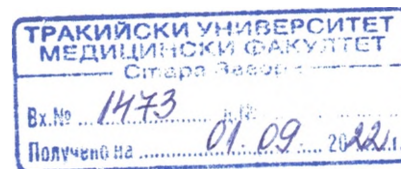


РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Стефан Годоров Сивков, дм
Катедра по анатомия, хистология и ембриология
Медицински университет-Пловдив



Относно: дисертационен труд за присъждане на ОНС „Доктор” в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина, научна специалност Анатомия, хистология и цитология

Автор: Никола Любомиров Пировски

Тема: „МОРФОЛОГИЧНИ И НЕВРОХИМИЧНИ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ АКУПУНКТУРА НА ЕЗИК”

Научни ръководители: доц. д-р Николай Димитров, дм (Катедра по анатомия, Медицински факултет, ТрУ-Стара Загора), доц. д-р Димитринка Атанасова (Институт по невробиология, БАН, София)

1. Общо представяне на процедурата и докторанта. Със заповед № 2182/08.07.2022 г. на Ректора на Тракийски университет-Стара Загора съм определен за член на научното жури във връзка с процедурата за защита на дисертационния труд на тема „Морфологични и неврохимични изменения при акупунктура на език” за придобиване на ОНС „Доктор” в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина, научна специалност Анатомия, хистология и цитология. Автор на дисертационния труд е Никола Любомиров Пировски – докторант в самостоятелна форма на обучение към Катедра „Анатомия” на Медицински факултет, Тракийски университет-Стара Загора с научни ръководители доц. д-р Николай Димитров, дм (Катедра по анатомия, Медицински факултет, ТрУ-Стара Загора), доц. д-р Димитринка Атанасова, дм (Институт по невробиология, БАН, София). За изготвяне на рецензията получих материалите, изискващи се от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени заемане на академични длъжности в Тракийски университет-Стара Загора.

Докторантът Никола Пировски е роден в гр. Стара Загора, където през 1999 г. завършва средното си образование в Природо-математически гимназия „Гео Милев“, Стара Загора, в профил биология с усилено изучаване на английски език. През 2005 г. завършва образованието си в Тракийски университет-Стара Загора, Факултет по медицина с магистърска специалност „Лекар по медицина”.

През 2006 (от месец януари до юни) работи като лекар към Мотопехота Ямбол. От ноември 2006 г. до октомври 2012 г. работи като асистент към Катедра „Анатомия“ Медицински факултет, Тракийски университет-Стара Загора. От август 2008г. до януари 2018г. като лекар към Абермед ЕООД, Абърдийн, Обединеното кралство, Медицинско осигуряване - профилактика, диагностика и терапия. Организиране, управление и контрол на изолирани медицински центрове за първична медицинска помощ. От

октомври 2012г. до април 2019г. работи като преподавател по Анатомия в Медицински Колеж, ТрУ, Стара Загора. Работил е и като лекар ординатор към отделение по Анестезиология и реанимация, Медицински Център „Берое“, Стара Загора (04.2013г. – 08.2013г.) и ДПБ „д-р Г.Кисъв“, Раднево (10.2013г.- 05.2016г.).

От април 2019 до сега работи като асистент по анатомия, хистология и цитология в Катедра „Анатомия“ Медицински факултет, Тракийски университет-Стара Загора. Със заповед № 185 от 25.06.2019 г. е зачислен като докторант към Катедра „Анатомия“, Медицински факултет, Тракийски университет-Стара Загора. Отчислен е от докторантура с право на защита със заповед 2125/04.07.2022 г. след успешно премината вътрешна защита.

2. Актуалност на тематиката. Акупунктурата на езика като вид манипулация представлява интерес за проучване във връзка с морфологичните изменения, които настъпват в тъканите след иглоубождането, които може да бъдат установени и документирани с помощта на съвременни хистологични методи. Дисертацията е посветена на организацията на нормалните структури в езика при плъх, възрастовите промени настъпващи в тях и морфологичните промени, настъпващи след експериментална акупунктура.

3. Познаване на проблема. Уводът, както и творческото използване на цитирания литературен материал показват познаване на състоянието на проблема, третиран в дисертацията от докторанта. Докторантът борави достатъчно ерудирано от една страна с традиционните медицински практики от различни части на света и в частност акупунктурата, представяйки тяхното място в медицинската практика и използването им като алтернативни методи за подобряване на здравето. От друга страна езикът е представен като интересен обект за изучаване, както от гледна точка на морфология, така и от клиничното значение. Поради богатата му инервация той представлява област за рефлекторни манипулации.

4. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите. Дисертационният труд е структуриран според общоприетите изисквания - въведение, литературен обзор, цел и задачи, материал и методи, резултати, обсъждане, изводи. Представен е върху 128 стандартни страници, съдържа 39 фигури и 4 таблици. Използваната литература включва 215 източника, от които 37 на кирилица и 178 на латиница.

В Литературния обзор е направен преглед на морфологичните особености на езика във филогенетичен план. Проследена е еволюцията на езика от висшите риби, през земноводните до бозайниците. Отделно внимание е отделено на морфологията на езика при човек, като наред с детайлно описание на структурата е проследено и ембрионалното развитие. Значително внимание е отделено на функционалните характеристики, както и неговото значение за клиничната практика. Авторът е обсъдил разпространението и ролята на мастоцитите в организма и в частност в езика. Дискутирана е ролята на езика в традиционната китайска медицина. Докторантът е представил достатъчно ясно същността, развитието и разпространението на акупунктурата като основно направление на китайската традиционна медицина. Направен е подробен преглед на теориите

обясняващи въздействието на акупунктурата. В контекста на проведеното проучване са обсъдени и промените в мастоцитите на езика след акупунктура. Прегледът на литературата позволява да се очертае рефлекторен профил асоциира с определени морфологични промени като специфичен белег, важен и приложим в акупунктурната практика.

Целта на настоящото изследване е да се установи организацията на нормалните структури в езика при плъх, възрастовите промени настъпващи в тях и морфологичните промени, настъпващи след експериментална акупунктура.

Материалът на изследването е достатъчен по обем, правилно избран и структуриран, добре документиран и прецизно регистриран, което гарантира достоверност на резултатите.

Методика на изследването. Докторантът е използвал надеждни и достатъчни за постигане на поставената цел методи изследване, с които получава адекватен отговор на задачите, решавани в дисертационния труд. Методологията се отличава с детайлно и компетентно представяне на процеса на проучването. Използваните методи са достатъчни и надеждни за постигане на поставената цел. Изследвани са езиците на 42 нормотензивни *Wistar* плъха от двата пола с телесно тегло между 220 - 410 гр. и възраст между 20 дни и 4 години. Акупунктурната манипулация е извършена със стерилни акупунктурни игли с размери 0.22x13mm. В изследванията са използвани хистологични методи - оцветяване с хемотоксилин и еозин, толуидиново синьо, по метода Bismark brown, van Gieson, трихромно оцветяване с Azan, оцветяване с орцеин, както и имунохистологични изследвания.

Статистическите методи са подходящо избрани с информативност необходима за изследването. Извършена е първична статистическа обработка на данните с помощта на дескриптивна статистика, параметричен и графичен анализ.

Главата „**Резултати**” заема 37 страници. Получените данни са нагледно демонстрирани и анализирани в представената документация (фигури, графики и таблици). Резултатите са представени много информативно, като дават възможност за представяне на ролята, значимостта и взаимовръзките между изследваните показатели. Снимковият материал е представен в модерен дизайн и достатъчно илюстративен, като ясно визуализира тезите на дисертационния труд.

Морфологията на езика е представена на различни срезове направени около центъра на тялото на езика, като сагиталните срезове предоставят най-голяма площ за проучване на единичен срез, и са по-подходящи за проследяване на акупунктурния канал при иглоубождане на езика. Използваните оцветявания добре визуализират мастоцитите, кръвоносните съдове и мускулатурата. Мастоцитите са разпределени по-хомогенно в мускулатурата, докато в lamina propria те се разполагат в редици. Сред съединителната тъкан на напречно набраздената мускулатура мастоцитите са единично представени или групирани по няколко около нервните снопове и кръвоносните съдове.

Оцветяването с толуидиново синьо води до по-голяма вариабилност на броя на мастоцитите в *lamina propria* и напречно набраздената мускулатура. Оцветяването с Бисмарк Браун, от друга страна, демонстрира по-надеждни резултати в сравнение с оцветяването с толуидиново синьо, главно поради получените по-последователни резултати. Общият брой на мастоцитите не се променя значително през целия живот, но разпределението им се променя.

Наблюдавани са хистологични промени в морфологията на езика при плъхове с напредване на възрастта. Промените са предимно в епитела, *lamina propria*, локализацията и разпределението на колагеновите и еластичните влакна в *lamina propria*. Тъканите се визуализират в състояние, максимално близко до състоянието по време на иглоубождането. Успешно се визуализира игления тракт по цялата му дължина през всички тъкани на езика. Осъществен е анализ на локализацията на мастоцити в областта на игления канал, като в някои от мастоцитите се установяват признаци на дегранулация с освободени гранули, открити на разстояние от клетката.

