

Становище

От: Доцент д-р Георги Н. Чалдъков – Направление “Транслационна биология на стволови клетки”, Научноизследователски институт, Медицински университет, Варна, на 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”.

За: Д-р Радослав Христов Спасов, Катедра Анатомия и клетъчна биология, Медицински факултет, Медицински университет, Варна
Тема: *Роля на транскрипционен фактор Pax6 в развитието на малкия мозък при мишка*

Научен ръководител:

Проф. д-р Антон Б. Тончев, дмн, Катедра Анатомия и клетъчна биология, Медицински факултет, Медицински университет, Варна

1. Предмет на становището

Със Заповед № Р-109-182/08.04.2025 г. на Ректора на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“, Варна съм определен за член на Научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема *„Роля на транскрипционен фактор Pax6 в развитието на малкия мозък при мишка“* за придобиване на образователна и научната степен „Доктор“ в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 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.

Представеният комплект материали **е в съответствие** с Процедурата за придобиване на Образователна и Научната Степен (ОНС) „Доктор“ в Медицински университет, Варна (МУВ) и включва всички необходими документи, съгласно Закона за развитие на академичния състав (ЗРАС) в Република България и Правилника на МУВ за допускане до защита на ОНС „Доктор“.

2. Данни по текста на дисертацията

Дисертацията е представена на 139 страници, включително 124 цитирани източника, 55 фигури, 33 диаграми и 3 таблици – те, както и структурата на изписване на дисертацията, са в съответствие с нормите за присъждане на ОНС „Доктор”.

3. Кратки биографични данни за дисертанта

Д-р Радослав Спасов е роден в Кюстендил през 1988 г. През 2014 г. се дипломира в МУВ, специалност „Медицина“. От септември 2015 г. е хоноруван асистент към катедра Анатомия и клетъчна биология в МУВ. През март 2016 г. е назначен за редовен асистент в Катедрата. Зачислен е към редовната докторска програма към МУВ през януари 2018 г. През май 2021 г., след успешно издържан изпит, е специалист по „Анатомия, хистология и цитология“. Научните интереси на д-р Спасов са фокусирани върху клетъчната и молекулна невробиология. Член е на Българското анатомично дружество и Българския лекарски съюз. През 2022 г. е избран за *любим преподавател* на дипломирация се курс в българоезичното обучение по медицина към МУВ.

4. Актуалност на дисертацията и на поставените цели и задачи

Малкият мозък съдържа повечето от невроните в централната нервна система. Освен „класическото“ участие в контрола на моториката, съвременни данни показват и неговата роля за когнитивните процеси, както и при разстройства на висшата нервна дейности като *autism spectrum disorders* и при други нарушения в малкомозъчното развитие. Дисфункция на *rax6/PAX6* участва в патогенезата на глиобластома. Пролиферацията на гранулните неврони на малкия мозък са е главен патогенетичен механизъм за развитието на най-честия мозъчен тумор при децата – медулобластом. Всичко това, както и други данни за патобиологията на *PAX6*, са значими предпоставки за изследване на клетъчните и генетични механизми на неврогенезата на малкия мозък на мишки.

5. Познаване на дисертационната тема

Литературният обзор, представен на 21 страници, както и цитираните 124 библиографски източника, показват съвременна информираност относно наличните литературни източници по дисертационната тема. Д-р Спасов е убедително формулирал защо изследва ролята на транскрипционния фактор *paired box6 (PAX6)*, на гена *Pax6* и на трансгенна линия *Tel-Cre::Pax6^{fl}* в своята дисертация. *Все пак*, желателно е да има повече цитирания от годините 2020–2025, например: Ochi S, Manabe S, Kikkawa T, Osumi N. Thirty years' history since the discovery of Pax6: From central nervous system development to neurodevelopmental disorders. *Int J Mol Sci* **2022**;23(11):6115. DOI: 10.3390/ijms23116115

