



РЕЦЕНЗИЯ

от Проф. д-р Теодора Мирчева Георгиева, д-р

относно дисертационен труд на тема „Проучване промените на базисни биохимични, хематологични и хормонални показатели, под влияние на инфекциозни и неинфекциозни фактори при някои сладководни видове риби със стопанска значимост“ за придобиване на научна степен „Доктор на ветеринарномедицинските науки“, представен от доц. д-р Димитринка Стойчева Запрянова от секция „Биохимия с основи на клиничната биохимия“ към катедра „Фармакология, физиология на животните, биохимия и химия“, ВМФ, ТрУ, Стара Загора

Представената ми за рецензия дисертация е написана на 330 страници и съдържа в адекватно съотношение всички необходими раздели. Дисертацията и съпровождащите я материали и документи са напълно в унисон с изискванията за подобен научен труд на Закона за развитие на академичния състав в РБ, Правилника за неговото приложение, вкл. и Правилника за развитие на АС в ТрУ, Стара Загора.

Актуалност на проблематиката в дисертационния труд

Проведени са мащабни проучвания в две много важни и актуални направления, а именно определяне на референтни интервали на редица основни биохимични, хематологични и хормонални параметри при значителен брой различни видове сладководни риби, които биха могли да бъдат използвани при оценка на хранителните режими, метаболитния профил, нивото на стрес и др. Още повече, че данните от литературата относно тези показатели са твърде ограничени и касаят преди всичко

соленоводни риби, което в значителна степен затруднява определянето на здравния статус на рибите, развъждани и отглеждани в сладководни басейни. На тази база, по второто направление са проведени широкообхватни изследвания при често отглеждани в стопански условия видове риби в България, касаещи проучване промените на биохимичния и хормоналния профил при различни въздействия – гладуване, добавка на симбиотици, интоксикации с нитрати и органофосфорни съединения, както и при бактериална, паразитна и гъбична инфекция и др.

По-долу в изложението си ще направя кратък анализ на информацията и получените резултати в проекта за дисертационния труд.

Литературен обзор, цел и задачи

Представеният литературен обзор е непосредствено свързан с целите и задачите на дисертационния труд и е достатъчно информативен по актуална и значима научна проблематика, свързана с биохимичните, хематологичните и физиологичните показатели при сладководни риби, отглеждани в условията на аквакултура. В тази връзка ще отбележа, че тематиката на обзора освен важна научна стойност, има и ясно изразена приложна насоченост тъй като съчетава аспекти от биохимията, физиологията, рибовъдството, ветеринарната медицина и екологичния мониторинг. Цитирани са 594 литературни източници, изключително на чужди автори, което демонстрира много добрата осведоменост на доц. Запрянова по тези въпроси и особено относно значението на биохимичните изследвания за оценка на здравния статус на рибите и за оптимизиране на производствените практики в аквакултурите. Много добро впечатление прави направеното подробно обобщение в края на обзора, в което са откритоена липсата на достатъчно информация по проблематиката на дисертационния труд, което дава една много добра мотивировка на целите и задачите и обосновава необходимостта от провеждането на изследванията

в дисертационния труд. Виждам, че авторът до голяма степен се е съобразил с бележките ми на разширения съвет на катедрата като успоредно с опиването на литературните данни е акцентирал и на анализа и критичния подход при поднасяне на информацията, а някои от съжденията са дадени в дискусията.

Поставената цел и задачи са адекватни, логично обосновани и произтичат пряко от литературния обзор. Целта е ясно формулирана и коригирана съобразно направените препоръки, с открояване на основната цел и второстепенните цели. Задачите са логични, конкретни и ясно дефинирани като изпълнението им гарантира постигането целите на дисертационния труд.

Материал и методи

Разделът „Материал и методи“ е адекватен спрямо поставената цел и задачи. Има добра логическа връзка между обекта на изследванията, приложените въздействия, кръвните показатели и използваните аналитични методи. Пручванията са проведени върху голям брой различни видове сладководни риби със стопанско значение. Впечатлена съм от огромния брой кръвни проби (над 12 220!), които са получени и анализирани. Използваните метододики са правилно подбрани и много добре описани, което гарантира постигане на целта и изпълнение на поставените задачи и позволява възпроизводимост на получените резултати. Описани в детайли са произхода и броя на включените в експериментите риби, условията на отглеждане, използваната апаратура за различните методи – биохимични, хематологични, молекулярни и хистологични.

