

СТАНОВИЩЕ

от Проф. д-р Кирил Карамфилов Карамфилов, дм
Клиника по Кардиология, Катедра вътрешните болести
УМБАЛ “Александровска”
Медицински Университет – София

на дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“

в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина, докторска програма „Кардиология“.

Автор: д-р *Кръстинка Иванова Донева-Башева*

Форма на докторантурата: докторант на самостоятелна подготовка към МУ-Плевен.

Научно звено: докторант на самостоятелна подготовка към МУ-Плевен, *лекар към кардиологично отделение, УМБАЛ „Проф. Ст. Киркович“, гр. Стара Загора.*

Тема: „*Анализ на клинично-лабораторните фактори в 9-годишната преживяемост на пациенти с остър коронарен синдром*“

Научни ръководители:

Проф. д-р Снежана Томова Тишева, дмн

Проф. Татяна Иванова Влайкова, дбн

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

При написването на дисертационния труд са спазени всички изисквания за процедурата по отношение на дисертабилност, избор на темата, зачисляване на докторанта, вътрешна защита и избор на Научно жури.

Със заповед № 1047/28.03.2023 г. на Ректора на МУ-Плевен, съм определен за външен член на Научното жури във връзка с дисертационния труд на д-р *Кръстинка Иванова Донева-Башева*

Определен съм да представя Становище.

Декларирам, че нямам конфликт на интереси с автора на дисертационния труд.

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.

2. Актуалност на тематиката

Темата на дисертационния труд е актуална, както в теоретичен, така и в научно-практически план. Коронарната болест (КБ) е една от водещите причини за преждевременна смърт и инвалидизация в световен мащаб. Установяването на честотата на модифицируемите и немодифицируемите рискови фактори сред хоспитализираните лица с ОКС, потвърждаването на традиционните рискови скали за близко прогнозиране след ОКС, търсене, откриване и включване на допълнителни прогностични фактори, могат да бъдат от значение за дългосрочната прогноза на болните. Включването на допълнителни променливи към традиционните рискови

фактори и търсенето на нови такива сред българската популация пациенти, в частност и здрави контроли би могло да допренесе за по-ранното откриване на рисковите групи лица и навременна първична и вторична профилактика, и лечение. Оценката на риска при пациентите с ОКС е важен етап от диагностично-терапевтичния процес. Лабораторните биомаркери за миокардна некроза (тропонини, креатин фосфокиназа – МВ-фракция), използвани за диагностика и стратификация на риска в острата фаза на ОКС имат доказан принос за дългосрочната прогноза (риск от повторни исхемични събития, смъртност, преживяемост, усложнения).

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.

3. Познаване на проблема

Докторантът познава състоянието на проблема и оценява творчески литературния материал.

4. Методика на изследването

Избраната методика на изследване позволява постигане на поставената цел и получаване на адекватен отговор на задачите, решавани в дисертационния труд.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

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.

Въведение и литературен обзор. Проблемът е добре формулиран и е обоснована целта на изследвания в дисертационния труд. Написан е компетентно и показва добро познаване на разглеждания проблем в различните му аспекти. 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.

Целта на дисертационния труд е добре формулирана в съответствие с темата на дисертацията и представения литературен обзор. Поставените задачи, общо 7 са напълно достатъчни и са реализирани изцяло в дисертационния труд. Настоящата работа цели 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 тези болни.

В раздела „*Материали и методи*“ подробно са описани, изследваните за периода 01.2009 г. до 02.2010 г. общо 172 пациенти с ОКС (от тях 96 мъже, 55,8%), хоспитализирани в УМБАЛ в гр. Стара Загора и СБАЛК-Ямбол 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. 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. 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.

За статистическата обработка на данните са използвани подходящи методи, което гарантира достоверността на получените резултати. 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.

Резултати и обсъждане: Представените резултати са убедителни и ясни. Те са анализирани, обсъдени и сравнени с литературните данни.

Изводи и приноси: Въз основа на получените резултати д-р Кръстинка Донева логично прави изводи, които съответстват на поставените задачи. Много ценна е

информацията за едногодишната, пет и деветгодишна преживяемост на пациентите с ОКС. Според резултатите от анализа смъртността на деветата година сред анализиранията популация пациенти 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 конвергират и се пресичат около осмата година след острия коронарен инцидент. 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. Средните стойности на параоксоназна и арилестеразна активност при пациентите и контролните индивиди се различаваха статистически значимо, като стойностите бяха значително по-ниски при пациентите, както със STEMI, така и с UA. Стойностите на серумната параоксоназна и арилестеразна активност бяха значимо по-ниски триклонова

коронарна болест, ЗД, АХ и при лицата с преживян ОМИ. 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. . Регресионният Cox-анализ показва сигнификантно по-висока преживаемост на пациентите с диагноза UA в сравнение на тези с диагноза STEMI на 9-та година($p=0.028$) и липса на такава между STEMI и NSTEMI. Разпределение на генотипа L55M PON1 определя повече от 2 пъти по-висок риск от развитие на остър коронарен синдром, когато индивидът е носител на генотипове с вариантния M.

