

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Тая Георгиева Димова, ИБИР-БАН, София

член на научно жури съгласно заповед №2789/23.10.2020г.
на Ректора на Тракийски Университет, Стара Загора

относно дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „ДОКТОР“ по научна специалност "Морфология", Професионално направление 6.4. „Ветеринарна медицина“, Област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина“.

На свободен докторант д-р Давид Господинов Йовчев, катедра "Ветеринарна анатомия, хистология и ембриология", Ветеринарномедицински факултет, Тракийски Университет, Стара Загора

Тема на дисертационния труд: ХИСТОЛОГИЧНО, ХИСТОМЕТРИЧНО И ХИСТОХИМИЧНО
ИЗСЛЕДВАНЕ НА ТЪНКИТЕ ЧЕРВА ПРИ БРОНЗОВАТА ПУЙКА (MELEAGRIS MELEAGRIS
GALLOPAVO)

Научен ръководител: доц. д-р Георги Пенчев Георгиев, DVM, PhD

Актуалност и значимост на тематиката

В представеният ми за рецензиране дисертационен труд са анализирани възрастово-зависимите специфични морфологични особености на тънките черва при бронзовата пуйка. Повечето налични литературни данни касаят основно проучвания върху морфологичните и хистологичните особености на чревния тракт при домашните птици в т. ч. пилета бройлери. Липсващи или противоречиви данни в тази насока за бронзовата пуйка дават основание за проучванията в този дисертационен труд и обуславят актуалността им на фона на нарастващата важност на отрасъл пуйководство в България в последните години. Хипотезата на автора е, че каудалният дял на храносмилателната система при Бронзовата пуйка играе основна роля в растежа и развитието на птиците като интензитетът на нарастване на телесното им тегло е пряко свързан с нормалния растеж и физиологичното развитие на чревния тракт. Нещо повече, възрастово настъпващите изменения в активността на храносмилателните ензими трябва да бъдат обвързани с подходящ хранителен режим за да се осигури оптимален здравен статус на птиците от породата Бронзова пуйка.

Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на 156 стандартни страници, вкл. литературна справка от 188 източника, 6 от които на кирилица и 182 на латиница и е онагледен с 59 фигури и 10 таблици. Обичайните раздели са под формата на отделни глави, съгнесени относително пропорционално, а именно Литературен обзор 27 стр., Материали и методи 11 стр., Резултати 57 стр. и Дискусия 21 стр.

Литературният обзор е стегнат и логичен, оформен в отделни параграфи, посветени на анатомичните, макрометрични, хистологични, микроморфометрични особености и ензимен потенциал на тънките черва при различни видове птици вкл. и налични данни при бронзовата пуйка като читателят бива запознат с предходни по-стари и сравнително нови изследвания на други автори, работещи по тематиката. Разделът "Литературен обзор" е информативен, целенасочен и описателен в същността си и би бил по-лек за възприемане при наличие на пояснителни схеми, но липсата на такива в никакъв случай не е недостатък. Литературният обзор завършва с кратко обобщение и авторът логично мотивира целта на собственото си научно изследване, а именно "Определяне на макроморфометричните

особености на тънките черва, някои хистологични, микроморфометрични, хистохимични и ензимохистохимични характеристики на мукозата на дванадесетопръстника (duodenum), празното черво (jejunum) и илеума (ileum) при Бронзовата пуйка (*Meleagris meleagris gallopavo*) от първи до 240-ти ден. Формулирани са 14 задачи, адекватни на поставената цел, които според мен биха могли спокойно да бъдат обединени в 7 задачи.

В раздел „Материали и методи“ прави впечатление избора от релевантни и разнообразни методи като анатомични макро- и микроморфометрични, хистологични, хистохимични и ензимохистохимични методи, позволяващи широкообхватен поглед към проблема. Подходите на изследване и методите са подбрани прецизно, така че да осигурят изпълнението на заложените задачи. Материалите и методите са описани изчерпателно и биха могли да бъдат повторени без проблем от други изследователи. Включени за изследване са 60 птици по 30 от пол, достатъчен брой за подобен тип изследване, разпределени в 10 възрастови групи. Извършените експерименти в дисертационния труд са в строго съответствие с правилата на етичната комисия към Тракийски университет, Стара Загора. Приятно впечатление прави използването на различни селективни хистологични техники за оцветяване и визуализиране на отделни структурни елементи. Бих си позволила малка забележка – при описанието на конкретния метод на оцветяване липсва кратка информация какви точно структури в тънкочревния тракт се оцветяват и демонстрират чрез него. Смятам, че наличието на тази информация при описанието на хистологичните методи в раздел Материали и методи би направило последващото описание на резултатите още по-разбираемо и атрактивно. В раздел Материали и методи не е посочено, че експресията на алкална фосфатаза ще бъде преценена полуколичествено, което оценявам като технически пропуск.