Обсъждането се характеризира с пълнота и задълбоченост в разсъжденията върху резултатите от изследването в контекста на целта на проучването и литературните данни. Оформените изводи са логични и отговарят на поставените задачи и проведените проучвания.

Авторът има своя принос в създаването на оригинална опитна постановка и методика, чрез която е получено успешно визуализиране на игления тракт в езика на плъх. Представени са възрастовите изменения, настъпващи в дебелината на епитела, дебелината на *lamina propria*, гъстотата на еластичните влакна и броят на мастоцитите в езика на плъх. Приведени са оригинални данни за морфологията на език при много възрастни плъхове на 48 месеца. Потвърдени са възрастовите изменения в морфологичните структури на езика при плъх, както и дегранулация на мастоцитите в тъканите настъпваща в резултат на акупунктура.

Преценка на публикациите и личния принос на докторантката. Основните резултати от дисертацията са публикувани в *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences*, 2022, *Acta Morphologica et Anthropologica*, 2018, *Science & Technologyies*, 2019, *Trakia Journal of Sciences*, 2019. Има и пет съобщения на научни форуми. Публикациите са в съавторство, като в почти всички докторантът е водещ автор, което ми дава основание да смятам, че има основен принос в резултатите.

Авторефератът е структуриран правилно, като отразява съдържанието, основните резултати и приносите на дисертационния труд.

Препоръките ми за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати са за прилагането им в по-нататъшното изучаване и разширяване на тази перспективна проблематика, при което получените резултати да се публикуват и в самостоятелни научни статии.

Заклучение. Дисертационният труд на д-р Никола Пировски разглежда проблем, който е с научен и практически интерес в областта на акупунктурата на езика и промените, които

настъпват в структурата на органа. Създадена е оригинална опитната постановка и методика за визуализиране на игленият тракт в езика на плъх. Получени са научни резултати, обогатяващи познанията за нормалните структури в езика при плъх, възрастовите промени, настъпващи в тях и морфологичните промени, предизвикани от експериментална акупунктура. Приведени са оригинални данни за морфологията на езика при много възрастни плъхове на 48 месеца. Това е реален научен принос. Изложението и оформлението на дисертационния труд и на автореферата е много добро. Извършена е голяма по обем и трудна за изпълнение работа. Това показва, че докторантът притежава теоретични знания и професионални умения по научната специалност, както и умения за самостоятелни научни изследвания. Представените материали и документи по процедурата отговарят напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за прилагане на този закон, Регламента за придобиване на ОНС „Доктор” в Тракийски университет-Стара Загора.

Въз основа на изложеното давам положителна оценка за проведеното научно изследване в дисертационния труд, като предлагам на почитаемото научно жури да присъди на д-р Никола Пировски образователната и научна степен „Доктор” в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт 7.1 Медицина, научна специалност Анатомия, хистология и цитология.

Проф. д-р Стефан Сивков, дм

22.08.2022 г.

REVIEW

by Prof. Stefan Todorov Sivkov, MD, PhD
Department of Anatomy, Histology and Embryology
Medical University-Plovdiv



Subject: Dissertation work for the award of the ONS "Doctor" in the field of higher education 7. Health care and sports, professional direction 7.1. Medicine, scientific specialty Anatomy, histology and cytology

Author: Nikola Lyubomirov Pirovski

Topic: "MORPHOLOGICAL AND NEUROCHEMICAL CHANGES DURING TONGUE ACUPUNCTURE"

Scientific supervisors: Assoc. Dr. Nikolay Dimitrov, MD (Department of Anatomy, Faculty of Medicine, TrU-Stara Zagora), Assoc. Dr. Dimitrinka Atanasova, MD (Department of Anatomy, Faculty of Medicine, TrU-Stara Zagora)

1. General presentation of the procedure and the doctoral student. By order No. 2182/08.07.2022 of the Rector of Thracian University-Stara Zagora, I have been appointed as a member of the scientific jury in connection with the procedure for the defense of the dissertation work on the topic "Morphological and neurochemical changes during tongue acupuncture" for the acquisition of the ONS "Doctor" in the field of higher education 7. Health care and sports, professional direction 7.1. Medicine, scientific specialty Anatomy, histology and cytology. The author of the dissertation is Nikola Lyubomirov Pirovski - a doctoral student in an independent form of study at the Anatomy Department of the Faculty of Medicine, Thracian University-Stara Zagora with scientific supervisors Assoc. Dr. Nikolay Dimitrov, MD (Department of Anatomy, Faculty of Medicine, TRU -Stara Zagora), Assoc. Ph.D. In order to prepare the review, I received the materials required by the Regulations for the conditions and procedures for acquiring scientific degrees and holding academic positions at Thracian University-Stara Zagora.

