



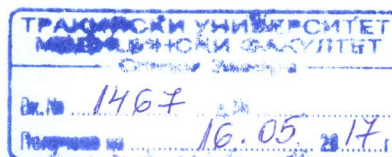
Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

Medizinhistorisches Museum
N30
Prof. Dr. med. Michail S. Davidoff

Martinistraße 52
20246 Hamburg
Telefon: (040) 7410-54482
davidoff@uke.de

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf Martinistraße 52 20246 Hamburg
Medizinhistorisches Museum, N30

До
Председателя на научно жури
Проф. д-р. Димитър П. Сиврев, дм
определено със Заповед № 772/04.04.17
на Ректора и Протокол: №2 от 29. 03.
2017 г. На Факултетния съвет на МФ
на Тракийския Университет – Стара
Загора



20.05.2017

Относно: Рецензия

Възложена с писмо на Декана на Медицинския факултет Стара Загора (изх. № 1201 / 12. 04. 2015 г.) за процедура за защита на дисертационен труд за придобиване на ОНС „доктор“ на д-р. **Никола Стефанов Томов** – докторант на самостоятелна форма на обучение по научната специалност Анатомия, хистология и цитология, професионално направление 7.1. Медицина, област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт към катедра „Анатомия“ на Медицински факултет, Тракийски университет – Стара загора.

Тема на дисертационния труд: „Глиална реакция след интрацеребрална трансплантация в модел на болестта на Parkinson“

Изготвил рецензията: проф. д-р. **Михаил Славчев Давидов, д.м.н.**, редовен член на Националната Немска Академия на Науките „Leopoldina“, член кор. на БАН, редовен професор (емеритус) на Института по Анатомия, Медицински факултет, Университет Хамбург-ФРГ.
Martinistraße 52, 22395 Hamburg; e-mail: davidoff@uke.uni-hamburg.de

Представеният за рецензиране труд на д-р. Томов за придобиване на ОНС „доктор“ има отношение към един много актуален, важен и интересен

Zertifikat Nr. QS-6568HH
und EM-8126HH



Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Körperschaft des öffentlichen Rechts
Gerichtsstand: Hamburg
UST-ID-Nr.: DE21 8618 948

Vorstandsmitglieder:
Prof. Dr. Burkhard Göke (Vorsitzender)
Prof. Dr. Dr. Uwe Koch-Gromus
Joachim Pröflß
Rainer Schoppik

Bankverbindung:
HSH Nordbank
Kto.-Nr.: 104364000; BLZ: 21050000
IBAN-Nr.: DE97210500000104364000
BIC: HSHNDE33

медико-биологичен проблем, а именно за поведението на глиалните клетки в стриатума на мозъка на бозайници след експериментално предизвикване на болестта на Parkinson (едностранна химична деструкция на нигростриалния път със 6-хидроксидопамин) и последваща вътремозъчна трансплантация на суспензия от неврони, част от които произвеждащи катехоламина допамин, от фетална substantia nigra на средния мозък на плъх.

Дисертационният труд е написан на 159 машинописни страници и съдържа 58 фигури и 5 таблици. Библиографичната справка съдържа 271 източника, от които само един на крилица. Публикациите на автора свързани с дисертационния труд са 5, като две са под печат. И в трите публикации д-р. Томов е водещ автор. Той има и две участия в научни прояви с международно участие и с отпечатани резюмета от научните му съобщения, на които той също е водещ автор.

Дисертационният труд е структуриран много добре и следва „класическата схема“: Заглавна страница, Съдържание, Използвани съкращения, Увод, Литературен обзор, Цел и задачи, Материал и методи, Резултати, Обсъждане, Обобщение и изводи, Приноси, Научен актив и Библиография.

Уводът предствлява много удачно и стегнато въвеждане на читателя в обекта и проблемите на проучването. Изтъкнати са основните моменти свързани със разностранното функционалното значение на глиалните клетки и тяхната реактивност при различни химични и механични увреждания в мозъка. Още тук д-р. Томов поставя на преден план тежестта в промените на астроцитите.