Резултати

Разделът „Резултати“ е добре структуриран, като много важно място заема установяването на видово-специфични биохимични референтни интервали, което е основна предпоставка за точна оценка на здравословното състояние, диагностиката на заболявания и физиологичен мониторинг при рибите, отглеждани в аквакултури. При рибите стойностите на кръвните биохимични показатели се влияят от множество ендегенни и екзогенни фактори, включително вид, възраст, пол, репродуктивен статус, хранене, условия на околната среда, технология на отглеждане, стресови фактори, наличие на различни патогени – бактерии, гъбички, паразити и др. Поради това интерпретацията на лабораторните резултати изисква наличието на валидирани референтни интервали, съобразени с конкретния вид и производствените условия. Резултатите са на базата на дългосрочни и мащабни проучвания върху клинично значими хематологични, биохимични и хормонални показатели при сладководни риби със стопанско значение. За период от повече от десет години са анализирани общо внушителния брой от 12 210 кръвни проби от девет икономически важни вида сладководни риби, отглеждани при условията на българската аквакултура. Систематично са оценени приблизително тридесет хематологични, биохимични и ендокринни показатели с цел установяване на референтни интервали, приложими в рутинната ветеринарномедицинска диагностика, отглеждането, развъждането и управлението на аквакултурите.

Изследваните видове включват: шаран (*Cyprinus carpio*), дъгова пъстърва (*Oncorhynchus mykiss*), кафява пъстърва (*Salmo trutta fario*), сивен (*Salvelinus fontinalis*), руска есетра (*Acipenser gueldenstaedtii*), сибирска есетра (*Acipenser baerii*), хибрид между руска и сибирска есетра (*A. gueldenstaedtii* × *A. baerii*), африкански сом (*Clarias gariepinus*) и щука (*Esox lucius*).

Изследваните показатели включват серумни протеини, метаболити на азотната обмяна, показатели на липидния профил, ензимна активност, макроеlementи, стресови хормони, тиреоидни хормони, възпалителни маркери и хематологични показатели и индекси. Получените резултати демонстрират ясно изразена междувидова вариабилност в метаболитните, ендокринните и хематологичните профили, което подчертава необходимостта от видово-специфичен подход при интерпретацията на лабораторните изследвания.

Друга част от резултатите, на базата на така установените референтни интервали, включват определянето и използването на тези параметри вече с диагностична цел, след редица въздействия от неинфекциозен и инфекциозен характер.

Създадената база данни може да послужи като научна основа за бъдещи изследвания върху влиянието на храненето, факторите на околната среда, инфекциозните заболявания и технологиите на отглеждане върху физиологията и здравословното състояние на рибите.

Дискусия, изводи, приноси и препоръки

Като цяло разделът „Дискусия“ е добре структуриран и показва добра интеграция, критичност и аналитичност на собствените резултати в контекста на установените от други автори научни данни по тематиката на дисертационния труд. Добро впечатление прави избора от автора интегративен подход, който свързва физиологията и някои патологии при рибите с екологията, аквакултурата и различни стресови въздействия. Като много положителна страна на дискусията се откроява избраната логическа рамка, в която са представени и анализирани резултатите от собствените проучвания: за всеки биохимичен показател е направена връзка между физиологична роля, промени при различни експериментални условия (глад,

хранене, интоксикации, инфекции и др.) и сравнителен анализ с други автори. Това е силен научен подход, който показва добра ориентация в научната информация по темата и собствения принос на дисертанта. Много добро впечатление прави факта, че се комбинират биохимични параметри и други кръвни показатели с хистопатологичната находка, което в значителна степен подобрява интерпретацията на установените експерименталните данни. Като пример в това отношение бих посочила фосфоорганичната и нитратната интоксикация където интерпретациите са много убедителни и биологично логични именно защото биохимичните промени са подкрепени от морфологични доказателства, като този подход е приложен и при други параметри. Специално искам да отбележа важното място в дискусията на много добрата интерперетация на диагностичната стойност на някои острофазови протени (фибриноген, церулоплазмин, CRP) при приложените въздействия, тъй като данните от литературата за тях са твърде оскъдни и недобре проучени при рибите.

