

РЕЦЕНЗИЯ

ОТ ПРОФ. Д-Р НИКОЛАЙ ЕЛЕНКОВ ЛАЗАРОВ, Д.М.Н.
ВЪРХУ ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИДОБИВАНЕ
НА ОБРАЗОВАТЕЛНАТА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР”
ПО НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ “АНАТОМИЯ, ХИСТОЛОГИЯ И ЦИТОЛОГИЯ”
ПРОФЕСИОНАЛНО НАПРАВЛЕНИЕ 7.1. МЕДИЦИНА

АВТОР НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД: Д-Р БОЯН ДИМИТРОВ ПЪРВАНОВ

**ТЕМА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД: „ЛОКАЛИЗАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА НА
ПРОГЕНИТОРНИ КЛЕТКИ ПО ВРЕМЕ НА ПРЕНАТАЛНОТО РАЗВИТИЕ НА ЗЪБ
ПРИ ЧОВЕК”**

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ: ПРОФ. Д-Р АНТОН БОЖИДАРОВ ТОНЧЕВ, Д.М.Н.

Боян Димитров Първанов е магистър по дентална медицина от Медицински университет – София и асистент в катедрата по анатомия и клетъчна биология на Медицински университет (МУ) „Проф. д-р Параскев Стоянов” – Варна от 2015 година. През 2016 година д-р Първанов е зачислен (със Заповед № Р-109-37/17.02.2016 г.) за докторант на самостоятелна подготовка по докторска програма „Анатомия, хистология и цитология“ към същата катедра, където е проведена основната част от експериментите по настоящата дисертация. След приключване на програмата за обучение и успешно положен изпит за докторски минимум по научната специалност, със Заповед № Р-109-135/30.03.2022 г. на Ректора на МУ-Варна той е отчислен, съгласно решение на Факултетния съвет на факултет „Медицина”, взето с протокол № 62/22.03.2022 г.

Дисертационният труд на тема „*Локализация и характеристика на прогениторни клетки по време на пренаталното развитие на зъб при човек*” е написан на 106 стандартни страници и е разпределен по раздели по следния начин: *Титулна страница*, *Съдържание* – 1 стр., *Списък на използваните съкращения* – 1 стр., *Увод* – 2 стр., *Литературен обзор* – 25 стр., *Цел и задачи* – 1 стр., *Материал и методи* – 3 стр., *Резултати* – 57 стр., *Дискусия* – 6 стр., *Заключение* – 1 стр., *Изводи* – 1 стр., *Справка за приноса на труда* – 1 стр., *Публикации и доклади във връзка с дисертационния труд* – 1 стр., *Благодарности* – 1 стр., *Използвана литература* – 4 стр., включваща 59 заглавия, четири – на кирилица и 55 на латиница. Собствените резултати и тяхното обсъждане са онагледени с 76 индивидуални/комбинирани фотомикрографии и диаграми, изобразяващи количествените данни от статистическата им обработка, които са

обобщени в една таблица. Освен това, в литературния обзор са включени още 12 фигури от класически учебници и научни статии (с посочен оригинален източник), които подкрепят историографските данни и нагледно илюстрират ембрионалното развитие на лицево-челюстната област и зъбите при човека.

Темата на дисертационния труд е удачно подбрана. Тя е посветена на един интересен проблем на одонтогенезата, а именно молекулярен контрол на зъбното развитие у човек, което е нагледен пример за индуцирани епителиално-мезенхимни взаимодействия. Понастоящем е известно, че регулацията на зъбното моделиране при хора се базира на комбинираната експресия на хомеобокс гени, но все още се знае относително малко за молекулярната сигнализация на този процес и, по-конкретно, за ролята и комплексното взаимодействие на определени транскрипционни фактори върху клетъчната диференциация на човешкия зъбен зародиш. В този смисъл докторантът си е поставил амбициозната задача да установи експресионния модел на два транскрипционни фактори, *Zbtb16* и *Zbtb20*, в развиващия се човешки зъб като изследва регионалната им експресия, както и динамиката в експресионните им нива в различните му ембрионални стадии с цел да изясни техните функционални ефекти върху зъбното развитие.

Уводът е кратък и основно насочен към особеностите на ембрионалното развитие на анатомичните структури в лицево-челюстната област, въвеждайки по подходящ начин читателя в предмета на дисертационния труд.