6. Методика на изследването

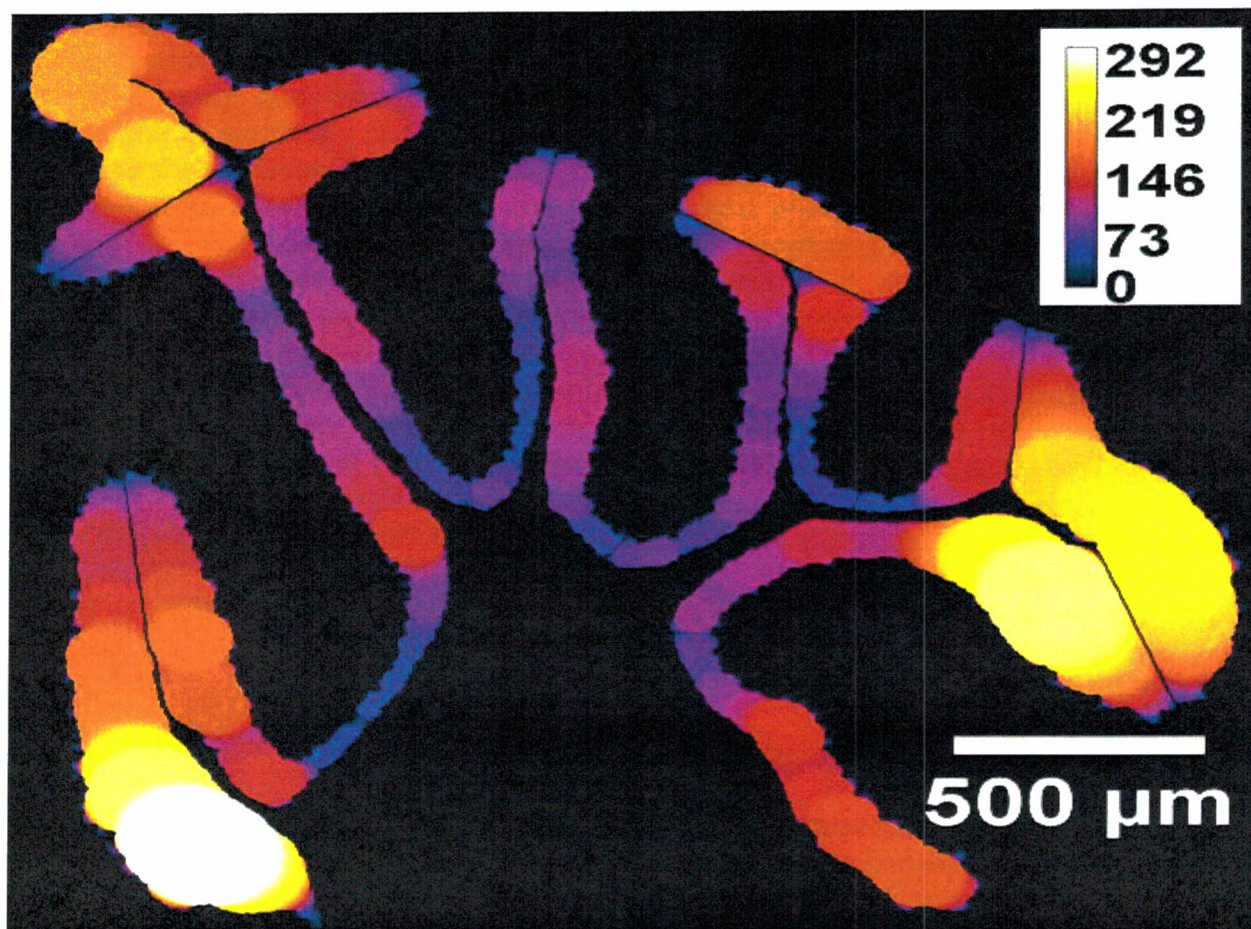
За дисертационният труд са използвани тъкани от експериментални животни, създадени и отглеждани в Германия след разрешение от локална етична комисия в провинция Долна Саксония, при спазване на принципите за минимизиране на

