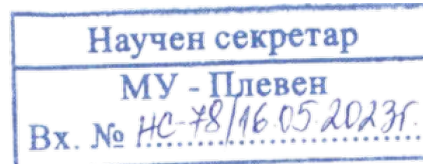


РЕЦЕНЗИЯ



от доц. д-р **Стефан Найденов Найденов, дм**
Клиника по пропедевтика на вътрешните болести
“Проф. д-р Ст. Киркович”, УМБАЛ “Александровска” ЕАД,
Медицински Университет – София

Относно: Дисертационен труд на тема „Анализ на клинично-лабораторните фактори в 9-годишната преживяемост на пациенти с остър коронарен синдром“ за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по професионално направление 7.1 „Медицина“ по докторска програма „Кардиология“ (шифър 03.01.47) на д-р **Кръстинка Иванова Донева-Башева**, лекар към кардиологично отделение, УМБАЛ „Проф. Ст. Киркович“, гр. Стара Загора.

Съгласно заповед №1047/28.03.2028 г. на Ректора на МУ-Плевен на основание ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ, чл. 2, ал. 2 и 3 от Правилника за развитие на академичния състав на МУ-Плевен и Решение на Академичния съвет (протокол №22 от 27.03.2023 г.).

Д-р **Кръстинка Донева-Башева** е родена на 20.10.1979 г. в гр. Нова Загора. Завършва Медицина с отличен успех през 2006 г. в Медицински факултет към Тракийски университет – Стара Загора. Придобива клинична специалност по Кардиология през 2012 г. През 2019 год. д-р Донева-Башева е зачислена за докторант на самостоятелна подготовка към МУ-Плевен.

Дисертационният труд включва общо 168 страници, от които: 1 заглавна страница; Списък на използваните съкращения и съдържание – 5 стр.; Въведение и литературен обзор - 35 стр.; Цел и задачи – 1 стр.; Материал и методи – 20 стр.; Резултати – 60 стр.; Обсъждане - 27 стр.; Изводи – 2 стр.; Приноси – 1 стр.; Литература – 16 стр. Дисертацията е онагледена с 40 фигури и графики, и 25 таблици.

Дисертационният труд като цяло е структуриран по класически начин с относително спазване на пропорциите между отделните му части според общоприетите у нас изисквания.

Актуалност на темата

Темата на дисертационния труд е актуална, както в теоретичен, така и в научно-практически аспект. За това твърдение имам следните основания:

1. Коронарната артериална болест (КАБ) е една от водещите причини за преждевременна смърт и инвалидизация в световен мащаб: според данни от епидемиологични проучвания 1/3 от всички смъртни случаи в страните от Европейския съюз се дължат на КАБ. Острите коронарни синдроми - нестабилна стенокардия (НАП), остър миокарден инфаркт (ОМИ) без ST-елевация (NSTEMI) и ОМИ с ST-елевация (STEMI) са сред клиничните форми на КАБ с най-голямо медицинско, социално и икономическо значение. В България всеки 6-ти мъж и всяка 7-ма жена умират от ОМИ, независимо от съвременните диагностични и терапевтични стратегии, и подобрените грижи за пациентите с остър коронарен инцидент.
2. Стратификацията на риска при пациентите с ОКС е важен етап от диагностично-терапевтичния процес. В клиничната практика са въведени редица алгоритми за оценка на рисковия профил, но поради изключителната хетерогенност на тази популация по отношение на придружаващите рискови фактори и заболявания, в част от случаите „класическите“ алгоритми подценяват, а в други случаи надценяват коронарния риск.
3. Лабораторните биомаркери за миокардна некроза (тропонини, креатин фосфокиназа – МВ-фракция), използвани за диагностика и стратификация на риска в острата фаза на ОКС имат сравнително ограничен прогностичен за дългосрочната прогноза (риск от повторни исхемични събития, смъртност, преживяемост, усложнения). Включването на допълнителни показатели (лабораторни и други) към алгоритмите за стратификация на риска би могло да прецизира диагностичния и терапевтичен подход при ОКС, особено при по-млади индивиди, пациенти от женски пол, коморбидни пациенти, пациенти с атипична симптоматика и др.
4. Все още не е ясно, какви са оптималните стратегии за постигане на най-добра интеграция на диагностичните тестове и алгоритмите за оценка на риска при ОКС с пациентските грижи по критериите за клиничен изход и необходими здравни ресурси. Не е уточнено дали рисковата стратификация на пациенти с нестабилна стенокардия и NSTEMI на базата на многовариантни модели на рискова предикция подобрява клиничния изход.