Литературният обзор е подробен и дава в тематично обособени подраздели обширна информация за ембрионалното развитие на лицево-челюстната област и зъбите у човека, и за молекулярния контрол на този процес. Приведени са данни и за междувидовите различия в зъбната ембриогенеза. Описани са накратко, от гледна точка на потенциалната им роля в зъбното развитие, двата транскрипционни фактора, които са предмет на изследване в настоящото проучване. Литературните данни са подходящо илюстрирани с фигури и схематични рисунки от учебната литература. Преобладаваща част от цитираните литературни източници са публикувани през последните две десетилетия, 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. Според мен, би било удачно прегледът на литературата да завърши с отделен раздел или поне с един

заключителен параграф, в който в резюмиран вид да се направи кратко обобщение на наличната по темата информация, а конкретните изводи от анализа на текущото състояние на разглеждания проблем да послужат за солидна основа за изграждане на адекватна работна хипотеза на изследването и логичен преход към следващия раздел на труда.

Целта на проучването е ясно дефинирана, но не са посочени конкретните зони на изследване в зъбните зародиши. **Задачите** са правилно поставени. В тях следва да се конкретизират кои точно съдови маркери и ангиогенни фактори са изследвани.

Разделът „**Материал и методи**“ е сравнително кратък, но достатъчно информативен. В хода на проучването са изследвани 50 зъбни зародиша от човешки фетуси след получаване на необходимото писмено информирано съгласие от пациента. Експерименталните процедури са одобрени от комисията по етика на научните изследвания (КЕНИ) в МУ-Варна. Описанието на всички експериментални протоколи, вкл. подготовка и обработка на тъканите, проведените имунохистохимични реакции, както и анализа на дигитализираните микроскопски изображения и последващия статистически анализ на данните е дадено схематично по стъпки, позволяваща тяхната повторемост от други изследователи. Като съществен пропуск в този раздел отчитам липсата на подробна информация за използваните в изследванията първични и вторични антители, както и задължителното описание на приложените контролни оцветявания, които са от критично значение за успеха и гарант за специфичността на проведените имунохистохимични реакции.

Разделът „**Резултати**“ е изложен върху повече от половината от общия обем на дисертацията. Той е разделен описателно на подраздели, следващи изложението на авторските находки. След идентифициране на изследваните анатомични структури с рутинно оцветяване с хематоксилин и еозин, е проведено имунохистохимично оцветяване на зъбните тъкани. Посредством маркера за клетъчна пролиферация Ki-67, дисертантът е проследил гъстотата на разпределение на имунопозитивните клетки в зъбните структури и оралния епител, и е установил забележимо нарастване на пролиферативната им активност по склона на денталната папила. Приведени са сравнителни, вкл. статистически данни за наличие на сигнификантни разлики в експресията на този нуклеарен протеин между амелобластите и преамелобластите. Васкуларизацията на емайловия орган в развиващия зъбен зародиш е установена чрез имунохистохимично оцветяване за повърхностната маркерна молекула

CD34, а невроектодермалният произход на структурите в областта е верифициран с маркера GFAP. Чрез ген-таргетни и експресионни експерименти за Zbtb16 и Zbtb20 е демонстрирано, че и двата транскрипционни фактори са необходими за развитието на клетъчните и тъканни елементи по време на одонтогенезата. В конкретен план е установено, че в стадия на зъбна шапка Zbtb16 се експресира по-слабо във вътрешния емайлов епител, където експресията на Ki-67 и Zbtb20 е забележимо по-висока. Подобни сигнификантни различия в експресионната активност на двата транскрипционни фактори не са регистрирани в денталната папила. Сходна картина на експресия е наблюдавана и при стадий на зъбна камбанка. При стадия на минерализация, обаче, амелобластите и клетките на зъбната папила са силно Zbtb16-имунопозитивни, докато подобно на картината с Ki-67 имунооцветяването, интензитетът на Zbtb20 имунореактивността е висок в преамелобластите. Тези данни привеждат убедителни имунохистохимични доказателства за наличие на регионална и времева динамика в експресията на двата транскрипционни фактора, чието присъствие в изследваните структури в развиващия се зъб при човек, от своя страна, е недвусмислен показател за възможността те да бъдат използвани като надеждни маркери на клетъчна диференциация.

Всички авторски находки са подкрепени от достатъчен илюстративен материал под формата на фотомикрографии с добро качество. От друга страна, статистическите данни, представени в графичен вид като диаграми, дават богата и прегледна информация за установените количествени показатели в броя и процентното съотношение на имунобелязаните клетки в изследваните анатомични структури.