Данните в раздел “Резултати” са групирани според поставените задачи и огледени с достатъчно по обем качествени снимки, таблици и графики. Резултатите са докладвани разбираемо и доста описателно, което е типично за подобен тип изследване. Поздравявам докторантът за отличните хистологични препарати, повечето от които спокойно може да включи в набора за обучението на студентите по ветеринарна медицина в курса по Хистология. Изключително богат набор от фигури в подкрепа на получените резултати, някои от които с конвенционално оцветяване хематоксилин/еозин са дублирани и с допълнителни селективни хистологични техники за оцветяване на колагенови фибри, еластинови влакна и мускулна тъкан. Получени са подробни микрометрични данни за чревните вили, чрез хистохимични методи е демонстрирано не само наличието и плътността на чапковидните клетки, но е дефинирано и съдържанието на неутрални, кисели и смесени муцини с помощта на AB/PASS оцветяването. Като доказателство за функционалната зрялост на чревната лигавица в зависимост от възрастта е доказана и експресията на алкална фосфатаза. Всички тези морфологични особености са в пряка връзка и обуславят функционалната активност на тънките черва в различните възрастови периоди. Имам малки забележки, които не намаляват стойността на дисертационния труд и са както следва: 1) тъй като Таблица 3 включва един показател смятам, че колоната Показател е излишна; 2) на микроскопските снимки е показано използваното увеличение, така че в описанието на фигурата това е излишно; 3) фигури 10 и 12 показват трицветно оцветяване по Масон, но има размиване в оцветяването на мускулната тъкан, отчитам го като фотографски артефакт, подобен ефект отчитам и на Фиг. 22 (оцветяване по Ван Гизон). На едно-две места има неприемливи изречения от рода “При оцветяване на хистологични препарати от слабинно черво по метода на Ван Гизон, ние установихме, че lamina epithelialis mucosae и двата подслоя на tunica muscularis бяха с жълт цвят. Lamina propria, tunica submucosa и tunica serosa бяха оцветени в розов цвят (Фигура 31)”. Смятам, че това всъщност би

трябвало да е очакван резултат, а не нещо, което авторът установява, тъй като при този метод на оцветяване мускулната тъкан се оцветява в интензивно жълто, а колагена в розово.

Позволявам си и една препоръка. Включването на достатъчен брой птици и от двата пола позволяват подобно изследване освен възрастово да се обвърже и полово, което би дало допълнителни интересни данни, имайки предвид голямата разлика в теглото между мъжките и женските птици при тази порода и пряката връзка между теглото на птиците и развитието на каудалния храносмилателен тракт. Вероятно авторът ще задълбочи изследването си в тази посока в бъдеще.

Дискусията е най-трудната и същевременно най-интересната част от всеки дисертационен труд и е показателна за професионалната подготовка на докторанта. Авторът коректно е отразил получените данни от други автори и на фона на тях критично анализира собствените си резултати, отбелязвайки лимитите на собственото си проучване и очертавайки нови перспективи на изследване. Структурирането на дискусията в глави, аналогични на тези в раздел Резултати според мен малко я утежнява и развоява излишно. Но това е въпрос на стил и право на избор на докторанта и аз го приемам и уважавам. Приведени са изключително много и разнообразни данни в сравнителен аспект при различни видове птици и на този фон авторът е успял да отличи своите потвърдителни и оригинални резултати като се е опитал да им придаде и приложна насоченост. Смятам, че получените резултати от проведените изследвания предоставят интересни данни относно динамиката в морфогенезата и хистогенезата на тънките черва при бронзовата пуйка, които освен чисто биологично значение биха били полезни за всички специалисти ангажирани с храненето, отглеждането, развъждането и борбата с болестите при тези птици.

Изведени са 13 извода, които са ясни и точни без излишни предположения. Обособена е отделна глава с 3 потвърдителни и 3 оригинални приноси на дисертационния труд, които са ясно дефинирани.

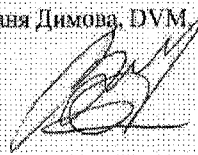
Авторефератът правилно отразява основните резултати на дисертационния труд и е оформен адекватно на 73 страници.