Познаване на проблема

От литературния обзор се вижда, че д-р Кръстинка Донева-Башева се е запознала задълбочено с наличната литература по въпроса. Описани са подробно етиологията и патогенезата на атеросклеротичната съдова болест, класификацията, клиничните форми, инструменталните и лабораторни изследвания при КАБ,

включително при пациенти с ОКС, както и актуалните алгоритми за стратификация на коронарния риск. Според представените данни, някои нови биомаркери, като серумна параоксоназа-1 (PON1) и арилестераза вероятно имат отношение към риска от развитие на КАБ, но тяхната диагностичната стойност и прогностичен потенциал са все още слабо проучени. Този факт обосновава и смисъла на проучването на д-р Кръстинка Донева-Башева.

Оформянето на целта и задачите произтича от изводите от литературния обзор. Д-р Кръстинка Донева-Башева е формулирала 7 основни задачи.

Материалът и методите дават пълно основание да се вярва на получените резултати. Д-р Кръстинка Донева-Башева е формулирала ясно и точно включващите и изключващи критерии за своето проучване. Диагнозата „Остър коронарен синдром“ е поставена съгласно актуалните препоръки на Европейското дружество по кардиология. В анализа са включени общо 172 пациенти с ОКС (от тях 96 мъже, 55,8%), хоспитализирани в УМБАЛ в гр. Стара Загора и СБАЛК-Ямбол за периода 01.2009 г. до 02.2010 г. В зависимост от клиничната форма на ОКС и резултатите от инструменталните, и лабораторни изследвания, пациентите са разделени в 3 подгрупи: пациенти със STEMI, NSTEMI или НАП. За целите на проучването е включена и контролна група от 26 здрави доброволци. От пациентите с ОКС 103 (59,9%) са били със STEMI, 44 (25,6%) - с NSTEMI, а при останалите е диагностицирана нестабилна стенокардия (НАП).

При всички пациенти е снета подробна анамнеза, извършен е обстоен физикален преглед, проучена е наличната медицинска документация. Анализирани са различни демографски, социални, клинични, фармакотерапевтични, лабораторни и инструментални показатели, включително серумна параоксоназна и арилестеразна активност на PON1, и разпространение на полиморфния вариант L55M PON1. Показателите на трите подгрупи пациенти с ОКС са сравнени помежду си и с показателите на контролната група здрави доброволци. След дехоспитализацията пациенти са проследени чрез телефонна анкета в края на 1-ия месец, 1-ва, 5-та и 9-та година.

Направена е съвременна статистическа обработка на резултатите чрез прилагане на методи от дескриптивната статистика, методи за проверка на хипотези, корелационен и регресионен анализ, анализ на преживяемостта и др. Статистическа значимост е приета при $p < 0,05$. Променливите, представляващи клиничен интерес са включени в прогностичен модел, свързан с едногодишната, петгодишна и деветгодишна преживяемост след ОКС.

Характеристика на резултатите и обсъждането:

Най-важните резултати от дисертационния труд на д-р Кръстинка Донева-Башева според мен са следните:

1. Уточнен е клиничният профил на българска популация пациенти с ОКС: представени са данни за демографските характеристики, придружаващи рискови фактори и заболявания, инструментални и лабораторни изследвания, и терапевтично поведение;
2. Уточнен е времевият интервал от началото на симптоматиката до първия контакт с медицинско лице. Според представените резултати преобладаващата част (>55%) от пациентите със STEMI в проучването търсят медицинска помощ >24 ч. след началото на симптоматиката, т.е. забавянето на медицинската помощ се реализира главно на ниво доболнична помощ и е свързано преди всичко с причини от страна на пациента.
3. Представени са данни за едногодишната, пет и деветгодишна преживяемост на пациентите с ОКС. Според резултатите от анализа смъртността на деветата година сред анализираната популация пациентите с ОКС достига до 39%, което има важно медицинско, социално и икономическо значение. Интересен и важен от клинична гледна точка е и фактът, че преживяемостта при пациентите със STEMI през първите 4 год. след дехоспитализацията е по-висока спрямо NSTEMI, след което кривите на преживяемост конвергират и се пресичат около осмата година след острия коронарен инцидент.
5. Изследвани са и са уточнени серумната параоксоназна и арилестеразна активност на PON1, и полиморфизмът на PON L55M сред българска популация пациенти с ОКС и здрави доброволци. Резултатите от проучването показват, че концентрацията и активността на PON1 е много вариабилна сред човешката популация. Качеството и количеството на ензима в серума оказват влияние върху риска от атеросклеротично заболяване.
6. Установено е, че вариантният М алел на L55M SNP в PON1 гена се явява рисков фактор за ОКС, което авторът на дисертацията обяснява с понижена концентрацията на ензима в серума на пациентите. Уточнено е също, че хетерозиготният генотип (LM) и генотипите с вариант М алел (LM+MM) са свързани с 2,5 пъти по-висок риск от ОКС.
7. Генотипът PON1 55MG и генотипите с вариантен алел М са предразполагащи фактори за STEMI, но не и за NSTEMI и НАП. Установена е по-добра дългосрочна прогноза на пациентите с LL генотип в сравнение с LM или MM генотипове, особено за пациенти с NSTEMI.

