

## РЕЦЕНЗИЯ

Относно:

Защита на дисертационен труд за **придобиване на ОНС ДОКТОР** в докторска програма „Инфекциозни болести“, Научна специалност „Инфекциозни болести“, област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1 Медицина

**Автор на дисертационния труд: д-р Ивайло Николаев Паков**, асистент към Катедра по Инфекциозни болести, епидемиология, паразитология и тропическа медицина, МФ, МУ- Плевен.

Тема на дисертационния труд **„Хронично възпаление и имунологично възстановяване при контролирана HIV инфекция“**,

**Научен ръководител – Професор, д-р Галя Ганчева, дм**

**Рецензията е изготвена от професор, д-р Марияна Стойчева Въртигова, дмн, МУ Пловдив**, съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за приложение на ЗРАС и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в МУ - Плевен.

**Кариерен профил на докторанта. Д-р Ивайло Николаев Паков**, е възпитаник на математическа гимназия „Гео Милев“ Плевен (2004 - 2009) със засилено изучаване на английски, биология и здравно образование. *Магистър по специалността Медицина*, след 6 годишен академичен курс в МУ Плевен (2009 – 2015).

*Придобити специалности:* Инфекциозни болести (2020г); Обществено здраве и здравен мениджмънт, ФОЗ, МУ-Плевен (2024г); Вътрешен одитор и лице, управляващо програмите за одит (ССКБ 2016г).

От 2015г до момента работи като лекар в Клиника по Инфекциозни болести, УМБАЛ "Д-р Георги Странски" ЕАД, Плевен.

От 2018г до момента работи като асистент по инфекциозни болести в Катедра по инфекциозни болести, епидемиология, паразитология и тропическа медицина, МФ, МУ-Плевен. Провежда практически упражнения по инфекциозни болести на студенти V-ти курс към МФ – българоезиково и англоезиково обучение.

**Актуалност на темата и обща характеристика на дисертационния труд.** Предложеният ми на електронен носител дисертационен труд, касае важен проблем на общественото здраве. ХИВ инфекцията е обект на интензивни проучвания вече 4 десетилетия. Неоспоримият напредък с постигане на устойчиво потиснат вирусен товар от съвременната анти ретровирусна терапия (ART) прекърши възходящия ход на опустошителната ХИВ пандемия, осигури по-голяма продължителност на живот на хората живеещи с ХИВ (ХЖХ) и рязко ограничи трансмисията. Въпреки това редица проблеми на ХЖХ продължават да търсят своя отговор - ускорено биологично стареене, по-висока честота на заболявания, не-свързани с ХИВ, по-висока смъртност и др.

Настоящият дисертационен труд е посветен на изключително актуалните проблеми на остаряването с ХИВ, хроничното възпаление и имунологично възстановяване при ХЖХ на антиретровирусна терапия, постигнали устойчива вирусна супресия.

В нашата страна целенасочени и мащабни проучвания върху тези проблеми не са правени, а и публикациите в световната литература не са много. Ето защо смятам, идеята на докторанта и научния ръководител за уместна, много навременна и належаща.

Дисертационния труд е написан на 220 страници и структуриран съгласно приетите правила: литературен обзор, цел, задачи, материали и методи, резултати, обсъждане, изводи, приноси и книгопис.

*Литературният обзор* е от 46 страници и е изготвен на базата на 149 литературни източници, от които 123 на латиница и 26 на кирилица. Около 84% от заглавията са от последните 10 години. Похвално е, че докторантът е цитирал българските автори, допринесли за изясняване характеристиките на ХИВ инфекцията в българската популация. Прави се исторически преглед на развитието на ХИВ пандемията и опитите за нейното контролиране. Посочват се критериите и дефинициите на късно представящи се (Late presenters), ХЖХ с авансирал имунен дефицит и СПИН. Много подробно са описани биомаркерите на хронично възпаление при дългогодишна и контролирана HIV инфекция. В детайли са разгледани метаболитните и имунологични параметри на интерлевкин-6 (IL-6), високочувствителен С-реактивен протеин (hsCRP), D-dimer и тяхната прогностична стойност за степента на възпалителните процеси. Включените фигури, схеми и илюстрации допринасят за по-голяма яснота

на обзора. Литературният обзор е направен интелигентно, прецизно и задълбочено, и показва много добра информираност на автора по проблемите на ХИВ/СПИН.