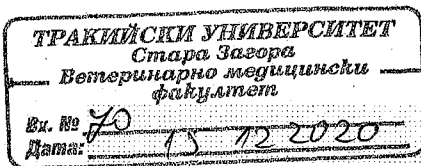
Основните резултати са публикувани в 3 статии в реферирани списания със Scopus SJR – 0.189, 0.191 и 0.164. И в трите статии докторантът е първи автор. Давид Йовчев има два постера с резултати от дисертацията си, представени на един международен форум и един български научен форум с международно участие. Наукометричните му показатели удовлетворяват минималните национални изисквания за такъв научен труд като са изпълнени и допълнителните изисквания в Правилника на ТрУ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Дисертационният труд на свободен докторант д-р Давид Господинов Йовчев е изработен и представен професионално и с необходимата научна компетентност върху тематиката. Този научен труд отговаря на изискванията за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“, заложен в Закона за развитие на академичния състав в РБ, Правилника за неговото приложение и Правилника на ТрУ. Убедено давам положителна оценка и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да вземат решение за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ по научната специалност „Морфология“, Професионално направление „Ветеринарна медицина“ на д-р Давид Господинов Йовчев.

14.12.2020 г.

Доц. д-р Таня Димова, DVM, PhD





OPINION

by assoc. Prof. Dr. Tanya Georgieva Dimova, IBIR-BAS, Sofia

a member of scientific jury according to order №2789 / 23.10.2020 of the Rector of the Trakia University, Stara Zagora

on the dissertation for awarding the educational and scientific degree "DOCTOR" in the scientific specialty "Morphology", Professional field 6.4. "Veterinary Medicine", Field of Higher Education 6. Agricultural Sciences and Veterinary Medicine "

of PhD student Dr. David Gospodinov Yovchev, Department of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora

Dissertation topic: HISTOLOGICAL, HISTOMETRIC AND HISTOCHEMICAL INVESTIGATION OF THE SMALL INTESTINE IN THE BRONZE TURKEY (MELEAGRIS MELEAGRIS GALLOPAVO)

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Georgi Penchev Georgiev, DVM, PhD

Relevance and significance of the topic

In this dissertation presented for review, the age-dependent specific morphological features of the small intestine in the Bronze turkey are analyzed. Most of the available literature data mainly concern studies on the morphological and histological features of the intestinal tract in poultry, including broiler chickens. Missing or contradictory data in this field about the Bronze turkey give grounds for the research in this dissertation and determine its relevance against the background of the growing importance of the turkey industry in Bulgaria in the recent years. The author's hypothesis is that the caudal part of the digestive system in the Bronze turkey plays a major role in the growth and development of birds and the intensity of their weight gain is directly related to normal growth and physiological development of the intestinal tract. Moreover, age-related changes in the activity of digestive enzymes must be linked to an appropriate diet to ensure optimal bird health status of the Bronze turkey breed.

Characteristics and evaluation of the dissertation

The dissertation is written on 156 standard pages, incl. literature reference from 188 sources, 6 of which in Cyrillic and 182 in Latin and is illustrated with 59 figures and 10 tables. The usual sections are in the form of separate chapters, in relatively proportional volumes, namely Literary Review 27 pages, Materials and Methods 11 pages, Results 57 pages and Discussion 21 pages.

The **Literature Review** is concise and logical, formed in separate paragraphs devoted to the anatomical, macrometric, histological and micromorphometric features, and enzymatic potential of the small intestine in different species of birds, incl. the available data on the Bronze turkey as the reader is directed to previous older and new research done by other authors working

on this topic. The Literary Review section is an informative and descriptive and would be easier to understand if some schemes are present, although their lack is not a disadvantage. In the end of the literature review after brief summary the author logically motivates the purpose of his own research, namely "Determination of macromorphometric features of the small intestine, some histological, micromorphometric, histochemical and enzymohistochemical characteristics of the mucosa of the duodenum, the jejunum and the ileum of Bronze Turkey (*Meleagris meleagris gallopavo*) after hatching to Day 240th". Fourteen tasks have been formulated, relevant to the goal, which in my opinion could be easily combined into 7 tasks.

In the section "**Materials and methods**" the set of relevant and various methods such as anatomical macro- and micromorphometric, histological, histochemical and enzymohistochemical methods is impressive, allowing a comprehensive work on the topic. The research approaches and methods are carefully selected in attempt to ensure the fulfillment of the tasks. The materials and methods are well described and could be repeated without difficulty by other researchers. The study includes 60 birds, 30 males and 30 females, a number, which is sufficient for such type of study. The birds are divided into 10 age groups. The experiments performed in the dissertation are in strict compliance with the rules of the Ethics commission at the Trakia University. It must be noted the use of various and selective histological techniques for staining and visualization of different structural elements. I would like to make a small remark - in the description of the specific method of staining there is no brief information about exactly what structures in the small intestine tract are stained and visualized by this method. I believe that the presence of such information would make the subsequent description of the results even more understandable and attractive. In the Materials and Methods section is not mentioned that the expression of alkaline phosphatase is assessed semi-quantitatively, which I consider to be a technical omission.

