

До Научния секретар на МУ - Плевен

## **РЕЦЕНЗИЯ**

от Доц. Д-р Никола Калинов Поповски, д.м.,

Доцент към Катедра „Акушерство и гинекология“, Факултет „Медицина“, Медицински университет – Плевен, член на Научно жури, определено със заповед на Ректора на МУ – Плевен №2807/01.10.2024г. на основание на Решение на АС (Протокол №38/30.09.2024г.)

Относно: дисертационен труд на тема

### **„Превенция на репродуктивни неуспехи и постнатални усложнения при жени с генетично обусловена тромбофилия“**

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Област на висше образование: 7. Здравеопазване и спорт,  
Професионално направление 7.1. Медицина, научна специалност „Акушерство и гинекология“

**на д-р Златко Кироваков**

докторант към Катедра „Акушерски грижи“, Факултет „Здравни грижи“, МУ – Плевен

Научни ръководители:

Доц. д-р Надежда Христова Хинкова, д.м.

Доц. д-р Емилияна Илиева Конова, д.м.

### **Автобиографични данни**

Д-р Златко Кироваков е роден на 14.11.1977г. в гр. Прилеп, Р. Северна Македония. През 2003г. завършва Медицина в МУ – Плевен, а през 2010г. придобива специалност по Акушерство и гинекология. През 2022г. придобива специалност „Здравен мениджмънт“ в Университет „Проф. д-р Асен Златаров“ гр. Бургас. Професионалният му път преминава през ЦСМП – гр. Кнежа (2003-2009г.) и Клиника по Акушерство и гинекология на

УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ (2009-2011г.). От 2011г. до момента е акушер-гинеколог в Родилно отделение на УМБАЛ – Бургас. От 2023г. е хоноруван асистент в Катедра „Здравни грижи“, ФОЗЗГ, Университет „Проф. д-р Асен Златаров“ – гр. Бургас. От 2021г. до момента е управител на МЦ „Прайм клиник – д-р Кировакови“ ЕООД, гр. Бургас. Провел е редица курсове по специалността в областта на ултразвуковата диагностика в акушерството и гинекологията, пренатална медицина, колпоскопия, тромбофилия. Автор е на доклади и публикации, както и участник в множество национални и международни конференции в областта на специалността. Член е на БЛС, Българско дружество по акушерство и гинекология. Владее английски и руски език. Има добра компютърна грамотност.

Дисертационният труд на д-р Златко Кироваков обхваща актуален и социално-значим проблем, касаещ репродуктивните неуспехи на пациентки с вродена или придобита тромбофилия като спонтанни аборти в различен гестационен срок, стерилитет, усложнения на бременността и неуспешни ин-витро фертилизации. Репродуктивните неудачи продължават да са сериозен медицински, демографски и емоционален проблем, засягащ все по-голяма част от двойките в развитите страни. В част от случаите тези патологии са обусловени от наличието на вродена или придобита тенденция към повишено тромбообразуване в артериалното или венозно съдово русло, класифицирана като тромбофилия. Спонтанните аборти продължават да бъдат актуален проблем въпреки напредъка на медицинските технологии и подобряване на качеството на акушеро-гинекологичната помощ и засягат между 10-20% от всички клинично диагностицирани бременности. Според литературни източници честотата на ранните спонтанни аборти достига до 50% от всички бременности, въпреки че част от тях остават недиагностицирани като спонтанни аборти поради ранната загуба на бременността. Според СЗО стерилитетът представлява невъзможност за зачеване след едногодишни регулярни опити при жени под 35г. и след 6 месеца при жени над тази възраст и засяга от 1 до 6 двойки в репродуктивна

възраст. Честотата на тази патология се увеличава с напредване на възрастта.

От направения литературен обзор става ясно, че д-р Кироваков задълбочено се е запознал с научната литература по темата, касаеща влиянието на тромбофиличните фактори върху развитието на бременността.

### **Структура на дисертационния труд**

Настоящият дисертационен труд е в обем 181 страници, разпределени както следва: Въведение – 3 стр, Литературен обзор – 58 стр, Цел и задачи – 2 стр, Материал и методи – 5 стр, Собствени резултати – 49 стр, Дискусия – 3 стр, Заключение и изводи – 3 стр, Приноси на дисертационния труд – 2 стр, Библиография – 40 стр. Научният труд е онагледен с 22 фигури и 22 таблици. Използвани са 377 литературни източника, 11 от които от български автори. Дисертационния труд е правилно структуриран. Целта и задачите са ясно формулирани, което е предпоставка за качествена работа и получаване на адекватни резултати.