8. Резултатите от мултивариантния Соx-регресионен анализ, потвърждават като единствени независими и значими рискови фактори за неблагоприятен изход в края на 1-вата година от ОКС факторите кардиогенен шок и AV-блок; За 5-годишния период на проследяване такива фактори са отново кардиогенен шок и AV-блок, както и триклонова КАБ, а за 9-годишен период – предишен миокарден инфаркт и развитие на ОЛСН IV функционален клас по Killip. Резултатите са подходящо онагледени със 32 фигури и 17 таблици. Библиографската справка съдържа 203 литературни източници на английски език.

Д-р Кръстинка Донева-Башева има 3 публикации във връзка с дисертационния труд, от тях 1 статия в списание с ISI импакт-фактор. И в трите статии д-р Донева-Башева е първи автор. Резултатите от научната разработка са представени с доклади и постери на 1 международен и 3 национални научни форума. Д-р Кръстинка Донева-Башева има участие и в 1 научен проект, свързан с темата на дисертацията.

Съгласен съм с естеството на изведените от докторанта приноси на дисертационния труд.

Забележки:

1. Препоръчвам следното подреждане на текста в заглавната страница:
 - Най-отгоре - институцията, в която е разработен дисертационния труд и към която докторантът защитава своята дисертация;
 - Тема на дисертацията (с главни букви) „.....“;
 - Име на докторанта;
 - Дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ по професионално направление 7.1 „Медицина“, научна специалност „Кардиология“ (03.01.47)
 - Научни ръководители
 - Официални рецензенти
 - Плевен, 2023 г.
2. Съдържанието да бъде преместено преди списъка с използвани съкращения; Към съдържанието да се добави и „Списък на използвани съкращения“.
3. Препоръчвам много внимателен прочит на дисертационния труд от докторанта и коригиране на всички правописни, граматични и стилистични грешки, а също и двустранно подравняване на текста.
4. Препоръчвам коригиране на следните съкращения: ACE-и (или ACE-и) за инхибитор на ангиотензин-конвертиращия ензим вместо ACE-инхибитор; АН за артериално

налягане вместо едновременно използване на АН и АКН; Калциев антагонист – КА вместо СА антагонист.

5. Съкращенията са упоменати в „Списък на използваните съкращения“ - не е необходимо същите да се уточняват отново и в самия дисертационен труд; В българската литература не е прието изреченията да започват със съкращение - думите трябва да се изписват напълно.
6. Препоръчвам заглавието на раздела „Собствени резултати от проучването“ в „Съдържание“ да бъде променено на „Резултати“; В дисертационния труд „Резултати от проучването“ също да бъде само „Резултати“.
7. Думата „Глава“ при обозначаване на нов раздел е излишна - може да се остави само римската цифра, например „I. Литературен обзор“
8. В „Съдържание“ подзаглавието „I.1.3. Обобщение и дефиниране на проблема“ се различава от съответното му подзаглавие в литературния обзор, което е „3. Изводи и дефиниране на проблема“. Препоръчвам и на двете места подзаглавието да бъде формулирано като „Изводи от литературния обзор“.
9. Желателно е цифрите/числата на страниците в „Съдържание“ да бъдат подравнени за по-голяма прегледност.
10. Препоръчвам „Използвани източници“ да се замени с „Библиография“, „Литература“ или „Книгопис“.
11. Препоръчвам в литературния обзор след „1.7.1. Система за оценка на общият коронарен риск в популацията“ да се добави заглавие „Нови лабораторни биомаркери за сърдечносъдов риск“ (или подобно заглавие) и след това подзаглавие „Параоксонази и сърдечносъдови заболявания“.
12. На много места в литературния обзор и в обсъждането липсват референции. Номерата на цитираните референции трябва да се поставят в края на изречението. Не е желателно в едно изречение да се цитират повече от 3-4 непоредни референции. Цитати с поредни номера, ако са >2, се представят разделени с дефис (малко тире), например (1-3). В този случай може да се цитират и повече източници, например (1-6, 12, 17). В „Обсъждане“ цитираните референции да се разделят със запетая, а не точка.
13. Изводите от литературния обзор трябва да бъдат изведени като отделни подточки, които да показват, че докторантът критично е анализирал наличната литература/известните данни до момента и е наясно с решените и нерешени въпроси по тематиката, върху която работи.
14. Надписите във фигурите трябва да бъдат преведени на български език. В легендата на някои фигури не е посочен източника, от който са взети.