Обзорът завършва с „Ключови аспекти, обуславящи собствените проучвания“.

**Целта и задачите** са поставени ясно и точно. Дефинираната цел изцяло отговоря на темата, а конкретните задачи позволяват нейното изпълнение.

В **Материали и методи** подробно и коректно са описани наблюдаваните пациенти от различни групи ХЖХ и неинфектирани с ХИВ, както и всички използвани методи.

Дисертационният труд включва 57 ХЖХ и контролна група от 30 лица неинфектирани с ХИВ. Броят на ХЖХ е сравнително малък, но анализите са изключително подробни, задълбочени и позволяват надеждна интерпретация и коректни изводи

В **Резултати** се представят данни на автора по проучваните демографски, антропометрични (ръст, тегло, Body Mass Index), епидемиологични, рискови поведенчески и клинични характеристики; лабораторни, имунологични и вирусологични показатели; биомаркери на хронично възпаление в разглежданите групи.

Резултатите са представени последователно и илюстрирани убедително с 63 фигури и 17 таблици.

Висока оценка заслужават направените множество сравнителни анализи по отношение на епидемиологичните и клинични характеристики, лабораторните показатели, биомаркерите на хронично възпаление при ХЖХ от възрастовите групи до и над 40 години, при различни начални стойности на CD4 T Ly (CD4 nadir), между ХЖХ и контролната група от ХИВ неинфектирани лица, както и проучванията в динамика. Те внасят важна информация и допълнителна убеденост в получените резултати.

Демографските и епидемиологичните характеристики на проучваната група ХЖХ показват тенденции идентични с тези в страната и Европа, за покачване на възрастта, сексуален път на вирусна трансмисия (предимно MSM) и късно представяне за лечение.

В двете възрастови групи ( $\leq 40$  и  $>$ ) средните стойности на вирусния товар (VL) и относителния дял на пациентите с доловим VL (със съвременните

диагностични възможности) не показват различия. При всички 57 ХЖХ в края на проучването, е постигнат неоткриваем VL.

Във възрастовата група над 40 години в сравнение с групата 20-40 г.

- средните стойности на CD4<sup>+</sup> са сигнификантно по-ниски, относителният дял на късно представящи се за лечение (LP, CD4<sup>+</sup><350 кл./μL) е по-висок.
- стартовите стойности на CD8<sup>+</sup> са по-ниски
- съотношение CD4 : CD8 е без статистически значима разлика.

В края на проучването, относителният дял на пациенти със CD4<sup>+</sup><350 /μL е достоверно по-нисък, спрямо началото; липсват достоверни разлики в средните стойности и относителния дял на пациенти с индекс CD4 : CD8 <0.8; и в двете групи достоверно е повишена средната стойност и понижена честотата на пациенти с нисък индекс.

При съпоставяне на вирусологичните и имунологични показатели при ХЖХ с различен начален имунологичен статус CD4<sup>+</sup> < 350 > 350 и <200 не се установяват различия по отношение на VL и честотата на пациенти с доловим вирусен товар. При проследяване нивото на CD4<sup>+</sup> в динамика, се запазват сигнификантните различия между групите.

Стойностите на CD8<sup>+</sup> са сигнификантно по-високи в групата със CD4<sup>+</sup> >350 кл./μL и се запазва достоверната разлика в честотата на пациенти със CD8<sup>+</sup>>900 кл./μL между групите в хода на проучване.

При включването, в групата със CD4<sup>+</sup><350 cells/μL индексът CD4<sup>+</sup> : CD8<sup>+</sup> е по-нисък, а относителният дял на пациенти с индекс под 0.8 е по-висок. В края на проучването сигнификантно е повишена средната стойност и понижен броя пациенти с нисък индекс.

