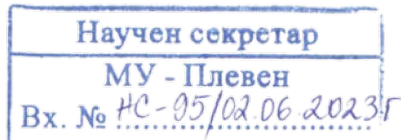


СТАНОВИЩЕ



от доц. д-р Константин Димитров Господинов, дм

Кардиологична клиника, Катедра «Кардиология, пулмология и ендокринология»

Медицински Университет – Плевен

Относно: Дисертационен труд на тема „Анализ на клиничко-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.). Не съм установил данни за плагиатство. Нямам конфликт на интереси с авторката.

I. Кратки биографични данни:

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. Работата си по темата започва около 2010 година. През 2019 год. д-р Донева-Башева е зачислена за докторант на самостоятелна подготовка към МУ-Плевен.

II. Структура на дисертационния труд:

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.

Научният труд е структуриран правилно с относително спазване на пропорциите между отделните му части според приетите у нас изисквания.

Актуалност на темата:

Темата на дисертационния труд е актуална, както в теоретичен, така и в научно-практически план. Темата е фокус върху коронарната болест (КБ) като 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. Според европейските данни 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.

Оценката на риска при пациентите с ОКС е важен етап от диагностично-терапевтичния процес. В клиничната практика се осъвременяват редица алгоритми за оценка на рисковия профил, но от изключителна важност е възможността за оценка на българската популация.

Лабораторните биомаркери за миокардна некроза (тропонини, креатин фосфокиназа – МВ-фракция), използвани за диагностика и стратификация на риска в острата фаза на ОКС имат определен принос за дългосрочната прогноза (риск от повторни исхемични събития, смъртност, преживяемост, усложнения). Стремещт за отдиференциране на генетични маркери, които в определена констелация имат по-голяма прогностична тежест се установява в редица съвременни изследвания.

От литературния обзор се вижда, че д-р Кръстинка Донева познава задълбочено 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. Това е един от съвременните акценти в проучването на д-р Башева.

Целта е конкретна и ясна: Да се проучат клиничните, инструментални, биохимични и някои генетични маркери, изграждащи рисковия профил на пациентите с ОКС и се анализира ролята им за близката и далечна прогноза на тази група болни.

Задачите произтича от изводите от литературния обзор. Д-р Кръстинка Донева-Башева е формулирала 7 основни задачи.

Клиничният контингент 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).

Всички пациенти са изследвани с клинични, инструментални и статистически методи. нализирани 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. 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.

III. Важни резултати от изследването определят клиничната му тежест:

1. Изследван 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. Известно е че успехът на лечението при ОКС в голяма степен зависи от времето 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. Много ценна е информацията 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. Установено е, че преживяемостта при пациентите със STEMI през първите 4 год. след дехоспитализацията е по-висока

спрямо NSTEMI, след което кривите на преживяемост конвертират 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 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 Cox-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 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.

Приемам приносите ,които докторантката е извела.

IV Забележки:

- В дисертацията са допуснати правописни, граматични и стилистични грешки, които могат да бъдат отстранени.
- Дисертационният труд би спечелил ако се спазят правилата в българския език.
- 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.

- Надписите във фигурите трябва да бъдат преведени на български език. В легендата на някои фигури задължително се посочва източника им.
- За по-голяма прегледност на резултатите и по-лесно сравнение, би било по-добре 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.
- Много добро впечатление би направило познаването на българската научна литература по темата-в библиографията няма заглавия от български автори на кирилица.

В заключение:

Проведеното от д-р Донева-Башева дългосрочно 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.

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.

Предложеният от д-р Башева деветгодишен прогностичен модел, оценяващ показателите преживяемост и смъртност при пациенти с преживян ОКС е важен за клиничната практика с оглед прецизиране на коронарния риск и оптимизиране на дългосрочното терапевтично поведение при тези пациенти.

Издавам своята положителна оценка за дисертационния труд на д-р Кръстинка Донева-Башева и считам, че тя покрива критериите на ПРАС на МУ-Плевен за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“. Това ми дава основание убедено да гласувам за присъждането на ОНС “доктор“ д-р Кръстинка Иванова Донева-Башева, лекар към кардиологично отделение, УМБАЛ „Проф. Ст. Киркович“, гр. Стара Загора

30.05.2023 г.

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

доц. д-р Константин Господинов, дм

STATEMENT

by Prof. Konstantin Dimitrov Gospodinov, MD

Department of Cardiology, Pulmonology and Endocrinology

Medical University - Pleven

Subject. St. Kirkovich", Sofia, gr. She is a graduate of the University of Stara Zagora.