Doctoral candidate Nikola Pirovski was born in the city of Stara Zagora, where in 1999 he completed his secondary education at the "Geo Milev" Science and Mathematics High School, Stara Zagora, majoring in biology with an intensive study of English. In 2005, he completed his education at Thracian University-Stara Zagora, Faculty of Medicine with a master's degree in "Doctor of Medicine".

In 2006 (from January to June) he worked as a doctor at the Yambol Motor Infantry. From November 2006 to October 2012, he worked as an assistant at the Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Thracian University-Stara Zagora. Since August 2008 until January 2018 as a doctor at Abermed Ltd., Aberdeen, United Kingdom, Medical insurance - prevention, diagnostics and therapy. Organization, management and control of isolated medical centers for primary care. Since October 2012 until April 2019 works as a teacher of Anatomy at Medical College, TrU, Stara Zagora. He also worked as a resident doctor at the Department of Anesthesiology and Resuscitation, Beroe Medical Center, Stara Zagora (April 2013 - August 2013) and Dr. G.Kissov Medical Center, Radnevo (October 2013 - May 2016).).

From April 2019 until now, he has been working as an assistant professor in Anatomy, histology and cytology at the Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Thrace University-Stara Zagora. By Order No. 185 of 25.06.2019, he was enrolled as a doctoral student at the Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Thrace University-Stara Zagora. He was expelled from the doctoral program with the right to defense by order 2125/04.07.2022 after successfully passing the internal defense.

2. Relevance of the topic. Acupuncture of the tongue as a type of manipulation is of interest for research in relation to the morphological changes that occur in the tissues after needling, which can be established and documented using modern histological methods. The dissertation is devoted to the organization of normal structures in the tongue in the rat, the age-related changes occurring in them and the morphological changes occurring after experimental acupuncture.

3. Knowing the problem. The introduction, as well as the creative use of the cited literary material, show knowledge of the state of the problem treated in the dissertation by the doctoral student. The doctoral student deals sufficiently eruditely on the one hand with traditional medical practices from different parts of the world and acupuncture in particular, presenting their place in medical practice and their use as alternative methods to improve health. On the other hand, the tongue is presented as an interesting object of study, both from the point of view of morphology and clinical significance. Due to its rich innervation, it is an area for reflexogenic manipulations.

4. Characterization and evaluation of the dissertation work and contributions. The dissertation is structured according to generally accepted requirements - introduction, literature review, aim and tasks, material and methods, results, discussion, conclusions. It is presented on 128 standard pages, contains 39 figures and 4 tables. The literature used includes 215 sources, of which 37 are in Cyrillic and 178 are in Latin.

In the Literary Review, an overview of the morphological features of the language in phylogenetic terms was made. The evolution of language from higher fish, through amphibians to mammals has been traced. Particular attention is paid to the morphology of the tongue in humans, and along with a detailed description of the structure, the embryonic development is also traced. Considerable attention is paid to the functional characteristics, as well as its relevance to clinical practice. The author has discussed the distribution and role of mast cells in the body and in particular in the tongue. The role of the tongue in traditional Chinese medicine is discussed. The doctoral student has presented quite clearly the essence, development and spread of acupuncture as a basic direction of Chinese traditional medicine. A detailed review of the theories explaining the effects of acupuncture has been made. In the context of the conducted study, the changes in tongue mast cells after acupuncture were also discussed. The review of the literature allows to outline a reflexogenic profile associated with certain morphological changes as a specific mark, important and applicable to acupuncture practice.

The aim of the present study is to establish the organization of normal structures in the rat tongue, the age-related changes occurring in them and the morphological changes occurring after experimental acupuncture.

The research material is sufficient in volume, properly selected and structured, well documented and precisely registered, which guarantees the reliability of the results.

Research methodology. The doctoral student used reliable and sufficient research methods to achieve the set goal, with which he received an adequate answer to the tasks solved in the dissertation work. The methodology is distinguished by a detailed and competent presentation of the research process. The methods used are sufficient and reliable to achieve the set goal. The tongues of 42 normotensive Wistar rats of both sexes with body weight between 220 - 410 g and age between 20 days and 4 years were examined. Acupuncture manipulation was performed with sterile acupuncture needles measuring 0.22x13mm. Histological methods were used in the research - staining with hematoxylin and eosin, toluidine blue, according to the Bismark brown, van Gieson method, trichrome staining with Azan, staining with orcein, as well as immunohistological studies.