Друга силна страна на дискусията е извършеният мултифакторен анализ: разглеждат се и се обсъждат едновременно ефектите на хранителен режим, стрес, токсикологични фактори и инфекциозни агенти. Този подход създава една реалистична картина на сложната физиология при рибите отглеждани в условията на аквакултура.

Направените 9 извода са конкретни и непосредствено свързани с получените резултати. Високо оценявам направените приноси, които представят в синтезиран вид научната и научно-приложната стойност на постигнатото в дисертационния труд. Много висока оценка давам на оригиналните приноси, в които най-ярко се вижда водещата роля на дисертанта в проведените мащабни експерименти, тъй като както вече отбелязах данните от литературата относно биохимията, физиологията и хематологията при сладководните риби са много оскъдни

Не на последно място съм много впечатлена и от големия брой научни публикации, свързани с дисертационния труд – общо 26 бр., от които 7 са реферирани и индексирани в световната база данни Web of science, а останалите са в нереферирани списания с научно рецензиране. В голяма част от публикациите доц. Запрянова е на първо място, което е важен индикатор за личния принос и водещото ѝ място в замисъла и провеждането както на експериментите, така и в изследването и анализа на резултатите. В подкрепа на това са и внушителния брой участия (31 бр.) в научни конференции и конгреси у нас и в чужбина, отпечатани в специализирани научни издания с материалите от съответните форуми.

В заключение считам, че представеният от доц. Запрянова дисертационния труд за придобиване на научната степен „доктор на ветеринарномедицинските науки“ по структура и съдържание напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р България, Правилника за неговото приложение, както и на Правилника за развитие на академичния състав в Тракийския университет, вкл. и точките в Приложение Проведени са мащабни изследвания и са направени много важни и оригинални приноси, свързани с определяне на референтите интервали на голям брой биохимични, хематологични, хормонални параметри, които създават солидна база данни, които могат да бъдат използвани при оценка на здравния статус, хранителните режими и при диагностиката на инфекциозни и неинфекциозни заболявания и интоксикации при сладководни риби. Затова давам висока положителна оценка на постигнатото в дисертационния труд и убедено ще гласувам „За“ присъждане на научната степен „Доктор на ветеринарномедицинските науки“ на доц. д-р Димитринка Стойчева Запрянова от секция „Биохимия с

основи на клиничната биохимия“ на катедра „Фармакология, физиология на животните, биохимия и химия“ към ВМФ на ТрУ, Стара Загора.

11.09. 2026 г.

Стара Загора

Подпис:

1. 11.09.2026 г. 11.09.2026 г.
11.09.2026 г. 11.09.2026 г.
11.09.2026 г. 11.09.2026 г.
11.09.2026 г. 11.09.2026 г.

(Проф. д-р Теодора Мирчева, дмн)



REVIEW

by Prof. Teodora Mircheva Georgieva, DVM, PhD, DSc

concerning the dissertation entitled:

“Investigation of Changes in Basic Biochemical, Hematological and Hormonal Parameters under the Influence of Infectious and Non-Infectious Factors in Selected Freshwater Fish Species of Economic Importance”

submitted for the award of the academic degree “Doctor of Veterinary Sciences” by Assoc. Prof. Dimitrinka Stoycheva Zapryanova, DVM, PhD, Section “Biochemistry and Fundamentals of Clinical Biochemistry,” Department of Pharmacology, Animal Physiology, Biochemistry and Chemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora

Relevance of the Dissertation Topic

The dissertation submitted for my review comprises 330 pages and contains all the necessary sections in an appropriate and well-balanced structure. The dissertation and the accompanying materials and documents fully comply with the requirements for this type of scientific work stipulated by the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria Act, the Regulations for its implementation, as well as the Regulations for the Development of the Academic Staff at Trakia University, Stara Zagora.

The dissertation presents extensive research conducted in two highly important and topical areas. The first involves the determination of reference intervals for a range of major biochemical, hematological, and hormonal parameters in a considerable number of freshwater fish species. These reference values could be used for the assessment of nutritional status, metabolic profiles,

stress levels, and other physiological and health-related conditions. This is particularly important because the available literature data on these parameters are rather limited and concern predominantly marine fish, which considerably complicates the assessment of the health status of fish bred and reared in freshwater environments.

