

СТАНОВИЩЕ

от

Проф. Радка Петрова Кънева, дб,
Катедра "Медицинска Химия и Биохимия",
МФ, Медицински Университет - София,
Външен член на научно жури
съгласно заповед № 3378 от 26.11.2024 г..
на Ректора на МУ-Плевен

ОТНОСНО: Дисертационен труд за придобиване на ОНС "Доктор", Област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.3. „Биологически науки“, докторска програма "Биохимия",

на

Борислав Цветанов Димитров,
Асистент към катедра „Химия и Биохимия“,
докторант на свободна подготовка,
Факултет „Фармация“ на Медицински университет – Плевен.

На тема: „Анализ ролята на генетични варианти на тромбофилични фактори в патологията на псориазис вулгарис“

Научни ръководители:

Проф. Регина Комса-Пенкова, д.б.н.

Проф. д-р Димитър Константинов Господинов, д.м.н.

На основание Заповед № 3378 от 26.11.2024 г. на Ректора на МУ-Плевен и решение на АС, Протокол № 40/25.11.2024 съм избрана за външен член на научно жури по процедура за защита на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ с кандидат **Борислав Цветанов Димитров.**

Представените по процедурата документи са пълни и отговарят на изискванията на ЗРАС в Република България, Правилника за неговото приложение, Правилника за РАС на МУ-Плевен и Правилника за минималните национални изисквания (МНИ) по чл. 26, ал. 5 от ЗРАСРБ за придобиване на научната степен въз основа на предоставената ми авторска справка за съответствие с МНИ.

Становището е изготвено въз основа на дисертационен труд, написан в обем от 137 стандартни страници, структуриран в разделите: въведение 2 стр., литературен обзор - 33 стр; цел и задачи - 2 стр; материали и методи - 28 стр; резултати - 20 стр; дискусия - 17 стр; заключение и изводи - 3 стр, приноси - 1 стр, приложения 4 стр. използвана литература - 18 стр.

Общо представяне на докторанта

Борислав Цветанов Димитров е завършил бакалаварска степен по молекулярна биология в СУ "Св. Климент Охридски" през 2011 г. и магистърска степен по Биофизика в СУ "Св. Климент Охридски" през 2013 г. През 2013 г. спечелва конкурс за асистент и от 21.06.2013 г. е назначен на длъжност асистент в катедра "Химия и Биохимия", МУ-Плевен. През 2019 г. е зачислен за докторант на свободна подготовка към катедра "Химия и Биохимия". Проф. Димитър Господинов става втори научен ръководител на докторанта считано от 13.04.2022 г. На 12.09.2022 г. Борислав

Димитров е положил изпита за докторантски минимум. Заповедта за отчисляване на Борислав Димитров с право на защита е с №3175 от 19.10.2023. На 11.11.2024 на разширен катедрен съвет е проведена апробацията на дисертационния труд „Анализ ролята на генетични варианти на тромбофилични фактори в патологията на псориазис вулгарис“ за придобиване на ОНС „Доктор“

Актуалност на темата

Псориазисът е хронично възпалително заболяване на кожата, срещащо се с честота между 1 и 5 % от населението в различни популации. Хроничното активиране на вродената и адаптивна имунна система водят до увреждане на множество тъкани и органи. Псориазисът е свързан с редица съпътстващи заболявания, като псориазисен артрит, Болест на Крон, рак, артериална хипертония, сърдечно-съдови заболявания (ССЗ), Хронична обструктивна белодробна болест (ХОББ), неалкохолна мастна чернодробна болест (NAFLD), депресия и др.

От друга страна псориазисът често е свързан и с кардиометаболитни фактори като затлъстяване, захарен диабет, хиперлипидемия, инсулинова резистентност и метаболитен синдром (МС). Тези фактори директно повишават риска от ССЗ, артериални и венозни тромбози и водят до преждевременна смъртност при пациенти с псориазис.

Протромботичните генетични фактори, като мутации в гените, участващи в коагулацията на кръвта (например гените на фактор V Leiden или протеин С), могат да допринесат за повишеното образуване на тромби. При пациенти с псориазис може да се наблюдава повишена активност на възпалителните маркери и коагулацията, което увеличава риска от сърдечно-съдови заболявания. Възможната връзка между псориазис и протромботичните състояния може да бъде и резултат от общи възпалителни механизми, които влияят на кръвната хомостаза.