15. В „Цел и задачи“ препоръчвам броят на задачите да се намали до 4-5. Задачи 2, 3 и 4 могат да бъдат обединени/обобщени в една задача.
16. Предлагам „Материал и методи“ да бъде структуриран по следния (примерен) начин:
1. Клиничен контингент – демографска и клинична характеристика на пациентите. Тук може да се посочат „включващи“ и „изключващи“ критерии.
 2. Инструментални изследвания.
 - 2.1
 - 2.2.
 - 2.3.
 3. Лабораторни изследвания.
 - 3.1
 - 3.2.
 - 3.3..... и т.н.
 4. Статистически анализ...
17. Препоръчвам още в самото начало на „Материал и методи“ да се посочи общия брой на включените в проучването пациенти, разпределението жени/мъже (брой и %), средна възраст \pm SD (миним. – максим. възраст) год. на общата пациентска популация и на жените, и мъжете поотделно, р-стойност за статистическа значимост на наблюдаваните разлики.
18. С цел по-голяма прегледност на резултатите и по-лесно сравнение, препоръчвам изходните демографски характеристики на трите подгрупи + контролната група да бъдат представени в една обща таблица (при необходимост – в 2 по-малки таблици) в началото на „Резултати“, задължително с представяне на р-стойността след показателите, които се сравняват.
19. Включващи критерии: 2-рият и 3-тият критерий могат да се обединят, а за 4-тия да се уточни, които европейски ръководства има предвид докторанта (вероятно Препоръки на ESC 2020 за NSTEMI, 2017 за STEMI и евентуално 2018 за „Четвърта универсална дефиниция на миокардния инфаркт“. Препоръчвам фразата „Включването на пациентите бе на случаен принцип...“ да бъде променена на „Включени са последователно 172 пациенти с ОКС, отговарящи на включващите за проучването критерии и без изключващи такива.“
20. За да се избегне ефекта на „замъгляване“ от придружаващи независими рискови фактори/заболявания, които биха могли да повлияят резултатите от изследванията е желателно контролната група да има сходни демографски (пол и възраст), антропометрични (ръст, тегло, и др.) и клинични характеристики (рискови фактори,

придружаващи/минали заболявания), и да се различава само по променливите, чийто ефект върху даден(и) показател(и) ще се анализира.

21. Препоръчвам да се проверят отново резултатите от логистичния регресионен анализ в таблица 22: според представените данни ФИ >50% при ОКС предопределя 5,4 пъти по-голяма смъртност спрямо ФИ <40%; пациентите с НАП имат 4,3 пъти по-голяма смъртност спрямо STEMI; СГФ 60-90 ml/min. е свързана с 5,3 пъти по-голяма смъртност спрямо СГФ <60 ml/min.
22. Таблицата на стр. 61 с формулата за изчисляване на отношението на разликите не е номерирана и липсва легенда; Не е необходимо подробно теоретично представяне на използваните статистически методи - тази информация е известна и достъпна. Достатъчно е докторантът да посочи приложените статистически методи, като за всеки от тях уточни накратко с каква цел е бил използван.
23. Препоръчвам таблиците, които обхващат повече от 1 страница да бъдат разделени на отделни, по-малки таблици, които да бъдат номерирани с подточки напр. „Таблица 11a, 11b, 11c...”.
24. В таблици 7, 8, 11, и 17, и фигури 10, 11, 13, 14, 16, 17, 20, 22 и 27 няма представена р-стойност, която да показва, дали наблюдаваните разлики са статистически значими.
25. Препоръчвам данните във фиг. 21 да бъдат представени като % вместо като брой. Да се представи и р-стойността.
26. В таблици 17, 18, 19 и 20 думата „непреживели“ може да бъде заменена от „починали“, а „преживели“ с „живи“.
27. В „Обсъждане“ - Европейското кардиологично дружество също разделя ОКС на STEMI, NSTEMI и нестабилна стенокардия подобно на Американската сърдечна асоциация.
28. Препоръчвам в „Обсъждане“ да се премахнат фразите „Задачи 1 и 2“, „Задача 3“ (която пък е позиционирана след „Задача 4“).
29. Препоръчвам преработване на изводите след обсъждането, особено на 2, 3, 4 и 5, така че да са съответни на поставените цел и задачи (да обобщават най-важните резултати от дисертационния труд съобразно поставените цел и задачи).
30. В библиографията няма заглавия от български автори на кирилица - у нас има немалко публикации на тема „Коронарна артериална болест“.
31. Препоръчвам редактиране и обобщаване на оригиналните приноси – първите 4 могат да се обобщят в 1-2. За потвърдителните приноси също е необходима известна стилистична редакция, особено на първите два.

32. След „Библиография“ да се добавят „Публикации, свързани с дисертационния труд“, „Участие в научни събития (форуми)“, „Участие в научни проекти“. Същите да се отразят и в „Съдържание“.

Тези забележки имат препоръчителен характер и не намаляват явните достойнства на дисертационния труд.

Заключение:

Особено ценни са следните приноси на дисертационния труд:

(1) Проведеното от д-р Донева-Башева проучване, върху което е базиран дисертационния труд, е първото у нас, което проследява и уточнява дългосрочната (9 годишна) преживяемост и смъртност при пациенти с ОКС. Уточнени са различни демографски, клинични и инструментални характеристики при тези пациенти, на базата на които е създаден прогностичен модел за оценка на посочените показатели.