Установените корелации между рутинните клинично-лабораторни показатели и биомаркерите на хронично възпаление (IL-6, hs CRP, D-dimer), потвърждават потенциала на последните като надежден прогностичен маркер за цялостна оценка на здравния статус при ХЖХ с контролирана ХИВ инфекция. Трите показателя са по-високи при ХЖХ, в сравнение с неинфектираните, нарастват в динамика, корелират с напредване на възрастта, имунния дефицит, високия брой CD8<sup>+</sup>, наднормен BMI и мултиморбидност, като при D-dimer корелацията с другите клинично-лабораторни параметри е по-слаба.

Таблиците и фигурите съдържат диагностично най-важните и съществени елементи от изследваните пациенти и получените резултати.

Представен е обобщен модел на остаряване при ХЖХ.

Направеното обсъждане на резултатите, в светлината на данните от световната литература показва аналитично и логично мислене на докторанта който владее и прилага не само рутинните клинични и лабораторни тестове, но и най-съвременни вирусологични, имунологични и статистически методи за диференциране на патологичните отклонения.

**Изводи.** Представени са пет извода, с няколко подточки, шест оригинални приноси за страната и пет приноса с научно-приложен характер, с които съм съгласна. Приносите на дисертационния труд са с висока стойност за клиничната практика, а именно: Направено е за първи път у нас цялостно проучване върху хроничното възпаление и имунологичното възстановяване при ХЖХ с обхващане на целия набор от клинично-лабораторни тестове и биомаркери на възпалението, с определяне на тяхната прогностична значимост.

Изведени са специфични и прогностични демографски, епидемиологични, клинично-лабораторни данни, които имат значение за диагнозата и терапевтичния подход.

Предложен е първият в страната логически обоснован алгоритъм за остаряване с ХИВ, който се базира на получените данни от дисертационния труд.

**Авторефератът** е добре структуриран, представя най-същественото от дисертационния труд и отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ.

Във връзка с темата на дисертационния труд са представени 3 публикации, като д-р Ивайло Паков е първи автор в две и единствен автор в една от тях. Две от статиите са в престижни научни списания, реферирани в Web of Science, което потвърждава тяхната значимост.

В *Авторска справка* от приложените документи, Д-р И Паков е представил таблица с минималните национални изисквания (МНИ) по чл. 2б, ал. 5 от ЗРАСРБ за придобиване на ОНС ДОКТОР и точките, които той събира, съгласно приетата методика покриват и надхвърлят тези изисквания.

**Бележки и препоръки:** Докторантът се е съобразил с препоръките направени на вътрешната защита, с изключение на тази, данните да бъдат

представени във фигури, таблици, или като текст, но **не едновременно**, във всички варианти. Забелязва се упорита тенденция към повторение на данни в таблици и фигури, или фигурите споделят една и съща информация.

При част от таблиците се установяват неточности в заглавията и липсва легенда за значението на използваните маркери?

Някои технически неточности и забележки по отношение на използвани термини съм отправила лично към докторанта.

*Въпроси към докторанта:* (1) Високи триглицериди (вероятно авторът има пред вид  $> 100\text{mg}$ ), са установени при 9 пациенти в началото на проучването (17%), и 9 пациенти в края на проучването (15.79%)? Не се представят данни за промяна в числения състав на групата?

(2) Какъв е минималният брой антиретровирусни медикаменти за успешна терапия?

Направените бележки и препоръки, не намаляват стойността на дисертационния труд, а имат за цел да направят още по-добри бъдещите научни трудове на д-р Ивайло Паков.

## **Заклучение**

Предоставеният ми за рецензиране дисертационния труд, заедно с автореферата и публикациите свързани с дисертационния труд, има всички необходими качества за присъждане на Образователно Научната Степен ДОКТОР. Убедено смятам че д-р Ивайло Николаев Паков притежава задълбочени познания върху ХИВ инфекцията и има капацитет за самостоятелна научна работа. Поставените задачи са изпълнени и са получени интересни резултати по отношение на маркерите на хронично възпаление и имунологично възстановяване при ХЖХ с контролирана ХИВ инфекция.

Убедено и с удоволствие ще гласувам позитивно и предлагам на уважаемите членове на Научното жури да даде положителен вот, за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ от д-р Ивайло Николаев Паков, по докторска програма „Инфекциозни болести“.