Литературният обзор е много добре структуриран и съдържа много богата и отлично систематизирана информация за патогенетичните процеси, които протичат при изучавания експериментален модел: болестта на Parkinson и функционалните особености на мозъчните базални ядра в норма и патология. Отлично и преди всичко с необходимата критичност са очертани и известните досега възможности за лечението на тази болест, като специално внимание е обърнато на приложението на съвременните методи за вътремозъчни трансплантации на нервна тъкан и суспензии от изолирани нервни клетки. Предвид на факта за лесната разрушимост и преживяване на трансплантираните нервни клетки, удачно се подчертава проблема за тяхното продължително запазване. Системно и много задълбочено е описана реакцията на глиалните клетки при вътремозъчна трансплантация на нервна тъкан или изолирани нервни клетки, както и на възможностите за повлияване активността на глиалните клетки. Авторът приключва литературния обзор с един преглед „Състроянието на проблема“. В него още по-ясно проличава отличното познаване, ориентация и творческото използване на известните досега данни от страна на д-р. Томов, което му е позволило много убедително, ясно и точно да формулира „Целта и задачите“ на неговия дисертационен труд.

За осъществяване на своята цел д-р. Томов е използвал 100 бели плъхове. На част от тях той стереотаксично инжектира 6-хидроксидопамин във *fasciculus medialis telencephali*, с което предизвиква разрушаването на допаминергичните структури водещо до възникването на процеси, наподобяващи тези при болестта на Parkinson. На част от тях той също присажда суспензия, представляваща смес от допаминергични и други неврони и нервни съставки, получени от фетални мозъци. За по-пълното обхващане на проблема авторът, освен контролна група формира многобройни експериментални групи в зависимост от приложението или не на 6-хидроксидопамин, от вида на приложената хирургична интервенция и инжектирането на *roscovitine* (инхибитор на циклин-зависимата киназа Cdk5) с цел потискане на клетъчния цикъл на микроглията, за повлияване изразеността на Паркинсоновото заболяване.

Освен големия брой експериментални животни и хирургични вариации авторът много целесъобразно е приложил широк методичен набор включващ: стереотаксия, подготовка и вътремозъчна трансплантация на тъкан от фетална *substantia nigra*, функционален тест, хистологични методи, имунохистохимия, качествен и количествен анализ на изображенията и статистически анализ. Част от методите са модифицирани от него специално за по-достоверното и съобразено с особеностите и трудностите на експеримента представяне на получените резултати. Това несъмнено потвърждава обширната и отлична методична подготовка на д-р. Томов

Получените резултати са представени с необходимата пълнота, системност, напълно разбираемо и убедително. Описанието позволява на читателя лесно да се ориентира в сложната материя и да получи сравнима представа за нормата и динамичните промени на астроцитите и микроглиалните клетки в условията на вътремозъчна трансплантация на суспензия от клетки изолирани от „черното вещество“ на мозъка. Количествените резултати напълно потвърждават изменеията установени с морфологичните методи, което им придава още по-голяма достоверност. Също така за изясняване механизма на възникване на наблюдаваните промени допринасят и експериментите с инжектиране на 6-хидроксидопамин и на токсина *roscovitine*, който потиска клетъчния цикъл. Резултатите на д-р. Томов много ясно показват, че най-реактивната съставка на мозъчната тъкан в условията на проведения от него експеримент са астроцитите. Поведението на микроглията и преди всичко на макрофагите е типично по отношение отстраняването на остатъците от дегенериращите клетъчни и извънклетъчни структури. Важен резултат е сравнително еднотипното реагиране на глиалните клетки при различните мозъчни увреждания и фактът за основната роля на мозъка на реципиента за ангиогенезата и възникването на реактивната глия.

Приложената фотографска и графична документация е с много високо качество и убедително подкрепя описаните резултати, както и целсъобразния избор и високото качество на използваните имунохистохимични и количествени методи.

Отлично впечатление правят разделите „Обсъждане“ и „Обобщения и изводи“, в които д-р. Томов показва несъмнената си отлична методична и теоретична подготовка. Той с голяма лекота борави със сравняването на получените от него резултати и наличните в литературата данни, което му позволява да избере най-логичните обобщения и изводи за момента, както и да изтъкне основните приноси на този значим научен труд.

Дисертационният труд съдържа три вида приноси: оригинални, потвърдителни и методични.