Изследвани са 459 бременни жени, разпределени в клинична (309 бременни жени с установена вродена тромбофилия, носители на един или повече генетични тромбофилични фактори и анамнеза за репродуктивни неуспехи) и контролна група (150 бременни без анамнестични данни за тромбофилия и репродуктивни неуспехи). Проучването е проспективно и ретроспективно. Проведено е в МЦ „Прайм клиник – д-р Кировакови“ – гр. Бургас, МЦ КИРМ „Св. Елисавета“ – гр. Плевен и Родилно отделение на УМБАЛ Бургас в периода януари 2021г. до декември 2023г.

В проучването са използвани следните методи на изследване: клинични, апаратни, параклинични, епидемиологични и статистически методи.

### **Характеристика на резултатите и обсъждане**

С цел проследяване на протичането на бременността, раждането и пуерпериума клиничната група от пациентки е разделена на две подгрупи: група А - жени с тромбофилични фактори + мутация в гена на PAI I и нормален генотип на ACE I/I и група Б - жени с тромбофилични фактори + мутация с гена на PAI I + мутация в гена на ACE (D/D, I/D). С оглед използваните методи на изследване става ясно, че двете групи изследвани жени са с еднаква средна възраст и еднакъв ИТМ. Установена е по-висока честота на пушачките в група А. Налице е по-висока честота на придружаващи заболявания като варикозна болест на долни крайници, хипертония, инсулинова резистентност, ЗДт.2 и ПКОС при пациентките в група А. Пациентките от група А са и в по-голяма степен фамилно обременени по отношение на тромбообразуване, инфаркт на миокарда и/или мозъчен инсулт. Доказано е наличие на носителство на мутация на фактор V Leiden и мутация в протромбиновия ген G20210A в по-голям процент при пациентките от група А. При проследяване на изхода от бременността става ясно, че пациентките с мутация на гена ACE + мутация на PAI I имат по-висока честота на неблагоприятен изход от бременността в сравнение с контролната група. Най-значителна разлика се открива при интраутеринната ретардация на плода, която е 12 пъти по-честа при жени с генотип ACE D/D отколкото при пациентки без мутация в гена на ACE. Повишена е и честота на мъртвораждания и развитие на прееклампсия.

Според резултатите от настоящето проучване различните фактори на тромбофилия са отговорни за повечето ранни и късни загуби на бременности, както и за развитие на различни усложнения по време на бременността. Резултатите подчертават степента на риска от неблагоприятни изходи, свързани с конгениталната тромбофилия, и в частност носителството на тромбофилични фактори PAI I и ACE D/D. Мултифакторната тромбофилия се проявява с тромботични лезии в плацентата, с компроментиране на утеро-плацентарното кръвообращение, което по-късно довежда до интраутеринна

ретардация на плода, прееклампсия, абрупцио на плацентата и мъртворождаване.

С оглед представените резултати д-р Кироваков стига до следните изводи:

1. Мултигенната форма на тромбофилия е рисков фактор за отключване на тежки акушерски усложнения като повтарящи се ранни и късни загуби на плода, прееклампсия, гестационен диабет, както и тромбоза и тромбоемболия по време на пуерпериума.
2. При пациентки с повторна загуба на плода най-чести неблагоприятни тромбофилични фактори са мутация в MTHFR C677T, PAI-I и мутация в ACE.
3. Налице е фамилна обремененост за тромбози, миокарден инфаркт и мозъчен инсулт при жени с генетично обусловена тромбофилия.
4. Средният пулсативен индекс на маточните артерии е сигнификантно по-висок при жени, носителки на тромбофилични мутации в сравнение със здрави бременни жени.
5. Профилактиката с НМХ, Аспирин и Натокиназа при пациентки са мултигенна форма на тромбофилия води на намаляване на честотата и тежестта на репродуктивните неуспехи, както и подобряване на перинаталните и постнаталните резултати.

Тези изводи аргументират основните цел и задачи на проучването на д-р Кироваков, както и следват логически резултатите от поставените задачи.

Приносите на настоящия дисертационен труд са 3 с оригинален характер, 4 с потвърдителен характер и 3 с практическа стойност. За първи път в България е изследвана и анализирана честота на носителство на 5 генни мутации, асоциирани с тромбофилия, както и е оценено влиянието на тези фактори върху развитието на бременността, раждането и пуерпералния период. Оригиналният характер на настоящия труд се състои в **изготвянето на алгоритъм за**

**поведение при проследяване на пациентки с вродени тромбофилични фактори и репродуктивни неуспехи в миналото.**

Д-р Кироваков има 4 публикации, свързани с дисертационния труд, 1 от които е в реферирано списание. Посочени са и участия в 5 научни форума в България.