Същевременно, заболяването е полигенно, доказано от епидемиологични и фамилни проучвания, дължащо се на ефекта на голям брой локуси в човешкия геном, открити чрез геномни асоциативни изследвания (GWAS). Роля за възникването на псориазиса, както и на много от съпътстващите заболявания имат и стреса и факторите на околната среда.

Въпреки, че не е установена окончателна причинно-следствена връзка, комбинацията от генетични фактори, общи сигнални пътища и фактори на околната среда би могла да доведе до псориазис и съпътстващите го заболявания, като ключова е ролята на имунната система и хроничното възпаление. Темата е изключително актуална и социално значима, предвид високата честота и хроничен характер, както на псориазиса, така и на много от основните коморбидности.

Структура на дисертационния труд:

Дисертационният труд е представен в обем 137 страници, съдържа 28 таблици, 34 фигури и 3 приложения. Допълнителните материали съдържат 10 таблици. Литературната справка включва 410 заглавия на английски и 4 на български език.

Литературен обзор

В литературния обзор подробно е разгледана клиничната картина и епидемиология на заболяването, както и неговата сложна патогенеза, включваща системно хронично възпаление, генетични и придобити рискови фактори на средата. Много подробно са описани както генетичните изследвания, свързани с изясняване на полигенния мултифакториален характер на болестта, така и имуновъзпалителните механизми, включващи взаимодействието между вродената и адаптивната имунна

система, медирано от цитокини, включително TNF- α , интерферон γ и др. Разгледани са последователно и изчерпателно различните коморбидности, най-често срещани при пациенти с псориазис и свързани със системното възпаление. Това включва затлъстяване, диабет, метаболитен синдром, ССЗ.

Специално внимание е отделено на заболявания свързани с кръвосъсирване и тромбофилии, както и с генетичните маркери в тази област, с които Катедрата по Химия и Биохимия има дългогодишен богат опит. Това са полиморфизми (-675 ID, 4G/5G) в гена на плазминоген активатор инхибитор тип 1 (PAI-1); 677 C>T (rs1801133) в гена за метилентетрахидрофолат редуктаза (MTHFR); полиморфизъм PL(A1)/PL(A2) (rs5918ITGB3) в гена кодиращ субединицата GPIIb (интегрин β 3) на гликопротеин IIb/IIIa (GP IIb/IIIa); полиморфизъм FVL (rs 6025) в гена на фактор V; полиморфизъм 20210 G>A (rs179996) в гена за протромбин (FII).

Целта на дисертацията е изведена логично от обзора и изказаната хипотеза, а именно да се проучат няколко специфични полиморфизми като рискови фактори, свързани с провъзпалителни и протромботични състояния при пациенти с псориазис. Задачите следват от поставената цел за изясняване на връзката между носителство на полиморфизмите и определяне риска за развитие на псориазис, както и значението им за евентуални коморбидности, в т.ч.: ССЗ, диабет тип 2, хиперлипидемии, затлъстяване и метаболитен синдром.

В раздела **Материали и методи** са описани детайлно както подбора и клиничните критерии за включване в изследването на изследваните пациенти, така и на контролна група от здрави хора. Изяснени са видовете лабораторни и клинични данни, събрани от болничната документация, както и критериите за диагностициране на коморбидностите.

В частта за лабораторните изследвания са включени и подробно описани методите за изолиране на ДНК, методите за генотипиране на избраните полиморфизми: алел – специфичен PCR, рестрикционен анализ (RFLP) с агарозна електрофореза, и мултиплексен PCR последван от прецизна селективна хибридизация върху лента (Strip assay); ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA) за определяне на PAI-1 концентрацията в серум.

При анализа на данни е използвано разделяне на групата на болните, според техния генотип и сравнение на носителите на рисковите алели и генотипи с всички останали неносители. По аналогичен начин е изследвана връзката на полиморфизмите с клинични и лабораторни данни на пациентите с псориазис спрямо неносители на мутантния алел, като е сравнена честотата им в групите на пациенти, разделени според генотипа. Статистическата обработка е направена с SPSS, версия 23.0., с асоциативен и вариационен анализ. Използвани са параметрични и непараметрични методи.

Резултатите са представени систематично и последователно, онагледени са с таблици и графики, сравняващи алелните и генотипни разпределения на рисковите алели между групите на пациенти и контроли, както и според различните клинични характеристики и коморбидности. Изследвана е група от 109 пациенти с псориазис, като преобладават мъжете и 181 здрави контроли. Сред коморбидностите на първо място е хипертонията, последвана от метаболитен синдром, псориазисен артрит, ССЗ, диабет тип 2. Сравнени са честотите на рисковите алели и генотипи на изследваните полиморфизми сред пациенти с псориазис и здрави контроли. Установена е статистически значима разлика само за носителството на генотип 4G/4G на полиморфизъм -675 ID, 4G/5G в гена на PAI-1 при пациентите с псориазис спрямо контролите. За останалите полиморфизми не са наблюдават значими разлики.