(2) За първи път в България се изследва и уточнява серумната параоксоназна и арилестеразна активност на PON1, и разпространението полиморфния вариант L55M PON1 сред български пациенти с КАБ и здрави контроли, и се оценява ролята на тези показатели в патогенезата на ОКС.

(3) Предложеният от д-р Донева-Башева деветгодишен прогностичен модел, оценяващ показателите преживяемост и смъртност при пациенти с преживян ОКС би могъл да намери приложение в клиничната практика за прецизиране на коронарния риск и оптимизиране на дългосрочното терапевтично поведение при тези пациенти.

Това ми дава основание да **гласувам с положителен вот** за присъждане на образователна и научна степен “Доктор” по научна специалност 03.01.47 “Кардиология” на **д-р Кръстинка Иванова Донева-Башева**.

10.05.2023 г.

Подпис: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

доц. д-р Стефан Найденов, дм

REVIEW

By Assoc. Prof. Dr. Stefan Naydenov Naydenov, M.D.

Department of Propaedeutics of Internal Medicine

“Prof. Dr. St. Kirkovich”, Aleksandrovska Hospital EAD,

Medical University - Sofia

Regarding: Dissertation on “**Analysis of clinical and laboratory factors in the 9-year survival of patients with acute coronary syndrome**” for awarding the Educational and Scientific Degree “**Doctor**” in 7.1 “Medicine” under the doctoral program of “Cardiology” (code 03.01.47) **to Dr. Krastinka Ivanova Doneva-Basheva**, doctor in the Cardiology Department, UMBAL “Kirkovich”, Stara Zagora.

Pursuant to order No. 1047/28.03.2028 of the Rector of the Medical University-Pleven, based on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria Act, Implementing Regulation on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria Act, Art. 2, Para. 2 and 3 of the Academic Staff Development Rule of MU-Pleven and Decision of the Academic Council (Proceeding No. 22 of 27.03.2023).

Dr. Krastinka Doneva-Basheva is born on October 20th, 1979 in Nova Zagora. She graduated Medicine with honors in 2006 from the Medical Faculty at Trakia University - Stara Zagora. She obtained a clinical specialization in Cardiology in 2012 r. In 2019 Dr. Doneva-Basheva was enrolled as a PhD student in an independent training program in MU-Pleven.

The dissertation consists of 168 pages in total of which: 1 cover page; List of used abbreviations and table of content – 5 pages; Introduction and literature review - 35 pages.; Goals and tasks - 1 page; Materials and methods - 20 pages; Results - 60 pages; Consideration - 27 pages; Conclusions - 2 pages; Contributions – 1 page; Bibliography - 16 pages. The dissertation is illustrated by 40 figures and graphics, and 25 tables.

Overall, the dissertation has a classical structure preserving relatively the proportions between the separate parts according to the generally accepted requirements.

Topicality

The dissertation topic is current both in theoretical and in scientific practical aspect. For this statement, I have the following grounds:

1. Coronary artery disease (CAD) is one of the leading causes of premature death and disability on a global scale: according to epidemiological studies, 1/3 of all deaths in European Union countries are attributed to coronary artery disease (CAD). Acute coronary syndromes - unstable angina pectoris (UA), non-ST elevation myocardial infarction (NSTEMI), and ST-elevation myocardial infarction (STEMI) are among the clinical forms of coronary artery disease (CAD) with the greatest medical, social, and economic significance. In Bulgaria, България, every sixth man and every seventh woman die from myocardial infarction (MI), regardless of modern diagnostic and therapeutic strategies, and improved care for patients with acute coronary events.
2. Risk stratification in patients with acute coronary syndrome (ACS) is an important step in the diagnostic and therapeutic process. In clinical practice, a number of algorithms have been introduced to assess the risk profile. However, due to the exceptional heterogeneity of this population in terms of accompanying risk factors and conditions, in some cases, the "classic" algorithms underestimate coronary risk, while in others, they overestimate it.
3. Laboratory biomarkers for myocardial necrosis (troponins, creatine phosphokinase-MB fraction) used for diagnosis and risk stratification in the acute phase of acute coronary syndromes have relatively limited prognostic value for long-term outcomes (risk of recurrent ischemic events, mortality, survival, complications). Including additional indicators (laboratory and others) into risk stratification algorithms could potentially enhance the diagnostic and therapeutic approach for acute coronary syndrome (ACS), particularly in younger individuals, female patients, patients with comorbidities, patients with atypical symptoms, and others.
4. The optimal strategies for achieving the best integration of diagnostic tests and risk assessment algorithms for acute coronary syndrome (ACS) with patient care, based on clinical outcomes and required healthcare resources, are still not fully established. It has not been specified whether risk stratification of patients with unstable angina and NSTEMI based on multivariate risk prediction models improves clinical outcomes.