Професор, д-р Марияна Стойчева Въртигова, дмн **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

Пловдив, 07.08.2024г



## ET "PREVODACH - KIMON KOMITSKI"

Плевен, офис 1: Дом на книгата, ет. 2; 0898/697-807  
офис 2: ул. Васил Левски 192 /НАРКООП/, ет. 4; 0888/323284

*Translation from Bulgarian into English language*

### REVIEW

**Ref:** Defense of a dissertation for the award of the educational and scientific degree "DOCTOR" in the doctoral program "Infectious Diseases", scientific specialty "Infectious Diseases", field of higher education: 7. Health care and sports, professional direction 7.1 Medicine

**Author of the dissertation: Dr. Ivaylo Nikolaev Pakov**, assistant professor at the Department of Infectious Diseases, Epidemiology, Parasitology and Tropical Medicine, Faculty of public health, Medical University - Pleven.

Dissertation topic: "**Chronic inflammation and immunological recovery in controlled HIV infection**"

**Scientific supervisor** – Professor, Dr. Galya Gancheva, MD, PhD

The review was prepared by professor, Dr. Mariyana Stoycheva Vertigova, DScs, Medical University - Plovdiv, in accordance with the requirements of the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for the Application of the same Law and the Regulations for the Terms and Procedures for Acquiring Scientific Degrees and Holding academic positions at MU - Pleven.

**Doctoral candidate career profile: Dr. Ivaylo Nikolaev Pakov**, is a graduate of the "Geo Milev" Mathematical High School Pleven (2004-2009) with an intensive study of English, biology and health education; *Master's degree in Medicine*, after a 6-year academic course at Medical University - Pleven (2009-2015).

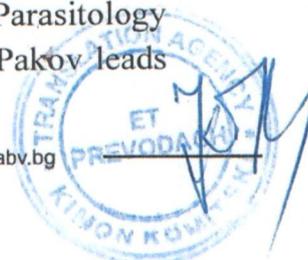
**Acquired specialties:** Infectious diseases (2020); Public Health and Health Management, Faculty of Public Health, Medical University - Pleven (2024); Internal auditor and person managing audit programs (Certificated, 2016).

From 2015 to the present, he has been working as a doctor at the Clinic for Infectious Diseases, UMBAL "Dr. Georgi Stranski" EAD, Pleven.

From 2018 to the present, he works as an assistant professor in infectious diseases at the Department of Infectious Diseases, Epidemiology, Parasitology and Tropical Medicine, Faculty of Public Health, MU-Pleven. Dr. Pakov leads

— Find the professional translator today! —

1prevodi.komitski@gmail.com; kkomitski@abv.bg



practical exercises on infectious diseases for 5<sup>th</sup> year medical students Bulgarian and English language training.

**Relevance of the topic and general characteristics of the dissertation work.**

The provided electronic dissertation work concerns an important public health problem. HIV infection has been the subject of intense research for 4 decades. The undeniable progress of achieving sustainably suppressed viral load by modern antiretroviral therapy (ART) has halted the upswing of the devastating HIV pandemic, provided longer life expectancy for people living with HIV (PLHV), and sharply limited transmission. However, a number of problems of PLWH continue to seek an answer – accelerated biological aging, higher incidence of non-HIV-related diseases, higher mortality, etc.

This dissertation is devoted to the highly relevant issues of aging with HIV, chronic inflammation, and immunological recovery in PLWH on antiretroviral therapy who have achieved sustained viral suppression.

In our country, targeted and large-scale studies on these problems have not been done, and there are not many publications in the world literature. That is why I consider the idea of the doctoral student and the scientific supervisor to be relevant, very timely and urgent.

The dissertation is written on 220 pages and structured according to the accepted rules: literature review, objective, tasks, materials and methods, results, discussion, conclusions, contributions and bibliography.

The literature review is 46 pages long and is prepared on the basis of 149 literary sources, of which 123 are in Latin and 26 in Cyrillic. About 84% of the titles are from the last 10 years. It is commendable that the doctoral student cited the Bulgarian authors who contributed to clarifying the characteristics of HIV infection in the Bulgarian population. A historical review is given of the development of the HIV pandemic and attempts to control it.