Дискусията е не особено пространна, но е добре написана и показва наличното умение на дисертанта за обсъждане на собствените резултати, съпоставяйки ги с известните факти в релевантната литература и интерпретирайки ги подобаващо да направи важни изводи за пролиферативните, диференциационни способности и фенотипа на клетките в изследваните анатомични структури. Тя започва с анализ на ролята на транскрипционните фактори от Zbtb семейството, в частност Zbtb16 и Zbtb20, в активиране на генната експресия и контрола на органогенезата у човек, който анализ предоставя необходимото основание за обсъждане на предполагаемото им участие в регулацията на зъбното развитие. В тази връзка, определена практическа стойност има дискусията относно диференциалната експресия на изследваните транскрипционни фактори с оглед на стадия на зъбно развитие и диференцираното им

клетъчно разпределение в зъбния зародиш. В аспекта на одонтогенезата, установената в това изследване силна Ki-67- и Zbtb20-имунопозитивност в активно пролифериращите клетки в развиващия се зъбен зародиш и явната тенденция за повишена експресия на Zbtb16 в клетъчни видове с по-зрял фенотип, навежда на логичното заключение за различната им регулаторна роля в клетъчната диференциация и клетъчния жизнен цикъл. Тази авторска констатация намира допълнително потвърждение и от наблюдаваната динамика в експресията на Zbtb16 и Zbtb20 в зависимост от стадия на развитие и анатомичната клетъчна локализация в зъбния зародиш. Дискусията завършва в кратко заключение, обобщаващо генералните находки на това проучване.

Анализът на собствените резултати на докторанта от това проучване са послужили за добра основа за прецизно формулиране на **изводите** от него. Те са конкретни, информативни и точно отразяват авторските заключения, произтичащи от получените нови данни. Като цяло приемам тяхната формулировка, достоверност и научна стойност. Научните постижения на изследването са изведени от дисертанта 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 е първото по рода си детайлно изследване на експресията на транскрипционните фактори Zbtb16 и Zbtb20 в развиващия се човешки зъб.
2. Приведени са оригинални данни за наличие на регионални различия в експресионните нива на Zbtb16 и Zbtb20 в зъбните зачатъци на човек, както и имунохистохимични доказателства за стадий-зависима динамика в експресионния им градиент.
3. За пръв път експериментално се доказва, че тези транскрипционни фактори могат да служат за маркери на клетъчна диференциация в зъбния зародиш.
4. Установено е, че транскрипционен фактор Zbtb20 е селективен маркер на прогениторните клетки, докато Zbtb16 маркира диференцираните клетки в развиващия се човешки зъб.

В приложената документация са налице декларации за оригиналност и справка за сходство на разработката, което ми дава достатъчно основание да приема, че настоящият дисертационен труд е лично дело на д-р Боян Първанов. Във връзка с него са представени три научни публикации с негово водещо участие, но само една от тях е конкретно по темата на дисертацията. Горещо препоръчвам на докторанта да информира морфологичната и дентална

научна общност като представи на подходящи научни форуми резултатите от това изследване.

Дисертацията е написана ясно и разбираемо, въпреки сложната за разбиране от неспециалиста материя. В текста обаче се забелязват правописни и/или стилистични грешки. Авторефератът на дисертационния труд е изготвен съгласно изискванията: той отразява коректно 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. По мое мнение, независимо от наличното в документацията резюме на дисертационния труд на английски език, добавянето тук на кратко резюме без съмнение би повишило международната му разпознаваемост в чуждата периодика.

В заключение считам, че дисертационният труд на д-р Боян Първанов е едно комплексно проучване върху интересен научен проблем, посветен на молекулярния контрол на зъбното развитие. То е добре замислено и акуратно проведено научно изследване, което е адекватно илюстрирано. Получените данни са ясно и добросъвестно дискутирани и допринасят за разширяване на наличното познание за човешката одонтогенеза. Резултатите от изследването внасят оригинален теоретично-приложен принос за изясняване на факторите и механизмите на пролиферация и диференциация на клетъчните елементи в развиващия се зъбен зародиш. Представеният труд отговаря на изискванията за придобиване на научно-образователната степен “доктор“ в Закона за развитието на академичния състав в Република България, на Правилника за неговото приложение и на критериите за присъждане на научни степени, залегнали в Правилника за развитие на академичния състав в МУ-Варна. Въз основа на всичко гореизложено, като рецензент 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” в област на висше образование 7. „Здравеопазване и спорт”, професионално направление 7.1. Медицина по научна специалност „Анатомия, хистология и цитология“ на Боян Димитров Първанов.

12.03.2024 год.
гр. София

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

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