Pursuant to Order No. 1047/28.03.2028 of the Rector of MU-Pleven, on the basis of the Law on Academic Staff Development of MU-Pleven, Article 2, paragraphs 2 and 3 of the Regulations on Academic Staff Development of MU-Pleven and the Decision of the Academic Council (Minutes No. 22 of 27.03.2023). I have found no evidence of plagiarism. I have no conflict of interest with the author.

I. Brief biographical data:

Dr. Krstinka Doneva-Basheva was born on 20.10.1979 in the town of. She was born on 20.20.2018 in Nova Zagora. She graduated in Medicine with excellent grades in 2006 at the Faculty of Medicine, Trakia University - Stara Zagora. She obtained a clinical specialty in Cardiology in 2012. She started her work on the subject around 2010. In 2019, Dr. Doneva-Basheva was enrolled as an independent doctoral student at MU-Pleven.

II. Structure of the dissertation:

The dissertation includes a total of 168 pages, of which: 1 title page; List of abbreviations and contents used - 5 pages; Introduction and literature review - 35 pages; Aim and objectives - 1 page; Material and methods - 20 pages; Results - 60 pages; Discussion - 27 pages; Conclusions - 2 pages; Contributions - 1 page; References - 16 pages. The dissertation is illustrated with 40 figures and graphs, and 25 tables.

The scientific work is structured correctly with relative respect to the proportions between the different parts according to the accepted requirements.

Relevance of the topic:

The topic of the thesis is topical, both in theoretical and scientific-practical terms. The topic focuses on coronary artery disease (CAD) as one of the leading causes of premature death and disability worldwide: according to epidemiological studies, 1/3 of all deaths in European Union countries are attributable to CAD. According to European data, in Bulgaria one in 6 men and one in 7 women die from AMI, despite modern diagnostic and therapeutic strategies and improved care for patients with acute coronary events.

Risk assessment in patients with ACS is an important stage of the diagnostic and therapeutic process. A number of algorithms for risk profile assessment are being updated in clinical practice, but the possibility of assessing the Bulgarian population is of utmost importance.

Laboratory biomarkers of myocardial necrosis (troponins, creatine phosphokinase - MB fraction) used for diagnosis and risk stratification in the acute phase of ACS have a certain contribution to the long-term prognosis (risk of recurrent ischemic events, mortality, survival, complications). The drive to differentiate genetic markers that in a particular constellation have greater prognostic weight is established in a number of contemporary studies.

It is evident from the literature review that Dr. Krstinka Doneva has a thorough knowledge of the available literature on the subject. The etiology and pathogenesis of atherosclerotic vascular disease, classification, clinical forms, instrumental and laboratory investigations in CAD, including patients with ACS, and current coronary risk stratification algorithms are described in detail. According to the data presented, some novel biomarkers, such as serum paraoxonase-1 (PON1) and arylesterase, are likely to be relevant to the risk of developing CAD, but their diagnostic value and prognostic potential are still poorly understood. This is one of the current highlights of Dr. Basheva's study.

The aim is specific and clear: To investigate the clinical, instrumental, biochemical and some genetic markers that make up the risk profile of patients with ACS and analyze their role in the near and distant prognosis of this group of patients.

The objectives derived from the findings of the literature review. Dr. Krstinka Doneva-Basheva has formulated 7 main tasks.

The clinical contingent and the methods give full reason to believe the results obtained. Dr Krstinka Doneva-Basheva has clearly and precisely formulated the inclusion and exclusion criteria for her study. The diagnosis of acute coronary syndrome was made according to the current recommendations of the European Society of Cardiology. A total of 172 patients with ACS (96 men, 55.8%) hospitalized at the University Hospital of Prague were included in the analysis. Stara Zagora and Yambol Hospital for the period 01.2009 to 02.2010. Depending on the clinical form of ACS and the results of instrumental and laboratory investigations, the patients were divided into 3 subgroups: patients with STEMI, NSTEMI or NAS. A control group of 26 healthy volunteers was also included for study purposes. Of the ACS patients, 103 (59.9%) had STEMI, 44 (25.6%) had NSTEMI, and the remainder were diagnosed with unstable angina pectoris (UAP).

All patients were studied by clinical, instrumental and statistical methods. various demographic, social, clinical, pharmacotherapeutic, laboratory and instrumental parameters were available, including serum PON1 paraoxonase and arylesterase activity, and prevalence of the L55M PON1 polymorphic variant. The three subgroups of patients with ACS were compared with each other and with the performance of a control group of healthy volunteers. After dehospitalization, patients were followed up by telephone questionnaire at the end of the 1st month, 1st, 5th and 9th year.

Advanced statistical processing of the results was performed by applying methods from descriptive statistics, hypothesis testing methods, correlation and regression analysis, survival analysis, etc. Statistical significance was accepted at $p < 0.05$. Variables of clinical interest were included in a prognostic model related to one-, five- and nine-year survival after ACS.

