



СТАНОВИЩЕ

от **доц. д-р Стоян Павлов Павлов, д.м.**, Катедра по Анатомия и клетъчна биология, Факултет "Медицина", Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна

Относно: дисертационен труд за придобиване на ОНС „**Доктор**“ по научна специалност **Анатомия, хистология и цитология**, професионално направление "7.1 Медицина", област на висше образование "7. Здравеопазване и спорт" от д-р **Радослав Христов Спасов**, редовен докторант към Катедра по Анатомия и клетъчна биология, Факултет "Медицина", Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна по докторска програма „Анатомия, хистология и цитология“, на тема: „**Роля на транскрипционен фактор Рахб в развитието на малкия мозък при мишка**“ с научен ръководител проф. д-р **Антон Божидаков Тончев, д.м.н.**, Катедра - „Анатомия и клетъчна биология“, факултет „Медицина“, Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна.

Процедура по защитата:

В качеството си на член на Научно жури съобразно Заповед № Р-109-182/08.04.2025 г. на Ректора на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна, въз основа на предложение от Факултетен съвет на Факултет "Медицина", на основание на Протокол от заседание на научното жури №1/22.04.2025 г. бях определен да изготвя становище по процедура за публична защита на дисертационен труд на тема „**Роля на транскрипционен фактор Рахб в развитието на малкия мозък при мишка**“ за придобиване на ОНС „Доктор“ в ОВО 7. Здравеопазване и спорт, ПН 7.1. Медицина, **докторска програма „Анатомия, хистология и цитология“**. Автор на дисертационния труд е д-р **Радослав Христов Спасов**, Катедра „Анатомия и клетъчна биология“, Факултет „Медицина“, Медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ – Варна.

1. Предмет на рецензиране

В съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ – Варна кандидатът е представил комплект от документи на хартиен и електронен носител, който включва следните документи:

1. Дисертационен труд.
2. Автореферат.
3. Заявление към ректора на МУ-Варна
4. Автобиография.
5. Копие от диплома за висше образование.
6. Заповед за зачисляване на докторанта в докторската програма към МУ-Варна подписана от ректора на МУ-Варна.
7. Протокол от катедрен съвет за проведен докторантски минимум.
8. Протокол от катедрен съвет за отчисляване с право на защита и състав на научното жури.
9. Заповед за отчисляване на докторанта в докторската програма към МУ-Варна подписана от ректора на МУ-Варна.
10. Декларация за оригиналност на приложените документи.
11. Списък на научните публикации по темата на дисертацията.
12. Самите научни публикации публикации по темата на дисертацията.
13. Декларация за достоверност на приложените документи.
14. Декларация за активни профили в научната база данни.
15. Доклад за сходство изготвен от отдел „издателска дейност“ към МУ-Варна
16. Академична справка за активни научни профили в Google Scholar и Orcid издадена от библиотеката към МУ-Варна

Докторантът е приложил и 3 публикации и 1 конгресно участие във връзка с дисертационния труд.

Представените документи **покриват изискванията** на Закона за Развитие на академичния състав в РБ и Правилника на Медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ - Варна за допускане до публична защита за придобиване на ОНС „Доктор“.

Структура на текста на дисертационния труд

Представеният дисертационен труд съдържа 144 страници, включително 71 фигури (повечето, панели от повече от една илюстрации), 33 диаграми и 3 таблици. Осем (8) от фигурите са включени в „Литературен обзор“, седем (7) – в „Материали и методи“, 55 – в „Резултати“ и една (1) – в „Дискусия“. Общо са представени три (3) таблици: две (2) в „Материали и методи, една (1) – в „Дискусия“. Цитирани са общо 124 литературни източника.

Текстът е с обичайната структура за дисертационен труд:

1. Въведение - 2 стр.
2. Литературен обзор - 21 стр.
3. Цел и задачи - 1 стр.
4. Материали и методи - 23 стр.
5. Резултати - 74 стр.
6. Обсъждане - 7 стр.
7. Заключение – 1 стр.
8. Изводи - 1 стр.
9. Изводи и приноси - 1 стр.
10. Библиография – 9 стр.
11. Публикации и доклади – 1 стр.
12. Използвани съкращения – 3 стр.
13. Благодарности – 1 стр.

Тази структура и обем на дисертационния труд са в съответствие с нормите за присъждане на ОНС „Доктор“.