страданието на животните. Използвана е трансгенна технология за *in vivo* генно модифициране на експериментал животни, известна като Cre/LoxP, при която ензимът Cre рекомбиназа, разположен зад регулаторен елемент на *Pax6* гена, така че да осигури тъканната селективност на експресията в малкия мозък, разпознава специфични (flox) секвенции около таргетния ген *Pax6*. По този начин се извършва специфично „нокаутиране“ на гена в малкия мозък, което позволява животните да преживеят перинаталния леталитет, характерен за глобалния нокаут на *Pax6*. Преодоляването на перинаталния леталитет е голямо постижение, тъй като образуването повечето малкомозъчни неврони при мишката става в първите 3 постнатални седмици. Ето защо глобалният нокаут на *Pax6*, който е смъртоносен при раждането, е неприложим при изследването на гранулната церебеларна неврогенеза. Успешното постигане на инактивация на *Pax6* в малкомозъчната кора позволява за *първи път* да бъдат наблюдавани *in vivo* резултатите от намалена експресия на *Pax6* в малкия мозък.

Секцията Материали и методи детайлно представя хистологичните (хистохимични и имунохистохимични) методи на обработка, визуализация на пробите и статистическите методики за анализ. Материалите и методите са описани, по начин, който да позволи експериментите да бъдат повторени от независими изследователи.

7. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Резултатите се простират върху 70 стандартни страници, които съдържат 2 таблици и 55 фигури. Много от тях са многопанелни, така че общият брой фигурите е значително по-голям от 55 – всички са с много добро качество и ясно илюстрират концепцията на дисертационен труд. Д-р Спасов преследва методично поставената цел и задачи на дисертационния си труд и установява структурни промени в малкия мозък на мишка, които са резултат от **селективно** намалената експресия на гена *Pax6*. Така, **за първи път в света**, д-р Спасов показва промените в структурата на малкия мозък при тези „нокаутирани“ мишки, които остават жизнени и достъпни за измерване на площта на отделните кортикални слоеве, при което е установено редуцирането ѝ при нокаутираните спрямо контролните мишки. Резултатите от положения огромен труд на д-р Спасов подкрепят научния смисъл на неговата дисертация. Защото те са високостойностни и много красиви – вижте например тази “картина”, която може да бъде показана в престижния MoMA (*Museum of Modern Art*) в Ню Йорк, САЩ:



8. Приноси и значимост на дисертацията за науката и практиката

Настоящата дисертация е иновативно изследването на ролята на Pax6 в постнаталната неврогенеза в малкия мозък. Тъй като повечето неврони на малкия мозък се образуват след раждането, досега не беше възможно да се установи какви са промените в малкия мозък при намалена експресия на Pax6 гена, защото мишките с глобален нокаут на Pax6 умират при раждането. Настоящият труд за *първи път в света* описва процесите при намалена експресия на Pax6, които се случват след раждането в мозък на експериментални животни. Така че приносите – осем „за първи път в света“ – (пре)покриват изискванията за придобиване на ОНС „Доктор“.

9. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Списъкът на публикациите, приложени към процедурата за придобиване на ОНС „Доктор“, включва три публикации и от едно участие в научен форум, по темата. Дисертантът *трябва* да подготви публикации на резултатите си в списания, индексирани в *Web of Science*, *Scopus Elsevier* и/или други авторитетни библиографски платформи. За да стане видим глобално още един български принос в биомедицинската наука.

10. Автореферат

Авторефератът, представен заедно с дисертационния труд, е направен според изискванията и коректно отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

11. Заключение

Дисертационният труд на д-р Радослав Христов Спасов от Катедрата Анатомия и клетъчна биология, МУВ е посветен на съвременна и много интересна невробиологична тема с транслационен потенциал. Дисертантът е представил иновативни резултати, получени при изследване на *Rax6* нокаутирани мишки. Уверен съм, че дисертационният труд напълно отговаря на ЗРАС на РБ и Правилата на Медицински Университет, Варна за придобиване на ОНС „Доктор”. **Ето защо ще гласувам положително** и си позволявам да препоръчам същото и на другите 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.

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

Изготвил становище:
Доцент д-р Георги Н. Чалдъков

11 май 2025 г., Варна