Приноси 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. Изработени са прогностични модели за преживяемост и смъртност по всички причини при болни с ОКС, които биха могли да послужат в клиничната практика при началната рискова стратификация на болните с ОКС, прогнозиране на преживяемостта (близка и далечна) и оценка на риска за смърт. 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.

С потвърдителен характер са посочени следните приноси: Потвърждават се известните твърдения за половите различия във възрастта за настъпване на ОКС., стратифициране на пациентите съобразно рисковия профил, потвърждаване ролята на GRACE-скора в прогнозиране на риска от неблагоприятен изход при хоспитализацията и на 6-ия месец и потвърждаване на ролята на конвенционалните рискови фактори и ролята им в близката и отдалечената преживяемост на пациентите с ОКС.

Приемам приносите, които докторантката е извела.

6. Авторефератът отразява написаното в дисертационния труд. Съобразено с академичните изисквания, в него са представени приносите и е приложен списък на публикациите във връзка с дисертационния труд.

7. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Докторантът е приложил 3 публикации, 1 от които в международно списание с IF и 2 научни съобщения на национални и международни научни форуми. Д-р

Кръстинка Донева-Башева има участие и в 1 научен проект, свързан с темата на дисертацията.

Тази научна активност е достатъчна и покрива минималните изисквани точки за образователната и научна степен «Доктор» на НАЦИД.
Приемам приносите ,които докторантката е извела.

В заключение:

Дисертационният труд на Донева-Башева , е първото дългосрочно проучване у нас, което проследява и уточнява дългосрочната (9 годишна) преживяемост и смъртност при пациенти с 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.

Това ми дава основание да **гласувам с положителен вот** за присъждане на образователна и научна степен “Доктор” по докторска програма „Кардиология“ **на д-р Кръстинка Иванова Донева-Башева, лекар към кардиологично отделение, УМБАЛ „Проф. Ст. Киркович“, гр. Стара Загора.**

17.06.2023 г.

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

Проф. д-р Кирил Карамфилов Карамфилов, дм

STATEMENT

By Prof. Kiril Karamfilov Karamfilov, M.D., PhD
Clinic of Cardiology, Department of Internal Diseases
UMHAT „Alexandrovska“
Medical University — Sofia

Concerning a dissertation work for acquiring an educational and scientific degree „Doctor PhD“ in the field of higher education „Healthcare and sport“, professional direction 7.1 „Medicine“ in the Cardiology doctoral program.

Author: Krastinka Ivanova Doneva-Basheva, M.D.

Type of doctoral training: a PhD student of independent training at Medical University — Pleven.

Scientific unit: a PhD student of independent training at Medical University — Pleven, a medical doctor at the Cardiology Department of UMHAT „Prof. St. Kirkovich“ — Stara Zagora.

Topic: „Analysis of clinical-laboratory factors in 9-year-long survival of patients with acute coronary syndrome“

Scientific supervisors:

Prof. Snezhana Tomova Tisheva, M.D., PhD, DSc

Prof. Tatyana Ivanova Vlaikova, DSc

1. General presentation of the procedure and the doctoral student

All the requirements concerning the procedure regarding dissertationability, choice of topic, enrollment of the doctoral student, internal presentation and choice of Scientific jury have been observed in writing the dissertation work.

By Order No. 1047/28.03.2023 of the Rector of Medical University — Pleven, I was appointed as an external member of the Scientific jury in connection to the dissertation of Krastinka Ivanova Doneva-Basheva, M.D.

I have been appointed to present a Statement.

I declare that I have no conflict of interest with the author of the dissertation work.

I. Brief biography:

Krastinka Doneva-Basheva, M.D. was born on 20.10.1979 in Nova Zagora. She graduated with honours in Medicine in 2006 from the Faculty of Medicine at Trakia University - Stara Zagora. She acquired a specialty in Cardiology in 2012 and began working on this doctoral topic in 2010. In 2019 Doneva-Basheva, M.D. was enrolled as a doctoral PhD student of independent training at the Medical University – Pleven.

