

## РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за придобиване на научната степен "Доктор на науките", област на висшето образование 6.0. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност „Патология на животните“.

**Автор на дисертационния труд:** доц. д-р Радостин Стефанов Симеонов

**Тема:** „Ретроспективни, морфологични и количествени проучвания на спонтанни тумори на кожата и подкожните тъкани при кучето“

**Рецензент:** проф. д-р Васил Костадинов Манов, катедра „Вътрешни незаразни болести, патология и фармакология“, Факултет Ветеринарна медицина, към Лесотехнически Университет, София,

**Основания за рецензията:** Заповед № 3361/17.12.2020 г. на Ректора на ТрУ гр.Стара Загора и Решение на първото заседание на Научното жури за избор на рецензенти. Декларирам, че нямам конфликт на интереси с автора на дисертационния труд.

### ОБЩО ОПИСАНИЕ НА ПРЕДСТАВЕНИТЕ МАТЕРИАЛИ

По процедурата за защитата доц. д-р Радостин Симеонов е представил всички изискуеми документи и материали: заявление за защита на дисертацията; копия на дипломи за завършено висше образование с образователно-квалификационна степен „магистър“ и образователна и научна степен „Доктор“; свидетелство за заемане на академична длъжност „Доцент“; дисертационен труд и автореферат на дисертацията; препис-извлечение от решението на катедрения съвет за разкриване на процедура за защита на дисертационния труд; списък и копия на научните публикации и доказателства за научна активност, свързани с дисертационния труд; автобиография; справка за цитиранията на публикациите във връзка с дисертацията; документи за участия в научни проекти.

### КРАТКИ БИОГРАФИЧНИ ДАННИ

Доцент д-р Радостин Стефанов Симеонов е роден в гр. Поморие през 1972 г. Завършил е през 1991 г. техникум по ветеринарна медицина в гр. Стара Загора, а през 1999 г. – Ветеринарномедицинския факултет на Тракийски университет и получава образователно-квалификационната степен "магистър-ветеринарен лекар". Работи като частно практикуващ ветеринарен лекар в гр. Мъглиж, а през 2000 г. след успешно

издържан конкурс е избран за асистент в катедра "Патологична анатомия" при Ветеринарномедицински факултет на Тракийски университет-Стара Загора. През 2003 г. след атестация е повишен в длъжност "старши асистент", а през 2006 г. – в "главен асистент". През 2006 г. защитава дисертация на тема "Цитологични и компютърни цитоморфометрични проучвания на спонтанни мамарни неоплазии при кучката" и му е присъдена научна и образователна степен "Доктор" по научна специалност "Патология на животните". През 2016 г. е избран за доцент в катедра „Обща и клинична патология“. Доктор Симеонов провежда лекции и практически учебни занятия по всички дисциплини, преподавани в катедрата. Като ръководител на лекционния курс по "Ветеринарна онкология" изцяло отговаря за организацията и провеждането му. Участва в лекционния курс на следдипломната специализация по Патологична анатомия. Работи в Клиниката за дребни животни, както и в клиниките за коне и продуктивни животни на Ветеринарномедицински факултет при Тракийски университет. Основното му научно направление е в областта на онкологията и диагностиката на редица заболявания при дребните животни. Научната му дейност е реализирана в 100 научни труда, публикувани в наши и чужди научни списания и сборници от научни конференции. Има h index 9 и общ брой цитирания 172 (Scopus: 23-11-2020 г.).

#### **АКТУАЛНОСТ И ЗНАЧИМОСТ НА ПРОБЛЕМА**

Неопластичните заболявания заемат сериозен дял в патологията на кучето. Данните от последните изследвания показват, че броят на неоплазиите на кожата и подкожните тъкани при този вид се увеличават с всяка изминала година, като възрастовата граница на засегнатите животни се редуцира. Освен това е установено, че пациентите със злокачествени формации са повече, в сравнение с доброкачествените.

