

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - ВАРНА
„Проф. д-р Параскев Стоянов“
Ул. „Марин Дринов“ 55, Варна 9002, България
Тел.: 052/ 65 00 57, Факс: 052/ 65 00 19
e-mail: uni@mu-varna.bg, www.mu-varna.bg



MEDICAL UNIVERSITY - VARNA
"Prof. Dr. Paraskev Stoyanov"
55, Marin Drinov Str., 9002 Varna, Bulgaria
Tel.: +359 52/ 65 00 57, Fax: + 359 52/ 65 00 19
e-mail: uni@mu-varna.bg, www.mu-varna.bg

СТАНОВИЩЕ

От: проф. д-р Антон Божидаров Тончев, д.м.н. – Катедра "Анатомия и клетъчна биология", Медицински Университет "Проф. Д-р Параскев Стоянов" – 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".

Автор: Радослав Христов Спасов, Катедра „Анатомия и клетъчна биология“, Факултет "Медицина", Медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ - Варна

Тема: Роля на транскрипционен фактор Pax6 в развитието на малкия мозък при мишка

Научен ръководител:

Проф. д-р Антон Божидаров Тончев, д.м.н Катедра - „Анатомия и клетъчна биология“, факултет "Медицина", Медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ – Варна.

1. Предмет на рецензиране

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 Рахб в развитието на малкия мозък при мишката“** 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 на хартиен /електронен носител е в съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ – Варна и 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. 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 свързани 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 защита на ОНС „Доктор“.

Техническа данни по текста на дисертационния труд

Дисертацията съдържа 144 страници, включително 71 фигури (повечето, от които са многопанелни), 33 диаграми и 3 таблици. От фигурите 8 са в литературния обзор, 7 в материали и методи, 55 в резултати и 1 в дискусията. Общо са представени 3 таблици: 2 в Материали и методи, 1 - Дискусия.

Трудът съдържа 124 литературни източника.

Структуриран е в следните раздели:

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 и приноси - 1 стр.
9. Библиография – 9 стр.

10. Публикации и доклади - 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 през 1988 г. Завършва Природоматематическа гимназия „Проф. Емануил Иванов“ в гр. Кюстендил през 2007 г. и Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна, специалност „Медицина“ през 2014 г. От 2014 до 2015 работи в Детско отделение за интензивно лечение към УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД. От септември 2015 г. е хоноруван асистент към катедра „Анатомия и клетъчна биология“ при Медицински университет - Варна, а от март 2016г. е назначен за редовен асистент в същата катедра. Зачислен е към редовната докторска програма към Медицински университет – Варна през януари 2018 г. През май 2021 г., след издържан изпит за специалност, е специалист по „Анатомия, хистология и цитология“. През 2022г. 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 е важен регион в централната нервна система, който участва в контрола на моториката. Пред последните години има данни за участието

на малкия мозък и в процеси като някои видове памет и емоции. Това е мозъчният регион, който съдържа над 70% от невроните в цялата ЦНС. Съществуват данни, че при невроразвитийни разстройства (като разстройствата от аутистичния спектър) се откриват нарушения в малкомозъчното развитие. Нарушения в механизмите на пролиферация на церебеларните гранулни неврони са в основата за развитието на медулобластом – най-честия мозъчен тумор при децата. Всичко това дава сериозно основание да се изследват механизмите на развитие на малкия мозък, като трансгенните миши модели представляват сериозен инструмент за натрупване на нови научни данни в това направление. Ето защо аз оценявам темата на дисертационния труд за актуална и целесъобразна спрямо съвременното познание в областта на морфологичната невронаука.

Целта и задачите са ясно формулирани. **Предвид представените методики, оценявам целта като изпълнима.**

4. Познаване на проблема

Уводът ясно мотивира необходимостта от изследвания в областта на дисертационния труд. В резюме са разгледани основни структурни елементи на малкомозъчната кора. Литературният обзор, разпрострян върху 21 стандартни страници, показва добрата информираност на дисертанта относно наличните литературни източници по темата за структурата на малкия мозък и механизмите за неговото образуване, включително вериги от транскрипционни фактори, които оказват влияние върху развитието. Специална роля от тези транскрипционни фактори има *Rax6*, и дисертантът е обосновал защо именно *Rax6* е таргетният ген в настоящия дисертационен труд. **Оценявам положително** боравенето на дисертанта с голямото количество публикации по темата за механизмите на малкомозъчното развитие, предвид представените над 120 библиографски източника.