III. Important results of the study determine its clinical severity:

1. The clinical profile of a Bulgarian population of patients with ACS is studied: data on demographic characteristics, concomitant risk factors and diseases, instrumental and laboratory investigations, and therapeutic management are presented;
2. It is well known that the success of treatment in ACS depends largely on the time from the onset of symptomatology to the first contact with a medical professional. According to the results presented, the vast majority (>55%) of STEMI patients in the study sought medical care >24 h after the onset of symptomatology, i.e., the delay in medical care was mainly realized at the prehospital level and was primarily related to patient-related causes.
3. Information on one-, five- and nine-year survival of patients with ACS is very valuable. According to the results of the analysis, the mortality rate at the ninth year among the analysed population of patients with ACS reaches 39%, which has important medical, social and economic significance. It was found that the survival of STEMI patients in the first 4 years after dehospitalization was higher compared to NSTEMI, after which the survival curves converged and intersected around the eighth year after the acute coronary event.
5. The serum paraoxonase and arylesterase activities of PON1, and PON L55M polymorphisms were investigated and refined in a Bulgarian population of patients with ACS and healthy volunteers. The results of this study show that PON1 concentration and activity is highly variable in the human population. The quality and quantity of the enzyme in serum influence the risk of atherosclerotic disease.
6. The variant M allele of the L55M SNP in the PON1 gene was found to be a risk factor for ACS, which the author of this thesis attributes to a decreased concentration of the enzyme in the serum of patients. It was also found that the heterozygous genotype (LM) and genotypes with the M allele variant (LM+MM) were associated with a 2.5-fold higher risk of ACS.
- 7 The long-term prognosis of patients with the LL genotype has been found to be better than that of patients with the LM or MM genotypes, especially for patients with NSTEMI.
8. The results of multivariable Cox regression analysis confirmed cardiogenic shock and AV block as the only independent and significant risk factors for adverse outcome at the end of the 1st year of follow-up; for the 5-year follow-up period, such factors were again cardiogenic shock and AV block, as well as triclonus CAD, and for the 9-year follow-up period, previous myocardial infarction and development of Killip functional class IV CHF. The results are appropriately illustrated with 32 figures and 17 tables. The bibliography contains 203 references in English.

Dr. Basheva has 3 publications related to her dissertation, including 1 article in an ISI impact-factor journal. In all three articles Dr. Doneva-Basheva is the first author. The results of the scientific work have been presented in papers and posters at 1 international and 3 national scientific forums. Dr. Krastinka Doneva-Basheva has also participated in 1 scientific project related to the topic of the thesis.

I accept the contributions that the PhD student has made

IV Remarks:

- There are spelling, grammatical and stylistic errors in the thesis which can be corrected.

- The dissertation would have benefited if the rules of the Bulgarian language had been followed.
- The conclusions of the literature review should be stated as separate sub-points to show that the PhD student has critically analysed the available literature/known data to date and is aware of the resolved and unresolved issues in the topic on which he/she is working.
- The figure captions should be translated into English. In the legend of some figures the source must be indicated.
- For greater clarity of the results and ease of comparison, it would be better to present the baseline demographic characteristics of the three subgroups + the control group in a single table (2 smaller tables if necessary) at the beginning of the 'Results', necessarily with a presentation of the p-value after the indicators being compared.
- A very good impression would be made by the knowledge of the Bulgarian scientific literature on the subject - there are no titles by Bulgarian authors in Cyrillic in the bibliography.

In conclusion:

The long-term study conducted by Dr Doneva-Basheva, on which the thesis is based, is the first in Bulgaria to follow and specify the long-term (9-year) survival and mortality in patients with ACS.

For the first time in Bulgaria we investigated and specified serum paraoxonase and arylesterase PON1 activity, and the prevalence of the polymorphic variant L55M PON1 among Bulgarian patients with CAD and healthy controls, and evaluated the role of these parameters in the pathogenesis of ACS.

The nine-year prognostic model proposed by Dr. Basheva assessing survival and mortality in patients with survived ACS is important for clinical practice to refine coronary risk and optimize long-term therapeutic management of these patients.

I express my positive evaluation of the dissertation work of Dr. Krstinka Doneva-Basheva and I believe that it meets the criteria of the PRAS of MU-Pleven for the award of the educational and scientific degree "Doctor". This gives me a reason to vote for the award of the PhD degree to Dr. Krystinka Ivanova Doneva-Basheva, physician at the Cardiology Department, University Hospital "Prof. St. Kirkovich", Sofia. Stara Zagora

30.05.2023 г.

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

Assoc. Prof. Konstantin Gospodinov, MD