява анатомия, хистология, невробиология и молекулярна генетика. Това показва не само добро познаване на проблема, но и способност за критично мислене и синтез на комплексна информация.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Литературен обзор

Литературният обзор е задълбочен, аргументиран и логично структуриран. Представени са основни концепции за холинергичната система, ролята на ChAT и особеностите на ENS при различни животински модели. Цитирани са актуални източници от международни бази данни, което придава научна достоверност и осигурява пълна съпоставка с глобалните изследователски тенденции.

Цел и задачи

Основната цел е формулирана ясно и постижимо: *да се изследва експресията на алтернативно сплайсирани иРНК варианти на холинацетилтрансферазата в ентэралната нервна система на мишка*. Задачите, произтичащи от нея, са конкретни и последователни, като включват избор и подготовка на експериментален материал, прилагане на методи за доказване на експресията, както и сравнителен анализ между различни участъци от гастроинтестиналния тракт.

Материал и методика

Методическият раздел е прецизно изграден и демонстрира висока експериментална култура. Използвана е хистологична техника, визуализираща ентэралните сплетения, допълнена с RT-PCR за анализ на сплайсинг вариантите на иРНК на ензима ChAT. Контролните експерименти са коректно описани, а статистическата обработка е адекватна. Особено впечатление прави съчетанието на класическа морфологична експертиза с модерни молекулярни подходи, което повишава научната стойност на резултатите.

Резултати и обсъждане

Резултатите са представени детайлно, със съответни графични и таблични обобщения. Авторката прави оценка на тъканно-специфичните разлики в експресията на сплайсинг вариантите на ChAT в контекста на функционалните особености на отделните участъци от ГИТ. Обсъждането е аналитично и добре аргументирано. Дисертантката интерпретира получените резултати в контекста на актуалните научни хипотези, като предлага логични обяснения за наблюдаваните феномени. Този раздел показва способността на авторката да мисли критично и да прави собствени изводи, основани на експериментални данни.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Научни приноси

1. За първи път е извършен систематичен анализ на експресията на сплайсинг вариантите на ChAT в ентeралната нервна система на мишка.
2. Описани са регионални разлики в експресията на отделните ChAT варианти в различните сегменти на гастро-интестиналния тракт, което разширява представите за функционалната специализация на ENS.
3. Оптимизирана е методика за комбинирано морфологично и молекулярно изследване на нервни структури, приложима и в други експериментални модели.
4. Резултатите допринасят за по-задълбочено разбиране на молекулярните механизми на холинергичната невротрансмисия и имат потенциална стойност при изучаването на заболявания с нарушена ентeрална регулация.

Практическо значение

Получените данни могат да бъдат използвани за изграждане на експериментални модели на гастроинтестинални дисфункции, както и за търсене на молекулярни маркери на ентeрални невропатии. Трудът има принос и в образователен аспект – материалът може да послужи за създаване на нови лабораторни упражнения и методични указания по невроанатомия и молекулярна морфология.

Заклучение

Дисертационният труд на д-р Десислава Маринова Маринова е оригинално, добре аргументирано и експериментално доказано изследване, което се вписва пълноценно в съвременните тенденции на биомедицинската наука. Авторката проявява висока теоретична подготовка, експериментална прецизност и способност за критичен научен анализ. Работата ѝ разширява познанията за молекулярната организация на ентeралната нервна система и има потенциал да бъде надградена с бъдещи изследвания върху патогенетични модели.

С оглед на представените материали, научните резултати и направените изводи считам, че дисертационният труд напълно отговаря на изискванията за присъждане на образователна и научна степен „доктор“ по научна специалност „Анатомия, хистология и цитология“. Бих добавил и личните си впечатления от познанството и работата ми с кандидата. Колегата е отговорен специалист с отлични анатомични и

хистологични знания и умения, отличен преподавател и работещ прекрасно с колегите си от анатомичните катедри в другите МУ и факултети в България.

Въз основа на всичко изложено по-горе, предлагам д-р Десислава Маринова Маринова да бъде допусната до защита на дисертационния си труд и след успешна защита да ѝ бъде присъдена съответната степен. Категорично гласувам положително и смятам, че трудът е дисертабилен и иновативен.

Изготвил становището:

проф. Иван Илков Масларски

Катедра по анатомия, хистология, патологоанатомия и съдебна медицина

Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“

Дата: 11.11.2025г.

