

РЕЦЕНЗИЯ

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

ОТНОСНО ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД НА ДЕЯН ЛЮДМИЛОВ ДЖЕНКОВ ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНАТА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР”

Д-р Деян Людмилов Дженков е административен асистент в клиниката по обща и клинична патология на УМБАЛ „Света Марина“ ЕАД – Варна с придобита през 2007 г. специалност по патологоанатомия и цитопатология (Свидетелство №2555/18.02.2018 г.). През 2016 година той е зачислен за докторант на самостоятелна подготовка (Заповед № Р-109-144/09.05.2016 г.) към катедрата по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология на Медицински университет (МУ) „Проф. д-р Параскев Стоянов” – Варна, където е провел основната част от експериментите по настоящата дисертация. След приключване на програмата за обучение и успешно положен изпит по научната специалност, със Заповед № Р-109-665/18.12.2018 г. на Ректора на МУ-Варна той е отчислен от Факултетния съвет на факултет „Медицина” с право на защита пред научно жури.

Дисертационният труд на тема *„Експресия на транскрипционен фактор ZBTB20 в глиални тумори на централната нервна система”* е написан на 122 страници и е разпределен по раздели по следния начин: *Съдържание* – 2 стр., *Списък на използваните съкращения* – 2 стр., *Въведение* – 3 стр., *Литературен обзор* – 36 стр., *Цел и задачи* – 1 стр., *Материал и методи* – 11 стр., *Резултати* – 37 стр., *Обсъждане* – 6 стр., *Заклучение* – 1 стр., *Изводи* – 1 стр., *Справка за приносите* – 1 стр., *Публикации и участия на научни форуми* – 1 стр., *Литература* – 19 стр., включваща 144 заглавия, всичките на латиница. Трудът е онагледен с 5 таблици и 46 фигури.

Темата на дисертационния труд е много удачно подбрана. Тя е посветена на един социалнозначим и изключително актуален проблем на онкопатологията – молекулярната биология и патология на злокачествените мозъчни неоплазми. Въпреки че в последните години средната преживяемост при най-агресивните сред тях, глиобластомите, нараства, ранното им диагностициране е от решаващо значение за тяхната благоприятна прогноза. В този смисъл изясняването на молекулярните механизми, които регулират процеса на тяхното развитие, би бил полезен с оглед на намиране на ефективен начин за забавяне на прогресията на

глиобластомите. В търсене на подобен подход, докторантът си е поставил амбициозната задача да изследва експресията на един транскрипционен фактор, Zbtb20, в различни глиални тумори на централната нервна система (ЦНС), да проследи връзката между неговата експресия и тази на известни прогностични и предиктивни фактори на заболяването, и да изясни потенциалното му функционално значение за общата преживяемост на пациенти с глиобластом.

Уводът е кратък, стегнато написан и въвежда по подходящ начин читателя в предмета на дисертационния труд.

Литературният обзор е подробен и дава в тематично обособени подраздели обширна информация за хистогенезата на ЦНС, стволовата клетъчна ниша в мозъка, молекулярната морфология на глиомите, тяхната епидемиология и рискови фактори за развитието им, както и за най-често използваните маркери за имунофенотипизирането им. Представена е в детайли генотипната класификация на мултиформения глиобластом и съвременната интегрирана класификация на глиомите. Приведени са изчерпателни данни за генната експресия на Zbtb20 в мозъчната тъкан и неговата роля за онкогенезата. Литературните данни са подходящо илюстрирани с фигури от класически учебни помагала и научни статии. От цитираните литературни източници 91 (>63% от всички) са публикувани след 2010 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 дисертанта по него. Отлично впечатление прави факта, че прегледът на литературата завършва с кратко обобщение на наличната информация и конкретни изводи от анализа на текущото състояние на разглеждания проблем, а в заключителния раздел в резюмиран вид (един параграф) са систематизирани аналитично въпросите, които очакват решение с настоящето проучване. По такъв начин е направен плавен преход към следващия раздел на дисертационния труд.

Целта е ясно и точно дефинирана. **Задачите** са правилно поставени и, както ще се разбере от последващото изложение, са реално изпълними с помощта на използваните методи. Към този раздел нямам конкретни забележки.