### **Заключение**

Дисертационният труд на тема **„Превенция на репродуктивни неуспехи и постнатални усложнения при жени с генетично обусловена тромбофилия“** с автор д-р Златко Кироваков е оригинална, актуална и задълбочена научна разработка, която предлага алгоритъм за поведение при проследяване на пациентки с вродена тромбофилия и репродуктивни неудачи. Трудът отговаря на изискванията за ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение на МУ – Плевен. Комплексната оценка на така представения дисертационен труд ми дава основание да гласувам **положително** и да препоръчам на уважаемото Научно жури да присъди образователната и научна степен **„Доктор“** в професионално направление **7.1. Медицина, по научната специалност „Акушерство и гинекология“** на д-р Златко Кироваков.

Дата: 01.11.2024 г.

гр. Плевен

С уважение: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

(Доц. Д-р Никола Поповски, д.м.)

## **REVIEW**

by Assoc. Prof. Nikola Kalinov Popovski, MD, PhD

Associate Professor in the Department of Obstetrics and gynecology,  
Faculty of Medicine, Medical university – Pleven, Member of the  
Scientific Jury appointed through Order №2807/01.10.2024 of the Rector  
of Medical University - Pleven, on the grounds of the decision of the  
Academic Board (Protocol №38/30.09.2024)

Regarding: Dissertation work on subject

**„Prevention of reproductive failure and postnatal complications in  
women with genetically determined thrombophilia”**

For the award of educational and scientific degree - DOCTORAL  
DEGREE Field of higher education: 7. Medicine and sport, occupational  
branch 7.1.Medicine, scientific specialty Obstetrics and Gynecology of  
**Dr Zlatko Kirovakov**

Department of Obstetric care, Faculty of Health care, Medical university  
– Pleven

PhD Advisor: Assoc. Prof. Nadezhda Hristova Hinkova, MD, PhD

PhD Advisor: Assoc. Prof. Emiliana Ilieva Konova, MD, PhD

### **Biographical data**

Dr Zlatko Kirovakov was born on 14.11.1977 in Prilep, Republic of North Macedonia. In 2003 graduated in Medicine at the Medical university - Pleven, and acquired a specialty in Obstetrics and Gynecology in 2010. In 2022 acquired a specialty "Health Management" at the University „Prof. Dr. Asen Zlatarov" Burgas. His professional path goes through Emergency department in Knezha (2003-2009) and Department of Obstetrics and Gynecology of UMHAT „Dr. Georgi Stranski" (2009-2011). Since 2011 until now, he is an obstetrician-gynecologist in the Obstetrics Department of UMHAT - Burgas. From 2023 is a part-time assistant at the Department of Health Care, University „Prof. Dr. Asen Zlatarov" - Burgas. From 2021 until now, he is the manager of the „Prime Clinic - Dr. Kirovakovi", Burgas. He has conducted a number of specialty courses in the field of ultrasound diagnostics in obstetrics and gynecology, prenatal medicine, colposcopy, thrombophilia. He is the author of reports and publications, as well as

a participant in numerous national and international conferences in the field of specialty. He is a member of Bulgarian Medical Union, Bulgarian Society of Obstetrics and Gynecology. He speaks English and Russian. He has good computer literacy.

The dissertation work of Dr Zlatko Kirovakov covers a current and socially significant problem concerning the reproductive failures of patients with congenital or acquired thrombophilia, such as spontaneous abortions at different gestational periods, sterility, pregnancy complications and failed in-vitro fertilizations. Reproductive failure continues to be a serious medical, demographic and emotional problem affecting an increasing proportion of couples in developed countries. In some cases, these pathologies are determined by the presence of a congenital or acquired tendency to increased thrombus formation in the arterial or venous vascular circulation, classified as thrombophilia. Spontaneous abortions continue to be a current problem despite advances in medical technology and improvement in the quality of obstetric and gynecological care and affect between 10-20% of all clinically diagnosed pregnancies. According to literature sources, the frequency of early miscarriages reaches 50% of all pregnancies, although some of them remain undiagnosed as miscarriages due to early pregnancy loss. According to the WHO, sterility is the inability to conceive after one year of regular attempts in women under 35 years and after 6 months in women over this age and affects 1 to 6 couples of reproductive age. The frequency of this pathology increases in advancing age.

From the literature review, it is clear that Dr. Kirovakov has thoroughly familiarized himself with the scientific literature on the topic concerning the influence of thrombophilic factors on the development of pregnancy.

### **Structure of the dissertation**

This dissertation is 181 pages long, distributed as follows: Introduction – 3 pages, Literature review – 58 pages, Aim and tasks – 2 pages, Material and methods – 5 pages, Own results – 49 pages, Discussion – 3 pages, Conclusions - 3 pages, Contributions of the dissertation work - 2 pages, Bibliography - 40 pages. The scientific work is illustrated with 22 figures and 22 tables. 377 sources were used, 11 of them by Bulgarian authors. The dissertation is properly structured. The goal and tasks are clearly formulated, which is a prerequisite for quality work and obtaining adequate results.