Изследвана е връзката на рисковите алели/генотипи на изследваните полиморфизми с метаболитните показатели и коморбидности при пациентите в

групата на болните с псориазис. За 4G/4G на полиморфизъм -675 ID, 4G/5G в гена на PAI-1, както и за TT генотип на полиморфизъм 677C>T (*rs1801133*) в гена на MTHFR е установена връзка с нивата на кръвна захар на гладно при пациенти с диабет и псориазис, както и връзка на рисковия генотип с нивата на HDL холестерол и дислипидемия при пациентите с псориазис.

Носителството на мутантния алел *rs5918(C)* се свързва със случаите на триглицеридемия, хиперхолестеролемия и ниските стойности на HDL при пациенти с псориазис, фактори допринасящи за развитието на ССЗ и метаболитен синдром.

Носителството на мутантния алел на FVL (*rs6025*) се свързва с нивата на CRP при пациенти с псориазис, и показва по-значимо провъзпалително и протромботично състояние при тези пациенти. По същия начин носителството на мутантния алел FII 20210A значимо увеличава риска за развитие за диабет тип 2 и се свързва с високи CRP стойности при пациенти с псориазис, което предполага, че този полиморфизъм също има принос към провъзпалителните процеси.

Дискусия и изводи

На база на получените резултати е разгърната дискусия, в която дисертантът обобщава получените резултати и прави сравнение с литературните данни. Добро впечатление прави критичността му към собствените резултати и осъзнаването на комплексността на заболяването и неговите коморбидни състояния. В много проучвания в литературата, включително в дисертационния труд, определени резултати не достигат статистическа значимост поради мултифакторното заболяване и невъзможността, поради ограниченията на размера на извадката или подбора на статистически методи, да се определи категорично връзката на псориазиса със съответните генетични маркери, както и връзката им с коморбидните състояния. Ограничението на асоциативните методи е свързано и с това, че установяването на асоциация не води директно до извод за причинно-следствена връзка. Ситуацията се усложнява допълнително когато един и същ генетичен маркер може да допринася за развитие на различни коморбидни състояния.

Изводи и Приноси

На база на получените резултати и дискусия са формулирани изводи и са изведени приносите на дисертацията, разделени в групи на научно-теоретични и научно-приложни.

В научно теоретичните приноси, според дисертанта, от изследваните полиморфизми само носителството на генотип 4G/4G на полиморфизъм -675 ID, 4G/5G гена на PAI-1 е рисков фактор за развитието на псориазиачната болест.

Към научно-практически и потвърдителни са заключенията, че генотип 4G/4G на полиморфизъм -675 ID, 4G/5G в гена на PAI-1 допринася за инсулинова резистентност и развитие на диабет тип 2. При носители на генотип 677 TT в гена на MTHFR с псориазис по-често се наблюдават пациенти с дислипидемии, със затлъстяване и метаболитен синдром. Носителството на мутантния алел *rs5918(C)* в гена на ITGB3 показва връзка с триглицеридемия, хиперхолестеролемия и ниски стойности на HDL – фактори за развитието на ССЗ и метаболитен синдром. Високите стойности на CRP при пациенти с псориазис, носители на мутантния алел FVL (*rs6025*), показват по-значимо провъзпалително и протромботично състояние на тези пациенти.

За първи път се търси връзка между изследваните полиморфизми, като рискови фактори за псориазис, както и се проучва връзката с коморбидни заболявания при пациенти с псориазис.

Публикации

Във връзка с дисертационния труд в авторската справка по показател т. Г7. са представени 3 публикации, като 2 са в списания от Q4, и е една е в списание с Q3. В пълния списък е включена още една статия в Journal of Biomedical and Clinical Research. Във всички тях дисертантът е първи автор. Резултатите от дисертацията са представени на 5 национални и международни научни форуми. Борислав Димитров е участвал в 4 научни проекта по темата на дисертацията, финансирани от МУ-Плевен.

Забележки

Нямам съществени забележки. В литературния обзор за приноса на генетичните фактори се използва формулировката, че допринасят за 70% от „чувствителността“ към заболяването. По-подходящ термин би бил „предразположението“.