Разделът **Материал и методи** е сравнително кратък, но достатъчно изчерпателен. Спазени са необходимите етични изисквания при работа с човешки материал, налице е разрешение от Комисията по етика на научните изследвания към МУ-Варна. Общият брой пациенти и този на взетите тъканни проби е напълно достатъчен за постигане на статистически

достоверни резултати. За имунохистохимичните реакции е използван биопсичен материал, който своевременно е фиксиран, включен в парафинови блокчета, и нарязан преди употреба. Описанието на следвания имунохистохимичен протокол, анализът на дигитализираните снимки и проведения статистически анализ на данните са дадени с акуратност и стъпка-по-стъпка изчерпателност, позволяваща тяхната повторемост от други изследователи. По мое мнение, далеч по-прегледно за читателя би било, ако необходимата информация за използваните в изследванията първични и вторични антители, гостоприемника, работните разреждания и тяхното предназначение, бяха дадени в една прегледна таблица. Освен това, в текста липсва задължителното описание на приложените контролни оцветявания, които са от критична важност за специфичността на всяка имунохистохимична реакция.

Разделът **Резултати** е изложен на 37 страници и включва отделни, описателно формулирани подраздели в последователност, следваща хронологично поставените експериментални задачи. В началото на описанието е представена честотата и процентното разпределение на изследваните глиални тумори, които представляват над 45% от всички случаи на установени първични интракраниални тумори. Установени са статистически значими полови различия в честотата на глиалните тумори с предимство на мъжкия пол и възрастова доминация на пациентите между 50 и 75 години. В същото време не са установени достоверни различия между двата пола в общата преживяемост. Фаталният изход на заболяването е бил в рамките на седем месеца. От друга страна, степента на диференциация на глиомите е от решаващо значение за прогнозния изход от заболяването, като той настъпва най-бързо при пациенти с мултиформен глиобластом. С помощта на епителни маркери е направена морфологична диагностика на този най-чест от глиомите при изследваните пациенти малигнен тумор и е демонстрирана интензивна множествена експресия на GFAP и маркери от т.нар. панепителен коктейл (СК AE1/AE3), съчетани със силна реакция за ядрения Ki-67 протеин, специфичен маркер за клетъчна пролиферация. Прилагайки имунохистохимично оцветяване за Zbtb20, Дженков е установил различна степен на експресията му в туморните клетки на глиоми, варираща в зависимост от степента на тяхната диференциация, и липсата му в невроните на околния на тумора мозъчен паренхим. Чрез статистически анализ с подходящ софтуер той е документирал сигнификантна хетерогенност на експресирания ген в различно диференцирани глиоми, но също и в

морфологично идентичните такива. Това му е дало основание да заключи, че Zbtb20 маркира предимно високо диференцираните туморни клетки и че този транскрипционен фактор регулира техния пролиферационен индекс. От друга страна, проследявайки паралелната експресия на Zbtb20 в глиомни тумори при мъже и жени, Дженков е валидирал отсъствие на междуполови различия в експресионните му нива. Сходни данни са получени също така при оценката на процентното съотношение на Zbtb20-експресиращите клетки в туморната тъкан и преживяемостта на пациентите с глиобластом. По-нататък, паралелното проследяване на експресията на Zbtb20 с тази на друг прогностичен фактор като Ki-67 при пациенти с различно диференцирани глиални тумори е позволило на докторанта да направи комбинирана оценка на времето на преживяемост на пациентите, като нивата на експресия на Zbtb20 са с по-голяма тежест при преценката, в сравнение със стойностите на пролиферативния индекс Ki-67.

Специално отбелязване заслужава факта, че всички авторски находки са подкрепени от достатъчен и с добро качество илюстративен материал. В същото време, статистическите данни, представени като графики и хистограми, дават богата и прегледна информация за установените количествени показатели в броя и процентното съотношение на имунопозитивните клетки.

