

ДО

ПРЕДСЕДАТЕЛЯ НА НАУЧНО ЖУРИ,

ОПРЕДЕЛЕНО СЪС ЗАПОВЕД № 4419/08.12.2023 Г.

НА РЕКТОРА НА ТРАКИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СТАРА ЗАГОРА

РЕЦЕНЗИЯ

от професор д-р Слави Димитров Делчев, д.м.

от Катедра по анатомия, хистология и ембриология

на Медицински Университет – Пловдив

избран за член на научното жури

Относно: дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен 'Доктор'

Област на висше образование: 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина

Професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина

Докторска програма: Морфология

Автор: д-р Николай Славков Цандев

Форма на докторантурата: самостоятелна подготовка

Катедра: „Ветеринарна анатомия, хистология и ембриология“

Тема: „Морфологични изследвания върху слуховата тръба при домашната свиня“

Научен ръководител:

Проф. д-р Ангел Петров Воденичаров, д-мн

I. Общо представяне на процедурата и докторанта.

Представеният ми комплект материали на електронен носител е в съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в ТрУ – Стара Загора; и включва следните документи:

– Заявление до Ректора на ТрУ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд; автобиография в европейски формат с подпис; заповеди за записване в докторантура, за отчисляване с право на защита; дисертационен труд; автореферат; протокол от кандидатски минимум; списък на научните публикации по темата на дисертацията; списък на участията в научни форуми; списък на цитиранията; декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи.

Предоставените ми материали бяха с високо качество на копията, записани на електронен носител.

Докторантът е приложил 3 (три) заглавия на пълнотекстови публикации по темата на дисертационния труд, от които 3 в реферирани издания. Представени са и 5 участия в научни форуми с изнесени съобщения по темата.

Д-р Николай Славков Цандев е завършил Техникум по Ветеринарна медицина гр. Ловеч през 1997 г. Назначен е за редовен асистент в катедрата по ветеринарна анатомия, хистология и ембриология на Тракийски Университет - Стара Загора, Ветеринарно-медицински факултет, през г. 2006 г. През 2007 г. е участвал в педагогически курс за допълнителна квалификация на асистенти от Тракийски Университет. От назначаването си, до настоящия момент, д-р Цандев

е водил практическо обучение на студенти по дисциплините систематична анатомия, топографска анатомия, както и СИП „Техники за препариране на животните“.

Всички етапи от професионалното му израстване, както и квалификационните му характеристики са представени в неговата Автобиография.

II. Актуалност на тематиката.

Тема на дисертационния труд е слуховата тръба (*tuba auditiva*, *Eustachian tube*) на домашната свиня. Добре известно е ключовото разположение на тази структура, която свързва тъпанчевата кухина на средното ухо и ностната част на гълтача (назофаринкс). Това ѝ разположение е в основата на редица патологични състояния, които се разпространяват поради комуникацията между двете структури. Най-често се касае за възпаления преминаващи към средното ухо, а оттам и към средна черепна ямка, мозъчните обвивки и мозъка. Ето защо, детайлното познаване морфологичните особености на слуховата тръба при домашната свиня несъмнено ще допринесе за обогатяване на знанията за тръбата при бозайниците и за по-обективно изясняване на редица въпроси от нормалната функция, патогенезата, и клиничната картина на разстройствата в органа като цяло.

В литературата отдавна има данни за сходството по редица анатомични, физиологични, биохимични и имунологични показатели на домашната свиня (*Sus scrofa domestica*) и човека, а броят на изследванията върху този животински вид показва рязко покачване след разгадаването и публикуването на нейния геном. В тази връзка, предприетото изследване върху морфологичните особености и кръвоснабдяването на слуховата тръба у домашната свиня е обосновано не само по отношение на този животински вид, но и в голяма степен, в значим за човека здравен аспект.

III. Познаване на проблема.

Д-р Цандев е направил обстоен и задълбочен литературен анализ на проблема за анатомията на слуховата тръба от древността до наши дни. Представена е детайлно и макроскопска анатомия на слуховата тръба при домашни бозайници и човек. Специално внимание е отделено на хрущялната част на слуховата тръба и на мастната възглавничка (плочка) на Ostmann. Подробно е разгледана микроскопската анатомия и функционалните особености на слуховата тръба при домашните бозайници и човека. Описани са съвременните аспекти на ролята на мастоцитите при свинята, поради техния ключов принос към протичането на редица заболявания. Обсъдено е и прилагането на ефективни лечебни схеми при проучване на дисфункцията на слуховата тръба, за което изискват валидни животински модели. От литературния обзор става ясно, че овцата и прасето се приемат като добър модел за човешкото средно ухо.