5. 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 иновативната Cre/LoxP технология за генно модифициране на животни *in vivo*, при която ензимът Cre рекомбиназа, разположен зад регулаторен елемент на *Rax6* гена така че да осигури тъканната селективност на експресията в малкия мозък, разпознава специфични (flox) секвенции около таргетния ген *Rax6*. По този начин се извършва специфично заглушаване на гена в малкия мозък, което позволява животните да преживеят перинаталния леталитет, характерен за глобални нокаут на *Rax6*. Преодоляването на перинаталния леталитет е от ключово значение, тъй като неврогенезата на гранулните церебеларни неврони – най-многобройният клетъчен тип в малкия мозък и в цялата нервна система, се извършва след раждането. По тази причина глобалният нокаут на *Rax6*, водещ до смърт при раждането (поради причини, свързани с дисфункция в други органи), е неприложим при изследването на гранулната церебеларна неврогенеза. Успешното постигане на инактивация на *Rax6* в малкомозъчната кора позволява за първи път да бъдат наблюдавани *in vivo* резултатите от намалена функция на *Rax6* 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 да позволи експериментите да бъдат повторени от независими изследователи.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Резултатите се простират върху 70 стандартни страници, които съдържат 55 фигури и 2 таблици. Фигурите са с много добро качество и ясно визуализират тезите на проекта за дисертационен труд. 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 действие на Cre-рекомбиназата в контекста на конкретния експеримент. Чрез репортер-линия се доказва, че Cre има преобладаваща, почти изключително селективна, експресия в малкия мозък. Това доказва, че инактивацията на *Raxb* се постига в таргетния за дисертацията мозъчен регион, и то във физиологична зона на експресия на *Raxb* във външния миграторен поток. Трудът проследява морфологичните изменения в малкия мозък при заглушена функция на *Raxb*. Подробно са измерени площ на кора (сиво и бяло вещество) и на отделните слоеве и е изчислена редукцията при мутантите спрямо контролните индивиди. Установени са количествени характеристики на церебеларните невронални типове при мутантите, както глутаматергични, така и ГАМКергични неврони. Описани са ектопични клъстери от неврони в бялото вещество при мутантите, което предполага миграторни дефицити не само на глутаматергични, но и на ГАМКергични прекурсори при инактивация на *Raxb*. Дисертационният труд показва и някои от вероятните механизми, по които деицицитът на *Raxb* води до церебеларните малформации, които се наблюдават.

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

Обсъждането отново демонстрира добрата литературна осведоменост и аналитично мислене на дисертанта. Собствените резултати са убедително резюмирани и коментирани в светлината на задълбочен синтез на познатите данни в литературата. Убедително са предложени молекулни механизми, чрез които Рахб влияе на малкомозъчната морфология.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Настоящият дисертационен труд е оригинален в изследването на ролята на Рахб в постнаталната неврогенеза в малкия мозък. Тъй като повечето неврони на малкия мозък се образуват след раждането, до момента не беше възможно да се установи какви са дефицитите в малкия мозък при редуцирана функция на Рахб, защото мишките с глобален нокаут на Рахб гена умират при раждането. Настоящият труд за първи път в света описва процесите при намалена функция на Рахб, които се случват след раждането в мозък на бозайник.

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

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Списъкът на публикациите, приложени към процедурата за придобиване на ОНС „Доктор“ включва 3 публикации, допълнени от 1 участие в научен форум, по темата. Дисертантът следва да подготви публикация в списание, индексирано в Web of Science с основните резултати

9. Лично участие на автора

Като научен ръководител мога да свидетелствам, че личното участие на дисертанта в проучването на морфологичните промени в малкия мозък след инактивация на Рахб е **централно**, и че формулираните приноси и получени резултати, са **лична заслуга** на Радослав Спасов. Създаването на трансгенните мишки е осъществено в Макс Планк Институт в Гьотинген, Германия.

10. Автореферат

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

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 един изключително интересен от медицинска и биологична гледна точка проблем. **Дисертантът е представил редица оригинални резултати, изготвени в резултат на прилагането на морфологични и генетични методи.** Считам, че дисертационният труд напълно отговаря на ЗРАС на РБ и Правилата на Медицински Университет - Варна за придобиване на ОНС „Доктор“.

Ето защо аз ще 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:

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

Проф. д-р Антон Б. Тончев, д.м.н.

Катедра по анатомия и клетъчна биология
Медицински Университет – Варна

Варна, 10.05.2025г.