Оригиналните научни приноси са:

- За пръв път е проведено подобно сложно, многообхватно в методично и експериментално отношение комбинирано морфологично и количествено проучване за поведението на глията (астроглия и микроглия) в условията на вътремозъчно присаждане на суспензия от нервни структури от „черното вещество“ след разрушаване на допаминергичните структури в медиалния крайномозъчен сноп, респ. на „черното вещество и стриатума“ с помощта на 6-хидроксидопамин. Този експеримент на практика води до състояние сходно с това на болестта на Parkinson.
- Установява се негативно влияние на 6-хидроксидопамин и върху нервни структури на стриатума, които не са допаминергични.
- Много целесъобразно, при експеримента, се дефинират 4 зони: централна и периферна зона на трансплантата, както и близка и отдалечена от границата на канюлния ход зони в мозъка на реципиента. Периферната зона на трансплантата и съседната му зона от мозъка на реципиента са разделени от граничната ивица на канюлния ход.
- В дефинираните зони се установяват интересни количествени сходства и съществени различия на глиалната реактивност. Тя е най-силно изразена в граничната зона и зависи от степента на зрелост на глиалните клетки.
- За пръв път се съобщават количествени сравнителни данни за реактивността на глията около присадки и след чисто механична увреда на стриатума.
- Това е първото проучване, което дава точни количествени данни за гъстотата на астроцитите и за GFAP+ имунохистохимичната площ на астроцитите във времето.
- За пръв път морфологично и количествено се доказва понижена активност на микроглията в зоните около вътремозъчните присадки след приложението на roscovitine (инхибиторът на клетъчния цикъл).

Методични приноси представляват:

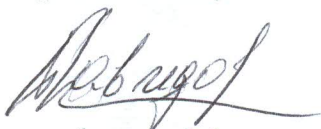
- Повишаване възможността за разпознаването на структурите на суспензията чрез внедряването на микроскопия в тъмно поле.

- Оригинална е и схемата за количественото охарактеризиране на глиалната реакция в дефинираните в и около присадката зони.
- Важен принос е и използването на математически алгоритъм за определянето на имунореактивната площ.

Препоръка: За в бъдеще ще е целесъобразно да се проследят процесите след 28ия ден, за да се установи дали допаминергичните неврони намират или създават благоприятна за тяхното продължително съществуване околна среда. Да се проучат промените на допаминовите рецептори (D1, D2/D3). Да се разширят и задълбочат проучванията за възможното образуване на неврони в стриатума от активирани астроцити. В тази връзка, да се извърши задълбочено проучване на неоангиогенезата в зоната около трансплантата и в самия трансплантат, като се обърне специално внимание на пролиферацията на перицитите (с периендотелна локализация), които в други отдели на мозъка (Type B cells на субвентрикуларната зона) и в други органи на бозайниците показват свойства на плюрипотентни стволови клетки, които чрез трансдиференциация водят до образуването на млади астроцити (радиална глия), неврони, олигодендрцити и микроглия (Kolb H 2007; Yamashima T et al 2004). Има данни, че перицитите са и предците на мултипотентните периваскуларни мезенхимни стволови клетки. Експериментално това може да се проследи в условията на същия експеримент чрез трансплантацията на ембрионални кръвоносни съдове или изолирани перицити (вж. Boroujerdi A et al 2014). По всичко личи, че глиалните клетки около мястото на механичната травма и на присадката са от вида транзитно-амплифицирани клетки - произлезли от стволови клетки (перицити), намиращи се в процес на диференциране към млади астроцити и микроглия.

В заключение: Представената от д-р. Томов дисертация представлява един отлично конципиран в идеен, експериментален и методичен аспект труд. В него се съдържат важни за невронауката и медицинската практика (напр. болестта на Parkinson) приноси. Част от получените резултати имат отношение към модерната проблематика за стволовите клетки. Трудът е изпълнен на изключително високо методично и научно ниво. Важно е, че той разкрива възможност за планирането на бъдещи научни изследвания.

Д-р. Томов се представя като един интелигентен, компетентен и рутиниран млад научен работник с отлична подготовка и перспектива. Въз основа на гореизложеното препоръчвам с дълбока убеденост на почитаемото научно жури с председател проф. д-р. Димитър П. Сиврев, дм, да присъди на д-р Никола Стефанов Томов образователната и научна степен „ДОКТОР“ по научната специалност „Анатомия, хистология и цитология”.



Рецензент: член кор. проф. д-р. Михаил Славчев Давидов, дмн