

РЕЦЕНЗИЯ

На дисертационният труд и автореферат на тема

Възможности на някои ехокардиографски техники и микроРНК за установяване на субклинична миокардна увреда при деца и млади възрастни с Бета Таласемия майор

Представен за публична защита пред научно жури за присъждане на научна и образователна степен „доктор“ по област на висше образование 7
Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1 Медицина по
докторска програма „Педиатрия“

Автор: д-р Калина Бинкова Ганева,
Редовен докторант
катедра по Педиатрия, Медицински университет г. Варна

Научни ръководители: Доц. Д-р Петър Атанасов Шивачев, дм
Проф.д-р Валерия Игнатова Калева, дм

Изготвил становището: проф.д-р Анна Иванова Кънева-Ненчева, дм
Клиника по детска кардиология, МБАЛ „НКБ“ ЕАД,
избрана за член на научното жури на основание
на заповед на Ректора № Р-109-187/15.03.2023 и
протокол на научно жури №1/24.03.2023

Служебен адрес: София 1309; ул. Коньовица 65
ел.поща: kaneva_anna@abv.bg

Не съм открила пропуски в приложената от д-р Калина Бинкова Ганева документация. Спазени са изискванията на ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научните степени и заемане на академични длъжности в МУ Варна. Нямам конфликт на интереси от участието ми в научното жури. Нямам общи научни трудове с докторанта.

Значимост на темата. Бета таласемия майор (БТМ) е една от редките хемоглобинопатии, при която успехите на съвременната медицина осигуряват нормални растеж и развитие и при прилагане на хелаторна терапия до голяма степен предпазват от дълготрайните усложнения на регулярните хемотрансфузии–

отлагането на желязо във вътрешните органи, включително миокарда. Независимо от това сърдечно-съдовото засягане е водеща причина за болестност и смъртност. Клинично изявената сърдечна недостатъчност или дизритмии са най-чести при неадекватна хелаторна терапия и при възрастни. Отлагане на желязо в сърцето, което променя тъканните характеристики на миокарда и води до нарушение във функцията му е намирано още в детска възраст. Затова проактивното поведение с търсене на чувствителни, специфични, безопасни, максимално неинвазивни и възпроизводими методи за откриване на начални, дискретни промени на сърдечна увреда са от изключително значение за пациента. В търсене на тези методи за определяне миокардно засягане като израз на желязното натрупване и създаване на протокол за проследяване на кардиологичния статус на деца и млади възрастни с БТМ е посветен дисертационният труд на д-р Калина Ганева.

В България не са извършвани системни, проспективни проучвания за оценка на диастолна функция, миокардна деформация и изследване на микроРНКи при деца и млади възрастни с БТМ.

По тази причина дисертационният труд на д-р Ганева е актуален и от съществено значение за обгрижването на тази група пациенти в България.

Структура. Дисертационният труд, написан на 130 страници, е добре балансиран и включва въведение и литературен обзор (29 страници), цел и задачи (1 стр.), материал и методи (12 стр.), резултати и обсъждане (47 стр.) обобщение с изводи и приноси (5 стр.). Онагледен е с 14 таблици и 39 фигури, и 2 приложения. Библиографията включва общо 147 литературни източника, от които 6 на кирилица и 141 на латиница, като 45 % от цитираните публикации са от последните 10 години, и 29 (20%) от последните 5 години.

В **литературния обзор**, заемащ 20% от дисертацията пълно, системно и последователно са очертани патофизиологията и клиничната изява на бета таласемия майор (БТМ), желязният метаболизъм и мониторирането на нивата на желязо в човешкия организъм. Подчертана е ролята на феритина като основен лабораторен показател за оценка на желязните запаси в организма и риска от бъдещи сърдечно-съдови увреди. Разгледана е съвременната терапия на БТМ с акцент върху желязните хелатори, костно-мозъчната трансплантация, генната терапия и прилагането на моноклонални антитела. Специално внимание е отделено на сърдечно-съдовите усложнения и връзката им с хелаторната терапия. Д-р Ганева системно и задълбочено описва промените в хемодинамиката на желязо индуцираната сърдечна увреда и усложненията ѝ. Основен компенсаторен механизъм на хроничната анемия и

свързаната с нея хпоксия е хипердебитно състояние, което в дългосрочен план води до камерно ремоделиране и повишени ежекционни индекси. Детайлно е разгледан молекулярния механизъм и кардиотоксичността на желязото и ефектите на оксидативната увреда върху кардиомиоцитите. Развитието на таласемична кардиомиопатия (ТКМП) се извява фенотипно в два варианта - дилатативна и рестриктивна ТКМП. В еволюцията на натрупването на желязо първо са нарушава диастолната функция, като клиничната изява на сърдечната увреда със систолна дисфункция и образ на ДКМП е крайна фаза на ТКМП. Дисоциацията между количеството на натрупване на желязо и липсата на симптоми са основание за търсене на сензитивни маркери за ранна субклинична миокардна увреда още в детска възраст. Подробно са разгледани оценката на диастолното функция при деца с БТМ, както и честотата и вида на аритмиите, като едно от усложненията на желязната свръхтовар. Подчертана е ролята на размера на ляво предсърдие като прогностичен фактор за бъдещи аритмии. Магнитно-резонансната томография (МРТ) и ехокардиографията са разгледани като съвременни неинвазивни методи за оценка на желязното отлагане. Подчертава се необходимостта първото извършване на МРТ да е във възрастта 6-10 години. Основно внимание е отделено на съвременните ехокардиографски техники за определяне на систолна и диастолна лявокамерна функция и миокардна деформация, които са по-чувствителни от стандартните ехокг техники за ранна оценка на камерната дисфункция. Д-р Ганева разглежда и микроРНКи като нови лабораторни показатели и потенциални биомаркери за сърдечна дисфункция като сърдечна хипертрофия, интерстициална фиброза и сърдечно ремоделиране, процеси, които са свързани с БТМ

