

РЕЦЕНЗИЯ

ОТ ПРОФ. Д-Р НИКОЛАЙ ЕЛЕНКОВ ЛАЗАРОВ, Д.М.Н.

ОТНОСНО ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД НА Д-Р СВЕТЛА ПЕНЧЕВА ДОСЕВА ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНАТА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР”

Д-р Светла Пенчева Досева е родена на 02.04.1958 година в гр. Плевен. Висше медицинско образование завършва през 1982 година във Висш медицински институт-Плевен. След успешно издържан конкурсен изпит през 1983 година тя постъпва като асистент в катедра „Анатомия, хистология и цитология” на Медицински университет (МУ)-Плевен, където изминава целия академичен път до главен асистент (1995 г.). През 1987 година придобива специалност по анатомия. През 2012 година е зачислена за докторант на самостоятелна подготовка в катедрата по анатомия, хистология, цитология и биология на МУ-Плевен, където е провела цялата експериментална дейност по настоящата дисертация. След приключване на програмата за обучение и успешно положени изпити по научната специалност и чужд език, тя е отчислена от Факултетния съвет на факултет „Медицина” с право на защита пред научно жури.

Дисертационният труд на тема *„Морфологични аспекти в развитието на кохлеарния нуклеарен комплекс”* е написан на 207 страници и е разпределен по раздели по следния начин: *Съдържание* – 2 стр., *Списък на използваните съкращения* – 1 стр., *Увод* – 2 стр., *Литературен обзор* – 60 стр., *Цел и задачи* – 1 стр., *Материал и методи* – 4 стр., *Резултати* – 60 стр., *Обсъждане* – 51 стр., *Заключение и изводи* – 2 стр., *Справка за приносите* – 1 стр., *Библиография* – 26 стр., включваща 539 заглавия, всичките на латиница. Трудът е онагледен със 112 фигури, представляващи светлинномикроскопски, електронномикроскопски и графични изображения на авторските находки. При това, повечето фигури представляват табла с поредица от монтирани микрофотографии, така че действителният брой на приложената фотодокументация е значително по-голям.

Темата на дисертационния труд е много удачно подбрана. Тя е посветена на един актуален и значим фундаментален проблем на отоморфологията, този за ембрионалното развитие на слуховия ядрен комплекс. Добре известно е, че слухово-вестибуларният орган е първата по поява сензорна структура в развиващия се зародиш и кохлеата е напълно развита

при раждане у човек, но ЦНС слухова матурация продължава до неговата 6-годишна възраст и завършва до края на първите два постнатални месеца у плъх. Познанията за структурата, функцията, развитието и регенераторния капацитет на кохлеарния нуклеарен комплекс е необходима и практически важна не само за морфолога, но и за клинициста, практикуващ слухово-протезиращи техники с оглед моделиране и подобряване дизайна на кохлеарните импланти. Нещо повече, детайлното познаване на процеса на кохлеарна ембриогенеза и матурацията на невроналните структури в слуховите ядра през критичните периоди на ембрионалния период е изключително важна за разбиране и интерпретиране на слуховия процес в двете му функционални системи (“core” и “belt”), водещи до редица слухови нарушения, вкл. ефекта на т.нар. “вродена глухота”. Това без съмнение ще е крачка напред в борбата с последиците за социалната адаптация на индивида. В този смисъл докторантката си е поставила амбициозната задача да проучи в детайли морфофункционалните особености и синаптична организация на слуховия ядрен комплекс по време и след критичния период на постнаталната матурация, на ефектите на кохлеарна аблация и слухова депривация върху морфологичната и функционална матурация на неговата невронална популация с подчертан акцент върху промените в глутаматния рецепторен фенотип на централните слухови неврони в различни етапи от постнаталното развитие.

Уводът е кратък, стегнато написан и въвежда по подходящ начин читателя в предмета на дисертационния труд. Към този раздел нямам забележки по същество.

Литературният обзор е много обширен и дава в тематично обособени подраздели подробна информация за структурата, ултраструктурата и невротрансмитерния профил на слуховия ядрен комплекс. Приведени са изчерпателни данни за неговите структурни подразделения и цитоархитектоника, разгледани са морфологичните и физиологични характеристики на основните клетъчни типове в него. Специално внимание е отделено на критичния период в постнаталната матурация на слуховото ядро, по-конкретно на ролята на някои трофични фактори, повлияващи невроналното преживяване или смърт, на клетъчните механизми на регулация и молекулярната природа на сигналите, контролиращи структурната пластичност в развиващото се ядро. Вторият раздел на обзора е посветен на т.нар. грануларно-клетъчен домен на слуховото ядро, който у повечето бозайници се описва като негово трето основно подразделение. Подробно са описани клетъчните типове на домена и неговите