Knowledge base

It is evident from the literature review that Dr. Krastinka Doneva-Basheva has thoroughly reviewed the available literature on the subject. The etiology and pathogenesis of atherosclerotic vascular disease, classification, clinical forms, instrumental and laboratory investigations in coronary artery disease (CAD), including in patients with acute coronary syndrome (ACS), as well as current algorithms for coronary risk stratification, have been described in detail. According to the presented data, some new biomarkers such as serum paraoxonase-1 (PON1) and arylesterase likely have relevance to the risk of developing CAD,

but their diagnostic value and prognostic potential are still poorly studied. This fact justifies the significance of further research in the field of Dr. Krastinka Doneva-Basheva.

The formulation of the objective and tasks stems from the literature review. Dr. Krastinka Doneva-Basheva has formulated 7 main tasks.

The materials and the methods provide a solid basis to believe in the obtained results. Dr. Krastinka Doneva-Basheva has formulated clearly and precisely the inclusive and exclusive criteria for her study. The diagnosis of "Acute Coronary Syndrome" has been made in accordance with the current recommendations of the European Society of Cardiology. A total of 172 patients with Acute Coronary Syndrome were included in the analysis (of which 96 men, accounting for 55.8%). They were hospitalized in UMBAL Stara Zagora and SBALK-Yambol during the period January 2009 to February 2010. Depending on the clinical form of Acute Coronary Syndrome (ACS) and the results of instrumental and laboratory investigations, the patients were divided into three subgroups: patients with ST-elevation myocardial infarction (STEMI), non-ST elevation myocardial infarction (NSTEMI), or unstable angina pectoris (UAP). For the purposes of the study, a control group of 26 healthy volunteers was included. Out of the patients with Acute Coronary Syndrome (ACS), 103 (59.9%) were diagnosed with ST-elevation myocardial infarction (STEMI), 44 (25.6%) with non-ST elevation myocardial infarction (NSTEMI), and the remaining patients were diagnosed with unstable angina pectoris (UAP).

For all patients, a detailed medical history was obtained, a thorough physical examination was performed, and the available medical documentation was reviewed. Various demographic, social, clinical, pharmacotherapeutic, laboratory, and instrumental parameters were analyzed, including serum paraoxonase and arylesterase activity of PON1, as well as the distribution of the polymorphic variant L55M PON1. The parameters of the three subgroups of ACS patients were compared among themselves and with the parameters of the control group of healthy volunteers. Following hospital discharge, the patients were followed up through a telephone survey at the end of the 1st month, 1st, 5th, and 9th year.

The results were subjected to contemporary statistical analysis using methods from descriptive statistics, hypothesis testing, correlation and regression analysis, survival analysis, and others. Statistical significance was considered at $p < 0.05$. Variables of clinical interest were included in a prognostic model related to one-year, five-year, and nine-year survival after ACS.

Characterization of the results and discussion:

In my opinion, the most important results of the dissertation of Dr. Krastinka Doneva-Basheva are the following:

1. The clinical profile of the Bulgarian population of patients with Acute Coronary Syndrome (ACS) has been specified. Data regarding demographic characteristics, associated risk factors and comorbidities, instrumental and laboratory investigations, and therapeutic approaches have been presented;
2. The time interval from symptom onset to the first contact with medical personnel has been specified. According to the presented results, the majority (>55%) of patients with STEMI in the study seek medical assistance more than 24 hours after the onset of symptoms. This delay in seeking medical help primarily occurs at the prehospital level and is primarily associated with patient-related factors.
3. Data on one-year, five-year, and nine-year survival rates of patients with ACS have been presented. According to the results of the analysis, the mortality rate at the ninth year among the analyzed population of ACS patients reaches 39%, which holds significant medical, social, and economic implications. From a clinical perspective, an interesting and important finding is that the survival rate in patients with STEMI during the first four years after hospital discharge is higher compared to NSTEMI, after which the survival curves converge and intersect around the eighth year following the acute coronary event.
5. The serum paraoxonase and arylesterase activity of PON1, as well as the polymorphism of PON L55M, have been investigated and clarified among the Bulgarian population of patients with ACS and healthy volunteers. The results of the study show that the concentration and activity of PON1 are highly variable within the human population. The quality and quantity of the enzyme in the serum have an impact on the risk of atherosclerotic disease.
6. It is determined that the variant M allele of L55M SNP in the PON1 gene is a risk factor for ACS, which is explained by the author of the dissertation with the decreased concentration of the enzyme in the serum of the patients. It has also been specified that the heterozygous genotype (LM) and the genotypes with variant M allele (LM+MM) are related with 2.5 times higher risk of ACS.
7. The genotype PON1 55MG and the genotypes with variant M allele are predisposing factors for STEMI, but not for NSTEMI and UAP. A better long-term prognosis has been observed in patients with the LL genotype compared to the LM or MM genotypes, particularly for patients with NSTEMI.
8. The results of the multivariate Cox regression analysis confirm that the only independent and significant risk factors for an adverse outcome at the end of the first year of ACS (acute coronary syndrome) are cardiogenic shock and AV block. For the 5-year follow-up period, these factors remain cardiogenic shock and AV block, along with triple-vessel coronary

artery disease (CAD). For the 9-year follow-up period, previous myocardial infarction, and the development of congestive heart failure (Killip IV functional class) are also identified as significant factors. The results are illustrated accordingly with 32 figures and 17 tables. The bibliography contains 203 literary sources in English language.