The criteria and definitions of late presenters, PLWH with advanced immune deficiency and AIDS are indicated. Biomarkers of chronic inflammation in long-term and controlled HIV infection are described in great detail. The metabolic and immunological parameters of interleukin-6 (IL-6), high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), D-dimer and their prognostic value for the degree of inflammatory processes are examined in detail.



The included figures, diagrams and illustrations contribute to greater clarity of the overview. The literature review is intelligent, precise and thorough, and shows the author's very good awareness of HIV/AIDS issues.

The **aim** and **tasks** are set clearly and precisely. The defined aim fully responds to the topic, and the specific tasks enable its implementation.

**Materials and methods** describe in detail and correctly the observed patients from different groups of HCV and non-HIV-infected patients, as well as all the methods used.

The dissertation included 57 PLWHA and a control group of 30 individuals not infected with HIV. The number of HIV-positive patients is relatively small, but the analyzes are extremely detailed, in-depth and allow reliable interpretation and correct conclusions.

In **Results**, the author's data on the studied demographic, anthropometric (height, weight, Body Mass Index), epidemiological, risk behavioral and clinical characteristics are presented; laboratory, immunological and virological indicators; biomarkers of chronic inflammation in the considered groups.

The results are presented consistently and illustrated convincingly with 63 figures and 17 tables.

The numerous comparative analyzes made in terms of epidemiological and clinical characteristics, laboratory indicators, biomarkers of chronic inflammation in CHL from the age groups up to and over 40 years old, at different initial values of CD4 T Ly (CD4 nadir), between PLWH and control group of HIV-uninfected individuals, as well as studies in dynamics. These analyzes deserve a high rating. They bring important information and additional conviction to the results obtained.

The demographic and epidemiological characteristics of the group of PLWH showed trends identical to those in the country and Europe, for increasing age, sexual route of viral transmission (mainly MSM) and late presentation for treatment.

In the two age groups ( $\leq 40$  years and over 40 years) the mean values of the viral load (VL) and the relative proportion of patients with detectable VL (with modern diagnostic possibilities) did not show differences. In all 57 PLWH at the end of the study, an undetectable VL was achieved.

In the group over 40 years compared to the group 20-40 age:



- mean values of CD4<sup>+</sup> are significantly lower, the relative share of late presenting for treatment (with CD4<sup>+</sup> <350 cells/μL) is higher;
- starting CD8<sup>+</sup> values are lower;
- CD4 : CD8 ratio is without statistically significant difference.

At the end of the study, the relative proportion of patients with CD4<sup>+</sup> <350 /μL is significantly lower than at baseline; there are no significant differences in the average values and the relative proportion of patients with an index CD4 : CD8 <0.8; in both groups the mean value is reliably increased and the frequency of patients with a low index is decreased.

When comparing the virological and immunological indicators in PLWH with different initial immunological status CD4<sup>+</sup> < 350; CD4<sup>+</sup> > 350 and CD4<sup>+</sup> < 200 cells/μL, no differences were found in terms of VL and the frequency of patients with a detectable viral load. During monitoring the level of CD4<sup>+</sup> in dynamics, significant differences between the groups are preserved.

CD8<sup>+</sup> values were significantly higher in the group with CD4<sup>+</sup> >350 cells/μL, and a significant difference in the frequency of patients with CD8<sup>+</sup> >900 cells/μL was maintained between groups over the course of the study.

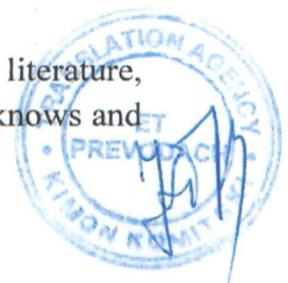
At inclusion for therapy, in the group with CD4<sup>+</sup> <350 cells/μL, the CD4<sup>+</sup> : CD8<sup>+</sup> index was lower, and the relative proportion of patients with an index below 0.8 was higher. At the end of the study, the average value was significantly increased and the number of patients with a low index decreased.