Statistical methods are appropriately selected with informativeness necessary for the study. Primary statistical data processing was performed using descriptive statistics, parametric and graphical analysis.

The "**Results**" chapter occupies 37 pages. The obtained data are visually demonstrated and analyzed in the presented documentation (figures, graphs and tables). The results are presented very informatively, giving an opportunity to present the role, importance and interrelationships between the investigated indicators. The photographic material is presented in a modern design and sufficiently illustrative, clearly visualizing the theses of the dissertation work.

Tongue morphology is represented in different slices taken around the center of the body of the tongue, with sagittal slices providing the largest area to study in a single slice, and are more suitable for tracing the acupuncture channel when needling the tongue. The used stains well visualize the mast cells, blood vessels and muscles. Mast cells are distributed more homogeneously in the musculature, while in the lamina propria they are arranged in rows. Among the connective tissue of the transverse striated muscles, mast cells are single or grouped in several around nerve bundles and blood vessels.

Toluidine blue staining resulted in greater variability in the number of mast cells in the lamina propria and striated muscle. Bismarck Brown staining, on the other hand, demonstrated more reliable results than toluidine blue staining, mainly due to the more consistent results obtained. The total number of mast cells does not change considerably throughout life, but their distribution does.

Histological changes in tongue morphology were observed in aging rats. The changes are mainly in the epithelium, lamina propria, the localization and distribution of collagen and elastic fibers in the lamina propria. The tissues are visualized in a state as close as possible to the state at the time of needling. The needle tract was successfully visualized along its entire length through all the tissues of the tongue. An analysis of the localization of mast cells in the area of the needle channel was carried out, and in some of the mast cells signs of degranulation were established with released granules found at a distance from the cell.

The discussion is characterized by completeness and depth in reflecting on the results of the study in the context of the purpose of the study and literature data. The drawn conclusions are logical and correspond to the tasks set and the studies carried out.

The author contributed to the creation of an original experimental set-up and methodology, through which successful visualization of the needle tract in the tongue of a rat was obtained. Age-related changes in epithelial thickness, lamina propria thickness, elastic fiber density, and

mast cell number in the rat tongue are presented. Original data on tongue morphology in very old rats at 48 months are presented. Age-related changes in the morphological structures of the tongue in rats were confirmed, as well as mast cell degranulation in the tissues occurring as a result of acupuncture.

Assessment of the publications and personal contribution of the PhD student. The main results of the thesis have been published in Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, 2022, Acta Morphologica et Anthropologica, 2018, Science & Technology, 2019, Trakia Journal of Sciences, 2019. There are also five communications at scientific forums. The publications are co-authored, and in almost all the PhD student is the lead author, which gives me reason to believe that he is a major contributor to the results.

The abstract is structured properly, reflecting the content, main results and contributions of the dissertation work.

My recommendations for the future use of the dissertation contributions and results are for their application in the further study and expansion of this promising issue, in which the obtained results are also published in independent scientific articles.

Conclusion. Dr. Nikola Pirovski's dissertation examines a problem that is of scientific and practical interest in the field of tongue acupuncture and the changes that occur in the structure of the organ. An original experimental set-up and methodology for visualizing the needle tract in the tongue of a rat was created. Scientific results have been obtained, enriching the knowledge of the normal structures in the rat tongue, the age-related changes occurring in them and the morphological changes induced by experimental acupuncture. Original data on tongue morphology in very old rats at 48 months are presented. This is a real scientific contribution. The presentation and layout of the dissertation and the abstract is very good. A large volume and difficult to perform work was carried out. This shows that the doctoral student has theoretical knowledge and professional skills in the scientific specialty, as well as skills for independent scientific research. The submitted materials and documents for the procedure fully comply with the requirements of the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for the Implementation of this Law, the Regulations for the Acquisition of Doctoral Degree at Thrace University-Stara Zagora.

Based on the above, I give a positive assessment of the scientific research carried out in the dissertation work, proposing to the honorable scientific jury to award Dr. Nikola Pirovski the educational and scientific degree "Doctor" in the field of higher education 7. Health care and sports 7.1 Medicine, scientific specialty Anatomy, Histology and Cytology.

Prof. Stefan Sivkov, MD, PhD

22/08/2022