При статистическата обработка на резултатите, по-подходящ за изясняване на причинно-следствени връзки, когато имаме повече от 2 променливи би бил регресионния анализ, докато корелационния анализ показва взаимозависимост.

Заклучение

Дисертационният труд отговаря напълно на изискванията на ЗРАСРБ и на Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в МУ - Плевен.

Въз основа на гореописаното, давам уверено своята положителна оценка за дисертационния труд и предлагам на уважаемите членове на Научното жури да гласуват присъждането на ОНС „Доктор“ по научна специалност “Биохимия” на Борислав Цветанов Димитров.

27.01.2025

гр. София

Подпис: На основание чл. 59 от ЗЗЛД

Проф. Радка Петрова Кънева, дб

STATEMENT

By Prof. Radka Petrova Kaneva, PhD

Department of Medical Chemistry and Biochemistry,

Medical Faculty. MU-Sofia

External member of Scientific Jury,

In accordance with Order № 3378/26.11.2024 of the Rector of MU-Pleven

Regarding: Dissertation for the acquisition of the educational and scientific degree "Doctor",
Field of higher education: 4. Natural sciences, mathematics and informatics, Professional
direction 4.3. "Biological Sciences", doctoral program "Biochemistry",

of Borislav Tzvetanov Dimitrov,

Assistant Professor, doctoral student on free training
at the Department of Chemistry and Biochemistry of Faculty of Pharmacy
of Medical University - Pleven.

Title "Analysis of the role of genetic variants of thrombophilia factors in the pathology of
psoriasis vulgaris"

Scientific supervisors:

Prof. Regina Komsa-Penkova, Ph.D.

Prof. Dr. Dimitar Konstantinov Gospodinov, MD

Based on Order No. 3378/26.11.2024 of the Rector of MU-Pleven and the decision of the AC,
Protocol No. 40/25.11.2024, I have been elected as an external member of a scientific jury
under the procedure for the defense of a dissertation work for obtaining the educational and
scientific degree "Doctor" with candidate **Borislav Tzvetanov Dimitrov**.

The documents submitted under the procedure are complete and meet the requirements of the
Law for Development of the Academic Staff in Republic of Bulgaria (LDASRB), the
Regulations for its application, the Regulations of MU-Pleven and the Regulations for the
minimum national requirements (MNR) under Art. 2b, para. 5 of LDASRB for the acquisition
of the scientific degree based on the author's certificate provided to me for compliance with
the MNR.

The statement is prepared based on a dissertation written in 137 standard pages, structured in
the following sections: introduction 2 pages, literature review - 33 pages; aim and objectives -
2 pages; materials and methods - 28 pages; results - 20 pages; discussion - 17 pages;
summary and conclusions - 3 pages, contributions - 1 page, appendices 4 pages. used
literature - 18 pages.

General presentation of the PhD student

Borislav Tzvetanov Dimitrov graduated with a bachelor's degree in molecular biology from
the University of St. Kliment Ohridski in 2011 and a master's degree in Biophysics at Sofia
University "St. Kliment Ohridski" in 2013. He won a competition for an assistant professor in
2013 and from 21.06.2013 was appointed to the position of assistant professor at the

Department of "Chemistry and Biochemistry", MU-Pleven. In 2019 is enrolled as a doctoral student in free preparation at the Department of "Chemistry and Biochemistry". Prof. Dimitar Gospodinov becomes the second scientific supervisor of the doctoral student as of April 13, 2022. On 12.09.2022 Borislav Dimitrov passed the doctoral minimum exam. The order for the deduction of Borislav Dimitrov with the right of defense is No. 3175 of 19.10.2023. On 11.11.2024, the dissertation work "Analysis of the role of genetic variants of thrombophilia factors in the pathology of psoriasis vulgaris" for the acquisition of the "Doctor" degree was approbated at an extended departmental council.

Relevance of the topic

Psoriasis is a chronic inflammatory disease of the skin, occurring with a frequency between 1 and 5% of the population in various populations. Chronic activation of the innate and adaptive immune system results in damage to multiple tissues and organs. Psoriasis is associated with several comorbidities, such as psoriatic arthritis, Crohn's disease, cancer, arterial hypertension, cardiovascular disease (CVD), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), depression, etc.

On the other hand, psoriasis is also often associated with cardiometabolic factors such as obesity, diabetes mellitus, hyperlipidemia, insulin resistance, and metabolic syndrome (MS). These factors directly increase the risk of CVD, arterial and venous thrombosis and lead to premature mortality in patients with psoriasis.