Дискусията, макар и не особено пространна, е много добре написана и показва завидното умение на дисертанта за обсъждане на собствените резултати, съпоставяйки ги с известните факти в релевантната литература, и интерпретирайки ги адекватно да направи важни изводи за фенотипа на туморните клетки, и значението на тези данни за клиничната практика. Наред с това, анализът на морфологично верифицираните пациенти с интракраниални лезии е особено ценен в демографски аспект. Определен практически интерес има също така дискусията за целесъобразността от провеждане на диагностични тестове за доказване на цитокератинови молекули и епителни маркери за отдиференциране на първични от метастатични неоплазии. Силно впечатление прави също така изказаното предположение за наличие на вероятна връзка между специфичната експресия на Zbtb20 в глиални тумори и общата преживяемост на пациентите, което навежда на логичното заключение, че Zbtb20 (и в значително по-малка степен Ki-67) биха могли да служат за прогностичен маркер при глиоми. За съжаление тази идея е само загатната и предстои да бъде потвърдена в диагностичната практика, каквато насока е конкретно визирана в заключителните бележки на дисертационния труд.

Тези бележки са послужили на докторанта за добра основа за прецизно формулиране на **изводите** от настоящото проучване. Те са конкретни, написани са много стегнато и точно отразяват авторските заключения, произтичащи от натрупаните нови данни. Като цяло приемам без забележки тяхната формулировка и научна стойност. Научните постижения на дисертанта в настоящето изследване са изведени в отделен раздел под формата на кратка справка. **Основните приноси** на дисертационния труд, които имат определен оригинален характер, биха могли да се резюмират както следва:

1. Настоящото проучване прави цялостен анализ на честотата, тежестта, клинично-морфологичната и молекулярногенетична характеристика на злокачествени мозъчни тумори с акцент върху глиалните тумори на ЦНС, с крайна цел прецизна експертна диагностика и персонален подход при лечението на пациентите, засегнати от глиобластом.
2. За пръв път експериментално се демонстрира имунохистохимична експресия на транскрипционния фактор Zbtb20 в туморни клетки от глиоми.
3. Приведени са оригинални данни за прогностичната роля на пролиферативния маркер Ki-67 при тези тумори.
4. Дадени са ценни практически насоки за вероятна връзка между експресионните нива на Zbtb20 и Ki-67 в туморна тъкан и общата преживяемост на пациентите с малигнени глиоми с различна степен на диференциация.

В приложената документация е налице декларация за оригиналност на разработката, което ми дава основание да приема, че настоящият дисертационен труд е лично дело на д-р Деян Дженков. Допълнителен аргумент за тази констатация са представените научни публикации и съобщения по темата с негово участие. Резултатите от експериментите са отразени в 3 публикации (две от тях в наши научни списания и една в чуждестранно). Приложен е и списък с три участия на специализирани научни форуми у нас. На рецензента не са известни цитирания на тези научни трудове в трудовете на други автори и/или в други литературни източници. С оглед на актуалността на разглеждания научен проблем и оригиналността на получените резултати, бих си позволил настоятелно да посъветвам докторанта и неговите научен ръководител и консултант да направят необходимото за популяризиране на техните находки и сред международната морфологична общност.

Дисертацията е написана разбираемо, на добър научен език и стил, забелязват се само единични правописни и стилистични грешки. Използвани са сравнително голям брой съкращения и специфични термини, преобладаващата част от тях в литературния обзор, което не затруднява читателя при нейния прочит. Авторефератът на дисертационния труд е изготвен съгласно изискванията; той отразява адекватно и в достатъчен обем състоянието на изучавания проблем, поставените цел и експериментални задачи, използваните методи за тяхната практическа реализация, получените резултати, тяхното аналитично описание и интерпретиране на собствените данни, както и направените авторски изводи и приноси.

В **заключение** считам, че дисертационният труд на д-р Деян Дженков е едно комплексно и задълбочено проучване върху интересен и актуален проблем на съвременната онкопатология. То е добре замислено и е 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 мозъчните неоплазии. Резултатите от изследването внасят оригинален и значим теоретично-приложен принос за изясняване на факторите и механизмите на възникване на глиалните тумори, прогностичната стойност на Zbtb20 гена и връзката му с общата преживяемост при онкоболните. Представеният труд отговаря на законовите изискванията за придобиване на научно-образователната степен. Въз основа на всичко гореизложено, като рецензент убедено изказвам 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*” по научна специалност „Патологоанатомия и цитопатология“ на Деян Людмилов Дженков.

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

19.03.2019 год.
гр. София