аферентни проекции. В последният раздел се прави преглед на глутаматергичната трансмисия в централната слухова система, в частност на типовете глутаматни рецептори и тяхното разпределение в слуховите ядра. Посочена е ролята на някои екстрацелуларни матриксни молекули в групирането на рецепторните съединици и синаптичната диференциация, както и основните фази в развитието на слуховите центрове. Голяма част от цитираните литературни източници са публикувани след 2000 година, което е още едно доказателство за актуалността на разработвания проблем, пълнотата на библиографската справка и, не на последно място, за добрата литературна осведоменост на дисертантката по него. Според мен би било добре прегледът на литературата да завърши с кратък заключителен раздел или поне един параграф, в който да се представи в резюмиран вид състоянието на разглеждания проблем и да се посочат накратко нерешените проблеми, които очакват решение с настоящето проучване. По такъв начин ще се направи плавен преход към следващия раздел на дисертационния труд.

Целта е ясно и точно формулирана. **Задачите** са правилно поставени и, както ще се разбере от последващото изложение, са реално изпълними с помощта на използваните методи. По мое мнение е целесъобразно да се посочи с какви конкретни подходи ще се търси тяхната успешна реализация.

Разделът **Материал и методи** е твърде лаконично (едва на 4 страници) написан. Описанието на приложените методики, вкл. контролните имунохистохимични оцветявания и статистическия анализ на данните, би трябвало да се даде стъпка-по-стъпка с по-голяма изчерпателност, позволяваща тяхната повторемост от други изследователи. Освен това, данните от морфометричните изследвания трябва да се представят като средна стойност \pm стандартната грешка. Необходимо е също така да се посочи и приетото ниво на статистическа достоверност на получените разлики. В хода на проучването са спазени етичните изисквания при работа с експериментални животни и техния брой е сведен до необходимия минимум за постигане на статистически достоверни резултати.

Разделът **Резултати** е изложен в отделни, описателно формулирани подраздели в последователност, следваща хронологично поставените експериментални задачи. Прилагайки класическо оцветяване по Nissl, д-р Пенчева е проследила от ранното постнатално развитие до тяхната пълна морфологична матурация на P20-P25 невроналните типове във вентралното слухово ядро у плъши модел, които тя категоризира като микроневрони и макроневрони –

сферични, октоподни, глобуларни и мултиполярни клетки с техните светли и тъмни варианти. Със завидна акуратност и изключителна изчерпателност са описани ултраструктурните характеристики на макронеуроните и формирането на техните синаптични специализации. Количественият анализ показва, че техните размери нарастват най-интензивно през първия постнатален месец. Окончателните си размери те достигат след втори пик на израстване до 60-ия ден след раждането у плъхове. От друга страна, проследявайки морфологичните особености на невроните в грануларноклетъчния домен, Пенчева е описала грануларни микронеурони и по-големи грануларно-асоциирани неврони. Специално отбелязване заслужава раздела за демонстрираните специфични грануларно-клетъчни синаптични гломерули, морфологично сходни с малкомозъчните гломерули. Те представляват сложен синаптичен комплекс и са изцяло документирани от дисертантката. Тези комплексни синаптични полета са образувани от централно разположена розетка от окончания на мъховидните влакна и контактуващи с тях дендритни терминални профили на грануларните клетки. На територията на вентралното слухово ядро са наблюдавани и единични UBC-синаптични мозайки. Установено е, че кохлеарната деструкция предизвиква забележима дегенерация от тъмен или светъл тип на матуриращите неврони. Акустичната депривация също индуцира невронална смърт, която е възрастово-зависима. Накрая, но не на последно място докторантката е изследвала с помощта на светлинномикроскопска имунохистохимия експресията на три субединици на глутаматния рецептор в различни етапи от постнаталната матурация на кохлеарния комплекс. В първите постнатални дни е наблюдавано интензивно имунооцветяване за *GluR1* от дифузен тип в невроните на цялото ядро, което изчезва в края на първата седмица. Документирано е отчетливо белязане за *GluR2* на глобуларните и октоподни неврони на територията на вентралното слухово ядро и грануларно-клетъчния домен, което се появява на третия постнатален ден (P3) и нараства постепенно до четвъртата седмица, след което бързо намалява. Най-късно, след P11 започва експресията на *GluR3*, която се увеличава прогресивно до P24.

Като цяло, оценявам изключително високо **фотодокументацията** към дисертационния труд. Приложените микроснимки и електронограми са с отлично качество и само единици от тях (нефокусирани на голямо увеличение) правят изключение от тази констатация. В същото време, статистическите данни, представени като хистограми, дават богата и прегледна информация за установените количествени показатели в растежа на диференцираните неврони.