Кучетата със спонтанни неопластични заболявания представляват ценен източник за изследване на патогенезата, прогресията и терапията на онкологичните заболявания при хората. Основен метод за поставяне на точна диагноза е хистологичното изследване. За навременното и правилно диагностициране на туморите се препоръчва извършване и на цитологично изследване. Бързината при приготвянето и отчитането на цитологичните препарати са предпоставка за все по-широкото навлизане на цитодиагностиката във ветеринарномедицинската практика.

Количествената морфология използва математически анализ при изследването на биологичните обекти. Тя се явява като интегрална дисциплина, допълваща

рутинните морфологични методи на изследване, като се основава на атипичния неопластичен растеж на клетките.

В България след 2000 г. не са провеждани изследвания върху локализацията, пола, породата, възрастовото разпространение, анатомичната локализация и хистогенезата на туморите на кожата и подкожните тъкани при кучето. Не са провеждани проучвания относно достоверността на цитологичното изследване при спонтанни кожни и подкожни неоплазии при кучето. За значението на компютърната морфометрия в диагностиката на туморите на кожата и подкожните тъкани при кучето съществуват оскъдни, непълни и донякъде противоречиви резултати. Следователно актуалността на темата е безспорна. Това прави всяко едно проучване в това направление ценно за неговото опознаване и дава значим научен и научноприложен принос във ветеринарномедицинската онкология.

#### **СТРУКТУРА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД**

Дисертацията е написана на 318 стандартни страници. Тя е правилно и пропорционално структурирана според изискванията и съдържа всички задължителни раздели (съдържание, въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, обсъждане, заключение, изводи, приноси, публикации и цитирания във връзка с дисертацията и литературен указател).

#### **ЛИТЕРАТУРНА ОСВЕДОМЕНОСТ**

Литературният обзор е обширен и целенасочен към изследвания проблем. Доц. Симеонов показва задълбочено и критично познаване на научната литература по проблемите на дисертацията. Това добре личи от списъка на използваните литературни източници – общо 564, от които 33 на кирилица и 531 на латиница. Мотивирано изложеният литературен обзор показва, че авторът има задълбочени познания и много добра информираност по проблема. От огромния брой изследвания умело са селектирани и подбрани литературни данни тясно свързани с целта на проучването.

#### **ЦЕЛ И ЗАДАЧИ**

Въз основа на изчерпателния и обширен литературен обзор д-р Симеонов е формирал ясно целта на своите изследвания, а именно: да се направи ретроспективно изследване, както и цито-хистологична корелация и компютърен морфометричен анализ на спонтанни тумори на кожата и подкожните тъкани при кучето. От целта произлизат четири задачи: проучване на разпространението, локализацията, половата,

породната, възрастовата чувствителност и хистогенезата на спонтанни тумори на кожата и подкожните тъкани при кучето за период от 10 години и определяне на достоверността на цитологичното спрямо рутинното патохистологично изследване в диагностиката им. Извършване на нуклеарен компютърен цитоморфометричен анализ и установяване на диагностичните и прогностичните възможности на компютърната цитоморфометрия при спонтанни тумори на кожата и подкожните тъкани при кучето.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**

Методиката на изследванията е адекватна на поставената цел и задачи. В изследванията са използвани достатъчен брой животни за статистическа обработка на получените резултати. Приложен е широк набор от класически и съвременни методи като: клиничко-морфологични – за определяне на породата, възрастта, пола, локализацията и диаметра на неопластичната формация, наличието на евентуални метастази в регионалните лимфни възли и тяхното морфологично верифициране, времето за рецидивирание на злокачествени неоплазии и преживяване на животното; цитологични методи – използвана е тънкоиглена аспирационна биопсия и оцветяване с Hemacolor<sup>®</sup>; субтипизиране на туморите – определено е съгласно стандартните диагностични критерии; патохистологични методи – използвана е класическата парафинова методика с оцветяване с хематоксилин-еозин, както и допълнителни хистохимични методи (оцветявания с Toluidine blue, alcian blue ph 2.5 – pas, по Heidenhein, Masson fontana и Masson-trichrome-Goldner); имунохистохимични методи – за окончателна диагностика при сложни случаи; морфометрични методи – цитоморфометричен анализ на ядрата на клетките с дигитален микроскоп, компютърна конфигурация и софтуер за анализ на микроскопски изображения.