Dr. Krastinka Doneva-Basheva has 3 publications in relation to the dissertation, of which 1 article in journal with an ISI impact factor. In the three articles Dr. Doneva-Basheva is the first author. The results for the scientific research are presented with reports and posters in 1 international and 3 national scientific forums. Dr. Krastinka Doneva-Basheva has participated in 1 scientific project related to the subject of the dissertation.

I agree with the nature of the contributions made by the doctoral candidate in the dissertation work.

Remarks:

1. I recommend the following alignment of the text on the cover page:
 - On top – the institution in which has been developed the dissertation and at which the postgraduate will defend the dissertation.
 - Topic of the dissertation (caps lock) “.....”.
 - Name of the postgraduate.
 - Dissertation for obtaining the Educational and Scientific Degree “Doctor” in the professional fields of 7.1 “Medicine”, scientific specialty “Cardiology” (03.01.47)
 - Scientific supervisors
 - Official reviewers
 - Pleven, 2023
2. The table of contents to be moved before the list of used abbreviations; the “List of used abbreviations” to be added to the table of contents.
3. I recommend a thorough reading of the dissertation by the postgraduate student and correction of all spelling, grammar, and stylistic errors, as well as “Justify” alignment of the text.
4. I recommend correction of the following abbreviations: ACE-i (or АКЕ-и) for inhibitor of angiotensin-converting enzyme instead of АЦЕ-инхибитор; АН for arterial pressure instead of using both АН and АКН; Calcium channel blocker – СА instead of СА channel blocker.
5. The abbreviations are mentioned in the "List of Abbreviations Used" - there is no need to specify them again within the dissertation itself. In Bulgarian literature, it is not accepted for sentences to begin with an abbreviation - words should be written out in full.

6. I recommend changing the title of the section "Own Research Results" in the "Table of Contents" to "Results"; In the dissertation work, "Results of the Study" should also be changed to just "Results".
7. The word "Chapter" when indicating a new section is unnecessary - only the Roman numeral can be used, for example, "I. Literature Review".
8. In the "Table of Contents," the subheading "I.1.3. Summary and Problem Definition" differs from its corresponding subheading in the literature review, which is "3. Conclusions and Problem Definition." I recommend formulating the subheading in both places as "Conclusions from the Literature Review."
9. It is desirable to align the page numbers in the "Table of Contents" for better readability.
10. I recommend replacing "Използвани източници" with "Библиография," "Литература," or "Книгопис" for consistency and clarity.
11. I recommend adding a heading, such as "New Laboratory Biomarkers for Cardiovascular Risk," after "1.7.1. System for Assessing Overall Coronary Risk in the Population," in the literature review. Following that, a subheading like "Paraoxonases and Cardiovascular Diseases" could be included.
12. In many places in the literature review and discussion, references are missing. The citation numbers should be placed at the end of the sentence. It is not desirable to cite more than 3-4 consecutive references in a single sentence. Sequential citations with consecutive numbers, if they exceed 2, should be presented separated by a hyphen (en-dash), for example, (1-3). In this case, more sources can be cited, for example, (1-6, 12, 17). In the "Discussion" section, cited references should be separated by commas, not periods.
13. The conclusions from the literature review should be presented as separate sub-points, indicating that the doctoral candidate has critically analyzed the available literature/existing data and is aware of the resolved and unresolved questions within the topic they are working on.
14. The captions in the figures should be translated into Bulgarian. In the legend of some figures, the source from which they were taken is not indicated.
15. In the "Goal and Tasks" section, I recommend reducing the number of tasks to 4-5. Tasks 2, 3, and 4 can be combined/summarized into a single task.
16. I propose that the "Materials and Methods" section be structured in the following (example) way:
 1. Clinical contingent – demographic and clinical characteristics of the patients. Inclusive and exclusive criteria can be indicated here.
 2. Instrumental studies.
 - 2.1

2.2.

2.3.

3. Laboratory researches.

3.1

3.2.