459 pregnant women were examined divided into a clinical (309 pregnant women with established congenital thrombophilia, carriers of one or more genetic thrombophilic factors and a history of reproductive failures) and a control group (150 pregnant women without history of thrombophilia and reproductive failures). The study was prospective and retrospective and it was held in the "Prime Clinic - Dr. Kirovakovi" - Burgas, CIRM "St. Elisaveta" - Pleven and the Obstetrical department of UMHAT Burgas in the period between January 2021 and December 2023.

The following research methods were used in the study: clinical, instrumental, paraclinical, epidemiological and statistical methods.

### **Characteristics of results and discussion**

In order to monitor the progress of pregnancy, childbirth and the puerperium, the clinical group of patients was divided into two subgroups: group A - women with thrombophilic factors + mutation in the PAI I gene and normal ACE I/I genotype and group B - women with thrombophilic factors + mutation in the PAI I gene + mutation in the ACE gene (D/D, I/D). In view of the research methods used, it is clear that the two groups of examined women have the same average age and the same BMI. A higher frequency of smokers was found in group A. There was a higher frequency of accompanying diseases such as varicose disease of the lower limbs, chronic hypertension, insulin resistance, diabetes mellitus type 2 and PCOS in patients in group A. Group A patients also have a greater family history of thrombus formation, myocardial infarction and/or stroke. The presence of factor V Leiden mutation and mutation in the prothrombin gene G20210A was demonstrated in a higher percentage in group A patients. When followed the outcome of pregnancy, it is visible that patients with ACE gene mutation + PAI I mutation have a higher frequency of adverse pregnancy outcome compared to the control group. The most significant difference was found in intrauterine fetal retardation, which was 12 times more frequent in women with the ACE D/D genotype than in patients without a mutation in the ACE gene. The incidence of stillbirths and the development of preeclampsia is also increased.

According to the results of the present study, different thrombophilia factors are responsible for most of the early and late pregnancy losses as well as the development of various complications during pregnancy.

The results highlight the degree of risk of adverse outcomes associated with congenital thrombophilia, and in particular the presence of thrombophilic factors PAI I and ACE D/D. Multifactorial thrombophilia manifests with thrombotic lesions in the placenta, with compromise of the uteroplacental circulation, which later leads to intrauterine fetal retardation, preeclampsia, placental abruption, and stillbirth.

In view of the presented results, Dr. Kirovakov reaches the following conclusions:

1. The multigenic form of thrombophilia is a risk factor for the development of severe obstetric complications such as recurrent early and late fetal losses, preeclampsia, gestational diabetes, as well as thrombosis and thromboembolism during the puerperium.
2. In patients with recurrent fetal loss, the most common unfavorable thrombophilic factors are mutation in MTHFR C677T, PAI-I and mutation in ACE.
3. There is a family history of thrombosis, myocardial infarction and stroke in women with genetic thrombophilia.
4. The mean pulsatility index of the uterine arteries is significantly higher in women carrying thrombophilic mutations compared to healthy pregnant women.
5. Prophylaxis with low-dose heparin, Aspirin and Nattokinase in patients with a multigenic form of thrombophilia leads to a reduction in the frequency and severity of reproductive failures, as well as an improvement in perinatal and postnatal outcomes.

These conclusions argue the main aim and tasks of Dr. Kirovakov's research, as well as logically follow the results of the set tasks.

The contributions of the present dissertation work are 3 of an original nature, 4 of a confirmatory nature and 3 have a practical value. For the first time in Bulgaria, the carrier frequency of 5 gene mutations associated with thrombophilia was investigated and analyzed, as well as the influence of these factors on the development of pregnancy, childbirth and the puerperal period was evaluated. The original nature of the present work consists in the preparation of **an algorithm for the follow-up of patients with congenital thrombophilic factors and reproductive failures in the past.**

Dr. Kirovakov has 4 publications related to the dissertation work, 1 of which is in a refereed journal. Participation in 5 scientific forums in Bulgaria is also indicated.

### **Conclusion**

The dissertation work on the topic "**Prevention of reproductive failures and postnatal complications in women with genetically determined thrombophilia**" with author Dr. Zlatko Kirovakov is an original, actual and deep scientific development that offers **an algorithm for the follow-up of patients with congenital thrombophilia and reproductive failures**. The work meets the requirements for the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Regulations for the implementation of the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria in Medical University – Pleven. The complex evaluation of the dissertation presented in this way gives me the reason to vote **positively** and to recommend to the respected Scientific Jury to **award the educational and scientific degree "Doctor" in professional direction 7.1. Medicine, in the scientific specialty "Obstetrics and gynecology" of Dr. Zlatko Kirovakov.**

Date: 01.11.2024

Pleven

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

(Assoc. Prof. Nikola Popovski, MD, PhD)