Заклучението от литературния обзор, което дисертантът прави е, че детайлното познаване структурата на слуховата тръба при домашната свиня е необходимо условие за пълноценно сравняване с морфологичните данни, характерни за човека.

IV. Методика на изследването.

За целите на дисертационния труд са използвани глави от клинично здрави прасета от лицензирана кланица. Една част от главите са били разполовени по медианните линии. Броят на животните, както и използваните методи, са представени подробно в таблица. Общият брой на изследваните слухови тръби е бил 380. Извършени са морфометрични измервания „in situ“

на слуховата тръба. Приложени са: корозионни техники, образна диагностика (рентгенографии, конусно – лъчева компютърна томография), изпълване със силиконови еластомери, изпълване с туш – желатин, диафонизационна техника, пластинационна техника. На част от главите е извършено изпълване на артериалната система на главата със студенополимеризираща смола Duracryl. Измерен е диаметърът на отливката от лумена на възходящата небцова артерия. Направена е и триизмерна реконструкция – 3D компютърен образ на кръвоносните съдове на главата. Всички използвани техники са подробно описани в глава „Материал и методи“.

Приложен е и широк набор от рутинни хистологични методи на оцветяване с хематоксилин и еозин, с толуидиново синьо, берберин сулфат за доказване на хепарин позитивни мастоцити чрез флуоресценция, оцветяване с алцианово синьо, оцветяване по Ван Гизон, както и с орцеин. Направено е ензимохистохимично изследване за доказване на никотинамид аденин динуклеотид фосфат–диафороза (NADPH-d). Използван е и имунохистохимичен метод за доказване на NOS.

Всичко това ми дава основание да заявя, че широкият набор от включените методики на изследване напълно позволяват постигането и в голяма степен надхвърлянето на поставената цел и получаване на адекватен и изчерпателен отговор на задачите, решавани в дисертационния труд.

V. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите.

Дисертационният труд обхваща 152 страници и е структуриран според общоприетите изисквания в 9 раздела – увод, литературен обзор, цел и задачи, материал и методи, резултати, обсъждане със заключение, изводи, приноси, препоръки за практиката и библиография.

Въведението кратко и ясно засяга основните аспекти на изследването - морфологичните особености на слуховата тръба при домашната свиня.

Литературният обзор е разделен на отделни глави, които разглеждат в детайли достъпната информация по проблема. Обстойно и с вещина е представен историческият аспект на проучванията на слуховата тръба, който започва от древността и завършва със съвременното познание по темата. Използван е достатъчен обем от литературни източници, като голяма част е от последните години. Следва описание на макро- и микроскопската анатомия и на морфофункционалната роля на слуховата тръба при домашни бозайници и човек. Специално внимание е отделено на мастоцитите. Сравнени са различни животински видове и възможностите за използването им като модели за медикобиологичните изследвания с валидност за човека. В края на обзора, въз основа на разгледаните данни, са направени изводи и е обобщено състоянието на проблема, на базата на което са изведени целта и задачите.

Целта е формулирана ясно, задачите са десет и обхващат основните аспекти на поставената цел и разглежданата научна проблематика.

В раздел „Материал и методи“, както вече беше описано по-горе, подробно са представени използвания материал, отделянето на органа за целите на проучването, широкият набор от приложените макроскопски, хистологични, морфометрични и статистически методи.

Раздел „Резултати“ обхваща 55 страници и е подреден логично и стегнато. Представени са 51 фигури (от които 25 са комбинирани макро- и микрофотографии, 1 диаграма и 2 схеми) и 9 таблици. Микрофотографиите са с отлично качество и представят в детайли резултатите от проведените хистологични изследвания на експерименталните групи. Диаграмата онагледява

данни от статистическия анализ. Резултатите са автентични и достоверни, а фигурите са достатъчно информативни.

В раздел „Обсъждане“ получените резултати са анализирани и умело интерпретирани. Последователно са разгледани всички приложени методики и задълбочено са дискутирани техните предимства и недостатъци. Дисертантът обективно и компетентно е представил характеристиките на слуховата тръба и нейните особености при свинята. Особено ценни са морфометричните данни за хрущялната и костната части, както и данните за отделянето на *a. palatina ascendens* и разклоняването ѝ при този животински вид, което е принос към видовата ангиология. Важен извод е, че много от приложените методики могат да бъдат използвани с успех за различни цели – обучение, музейни сбирки, научноизследователска работа и др. Много подробно са обсъдени и резултатите от приложените хистологични техники. Всичко това категорично е в подкрепа на широкообхватната квалификация на д-р Цандев и задълбоченият му подход при изпълнението на поставените задачи.