Prothrombotic genetic factors, such as mutations in genes involved in blood coagulation (for example, factor V Leiden or protein C genes), may contribute to increased thrombus formation. In patients with psoriasis, increased activity of inflammatory markers and coagulation can be observed, which increases the risk of cardiovascular disease. The possible relationship between psoriasis and prothrombotic conditions may also be the result of common inflammatory mechanisms that affect blood homeostasis.

At the same time, the disease is polygenic, proven by epidemiological and family studies, because of the effect of many loci in the human genome discovered by genome-wide association studies (GWAS). Stress and environmental factors play a role in the occurrence of psoriasis, as well as many of the accompanying diseases.

Although a definitive causal relationship has not been established, a combination of genetic factors, common signaling pathways, and environmental factors could lead to psoriasis and its comorbidities, with the immune system and chronic inflammation playing a key role.

The topic is extremely up to date and socially significant, given the high frequency and chronic nature of both psoriasis and many of the main comorbidities.

Structure of the dissertation:

The dissertation is presented in 137 pages, containing 28 tables, 34 figures and 3 appendices. Supplementary materials contain 10 tables. The literature reference includes 410 titles in English and 4 in Bulgarian.

Literature review

In the literature review, the clinical picture and epidemiology of the disease, as well as its complex pathogenesis, including systemic chronic inflammation, genetic and acquired environmental risk factors, were examined in detail. Both the genetic studies related to elucidating the polygenic multifactorial nature of the disease and the immunoinflammatory

mechanisms involving the interaction between the innate and the adaptive immune system, mediated by cytokines, including TNF- α , interferon γ , etc., are described in detail. The various comorbidities most common in patients with psoriasis and associated with systemic inflammation have been consistently and comprehensively reviewed. This includes obesity, diabetes, metabolic syndrome, CVD.

Special attention is paid to diseases related to blood coagulation and thrombophilia, as well as to genetic markers in this area, with which the Department of Chemistry and Biochemistry has extensive experience. These are polymorphisms (-675 ID, (4G/5G) in the plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) gene; 677 C>T (rs1801133) in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene; polymorphism PL(A1)/PL (A2) (rs5918ITGB3) in the gene encoding the GPIIIa subunit (integrin β 3) of glycoprotein IIb/IIIa; polymorphism FVL (rs 6025) in the gene for Factor V; polymorphism 20210 G>A (rs179996) in the gene for prothrombin (FII).

The aim of the dissertation is derived logically from the literature review and the stated hypothesis, namely, to study several specific polymorphisms as risk factors associated with proinflammatory and prothrombotic conditions in patients with psoriasis. The objectives follow from the set goal of clarifying the relationship between carrying the polymorphisms and determining the risk of developing psoriasis, as well as their significance for possible comorbidities, including CVD, type 2 diabetes, hyperlipidemias, obesity and metabolic syndrome.

The Materials and Methods section describes in detail both the selection and the clinical criteria for inclusion in the study of the studied patients and a control group of healthy people. The types of laboratory and clinical data collected from the hospital documentation, as well as the diagnostic criteria for comorbidities, are clarified.

In the laboratory research part, the DNA isolation methods, the genotyping methods of the selected polymorphisms are included and described in detail: allele-specific PCR, restriction analysis (RFLP) with agarose electrophoresis, and multiplex PCR followed by precise selective hybridization on a strip (Strip assay); enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to determine PAI-1 concentration in serum.

In the data analysis the group of patients was divided according to their genotype and the carriers of the risk alleles and genotypes were compared with all other non-carriers. In a similar way, the association of polymorphisms with clinical and laboratory data of patients with psoriasis versus non-carriers of the mutant allele was studied, comparing their frequency in the groups of patients divided according to the genotype. Statistical processing was done with SPSS, version 23.0., with association and variational analysis. Parametric and non-parametric methods were used.

Results are presented systematically and consistently, illustrated with tables and graphs comparing allele and genotype distributions of risk alleles between groups of patients and controls, as well as according to different clinical characteristics and comorbidities. A group of 109 patients with psoriasis, predominantly men, and 181 healthy controls were studied. Among the comorbidities, hypertension ranks first, followed by metabolic syndrome, psoriatic arthritis, CVD, type 2 diabetes. The frequencies of the risk alleles and genotypes of the studied polymorphisms among patients with psoriasis and healthy controls were compared. A statistically significant difference was found only for the carrier of the 4G/4G genotype of polymorphism -675 ID, 4G/5G in the PAI-1 gene in psoriasis patients compared to controls.