2. Кратки биографични данни за дисертанта

Д-р Радослав Спасов е роден в гр. Кюстендил и през 2007 г. завършва Природоматематическа гимназия „Проф. Емануил Иванов“, гр. Кюстендил. Придобива ОКС „магистър“ по специалност „Медицина“ в Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна през 2014 г. В периода 2014 – 2015 работи в Детско отделение за интензивно лечение към УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД. От септември 2015 г. е преподавател на граждански договор към катедра „Анатомия и клетъчна биология“ при Медицински университет - Варна, а от март 2016, след успешно положен конкурсен изпит, е назначен като редовен асистент в същата катедра. След успешно участие в конкурс през януари 2018 г. е зачислен в редовната докторска програма по „Анатомия, хистология и цитология“ към Катедрата по анатомия и клетъчна биология на Медицински университет – Варна. През май 2021 г. след успешно издържан Държавен изпит придобива специалност по „анатомия, хистология и цитология“. През 2022 година е избран за любим преподавател на дипломиращият се курс в българоезичното обучение по медицина към Медицински университет – Варна. Владее английски език. Научните интереси на д-р Спасов са насочени в областта на невробиологията.

Член е на Български лекарски съюз и Българското анатомично дружество.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Малкият мозък участва в контрола на висшите изпълнителни функции на централната нервна система: двигателен контрол, двигателна и други видове процедурна памет и др. През последните години се появиха доказателства за неговото участие и в процеси като емоции и вземане на решение. Малкият съдържа над 70% от всички неврони в ЦНС. Според някои проучвания при разстройства в нервното развитие, като тези от аутистичния спектър, се наблюдават специфични увреждания в малкия мозък. Освен това, медулобластомът – най-честият мозъчен тумор в детска възраст, се развива в резултат на увредени контролни механизми на пролиферацията на церебеларните гранулирани неврони. Всичко това налага механизмите на развитие на малкия мозък да бъдат детайлно проучени и зяснени. Важен инструмент за натрупване на нови научни данни в тази област са трансгенните миши модели. С оглед на изложеното смятам, че темата на дисертационния труд е актуална и би допринесла съществено за усъвършенстване на съвременните знания в областта на морфологичната невронаука.

Целта и задачите са ясно формулирани, а внимателно подбраната методология прави целта изпълнима.

4. Познаване на проблема

Необходимостта от изследвания в областта на дисертационния труд е ясно и логично аргументирана в Увода. Литературният обзор обхваща 21 стандартни страници и демонстрира задълбочените познания на докторанта и информираността му относно наличните литературни източници по темата за структурата на малкия мозък, механизмите за неговото формиране и контролните вериги от транскрипционни фактори, които насочват развитието му. Транскрипционният фактор Рахб играе особено значима роля в описаните контролни механизми, и докторантът е обосновал логично и последователно изборът на този ген за целева молекула на настоящия дисертационен труд.

Докторантът демонстрира умението да работи с голям брой публикации по темата за механизмите на развитие на малкия мозък, обобщавайки находките, представени в над 120 библиографски източника.

5. Методика на изследването

Обект на научно изследване в дисертационния труд са тъкани от експериментални животни, създадени и отглеждани в Германия след разрешение от локална етична комисия в провинция Долна Саксония, при спазване на принципите за минимизиране на страданието на животните. За селективно генно модифициране на животни *in vivo* е използвана е Cre/LoxP технология, при която ензимът Cre–рекомбиназа, разположен зад регулаторен елемент на *Рахб* гена, осигурява тъканна селективност на експресията в малкия мозък, разпознавайки

специфични (flox) секвенции около таргетния ген – *Raxb*. Така генът може специфично да бъде заглушен селективно в малкия мозък, което позволява животните да преживеят перинаталния леталитет, характерен за глобалния *knock out* на *Raxb*. Преодоляването на перинаталния леталитет е ключово, тъй като невrogenезата на зърнестите церебеларни неврони – най-многобройният клетъчен тип в малкия мозък и в цялата нервна система, се извършва постнатално. По тази причина глобалният нокаут на *Raxb*, водещ до смърт при раждането (поради причини, свързани с дисфункция в други органи), е неприложим при изследването на церебеларната невrogenеза на зърнестите неврони. Успешното деактивиране на *Raxb* в малкомозъчната кора позволява за първи път да бъдат наблюдавани *in vivo* резултатите от намалена функция на *Raxb* за малкия мозък.

Секцията Материали и методи детайлно представя хистологичните, хистохимични и имунохистохимични методи на обработка, визуализация на пробите и статистическите методики за анализ.

Заклучение: Материалите и методите са детайлно описани, по начин, който позволява експериментите да бъдат повторени от независими изследователи.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Резултатите са описани върху 70 стандартни страници и илюстрирани с 55 фигури и 2 таблици. Фигурите са с много добро качество и ясно демонстрират тезите и находките на извършената научна работа. Много от фигурите са многопанелни, така че общият брой фигури е многократно по-голям от 55. Така представените резултати подкрепят тезите на дисертационния труд.