Building upon this basis, the second area encompasses comprehensive studies of fish species commonly reared under commercial conditions in Bulgaria, focusing on changes in their biochemical and hormonal profiles in response to various challenges, including fasting, dietary supplementation with synbiotics, nitrate and organophosphorus intoxication, as well as bacterial, parasitic, and fungal infections, among others. Below, I will provide a brief analysis of the information presented and the results obtained within the dissertation research.

Literature Review, Aim and Objectives

The literature review is directly related to the aim and objectives of the dissertation and provides sufficient and relevant information on a topical and scientifically significant research area concerning biochemical, hematological, and physiological parameters in freshwater fish reared under aquaculture conditions.

In this regard, I would like to emphasize that, in addition to its substantial scientific value, the topic of the literature review has a clearly defined applied dimension, as it integrates aspects of biochemistry, physiology, fish farming, veterinary medicine, and environmental monitoring.

A total of 594 references are cited, overwhelmingly from international authors, demonstrating Assoc. Prof. Zapryanova's excellent knowledge of the subject and, in particular, her understanding of the importance of biochemical

investigations for assessing fish health status and optimizing production practices in aquaculture.

The detailed summary at the end of the literature review is particularly noteworthy. It clearly highlights the insufficient information currently available on the issues addressed in the dissertation, thereby providing a strong rationale for the formulation of the aim and objectives and justifying the need for the research undertaken. I note that the author has largely taken into account the comments I made at the extended departmental council. In parallel with reviewing the published literature, she has placed greater emphasis on its analysis and critical interpretation, while some of the relevant considerations have been incorporated into the Discussion section.

The aim and objectives are appropriate, logically justified, and arise directly from the literature review. The aim is clearly formulated and has been revised in accordance with the recommendations made, with a clear distinction between the principal aim and the secondary aims. The objectives are logical, specific, and clearly defined, and their fulfillment ensures the achievement of the overall aims of the dissertation.

Materials and Methods

The "Materials and Methods" section is appropriate to the stated aim and objectives. There is a clear logical relationship between the study subjects, the experimental treatments, the blood parameters assessed, and the analytical methods employed. The investigations were conducted on a large number of different freshwater fish species of economic importance. I am particularly impressed by the exceptionally large number of blood samples obtained and analyzed (more than 12,220 samples!).

The methods employed have been appropriately selected and are described in considerable detail, ensuring that the aims and objectives can be achieved and allowing the obtained results to be reproduced. The origin and number of fish included in the experiments, the rearing conditions, and the equipment used for the different analytical approaches—including biochemical, hematological, molecular, and histological methods—are described in detail.

Results

The "Results" section is well structured. A particularly important component is the establishment of species-specific biochemical reference intervals, which represents a fundamental prerequisite for the accurate assessment of health status, disease diagnosis, and physiological monitoring of fish reared under aquaculture conditions. In fish, blood biochemical parameters are influenced by numerous endogenous and exogenous factors, including species, age, sex, reproductive status, nutrition, environmental conditions, rearing technology, stress factors, and the presence of various pathogens, including bacteria, fungi, and parasites. Therefore, the interpretation of laboratory results requires validated reference intervals that take into account the particular fish species and production conditions. The results are based on long-term and large-scale investigations of clinically relevant hematological, biochemical, and hormonal parameters in freshwater fish of economic importance. Over a period of more than ten years, an impressive total of 12,210 blood samples from nine economically important freshwater fish species reared under Bulgarian aquaculture conditions were analyzed. Approximately thirty hematological, biochemical, and endocrine parameters were systematically evaluated with the aim of establishing reference intervals applicable to routine veterinary diagnostics, fish farming, breeding, and aquaculture management.

The investigated species included common carp (*Cyprinus carpio*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), brown trout (*Salmo trutta fario*), brook trout (*Salvelinus fontinalis*), Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*), Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), the hybrid between Russian and Siberian sturgeon (*A. gueldenstaedtii* × *A. baerii*), African catfish (*Clarias gariepinus*), and northern pike (*Esox lucius*). The parameters investigated included serum proteins, nitrogen metabolism metabolites, lipid profile parameters, enzyme activities, macroelements, stress hormones, thyroid hormones, inflammatory markers, and hematological parameters and indices. The results clearly demonstrate substantial interspecific variability in metabolic, endocrine, and hematological profiles, emphasizing the need for a species-specific approach to the interpretation of laboratory findings. Another important part of the results, based on the reference intervals established, concerns the determination and subsequent diagnostic application of these parameters following a range of non-infectious and infectious challenges. The database generated through this research may provide a valuable scientific foundation for future studies investigating the effects of nutrition, environmental factors, infectious diseases, and rearing technologies on fish physiology and health status.