No significant differences were observed for the other polymorphisms. The relationship of the risk alleles/genotypes of the studied polymorphisms with metabolic indicators and comorbidities in patients in the group of patients with psoriasis was investigated. For the 4G/4G polymorphism -675 ID, 4G/5G in the PAI-1 gene, as well as for the TT genotype of the 677C>T polymorphism (rs1801133) in the MTHFR gene, an association with fasting blood glucose levels was found in patients with diabetes and psoriasis, and association of risk genotype with HDL cholesterol levels and dyslipidemia in patients with psoriasis.

Carriership of the rs5918(C) mutant allele is associated with cases of triglyceridemia, hypercholesterolemia, and low HDL values in patients with psoriasis, factors contributing to the development of CVD and metabolic syndrome.

Carriership of the FVL mutant allele (rs6025) is associated with CRP levels in patients with psoriasis and indicates a more significant proinflammatory and prothrombotic state in these patients. Similarly, carrying the FII 20210A mutant allele significantly increases the risk of developing type 2 diabetes and is associated with high CRP values in patients with psoriasis, suggesting that this polymorphism also contributes to pro-inflammatory processes.

Discussion and conclusions

Based on the results obtained, a discussion has been developed in which the PhD student summarizes the obtained results and makes a comparison with the literature data. His critical attitude towards his own results and awareness of the complexity of the disease and its comorbid conditions make a good impression. In many studies in literature, including the dissertation, certain results did not reach statistical significance due to the multifactorial nature of the disease and the inability, due to limitations of sample size or selection of statistical methods, to definitively determine the association of psoriasis with relevant genetic markers, as well as the association with the comorbid conditions. A limitation of association methods is also related to the fact that the establishment of an association does not lead directly to the conclusion of a causal relationship. The situation is further complicated when the same genetic marker can contribute to the development of different comorbid conditions.

Conclusions and Contributions

Based on the obtained results and discussion, conclusions were formulated, and the contributions of the dissertation were presented, divided into two groups of scientific-theoretical and scientific-applied.

According to the dissertation in the scientific-theoretical contributions, from all studied polymorphisms, only the carriership of the 4G/4G genotype of polymorphism -675 ID, 4G/5G of the PAI-1 gene is found as a risk factor for the development of psoriatic disease.

The scientific-practical and confirmatory are the conclusions that genotype 4G/4G of polymorphism -675 ID, 4G/5G in the gene of PAI-1 contributes to insulin resistance and development of type 2 diabetes. Carriers of genotype 677 TT in the gene of MTHFR are more often observed in psoriasis patients with dyslipidemia, obesity and metabolic syndrome.

Carriership of the mutant allele rs5918(C) in the ITGB3 gene is related to triglyceridemia, hypercholesterolemia and low HDL values - factors for the development of CVD and metabolic syndrome. High CRP values in psoriasis patients carrying the FVL mutant allele (rs6025) indicate a more significant proinflammatory and prothrombotic state of these patients.

For the first time, an association between the studied polymorphisms as risk factors for psoriasis is sought, as well as the association with comorbid diseases in patients with psoriasis is investigated.

Publications

In connection with the dissertation work in the author's reference by indicator item D7. 3 publications are presented, 2 of which are in Q4 journals, and one is in Q3 journal. Another article in the Journal of Biomedical and Clinical Research is included in the full list. In all of them, the PhD student is the first author. The results of the dissertation have been presented at 5 national and international scientific forums. Borislav Dimitrov participated in 4 scientific projects on the topic of the dissertation, funded by MU-Pleven.

Remarks

I have no significant comments. In the literature review on the contribution of genetic factors the author uses the formulation that they contribute 70% of the "sensitivity" to disease. A more appropriate term would be "predisposition". In the statistical processing of the results, a more appropriate method for clarifying causal relationships when we have more than 2 variables would be regression analysis, while correlation analysis shows interdependence.

Conclusion:

The dissertation work fully meets the requirements of the Law for Development of the Academic staff in the Republic of Bulgaria (LDARB), and the Regulations for the terms and conditions for acquiring scientific degrees and occupying academic positions at the Medical University of Pleven.

Based on the above, I confidently give my positive assessment of the dissertation and propose to the respected members of the Scientific Jury to vote for the awarding of the educational and scientific degree "Doctor" (PhD) in the scientific specialty "Biochemistry" to Borislav Tzvetanov Dimitrov.

27.01.2025г.

Prof. Radka Kaneva, PhD **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

Sofia