2. Relevance of the topic:

The topic of the dissertation work is relevant both in theoretical, as well as scientific and practical terms. Coronary disease (CD) is the leading cause of premature death and disability worldwide. Establishing the frequency of modifiable and non-modifiable risk factors among the patients hospitalized with ACS, as well as confirming the traditional risk scales for short term prognosis after ACS, searching, finding and adding additional prognostic factors, could be relevant for the long term patients' prognosis. The inclusion of additional variables to the traditional risk factors and looking for new ones amongst Bulgarian patients and healthy individuals could contribute to earlier detection of individuals at risk and timely primary and secondary prevention and treatment. Risk assessment in patients with ACS is an important step in the diagnostic and therapeutic process. Laboratory bio markers for myocardial necrosis (troponins, creatinine kinase – MB fraction) that are used in the diagnosis and risk stratification in the acute phase of ACS have a proven contribution to the long term prognosis (risk of repeat ischemic events, mortality, survival, complications). The literary review shows that Krastinka Ivanova Doneva-Basheva, M.D. has thorough knowledge of the available literature on the subject. The etiology, pathogenesis of atherosclerotic vascular disease, classification, clinical forms, instrumental and laboratory tests in

CAD are described in detail, including in patients with ACS and so are the current algorithms for coronary risk stratification. According to the presented data, some new bio markers, such as serum paraoxonase-1 (PON1) and arylesterase are probably related to the risk of developing CAD. However their diagnostic value and prognostic potential are still poorly studied. This is one of the current aspects of Basheva, M.D.'s study.

3. Knowledge of the problem

The PhD student shows the current state of the problem and creatively evaluates the literary material.

4. Research methodology

The chosen methodology allows for the research goal to be achieved and for the tasks, solved in the dissertation to be answered.

5. Characteristic and evaluation of the dissertation and the contributions

The dissertation work contains 168 pages in total, out of which: 1 titular page, List of abbreviations and contents – 5 pages, Introduction and literary review – 35 pages, Aim and tasks – 1 page, Materials and methods – 20 pages, Results – 60 pages, Discussion – 27 pages, Conclusion – 2 pages, Contributions – 1 page, Literary sources – 16 pages. The dissertation work is illustrated with 40 figures and graphs, as well as 25 tables. The scientific work is structured correctly with relative adherence to the accepted requirements in terms of the proportions between its different parts.

Introduction and literary review: The problem is well formulated and the purpose of the dissertation work is justified. It is competently written and shows good knowledge of the subject at hand in its different aspects. The etiology, pathogenesis of atherosclerotic vascular disease, classification, clinical forms, instrumental and laboratory tests in CAD are described in detail, including in patients with ACS and so are the current algorithms for coronary risk stratification.

The aim of the dissertation is well formulated in accordance with the topic of the dissertation work and the presented literary review. The tasks set, 7 in total, are completely enough and have been completely realised in the dissertation work. The present work aims to **study clinical, instrumental, biochemical and some genetic markers that attribute to the risk profile of patients with ACS and to analyze their role in short and long term prognosis of those patients.**

In the 'Materials and methods' section there is a detailed description of the studied 172 patients with ACS (of which 96 men, 55,8%), admitted to UMHAT – Stara Zagora and Clinic of Cardiology and active treatment SBALK – Yambol in the period 01.2009 – 02.2010. Depending on the the clinical form of ACS and the instrumental and laboratory tests results, the patients are divided into 3 subgroups: patients with myocardial infarction with elevation of the ST segment (STEMI), with myocardial infarction without elevation of the ST segment (NSTEMI), unstable angina. For the purpose of the study a control group of 26 healthy volunteers is also included in the study. From the patients with ACS 103 (59,9%) presented with STEMI, 44 (25,6%) with NSTEMI and the rest were diagnosed with unstable angina. All the patients were examined using clinical, instrumental and statistical methods. Different demographic, social, clinical, pharmacotherapeutical, laboratory and instrumental parameters were analyzed, including serum paraoxonase-1 (PON1) and arylesterase activity, as well as the prevalence of the polymorphic variant L55M PON1. The three patient subgroups with ACS are compared with each other, as well as with the parameters of the control group consisting of healthy volunteers. After their discharge the patients are monitored using a phone survey at the end of the first months, first, fifth and ninth year.

Suitable methods are used in the statistical processing of the data which guarantees the reliability of the obtained results. Statistical relevance is accepted at $p < 0,05$. The variables that are of clinical interest are included in a prognostic model, related to the one-, five- and nine-year survival after ACS.