The established correlations between routine clinical laboratory indicators and biomarkers of chronic inflammation (IL-6, hsCRP, D-dimer) confirm the potential of the latter as a reliable prognostic marker for the overall assessment of health status in PLWH with controlled HIV infection. The three indicators are higher in HIV-infected, compared to uninfected, increase in dynamics, correlate with advancing age, immune deficiency, high CD8<sup>+</sup> count, excess BMI and multimorbidity, while for D-dimer the correlation with other clinical and laboratory parameters is more weak.

The tables and figures contain the diagnostically most important and essential elements of the examined patients and the obtained results.

A generalized model of aging in PLWH is presented.

The discussion of the results, in the light of the data from the world literature, shows the analytical and logical thinking of the doctoral student who knows and



applies not only the routine clinical and laboratory tests, but also the most modern virological, immunological and statistical methods for differentiating the pathological deviations.

**Conclusions.** Five conclusions are presented, with several points, six original contributions to the country and five contributions of a scientific-applied nature, with which I agree. The contributions of the dissertation work are of high value for clinical practice, namely: For the first time in our country, a comprehensive study on chronic inflammation and immunological recovery in CHD, covering the entire range of clinical and laboratory tests and biomarkers of inflammation, was carried out, with the determination of their prognostic significance.

Specific and prognostic demographic, epidemiological, clinical and laboratory data relevant to the diagnosis and therapeutic approach are derived.

The country's first logically based algorithm for aging with HIV is proposed, which is based on the data obtained from the dissertation work.

The Autoreferat is well structured, presents the most essential part of the dissertation work and meets the requirements of the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for the Application of the same Law.

In connection with the topic of the dissertation work, 3 publications are presented, with Dr. Ivaylo Pakov being the first author in two and the only author in one of them. Two of the articles are in prestigious scientific journals referenced in Web of Science, which confirms their relevance.

In the *Author's Reference* from the attached documents, Dr. I Pakov presented a Table with the minimum national requirements (MINI) under Art. 2b, paragraph 5 of Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria for the award of the educational and scientific degree "DOCTOR" and the points he collects, according to the accepted methodology, cover and exceed these requirements.

**Notes and recommendations:** The doctoral student complied with the recommendations made to the previous discussion, except for the one that the data should be presented in figures, tables, or as text, but not simultaneously, in all variants. There is a persistent tendency to repeat data in tables and figures, or figures share the same information.

For some of the tables, inaccuracies are found in the titles and there is no legend about the meaning of the tags used?



I have addressed some technical inaccuracies and remarks regarding the terms used to the PhD student personally.

*Questions for the PhD student:* (1) High values of triglycerides (presumably the author means > normal) were found in 9 patients at the beginning of the study (17%), and 9 patients at the end of the study (15.79%)? No data is presented for a change in the numerical composition of the group?

(2) What is the minimum number of antiretroviral medications for successful therapy?

The notes and recommendations made do not reduce the value of the dissertation work, but aim to make the future scientific works of Dr. Ivaylo Pakov even better.

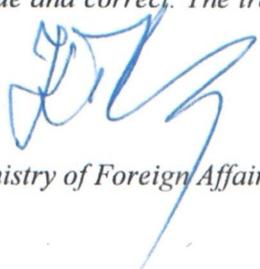
### **Conclusion**

The dissertation work submitted to me for review, together with the abstract and publications related to the dissertation work, has all the necessary qualities for the award of the educational and scientific degree DOCTOR. I firmly believe that Dr. Ivaylo Nikolaev Pakov has in-depth knowledge of HIV infection and has the capacity for independent scientific work. The objectives have been met and interesting results have been obtained regarding markers of chronic inflammation and immunological recovery in PLWHA with controlled HIV infection.

I am convinced and happy to vote positively and propose to the respected members of the Scientific Jury to give a positive vote for the acquisition of the educational and scientific degree "Doctor" by Dr. Ivaylo Nikolaev Pakov, in the doctoral program "Infectious Diseases".

Professor, Dr. Mariyana Stoycheva Vertigova, DScs  
Plovdiv, 07.08.2024

-----  
*The undersigned Kimon Georgiev Komitski certify this translation from Bulgarian into English to be true and correct. The translation is Defense of a dissertation and consists of 6 pages.*

Translator:  Kimon Komitski  
No.01396-1 Ministry of Foreign Affairs, Republic Bulgaria