подпис: **На основание чл.59 от ЗЗЛД**

гр. София

Evaluation Report

by Prof. Ivan Ilkov Maslarski

Department of Anatomy, Histology, Pathological Anatomy and Forensic Medicine,
Faculty of Medicine, Sofia University "St. Kliment Ohridski"

Subject:

Doctoral dissertation submitted for the award of the **educational and scientific degree**
"Doctor"

in the field of higher education **7. Healthcare and Sports**,
professional field **7.1. Medicine**,
doctoral program **"Anatomy, Histology and Cytology"**

Author: Dr. Desislava Marinova Marinova

Title: *"Study of the expression of choline acetyltransferase mRNA alternative splicing isoforms in the mouse enteric nervous system"*

Scientific supervisor: Prof. Dr. Stefan Trifonov

1. General presentation of the procedure and the doctoral candidate

The presented dissertation has been prepared and submitted in accordance with the requirements of the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the internal regulations of the Medical University – Pleven. All necessary documents, including the author's abstract, publication and citation lists, are properly prepared and submitted. The dissertation is the result of long-term experimental work carried out under the supervision of Prof. Dr. Stefan Trifonov – a specialist with extensive experience in anatomy and neurobiology. Dr. Desislava Marinova Marinova is a proven lecturer and researcher in the Department of Anatomy, Histology and Cytology at the Medical University – Pleven. Her academic presence is characterized by high professionalism, integrity, and a consistent pursuit of a deep understanding of complex morphofunctional processes in the human body. The procedure for awarding the doctoral degree has been initiated in full compliance with the applicable academic and legal standards.

2. Brief biographical data of the doctoral candidate

Dr. Desislava Marinova Marinova was born on July 8, 1976, in Pleven, Bulgaria. She graduated from the Medical University – Pleven, obtaining the qualification of "Physician." Her professional career has been entirely dedicated to the same university – initially as an assistant, and later as a senior assistant at the Department of Anatomy, Histology and Cytology. In her academic work, Dr. Marinova successfully combines teaching, research, and active participation in the department's administrative work. She is well known among students for her responsible attitude, clarity of presentation, and pedagogical precision in teaching one of the most demanding disciplines — *Human Anatomy*.

Her scientific interests are focused on neuroanatomy, particularly on the study of the enteric nervous system (ENS). In this field, she has developed an original research approach that combines classical histological methods with modern molecular-genetic techniques. Dr.

Marinova's scientific output includes more than 30 publications, numerous participations in national and international conferences, as well as one paper published in the *Journal of IMAB* (Web of Science, Q4, IF 0.2, 2022), which has already been cited three times internationally – clear evidence of the scientific significance and visibility of her results.

3. Technical characteristics of the dissertation

The dissertation comprises **126 pages of main text**, illustrated with **33 figures, 5 tables, and 270 references**, many of which are recent international publications. The dissertation also includes two appendices. Its structure fully complies with academic standards and includes:

- Introduction
- Literature Review
- Aim and Objectives
- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- Conclusions and Contributions
- References

The text is written in a clear, precise, and scientifically sound language. The author maintains a logical and consistent structure, which facilitates comprehension and flow. The figures and tables are aesthetically presented and properly labeled, effectively supporting the understanding of the experimental results.

4. Relevance of the topic

The topic of this dissertation is highly relevant and corresponds to one of the most modern directions in biomedical research — the integration of morphological and molecular approaches in studying the nervous system. Choline acetyltransferase (ChAT) is the key enzyme responsible for the synthesis of acetylcholine — a major neurotransmitter in both the central and peripheral nervous systems. The enteric nervous system, in turn, possesses significant autonomy and regulates a broad spectrum of gastrointestinal physiological functions. The study of ChAT mRNA isoforms generated through alternative splicing is of fundamental importance for understanding the molecular mechanisms that regulate cholinergic neurotransmission. In recent years, evidence has accumulated showing that distinct ChAT isoforms display specific spatial and functional characteristics, and alterations in their expression may be associated with various pathologies — ranging from gastrointestinal motility disorders to neurodegenerative diseases. **Dr. Marinova's dissertation builds precisely upon this contemporary scientific foundation and develops it through a well-designed experimental model of high evidential value.**