Results and discussion: The presented results are convincing and clear. They are analyzed, discussed and compared to the literary data.

Conclusion and contribution: Based on the obtained results Doneva-Basheva, M.D. comes to logical conclusions that correspond to the set tasks. Very valuable is the information about the one-, five- and nine-year survival of patients with ACS. According to the results of the analysis, 9th year mortality among the surveyed population of patients with ACS reaches 39% which has an important medical, social and economical meaning. It has been determined that survival in patients with STEMI during the first four years after discharge is higher than that in NSTEMI patients, after which point the survival curves converge and cross each other around the 8th year after the acute coronary incident. The serum paraoxonase-1 (PON1) and arylesterase activity, as well as the polymorphism of PON1 L55M among the population of Bulgarian patients with ACS and healthy volunteers have been studied. The results of the study show that the concentration and activity of PON1 is very variable amongst the human population. The quality and quantity on the enzyme in the serum have an effect on the risk of atherosclerosis. Mean levels of paraoxonase-1 and arylesterase activity in patients and healthy control individuals were statistically significantly different. These levels were significantly lower in patients with STEMI, as well as with unstable angina. The level of serum paraoxonase-1 and arylesterase activity were significantly lower in triple vessel CAD, diabetes, arterial hypertension and in people with a myocardial infarction in the past. The results of the multivariate Cox-regressional analysis confirm cardiogenic shock and AV-block as the only independent and significant risk factors for adverse outcome at the end of the first year after ACS. As for the 5-year observation period such factors are again cardiogenic shock and AV-block, as well as triple vessel CAD and as for the 9-year period – a previous myocardial infarction and development of Acute left-sided heart failure functional class IV according to the Killip classification. The regressional Cox-analysis shows significantly higher survival in patients diagnosed with unstable angina in comparison to those diagnosed with STEMI at the 9th year point ($p=0.028$) and a lack of such between STEMI and NSTEMI. Distribution of L55M PON1 genotype determines two times higher risk of ACS when the individual carries genotypes with a variant M.

Contribution – For the first time in Bulgaria the serum paraoxonase-1 (PON1) and arylesterase activity, as well as the distribution of the polymorphic variant L55M PON1 among Bulgarian patients with CAD and healthy controls is studied and specified and the role of these parameters in the pathogenesis of ACS is evaluated. Prognostic models for survival and mortality due to whatever cause in patients with ACS have been developed, which could serve in the clinical practice as part of the initial risk stratification of patients with ACS, short and long term survival prognosis and determining the risk of death. The nine-year prognostic model, as proposed by Basheva, M.D., which evaluates survival and mortality as indicators in patients with ACS, is important for the clinical practice with the aim to specify coronary risk and optimise long term therapeutic behaviour in these patients.

Of a confirmatory nature are the following contributions: Known statements about gender differences concerning the age of ACS onset have been confirmed in a stratification of patients according to their risk profile. The importance of GRACE Risk Score in predicting the risk of adverse outcome at hospitalization and at 6 months has been confirmed. The significance of conventional risk factors and their role in short and long term survival in patients with ACS has also been confirmed.

I accept the contributions that the doctoral student has listed.

6. The autoabstract reflects what was written in the dissertation work. In accordance with academic requirements, it presents the contributions and a list of publications related to the dissertation has been included.

7. Assessment of the publications and personal contribution of the doctoral student

The doctoral student has included three publications related to the dissertation work, one of which an article from a magazine with an impact-factor and two scientific announcements at national and international forums. Krastinka Doneva-Basheva, M.D. has participated in one scientific project, related to the dissertation's topic. I accept the contributions that the doctoral student has listed.

This scientific activity is sufficient and fulfills the minimum required points for the educational and scientific degree „Doctor PhD“ of NACID.

I accept the contributions that the doctoral student has listed.

In Conclusion:

The dissertation work of Doneva-Basheva, M.D. is the first long-term study in Bulgaria, which monitors and specifies long term (9-year) survival and mortality in patients with ACS. The nine-year prognostic model, as proposed by Basheva, M.D., which evaluates survival and mortality in patients with ACS, is important for the clinical practice with the aim to specify coronary risk and optimise long term therapeutic behaviour in these patients.

This gives me cause to give a positive vote for awarding educational and scientific degree „Doctor PhD“ in the Cardiology doctoral program to Krastinka Ivanova Doneva-Basheva, M.D., a medical doctor at the Cardiology Department of UMHAT „Prof. St. Kirkovich“ — Stara Zagora.

17.06.2023

Signature: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**
/Prof. Kiril Karamfilov Karamfilov, M.D., PhD/