## **РЕЗУЛТАТИ**

Собствените изследвания и резултати са систематизирани в три глави включващи: ретроспективни проучвания, цито-хистологична корелация и компютърна цитоморфометрия на туморите на кожата и подкожните тъкани при кучето. Получените резултати са представени ясно, с добър научен стил. Удачно са обединени теория и практика, придружени от авторови оценки. Умело и лаконично доц. Симеонов е успял да опише компактно голямата по обем работа, като за по-добра прегледност част от експерименталните данни е представил в подходящ графичен вид. Резултатите са много добре онагледени със 110 оригинални фигури и 38 таблици. Богатият снимков материал допълва цялостната картина на дисертацията. Всички резултати са

обработени статистически, което гарантира тяхната достоверност. Авторът демонстрира умението си разбираемо да обяснява проблемите, резултатите и приложението им, което придава допълнителна стойност на този труд. Изследванията в тази област са нови по рода си за България и дават значими за науката данни.

Обсъждането на резултатите е задълбочено и компетентно интерпретира получените резултати с данните на други автори. Обобщените 18 извода напълно отразяват съществените резултати от изследването.

Дисертацията предоставя възможности за намиране на отговори на фундаментални проблеми.

### **ПРИНОСИ**

От проведените изследвания са изведени 7 приноса, от които 3 с оригинален характер и 4 - с потвърдителен.

Рецензираната дисертация има главно научно-приложна насоченост. Оригинални приноси са разработените методи за диагностика на някои онкологични заболявания при кучето. Компютърната цитоморфометрия може да се използва като: диагностичен метод (при аденоми и карциноми на мастните жлези, аденоми и карциноми на потните жлези, аденоми и карциноми на перианалните жлези, анални аденоми и карциноми и церуминозни аденоми и карциноми) и прогностичен метод (при базално клетъчни карциноми, аденокарциноми на мастните жлези, перианални аденокарциноми, аденокарциноми на потните жлези, анални аденокарциноми и церуминозни аденокарциноми).

Налице е и важен оригинален принос с научен характер, свързан с проведените комплексни (ретроспективни, морфологични и количествени) проучвания върху този вид тумори за период от десет години.

Получените резултати потвърждават, че цитологичното изследване има висока достоверност спрямо рутинното патохистологичното проучване и може да се използва успешно в диагностиката на туморите на кожата и подкожните тъкани при кучето. Освен това компютърната цитоморфометрия е подходящ диагностичен метод при определяне на реактивни съединително-тъканни процеси и саркоми на меките тъкани при кучето. Може да се използва и като прогностичен метод при сквамозно клетъчни карциноми и мастоцитомии.

### **ОТЗИВ ЗА АВТОРЕФЕРАТА**

Приемам публикувания автореферат към дисертационния труд.

## ПРЕЦЕНКА НА ПУБЛИКАЦИИТЕ ПО ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Във връзка с дисертацията са публикувани 15 статии, като 9 от тях са в списания с импакт фактор и 4 в списания с импакт ранг. Общият импакт фактор е 11.181, а импакт ранг - 1.186. Във всички публикации авторът е водещ, а в шест са самостоятелни. В допълнение ще отбележа, че доц. Симеонов има и 4 участия с доклади и отпечатани резюмета в научни форуми. Показател за интереса към изследванията на автора е списъкът с цитирания във връзка с дисертацията (общо 41) с общ импакт фактор 26.406.

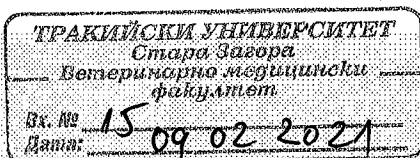
## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доц. д-р Симеонов представя значим научен труд, изпълнен с новости, богато илюстриран с таблици, диаграми и снимки, в които се решават значими ветеринарномедицински проблеми, свързани с някои аспекти на спонтанни тумори на кожата и подкожните тъкани при кучето. Дисертацията съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и ветеринарномедицинската практика. Дисертационният труд на тема „Ретроспективни, морфологични и количествени проучвания на спонтанни тумори на кожата и подкожните тъкани при кучето“ напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за развитието на академичния състав в Тракийски университет-Стара Загора за придобиване на научната степен „Доктор на науките“.