The data in the "**Results**" section are grouped according to the tasks and are illustrated with sufficient number of high-quality images, tables and graphs. The results are reported understandably and quite descriptively, which is typical of this type of study. I would like to express my congrats to the author for the excellent histological slides, most of which could be easily used in the Histology course for the students in veterinary medicine. An extremely rich set of figures in support of the results are shown, some of which done by conventional hematoxylin/eosin staining are duplicated with additional selective histological techniques for staining of the collagen and elastin fibers as well as the muscle tissue. Detailed micrometric data are obtained for the intestinal villi and the range of histochemical methods demonstrate not only the presence and density of calyx cells, but also defined their content of neutral, acidic and mixed mucins using AB/PASS staining. As evidence for the age-dependent functional maturity of the intestinal mucosa, the expression of alkaline phosphatase is also demonstrated. All these morphological features are directly related and determine the functional activity of the small intestine at different ages in Bronze turkey. I have small remarks that in general do not decrease the value of the dissertation, as follows: 1) since Table 3 includes only one criterium, I think that the Criterium column is not necessary; 2) the microscope images are with indicated magnification.

so including of magnification in the legend of the figure is not necessary: 3) Figures 10 and 12 showed a tricolor Mason staining but there is a discrepancy in the staining of the muscle tissue, I considered it as a photographic artifact, such an effect I noticed in Fig. 22 (Van Gieson staining) as well. In some places there are unacceptable sentences such as "During the histological staining of the ileum preparations by Van Gieson method, we found that the *lamina epithelialis mucosae* and both sublayers of *tunica muscularis* were yellow. Lamina propria, tunica submucosa and tunica serosa were colored pink (Figure 31)". Since with this method normally the muscle tissue is colored in intense yellow and the collagen fibers - in pink, I think that these findings must be considered as expected results rather than something that the author has found. I would like to do small recommendation to the author. The inclusion of a sufficient number of male and female birds allows such a study to be performed in both age- and sex-dependent directions. The sex-dependent direction of investigation would provide additional interesting data, having in mind the large weight difference between male and female birds in this breed and I believe this could be possible future focus of the work.

The **Discussion section** is the most difficult and at the same time the most interesting part of any dissertation and is indicative of the professional attitude of the PhD student. The author correctly reflects his own data against the data of other authors, working in the field, as critically discuss his own results and notifying the limits of his research and outlining new prospects. Discussion is structured in chapters similarly to those in the Results section, which makes a little more heaviness for the reader. But it is a matter of style and the right of the student to choose how to interpret the data and I accept and respect his choice. Extremely many and varied data are shown in a comparative aspect for different species of birds and against this background the author manages to distinguish his confirmative and original fundamental results in attempt to attach some applicability aspect for these data. I believe that the results of this research provide data on the dynamics of morphogenesis and histogenesis of the small intestine in Bronze turkeys, which in addition to purely biological significance would be useful for all professionals involved in feeding, breeding and disease control in these birds.

There are 13 conclusions which are clear and accurate without unnecessary assumptions. There is a separate chapter with 3 confirmatory and 3 original contributions to the dissertation, which are clearly defined.

The Avtoreferat booklet correctly reflects the main results of the dissertation and is adequately formatted on 73 pages.

The main results are published in 3 articles in peer-reviewed journals with Scopus SJR - 0.189, 0.191 and 0.164. In all three articles the PhD student is the first author. David Yovchev has two posters with the results of his dissertation, presented at one international conference and at one Bulgarian scientific forum with international participation. The scientific metric data of the PhD student activity satisfy the minimum of the national requirements for such scientific work as well as the additional requirements in the Rules of Trakia University.

CONCLUSION: The dissertation of PhD student Dr. David Gospodinov Yovchev is performed and presented professionally and with the necessary scientific competence on the topic. This scientific work meets the requirements for obtaining the educational and scientific degree "Doctor", set in the Law for development of the academic staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for its application and the Regulations of Trakia University. I confidently give a positive assessment and recommend to the members of the Scientific Jury to decide to award the educational and scientific degree "Doctor" in the scientific specialty "Morphology" to Dr. David Gospodinov Yovchev.

14.12.2020 r.

Assoc. prof. Dr Tanya Dimova