Изводите са оформени в групи, които са свързани логично с поставените задачи.

Като оригинални са представени десет приноса, които са на базата на получените резултати и не повтарят такива в достъпната литература, свързана с темата. Има и осем потвърдителни приноса, които са в подкрепа на достоверността на проведените изследвания.

VI. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта.

Публикациите, които отразяват резултати на дисертацията са 3 (три) статии в реферирани в международни база данни издания (*Acta morphologica et antropologica*, *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*). Статиите са на английски език. Д-р Цандев е водещ автор на всички 3 пълнотекстови публикации. Представен е и списък на цитиранията.

Участията в научни форуми са пет: изнесени съобщения на два международни научни форума и три международни конференции в България. Д-р Цандев е отличен с Първо място за иновативна разработка, първо място за постер и методика. Оценен е и с първо място за най-високо оценен асистент от студентите за учебната 2019 – 2020 г.

Дисертантът е запознат в детайли с основните етапи на експеримента и активно е участвал при взимане на материала, обработката му, подготовката и прилагането на разнообразни морфометрични техники, провеждането на хистологичните реакции. Обработката на резултатите, анализа, документацията чрез фигури и диаграми на получените данни са извършени прецизно и с вещина.

Критични забележки и препоръки.

Нямам критични забележки. Препоръката ми към дисертанта е насочена към разпространяване на резултатите от настоящия дисертационен труд и прилагане на някои от използваните методики и получени резултати в практиката.

VII. Автореферат.

Авторефератът е изчерпателен (70 стр.) и включва основните части на дисертационния труд - въведение, цел и задачи, материал и методи, резултати и обсъждане, изводи, приноси, заключение и списък на публикациите и участията, свързани с темата. Отбелязани са десет оригинални приноса, както и осем потвърдителни. Има и пет препоръки за практиката.

В заключение, авторефератът е направен според изискванията и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

VIII. Заключение:

Дисертационният труд съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на ТрУ – Стара Загора.

Дисертационният труд показва, че докторантът д-р Цандев притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Морфология“, като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Запознаването с представените ми дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати, анализът на тяхната значимост и съдържащите се в тях научни и научно-приложни приноси, ми дава основание да дам **положителна оценка** на д-р Николай Славков Цандев и да **препоръчам** на членовете на уважаемото научно жури **да присъди ОНС ‘доктор’** в област на висшето образование: 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина; професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина; докторска програма: Морфология.

22. 01. 2024 г.

Изготвил рецензията:

Професор д-р Слави Делчев, дм

1 007/17 дс 17 01/07/23
17/23 17/17

TO
THE CHAIRMAN OF THE SCIENTIFIC JURY,
DETERMINED BY ORDER NO. 4419/08.12.2023
OF THE RECTOR OF TRAKIA UNIVERSITY - STARA ZAGORA

REVIEW

by Professor Slavi Dimitrov Delchev, MD, PhD
from the Department of Anatomy, Histology and Embryology
of Medical University - Plovdiv
elected member of the Scientific jury

Regarding: research dissertation for conferring the educational and scientific degree of
Doctor of Philosophy

Higher education field: 6. Agricultural sciences and Veterinary medicine

Professional field: 6.4. Veterinary Medicine

Doctoral Programme: "Morphology"

Author: Nikolay Slavkov Tsandev, MD

Type of doctoral studies: individual preparation

Department: Veterinary anatomy, histology and embryology

Topic: *Morphological studies on the auditory tube in the domestic pig*

Doctoral advisors: Prof. Dr. Angel Petrov Vodenicharov, DVMS

I. Presentation of the procedure and the PhD student

The materials presented to me on an electronic device are in conformity with the Procedure for Obtaining the Educational and Scientific Degree of Doctor of Philosophy at Trakia University (TrU) - Stara Zagora and include the following documents:

– Application Form addressed to the Rector of TrU to initiate a procedure for defence of a doctoral thesis; CV in European format; Rector's orders for entering doctoral studies and striking off with the right to defend a dissertation; proceedings from the Department Meeting on the preliminary discussion of the doctoral thesis, the dissertation paper itself; synopsis of the latter; a list of the research publications relevant to the dissertation topic; a list of the participations in research forums; statement on the originality and authenticity of the submitted documents.

The materials provided to me were of high quality of the copies recorded on electronic media.

The PhD student has attached 3 (three) full-text publications on the subject of the dissertation, of which 3 are in refereed publications. He has also had 5 (five) participations in research forums with reported announcements on the topic.