Всичко това ми дава основание да дам висока оценка на дисертационния труд и да препоръчам на членовете на уважаемото научно жури да присъдят на доц. д-р **Радостин Стефанов Симеонов** научната степен „Доктор на науките“ в област на висшето образование 6.0. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност „Патология на животните“.

София  
31. 01. 2021 г.

Изготвил рецензията:   
(проф. д-р Васил Манов, д-рм)



## REVIEW

of dissertation paper for acquiring "Doctor of Sciences" scientific degree, field of higher education 6.0. Agrarian sciences and veterinary medicine, professional area 6.4. Veterinary medicine, scientific specialty „Animal pathology”.

**Author of the dissertation paper:** Assoc.prof. Radostin Stefanov Simeonov, DVM

**Topic:** „Retrospective, morphological and quantitative studies of spontaneous tumors on the skin and subcutaneous tissues in dogs”

**Reviewer:** prof. Vasil Kostadinov Manov, DVM, Department of Internal Non-contagious Diseases, pathology and pharmacology”, Faculty of Veterinary Medicine, at the University of Forestry, Sofia,

**Basis for the review:** Order No. 3361/17 Dec 2020 by the Rector of Trakia University, Stara Zagora and Resolution from the first meeting of the Scientific jury for selection of reviewers. I hereby declare that I have no conflict of interests with the author of the dissertation paper.

### OVERALL DESCRIPTION OF THE PRESENTED MATERIALS

On the defense procedure Assoc.prof. Radostin Simeonov, DVM has presented all required documents and materials: application for defense of the dissertation paper; copies of diplomas of completed higher education with Master’s educational and qualification degree and PhD educational and scientific degree; certificate for holding the academic position "Associate professor"; dissertation paper and self-abstract of the dissertation paper; a transcript of the resolution by the departmental board for opening a procedure for defense of the dissertation paper; a list and copies of scientific publications and evidence of scientific activity related to the dissertation paper; CV; reference for the citations of publications in connection with the dissertation paper; documents for participation in research projects.

### BRIEF BIOGRAPHICAL DATA

Associate professor Radostin Stefanov Simeonov, DVM was born in Pomorie in 1972. He graduated in 1991 the Secondary Technical School in Veterinary Medicine in Stara Zagora, and in 1999 - the Faculty of Veterinary Medicine at Trakia University and received educational and qualification degree. "Master Veterinary Surgeon". He works as a private practicing veterinary surgeon in the town of Maglizh, and in 2000 after a successful contest he was elected an assistant professor at the Department of Pathological Anatomy at the Faculty of Veterinary Medicine at Trakia University in Stara Zagora. In 2003, following attestation, he was promoted

to the position of Senior Assistant professor, and in 2006 - to Chief Assistant professor. In 2006 he defended a dissertation paper on "Cytological and computer cytomorphometric studies of spontaneous mammary neoplasms in bitches" and was awarded PhD scientific and educational degree in the scientific specialty "Animal pathology". In 2016 he was elected Associate professor at the Department of General and Clinical Pathology. Dr. Simeonov conducts lectures and practical classes in all subjects taught at the department. As leader of the lecture course in "Veterinary oncology" he is fully responsible for its organization and conduct. He participates in the lecture course of the postgraduate specialization in Pathological anatomy. He works at the Small Animals Clinic, as well as at the Equine and Productive Animals Clinic of the Faculty of Veterinary Medicine at Trakia University. His main scientific field is in the field of oncology and diagnostics of a number of diseases in small animals. His scientific activity is presented in 100 scientific papers, published in Bulgarian and foreign scientific journals and proceedings from scientific conferences. He has h index 9 and a total number of citations 172 (Scopus: 23 Nov 2020).

#### **RELEVANCE AND SIGNIFICANCE OF THE ISSUE**

Neoplastic diseases play a significant role in the dog pathology. Data from recent studies show that the number of neoplasms of the skin and subcutaneous tissue in this species increases with each passing year, with reduction of the age limit of the affected animals. In addition, there were more patients with malignancies than benign ones.