3.3..... *etc.*

4. Statistical analysis...

17. I recommend that at the very beginning of the "Materials and Methods" section, the total number of patients included in the study should be stated, along with the distribution of females/males (number and %), mean age \pm SD (minimum - maximum age) in years for the overall patient population, as well as for females and males separately. Additionally, the p-value for statistical significance of observed differences should be provided.
18. In order to enhance clarity of the results and facilitate easier comparison, I recommend that the baseline demographic characteristics of the three subgroups + control group be presented in a single comprehensive table (or two smaller tables if necessary) at the beginning of the "Results" section. It is important to include the p-value alongside the variables being compared.
19. Inclusive criteria: 2nd and 3rd criterion can be merged, and for the 4th must be specified which European guidelines the postgraduate takes into consideration (probably Recommendations of ESC 2020 for NSTEMI, 2017 for STEMI and eventually 2018 for "Fourth universal definition of myocardial infarction"). I recommend the phrase "Включването на пациентите бе на случаен принцип..." to be changed to "Включени са последователно 172 пациенти с ОКС, отговарящи на включващите за проучването критерии и без изключващи такива."
20. To avoid the confounding effect of accompanying independent risk factors/diseases that could influence the study results, it is desirable for the control group to have similar demographic (gender and age), anthropometric (height, weight, etc.), and clinical characteristics (risk factors, past diseases), and to differ only in the variables whose effect on a given indicator(s) will be analyzed.
21. I recommend rechecking the results of the logistic regression analysis in Table 22. According to the presented data, FI>50% in ACS predisposes 5.4 times higher mortality compared to an FI<40%. Patients with UAP have a 4.3 times higher mortality compared to those with STEMI. Additionally, GFR of 60-90 ml/min is associated with a 5.3 times higher mortality compared to a GFR<60 ml/min.
22. The table on page 61, containing the formula for calculating the ratio of differences, is not numbered and lacks a legend. A detailed theoretical presentation of the statistical methods

used is not necessary as this information is already known and accessible. It is sufficient for the postgraduate to indicate the applied statistical methods and briefly specify the purpose for which each method was used.

23. I recommend splitting the tables that span more than one page into separate, smaller tables. These smaller tables should be numbered with subscripts, such as. “Таблица 11а, 11б, 11с...”.
24. In tables 7, 8, 11, and 17, and figures 10, 11, 13, 14, 16, 17, 20, 22 and 27 there is no presented p-value, showing whether the observed differences are significant or not.
25. I recommend presenting the data in Figure 21 as percentages instead of counts. Additionally, please include the p-value in the figure.
26. In table 17, 18, 19 and 20 the word “непреживели” can be replaced with “починали”, and “преживели” with “живи”.
27. In “Discussion” - The European Society of Cardiology also classifies acute coronary syndrome (ACS) into ST-elevation myocardial infarction (STEMI), non-ST elevation myocardial infarction (NSTEMI), and unstable angina, similar to the American Heart Association.
28. I recommend removing the phrases "Task 1 and 2" and "Task 3" (which is positioned after "Task 4") from the "Discussion" section.
29. I recommend revising the conclusions following the discussion, particularly those related to 2, 3, 4, and 5, so that they align with the stated objectives and tasks of the dissertation. The revised conclusions should summarize the most significant findings of the research work in accordance with the defined objectives and tasks.
30. In the bibliography, there are no titles by Bulgarian authors in Cyrillic script. There are quite a few publications in Bulgaria on the topic of "Coronary Artery Disease."
31. I recommend editing and summarizing the original contributions, particularly consolidating the first four into 1-2 contributions. The affirmative contributions also require some stylistic editing, especially the first two.
32. After the "Bibliography," add sections for "Publications Related to the Dissertation Work," "Participation in Scientific Events (Forums)," and "Participation in Scientific Projects." These sections should also be reflected in the "Table of Contents."

These suggestions are of a recommendatory nature and do not diminish the evident merits of the dissertation work.

Conclusion:

The following contributions of the dissertation work are particularly valuable:

(1) The conducted by Dr. Doneva-Basheva study, on which the dissertation work is based, is the first of its kind in our country to investigate and refine the long-term (9-year) survival and mortality in patients with acute coronary syndrome (ACS). Various demographic, clinical, and instrumental characteristics of these patients have been specified, upon which a prognostic model for assessing the mentioned indicators has been developed.

(2) For the first time in Bulgaria, the serum paraoxonase and arylesterase activity of PON1 and the distribution of the polymorphic variant L55M PON1 among Bulgarian patients with coronary artery disease (CAD) and healthy controls are investigated and specified. The role of these indicators in the pathogenesis of ACS is evaluated.

(3) The proposed by Dr. Doneva-Basheva nine-year prognostic model, assessing the indicators of survival and mortality in patients with a history of ACS, could find application in clinical practice for refining coronary risk assessment and optimizing long-term therapeutic management in these patients.

This gives me grounds to vote in favor of awarding the educational and scientific degree of "Doctor" in the scientific specialty of 03.01.47 "Cardiology" to **Dr. Krastinka Ivanova Doneva-Basheva**.

10.05.2023

Signature: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

Assoc. Prof. Dr. Stefan Naydenov, M.D.