5. Familiarity with the problem

In the literature review, the doctoral candidate demonstrates an exceptionally good understanding of the current state of research in the field. The text is structured analytically — not merely as a summary of the available literature, but as a logically argued analysis that identifies the scientific gap the dissertation aims to address. The review traces the evolution of knowledge about the cholinergic system, the main classes of neurons that use this neurotransmitter, and the role of ChAT as a specific marker for assessing the functional state

of cholinergic neurons. Special attention is given to the mechanisms of alternative splicing – a process that enables a single gene to encode multiple protein variants with distinct functions. The study demonstrates molecular approaches for visualizing the splicing variants of the ChAT enzyme. It successfully detects the expression of the M, cChAT, and pChAT splicing isoforms in the mouse ENS. A relative quantitative analysis of the expression of the successfully identified splicing variants has been carried out. Dr. Marinova skillfully links the molecular data with the morphological context, thereby placing her work within an interdisciplinary framework that integrates anatomy, histology, neurobiology, and molecular genetics. This demonstrates not only a strong grasp of the research problem but also the ability for critical thinking and the synthesis of complex information.

6. Characteristics and evaluation of the dissertation

Literature Review

The literature review is comprehensive, well-structured, and analytically presented. It covers the major concepts of the cholinergic system, the role of ChAT, and the specifics of the ENS in various experimental models. The cited sources from international databases ensure both scientific credibility and global contextualization.

Aim and Objectives

The main aim is clearly and realistically defined — *to investigate the expression of alternatively spliced mRNA variants of choline acetyltransferase in the enteric nervous system of the mouse*. The objectives derived from this aim are specific and sequential, encompassing the selection and preparation of experimental material, application of techniques to detect gene expression, and comparative analysis across different regions of the gastrointestinal tract.

Materials and Methods

The methodological section is precisely structured and demonstrates a high level of experimental competence. A histological technique visualizing the enteric plexuses has been employed, complemented by RT-PCR analysis of the mRNA splicing isoforms of the ChAT enzyme. The control experiments are properly described, and the statistical analysis is appropriate. Particularly impressive is the combination of classical morphological expertise with modern molecular approaches, which enhances the scientific value of the results.

Results and Discussion

The results are presented in detail with appropriate graphical and tabular representations. The author identifies specific ChAT isoforms in the different sections of the mouse digestive tract and reports regional variations in their expression. The discussion is analytical and well-argued, placing the obtained findings within the framework of contemporary scientific hypotheses. Logical explanations for the observed phenomena are offered, demonstrating the author's ability to interpret experimental data independently and critically.

7. Contributions and significance of the dissertation for science and practice

Scientific contributions

1. For the first time, a systematic analysis of the expression of ChAT splicing isoforms in the mouse enteric nervous system has been carried out.
2. Regional differences in the expression of distinct ChAT isoforms in GIT have been described, expanding current understanding of ENS functional specialization.
3. A methodological protocol for combined morphological and molecular investigation of neural structures has been optimized, applicable to other experimental models.
4. The results contribute to a deeper understanding of the molecular mechanisms of cholinergic neurotransmission and may have implications for the study of disorders involving impaired enteric regulation.

Practical significance

The data obtained can serve as a basis for developing experimental models of gastrointestinal dysfunctions and for identifying molecular markers of enteric neuropathies. The work also has educational value — it can be used in the preparation of new laboratory exercises and methodological materials in neuroanatomy and molecular morphology.

Conclusion

The dissertation of Dr. Desislava Marinova Marinova is an original, well-reasoned, and experimentally substantiated study that fits perfectly into modern trends in biomedical science. The author demonstrates excellent theoretical preparation, experimental precision, and critical scientific thinking. Her research expands our knowledge of the molecular organization of the enteric nervous system and opens perspectives for future studies on pathogenic models. Based on the materials presented, the scientific results, and the conclusions drawn, I consider that the dissertation fully meets the requirements for the award of the educational and scientific degree “**Doctor**” in the scientific specialty “**Anatomy, Histology and Cytology**”.

I would also like to add my personal impressions from working with the candidate: Dr. Marinova is a responsible and competent professional with excellent anatomical and histological knowledge and skills, an outstanding lecturer, and a colleague who collaborates excellently with her peers from other medical universities and faculties in Bulgaria. In view of all the above, **I strongly recommend that Dr. Desislava Marinova Marinova be admitted to defend her dissertation and, following a successful defense, be awarded the doctoral degree.** I firmly vote in favor, as I consider the work to be both dissertation-worthy and innovative.

Prepared by:

Prof. Ivan Ilkov Maslarski, Ph.D.

Department of Anatomy, Histology, Pathological Anatomy and Forensic Medicine

Faculty of Medicine, Sofia University “St. Kliment Ohridski”

Date: November 11, 2025
Sofia

Signature: На основание чл.59 от ЗЗЛД