Dogs with spontaneous neoplastic diseases are a valuable source for studying the pathogenesis, progression and treatment of oncological diseases in humans. The main method for making an accurate diagnosis is the histological examination. For the timely and correct diagnostics of tumors, cytological examination is also recommended. The speed in preparing and reporting of cytological preparations is a prerequisite for the increasing penetration of cytodiagnosics in veterinary medical practice.

Quantitative morphology uses mathematical analysis in the study of biological objects. It is an integral discipline, complementing routine morphological methods of examination, based on atypical neoplastic cell growth.

In Bulgaria after 2000 no studies have been conducted on the location, sex, breed, age distribution, anatomical location and histogenesis of tumors of the skin and subcutaneous tissues in dogs. No studies have been performed on the reliability of cytological examination in spontaneous skin and subcutaneous neoplasms in dogs. There are scarce, incomplete and somewhat contradictory results on the importance of computer morphometry in the diagnostics



of skin and subcutaneous tissue tumors in dogs. Therefore, the relevance of the topic is indisputable. This makes any study in this area valuable for its knowledge and makes a significant scientific and scientific applied contribution to veterinary medical oncology.

### **STRUCTURE OF THE DISSERTATION PAPER**

The dissertation is written on 318 standard pages. It is correctly and proportionally structured according to the requirements and contains all obligatory sections (content, introduction, literature review, objective and tasks, material and methods, results, discussion, summary, conclusions, contributions, publications and citations in connection with the dissertation paper and literature index).

### **LITERATURE AWARENESS**

The literature review is extensive and focused on the problem under study. Assoc. prof. Simeonov shows in-depth and critical knowledge of the scientific literature on the problems of the dissertation paper. This is evident from the list of used literature sources - a total of 564, of which 33 in Cyrillic and 531 in Latin alphabet. The reasoned literature review shows that the author has in-depth knowledge and very good awareness on the problem. From the huge number of studies, literature data closely related to the purpose of the study have been skillfully selected.

### **OBJECTIVE AND TASKS**

Based on the comprehensive and extensive literature review, Dr. Simeonov has clearly formed the objective of his study, namely: to make a retrospective study, as well as cyto-histological correlation and computer morphometric analysis of spontaneous tumors of the skin and subcutaneous tissue in dogs. The objective is implemented by means of four tasks: study of the distribution, location, sexual, breed, age sensitivity and histogenesis of spontaneous tumors of the skin and subcutaneous tissues in dogs for a period of 10 years and determine the reliability of cytological versus routine pathohistological examination in their diagnostics. Performing nuclear computer cytomorphometric analysis and establishing the diagnostic and prognostic capabilities of computer cytomorphometry in spontaneous tumors of the skin and subcutaneous tissues in dogs.

### **MATERIAL AND METHODS**

The research methodology is adequate to the set objective and tasks. A sufficient number of animals have been used in the studies for statistical processing of results obtained. A wide range of classical and modern methods are applied such as: clinical and morphological

- to determine the breed, age, sex, location and diameter of the neoplastic formation, the presence of possible metastases in regional lymph nodes and their morphological verification, the time of recurrence of malignant neoplasms and animal survival rate; cytological methods - fine-needle aspiration biopsy and Hemacolor® staining have been used; tumor subtyping - determined according to standard diagnostic criteria; pathohistological methods - the classical paraffin method with hematoxylin-eosin staining was used, as well as additional histochemical methods (staining with Toluidine blue, alcian blue ph 2.5 - pas, according to Heidenhein, Masson fontana and Masson-trichrome-Goldner); immunohistochemical methods - for final diagnostics in complex cases; morphometric methods - cytomorphometric analysis of cell nuclei with digital microscope, computer configuration and software for analysis of microscopic images.