Dr. Nikolay Slavkov Tsandev graduated from the Technical College of Veterinary Medicine in Lovech in 1997. He was appointed full-time assistant in the Department of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology of Trakia University - Stara Zagora, Faculty

of Veterinary Medicine, in 2006. In 2007, he participated in a pedagogical course for the additional qualification of assistants from Thrace University. Since his appointment, until now, Dr. Tsandev has led practical training of students in the disciplines of systematic anatomy, topographical anatomy, as well as the course "Techniques for dissecting animals".

All stages of his professional development, as well as his qualification characteristics, are presented in his CV.

II. Topicality of the research

The subject of the dissertation is the auditory tube (tuba auditiva, Eustachian tube) of the domestic pig. The key location of this structure, which connects the tympanic cavity of the middle ear and the nasopharynx, is well known. This placement is the basis of a number of pathological conditions that spread due to the communication between the two structures. Most often, it concerns inflammations passing to the middle ear, and from there to the middle cranial fossa, the meninges and the brain. Therefore, a detailed knowledge of the morphological features of the auditory tube in the domestic pig will undoubtedly contribute to the enrichment of knowledge about the tube in mammals and to a more objective clarification of a number of issues of normal function, pathogenesis, and the clinical picture of disorders in the organ as a whole.

In the literature, there have long been data on the similarity in a number of anatomical, physiological, biochemical and immunological parameters between the domestic pig (*Sus scrofa domestica*) and the human, and the number of studies on this animal species shows a sharp increase after the unravelling and publication of its genome. In this regard, the research undertaken on the morphological features and blood supply of the auditory tube in the domestic pig is justified not only in relation to this animal species, but also to a large extent, in a health aspect significant for humans.

III. Knowing the problem.

Dr. Tsandev has made a comprehensive and thorough literature analysis of the problem of the anatomy of the auditory tube from antiquity to the present day. Detailed and macroscopic anatomy of the auditory tube in domestic mammals and man is presented. Special attention is paid to the cartilaginous part of the auditory tube and to the fat pad (plate) of Ostmann. The microscopic anatomy and functional features of the auditory tube in domestic mammals and man are examined in detail. Modern aspects of the role of mast cells in the pig are described, due to their key contribution to the course of a number of diseases. The application of effective treatment regimens in the study of auditory tube dysfunction, which requires valid animal models, is also discussed. From the literature review, it is clear that the sheep and the pig are accepted as good models for the human middle ear.

The conclusion of the literature review, which the dissertation student makes, is that a detailed knowledge of the structure of the auditory tube in the domestic pig is a necessary condition for a full comparison with the morphological data characteristic of humans.

IV. Research methodology.

For the purposes of the dissertation, heads of clinically healthy pigs from a licensed slaughterhouse were used. A portion of the heads were bisected along the median lines. The

number of animals as well as the methods used are detailed in a table. The total number of auditory tubes examined was 380. In situ morphometric measurements of the auditory tube were performed. Applied: corrosion techniques, image diagnostics (x-rays, cone-beam computed tomography), filling with silicone elastomers, filling with ink-gelatin, diaphonization technique, plastination technique. On some of the heads, filling of the arterial system of the head with Duracryl cold-polymerizing resin was performed. The diameter of the cast from the lumen of the ascending palatine artery was measured. A three-dimensional reconstruction was also made - a 3D computer image of the blood vessels of the head. All techniques used are detailed in the Material and Methods chapter.

A wide range of routine histological methods of hematoxylin and eosin staining, toluidine blue, berberine sulfate to demonstrate heparin-positive mast cells by fluorescence, Alcian blue staining, Van Gieson staining, and Orcein staining were also applied. An enzyme-histochemical study was performed to demonstrate nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase (NADPH-d). An immunohistochemical method was also used to demonstrate NOS.

All this gives me reason to state that the extensive panel of included research methods fully enable the achievement and largely exceeding the set goal and obtaining an adequate and comprehensive answer to the tasks solved in the dissertation work.

V. Characterization and evaluation of the dissertation work and contributions.

The dissertation covers 152 pages and is structured according to generally accepted requirements in 9 sections – introduction, literature review, aim and tasks, material and methods, results, discussion with conclusion, conclusions, contributions, recommendations for practice and bibliography.

The introduction briefly and clearly concerns the main aspects of the study - the morphological features of the auditory tube in the domestic pig.