Резултатите от изследването предоставят данни за селективността на Cre-рекомбиназата в контекста на конкретния експеримент. Чрез използването на репортерна линия се доказва, че Cre има преобладаваща, почти изключителна, експресия в малкия мозък. Това потвърждава, че инактивацията на *Raxb* се осъществява в целевия мозъчен регион, а именно във физиологичната зона на експресия на *Raxb* във външния миграторен поток. Трудът проследява морфологичните изменения в малкия мозък при заглушена функция на *Raxb*. Подробно са измерени площите на кората (сиво и бяло вещество), както и на отделните слоеве, и е изчислена редукцията при мутантите спрямо контролните индивиди. Установени са количествените характеристики на церебеларните невронални типове (глутаматергични и GABA-ергични неврони) при мутантите. Авторът описва ектопични групи от неврони в бялото вещество при мутантите, което предполага наличие на дефицити в миграцията на прекурсорите не само на глутаматергичните, но и на GABA-ергичните неврони, при инактивация на *Raxb*. Дисертационният труд също така показва някои от вероятните механизми, чрез които дефицитът на *Raxb* може да доведе до наблюдаваните церебеларни малформации.

Заклучение: Представените резултати са с високо качество и подкрепят тезите на дисертационния труд.

Доброто познаване на материята и аналитичното мислене на д-р Спасов е демонстрирано и в Обсъждането. Собствените резултати са обобщени и задълбочено и критично се коментират в светлината на натрупаните в литературата данни. В резултат са предложени обосновани хипотези за молекулните механизми, чрез които *Raxb* влияе на малкомозъчната морфология.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Представената дисертация е оригинален научен труд със съществен принос в изясняването на ролята на *Raxb* в постнаталната неврогенеза в малкия мозък. Повечето малкомозъчни неврони се формират след раждането а мишките с глобален knock out на гена за *Raxb* умират перинатално, заради което до момента не съществуваше модел, позволяващ да се установят дефицитите в малкия мозък при редуцирана функция на *Raxb*. Настоящият труд за първи път в света описва последиците от намалена функция на *Raxb*, които се случват след раждането в мозъка на бозайник.

Заклучение: Смятам, че приносите са достатъчни за придобиване на ОНС „Доктор“.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Към документацията за процедурата за придобиване на ОНС „Доктор“ дисертантът е приложил 3 публикации, допълнени от 1 участие в научен форум, по темата. Приложените публикации имат методологична връзка с дисертационния труд, но не докладват научните резултати. Препоръчвам, предвид съществените научни приноси на дисертацията, д-р Радослав Спасов да публикува резултатите си в международно рецензирано и реферирано научно списание.

9. Лично участие на автора

Описаният дисертационен труд е лично дело на дисертанта и съответно формулираните приноси и получени резултати, са **лична заслуга** на Радослав Спасов. Разбира се в съвременната морфологична наука разработването на подобен научен проект е резултат от работа в колектив, чийто приноси д-р Спасов признава и отразява (в авторските колективи на приложените статии и в секцията с Благодарности). Създаването на трансгенната линия мишки е осъществено в Макс Планк Институт в Гьотинген.

10. Автореферат

Авторефератът, отговаря на изискванията и обобщава основните резултати, описани в дисертацията.

11. Критични бележки

В текста на дисертацията и автореферата има допуснати правописни и пунктуационни грешки, които вероятно са резултат от бързване поради нетърпение за приключване на този важен за кариерното развитие на дисертанта труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на Радослав Христов Спасов от Катедрата по анатомия и клетъчна биология на Медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ - Варна е посветен на актуален и интересен от медико-биологичен проблем. **Дисертантът е представил редица оригинални резултати, изготвени в резултат на прилагането на морфологични и генетични методи. Считам, че дисертационният труд напълно отговаря на изискванията на ЗРАС на РБ, Правилника за приложението му и Правилника за развитието на академичния състав в Медицински университет „проф. д-р П. Стоянов“ – Варна за придобиване на ОНС „Доктор“. Ето защо аз гласувам положително и си позволявам да препоръчам същото на останалите членове на уважаемото Научно Жури, определено със Заповед № Р-109-182/08.04.2025 г. на Ректора на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна.**

Изготвил Становище:

доц. д-р Стоян П. Павлов, д.м.
Катедра по анатомия и клетъчна биология
Медицински Университет – Варна

Варна, 11.05.2025г.

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