Discussion, Conclusions, Contributions and Recommendations

Overall, the "Discussion" section is well structured and demonstrates good integration, critical evaluation, and analytical interpretation of the author's own findings in the context of scientific data reported by other researchers in the field. The integrative approach adopted by the author is particularly commendable, as it links fish physiology and selected pathological conditions with ecology, aquaculture, and various stressors. A major strength of the Discussion is the logical framework used to present and analyze the results of the author's own investigations. For each biochemical parameter, the physiological role is considered in relation to changes observed under different experimental

conditions—including fasting, feeding, intoxication, infections, and others—and the findings are compared with those reported by other authors. This represents a strong scientific approach, demonstrating an excellent command of the relevant scientific literature and clearly highlighting the original contribution of the dissertation author. Another particularly positive aspect is the integration of biochemical parameters and other blood indices with histopathological findings, which substantially enhances the interpretation of the experimental data obtained.

As an example, I would point to the organophosphorus and nitrate intoxication experiments, where the interpretations are particularly convincing and biologically sound precisely because the biochemical changes are supported by morphological evidence. A similar approach has also been applied to other parameters.

I would particularly like to emphasize the important place given in the Discussion to the diagnostic value of several acute-phase proteins—fibrinogen, ceruloplasmin, and C-reactive protein (CRP)—under the experimental conditions investigated. This is of particular significance because the available literature data concerning these markers in fish are rather scarce and insufficiently studied. Another major strength of the Discussion is the use of a multifactorial analytical approach, in which the effects of dietary regimen, stress, toxicological factors, and infectious agents are considered and discussed simultaneously. This approach provides a more realistic picture of the complex physiological responses of fish reared under aquaculture conditions.

The conclusions are specific and directly related to the results obtained. I highly appreciate the contributions presented, which provide a concise synthesis of the scientific and applied significance of the findings achieved in the dissertation.

I particularly value the original contributions, in which the leading role of the dissertation author in the large-scale experimental studies is most clearly demonstrated. As already noted, the available literature concerning the biochemistry, physiology, and hematology of freshwater fish is relatively scarce. Last but not least, I am highly impressed by the large number of scientific publications arising from the dissertation research—26 publications in total, of which seven are indexed and abstracted in the Web of Science database, while the remainder have been published in non-indexed peer-reviewed scientific journals. In a substantial proportion of these publications, Assoc. Prof. Zapryanova is the first author, which is an important indicator of her personal contribution and leading role in the conception and implementation of the experiments, as well as in the investigation and analysis of the results. This is further supported by her impressive participation in 31 scientific conferences and congresses in Bulgaria and abroad, with contributions published in specialized scientific proceedings and journals associated with the respective events.

Conclusion

In conclusion, I consider that the dissertation submitted by Assoc. Prof. Zapryanova for the award of the academic degree **“Doctor of Veterinary Sciences”** fully complies, in terms of both structure and content, with the requirements of the **Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria Act**, the Regulations for its implementation, and the Regulations for the Development of the Academic Staff at Trakia University, including the relevant criteria specified in the Appendix. The dissertation presents extensive research and contains important and original scientific contributions related to the establishment of reference intervals for a large number of biochemical, hematological, and hormonal parameters. These findings provide a substantial database that can be applied in the assessment of health status and nutritional

regimes, as well as in the diagnosis of infectious and non-infectious diseases and intoxications in freshwater fish.

Therefore, I give a **strongly positive assessment** of the scientific achievements presented in the dissertation and **firmly support the awarding of the academic degree “Doctor of Veterinary Sciences” to Assoc. Prof. Dimitrinka Stoycheva Zapryanova, DVM, PhD, Section “Biochemistry and Fundamentals of Clinical Biochemistry,” Department of Pharmacology, Animal Physiology, Biochemistry and Chemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora.**

11.September,2026

Stara Zagora

Signature:

1. ~~Signature~~ of the assessor
~~Prof. Teodora Mircheva Georgieva~~
~~DVM, PhD, DSc~~

(Prof. Teodora Mircheva Georgieva, DVM, PhD, DSc)