The literature review is divided into separate chapters that examine in detail the available information on the problem. The historical aspect of the studies of the auditory tube, which starts from antiquity and ends with modern knowledge on the subject, is comprehensively and expertly presented. A sufficient volume of literary sources has been used, a large part of which is from recent years. A description of the macro- and microscopic anatomy and morpho-functional role of the auditory tube in domestic mammals and man follows. Special attention is paid to mast cells. Different animal species and the possibilities of their use as models for medico-biological studies with human validity are compared. At the end of the review, based on the examined data, conclusions were drawn, and the state of the problem was summarized, based on which the goal and tasks were derived.

The aim is clearly formulated, there are ten tasks, and they cover the main aspects of the set goal and the scientific issues under consideration.

In the section "Material and methods", as already described above, the material used, the separation of the organ for the purposes of the study, the wide range of applied macroscopic, histological, morphometric and statistical methods are presented in detail.

The Results section spans 55 pages and is organized logically and concisely. 51 figures (of which 25 are combined macro- and microphotographs, 1 diagram and 2 schemes) and 9 tables are presented. The photomicrographs are of excellent quality and present in detail the results of the histological examinations of the experimental groups. The chart displays data

from the statistical analysis. The results are authentic and credible, and the figures are sufficiently informative.

In the "Discussion" section, the obtained results are analysed and skilfully interpreted. All the applied methods have been examined successively and their advantages and disadvantages have been thoroughly discussed. The dissertation student objectively and competently presented the characteristics of the auditory tube and its peculiarities in the pig. Particularly valuable are the morphometric data for the cartilaginous and bony parts, as well as the data on the separation of a. palatina ascendens and its branching in this animal species, which is a contribution to species angiology. An important conclusion is that many of the applied methods can be used successfully for various purposes – training, museum collections, research work, etc. The results of the applied histological techniques are also discussed in detail. All this is categorically in support of Dr. Tsandev's wide-ranging qualifications and his in-depth approach to the implementation of the assigned tasks.

The conclusions are organized into groups, which are logically connected with the set tasks. Ten contributions are presented as original, which are based on the obtained results and do not repeat those in the available literature related to the topic. There are also eight seminal contributions that support the credibility of the research conducted.

VI. Assessment of the candidate's publications and personal contributions.

The publications that reflect the results of the dissertation are 3 (three) articles in refereed publications in international databases (Acta morphologica et antropologica, Bulgarian Journal of Veterinary Medicine). The articles are in English. Dr. Tsandev is the first author of all 3 full-text publications. A list of citations is also presented.

There are five participations in scientific forums: presentations at two international scientific forums and three international conferences in Bulgaria. Dr. Tsandev was awarded First place for Innovative Development, First place for Poster and Methodology. He was also awarded first place for the most highly rated assistant by the students for the academic year 2019-2020.

The candidate is familiar with the main stages of the experiment in detail and has actively participated in taking the material, processing it, preparing and applying various morphometric techniques, conducting histological reactions. The processing of the results, the analysis, the documentation through figures and diagrams of the obtained data were carried out precisely and expertly.

Critical remarks and recommendations.

I have no critical remarks. My recommendation to the PhD student is aimed at disseminating the results of the current dissertation work and applying some of the used methods and obtained results in practice.

VII. Abstract.

The abstract is comprehensive (70 pages) and includes the main parts of the dissertation work - introduction, aim and tasks, material and methods, results and discussion, conclusions, contributions, conclusion and a list of publications and participations related to the topic. Ten

original contributions are noted, as well as eight confirmatory ones. There are also five recommendations for practice.

In conclusion, the abstract is done as required and reflects the main results achieved in the dissertation.

VIII. Conclusion:

The dissertation contains scientific, scientific-applied and applied results, which represent an original contribution to science and meet all the requirements of the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria (ZRASRB), the Regulations for the Implementation of the ZRASPB and the Regulations of TrU - Stara Zagora.

The dissertation work shows that the doctoral student Dr. Tsandev possesses in-depth theoretical knowledge and professional skills in the scientific specialty "Morphology", demonstrating qualities and skills for independent conduct of scientific research.

Acquainting myself with the presented dissertation work, abstract, achieved results, the analysis of their significance and the scientific and scientific-applied contributions contained in them, gives me the reason to give a **positive assessment** to Dr. Nikolay Slavkov Tsandev and **to recommend** to the members of the respected scientific jury to award ONS "doctor" in the Area of higher education: 6. Agricultural sciences and veterinary medicine; Professional direction 6.4. Veterinary Medicine; Doctoral Programme: Morphology.

22. 01. 2024

Prepared the review:

Professor Slavi Delchev, MD, PhD

1. Otsujda na Otsud
23. 01. 2024