Дискусията е пространна, много добре написана и показва завидното умение на дисертантката за обсъждане на собствените резултати, съпоставяйки ги с известните факти в релевантната литература, и интерпретирайки ги адекватно да направи ценни изводи за модела на постнатално развитие на слуховите неврони. Интересна и стойностна е идеята за двуфазния модел в развитието на глобуларните и октоподните неврони на вентралното слухово ядро, и очертаната зависимост на тяхната матурация от по-високо разположените центрове на слухово-сензорната система. Силно впечатление прави също така идеята за съществуване на уникален клетъчноповърхностен маркер по мембраните на клетките-мишени по време на постнаталната матурация, както и категоризирането на соматичните протрузии и шипове, в частност на калиците на Held, като характерни черти на синапсите в хода на матурацията и тяхната роля в насочването на аксона към специфично място на невроналната мембрана. От фундаментално значение безспорно е опита, базиран на наличната информация за грануларно-клетъчния домен, за разделяне на слуховите пътища на слухово-сензорни (акустични) и полисензорни, които интегрират неслуховата информация. На основата на получените данни се прави обоснована морфофункционална аналогия между грануларноклетъчната система в дорзалното слухово ядро и малкия мозък, което дава основание за определянето на това слухово ядрено подразделение като „слухов церебелум”. Определен клиничен интерес има дискусията за корелацията между структурата на слуховото ядро и функционалните особености на слуховия нерв, за влиянието на слуховия опит върху синаптичната морфология, и особено за ефектите на акустичната депривация и аблация върху невроналното развитие. Не на последно място, с определена научна значимост е обсъждането в дисертационния труд на особеностите на глутаматергичната трансмисия в слуховия ядрен комплекс с акцент върху характерния модел на експресия на *AMPA* рецепторните субединици по време на развитието и разграничаването на два рецепторни фенотипа в ядрото в отделните му етапи.

В кратък раздел след дискусията в резюмиран вид са обобщени **заключителните бележки** на докторантката относно установените фактологични находки, които дават основание за коректно формулиране на **изводите** от настоящото проучване. Те са конкретни, написани са много стегнато и точно отразяват авторските заключения, произтичащи от натрупаните нови данни. Научните приноси на дисертационния труд са изведени в отделен раздел под формата на кратка справка. Като цяло приемам без забележки тяхната формулировка.

Няма съмнение, че настоящият дисертационен труд е **лично дело** на д-р Светла Пенчева. Безспорно доказателство за това са научните публикации на докторантката по темата и голяма част от несвързаните с нея публикации, които са в областта на слуховата сензорна система. Резултатите от експериментите са отразени в **4 научни статии** в списания и научнотематични сборници, в две от които тя е водещ автор, а в другите две е втори съавтор. За съжаление в приложена документация липсват копия на тези публикации, което не ми позволява да дам оценка на тяхната научна стойност. Приложен е и списък с **6 научни съобщения**, изнесени на различни научни форуми у нас и в чужбина, което ясно показва че резултатите от този труд са станали достояние на морфологичната общност. На рецензента не са известни цитирания на тези научни трудове в трудовете на други автори и/или в други литературни източници.

Дисертацията е написана разбираемо и макар че съдържа множество специфични термини и съкращения, нейният прочит не затруднява читателя. Авторефератът на дисертационния труд е изготвен съгласно изискванията; той отразява адекватно и в достатъчен обем състоянието на изучавания проблем, поставената цел, използваните методи за нейното реализиране, собствените резултати, тяхното аналитично описание и интерпретиране на получените данни, и направените авторски изводи и приноси.

В **заключение** считам, че дисертационният труд на д-р Светла Пенчева е едно комплексно, задълбочено и трудоемко проучване върху интересен и актуален проблем на отоморфологията. То е добре замислено и прецизно методично обосновано, проведено е много акуратно и е илюстрирано отлично. Получените данни са ясно и добросъвестно дискутирани и допринасят за разширяване на наличното познание за модела на развитие на слуховата сензорна система. Резултатите от изследването внасят теоретично-приложен принос за изясняване на факторите и конкретните механизми на постнатална матурация на слуховия ядрен комплекс в бозайниците. Представеният труд отговаря на законовите изискванията и количествените показатели за придобиване на научната степен в МУ-Плевен. Въз основа на всичко гореизложено, като рецензент убедено изразявам положително мнение за разработения дисертационен труд и в качеството ми на член на Научното жури по процедурата давам своя положителен вот за присъждане на образователната и научна степен “*доктор*” на Светла Пенчева Досева.

10.07.2014 год.
гр. София

Рецензент: 
(проф. д-р Николай Лазаров, д.м.н.)