## **RESULTS**

Own studies and results are systematized in three chapters including: retrospective studies, cyto-histological correlation and computer cytomorphometry of tumors of the skin and subcutaneous tissues in dogs. The results obtained are presented clearly, in good scientific style. Theory and practice are successfully combined, accompanied by author's evaluations. Skillfully and concisely, Assoc.prof. Simeonov managed to describe compactly the large volume of work, and for better clarity he presented some of the experimental data in an appropriate graphical form. The results are very well illustrated with 110 original figures and 38 tables. The rich photographic material complements the overall picture of the dissertation. All results are processed statistically, which guarantees their reliability. The author demonstrates his ability to understandably explain the problems, results and their application, which adds value to this work. Studies in this field are new for Bulgaria and provide significant data for science.

The discussion of the results is thorough and competently interprets the obtained results with the data by other authors. The summarized 18 conclusions fully reflect the significant results from the study.

The dissertation paper provides opportunities to find answers to fundamental problems

## **CONTRIBUTIONS**

From the conducted researches 7 contributions were derived, of which 3 of original nature and 4 – of affirmative one.

The reviewed dissertation paper has mainly scientific applied orientation. Original

contributions are the developed methods for diagnosing some oncological diseases in dogs. Computed cytomorphometry can be used as: diagnostic method (for adenomas and carcinomas of the sebaceous glands, adenomas and carcinomas of the sweat glands, adenomas and carcinomas of the perianal glands, anal adenomas and carcinomas and ceruminous adenomas and carcinomas) and prognostic method (for basal cell carcinomas, adenocarcinomas of the sebaceous glands, perianal adenocarcinomas, adenocarcinomas of the sweat glands, anal adenocarcinomas and ceruminous adenocarcinomas).

There is also an important original scientific contribution related to the conducted complex (retrospective, morphological and quantitative) studies on this type of tumors for a period of ten years.

The obtained results confirm that the cytological examination has high reliability compared to the routine pathohistological examination and can be used successfully in the diagnostics of tumors of the skin and subcutaneous tissues in dogs. In addition, computer cytomorphometry is a suitable diagnostic method for the detection of reactive connective tissue processes and soft tissue sarcomas in dogs. It can also be used as a prognostic method for squamous cell carcinomas and mastocytomas.

#### **COMMENT ON THE SELF-ABSTRACT**

I accept the published self-abstract to the dissertation paper.

#### **EVALUATION OF PUBLICATIONS ON THE DISSERTATION PAPER**

In connection with the dissertation, 15 articles have been published, 9 of them in journals with impact factor and 4 in journals with impact rank. The total impact factor is 11,181 and the impact rank is 1,186. In all publications the author is leading, and six are individual. In addition, I will note that Assoc.prof. Simeonov has 4 participations with reports and printed abstracts in scientific forums. An indicator of the interest in the author's research is the list of citations in connection with the dissertation (41 in total) with a total impact factor of 26,406.

#### **CONCLUSION**

Assoc.prof. Simeonov, DVM presents a significant scientific work, full of innovations, richly illustrated with tables, diagrams and photos, which solves significant veterinary problems related to some aspects of spontaneous tumors of the skin and subcutaneous tissues in dogs. The dissertation paper contains scientific and scientific applied results, which are an original contribution to science and veterinary medical practice. The dissertation paper on "Retrospective, morphological and quantitative studies of spontaneous tumors of the skin and

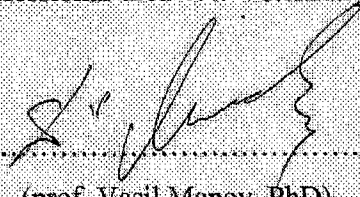
subcutaneous tissues in dogs" fully complies with the requirements of the Law on development of academic staff in the Republic of Bulgaria and the Rules on the Development of academic staff at Trakia University Stara Zagora for acquiring the scientific degree "Doctor of Science".

All this gives me reason to give high evaluation of the dissertation paper and to recommend to the members of the esteemed scientific jury to award **Assoc.prof. Radostin Stefanov Simeonov, DVM** the scientific degree "Doctor of Science" in field of higher education 6.0. Agrarian sciences and veterinary medicine, professional area 6.4. Veterinary medicine, scientific specialty "Animal pathology".

Sofia

31 Jan 2021

Review prepared by.....



(prof. Vasil Manov, PhD)