Изводите от съвременната научна литература подчертават необходимостта от комплексна оценка на сърдечната функция при пациенти с БТМ и са основа за изграждане на работна хипотеза, че начални изменения в сърдечната функция при асимптомни млади пациенти, дължащи се на БТМ и натрупването на желязо в миокарда, могат да се идентифицират посредством съвременни неинвазивни ехокардиографски техники и някои микроРНКи.

Целта на дисертацията да се установи има ли ранни нарушения в сърдечната функция при млади пациенти с БТМ и могат ли те да се идентифицират посредством някои съвременни неинвазивни ехокардиографски показатели и специфични за сърдечна увреда микроРНКи.

Поставени са 7 добре формулирани **задачи**, които отговарят на поставената цел.

1. Да се извърши оценка на физическото развитие на деца и млади възрастни с БТМ включваща, антропометричните показатели - ръст, тегло, телесна повърхност, както и да се оцени клинично сърдечно-съдовата система - сърдечна честота, артериално налягане. Да се направи съпоставка със здрави контроли.
2. Да се извърши ехокардиографска оценка на лявокамерната сърдечна функция при пациенти с БТМ, и сравни със здрави контроли:
 - Измерване и оценка на сърдечните размери и систолната лявокамерна функция и на миокардна деформация посредством спекъл трекинг и изчисляване на глобален лонгитудинален стрейн (GLS).
 - Оценка на лявокамерна диастолна функция с пулсов и тъканен Доплер
 - Да се анализират диагностичните възможности на тъканния Доплер и GLS за оценка на ранна сърдечна дисфункция при асимптомни деца и млади пациенти с БТМ.
3. Да се изследва нивото на феритин като лабораторен маркер за железен свръхтовар при деца и млади пациенти с БТМ.
4. Да се изследва експресията на специфични микроРНК, като маркери за сърдечна недостатъчност, ремоделиране и фиброза при пациентите с БТМ и здрави контроли.
5. Да съпоставят резултатите от изследваните микроРНК и ехокардиографските показатели на пациентите.
6. Да се потърси корелация между ехокардиографската оценка на сърдечната функция и миокардното желязно натрупване посредством ЯМР T2* техниката по степен (лека, умерена, тежка) при пациентите над 10 годишна възраст.
7. Да се предложи протокол за ехокардиографско изследване и проследяване на сърдечно-съдовия статус при пациентите с БТМ.

Пациенти и методи. Изследването е проспективно, основно достойнство на дисертационния труд, и е одобрено от Комисията по етика на МУ Варна. Включени са 78 случая на възраст до 25 години, 27 пациенти с доказана БТМ и 51 здрави контроли. Използвани са клинични методи, ЕКГ, съвременните ЕхоКГ методи за детайлна оценка на систолна, диастолна функция на лява камера. Изследвани са 5 микроРНК, избрани като маркер на остра сърдечна увреда, сърдечно ремоделиране и фиброза. Използвани са съвременни статистически методи, които гарантират достоверността на резултатите.

Представените **резултати** за всяка задача, завършват с обсъждане, в което получените резултати критично и аналитично се сравняват с извършвани национални и международни проучвания.

По задача 1. Липсват статистически значими разлики по възраст, пол и телесна повърхност между изследваната група и контролите. Д-р Ганева намира по-висока сърдечна честота, по-ниско систолно и диастолно налягане при пациентите с БТМ, които не достигат статистическа значимост с контролите и се обясняват с хроничното хипердебитно състояние, каквото е БТМ.

По задача 2. Д-р Ганева доказва статистически значимо по-висока лявокамерна мускулна маса (в абсолютни и индексирани стойности), което заедно с увеличения лявокамерен диаметър се интерпретира като компенсаторен механизъм на хипердебитното състояние вследствие хроничната анемия. Налице е статистически значимо увеличение на индексирания обем на ляво предсърдие, израз на диастолна дисфункция и отлагане на желязо. Оценката на систолната функция на лява камера чрез фракция на изтласкване и GLS е в нормални стойности и не показва разлика с контролите. Детайлната оценка на диастолната лявокамерна функция с пулсов и тъканен Доплер не открива данни за нарушена лявокамерна релаксация. Въпреки това намереният повишен индексиран лявопрестърднен обем се интерпретира като израз на начални промени в диастолната лявокамерна функция, която изисква проследяване.

По задача 3 д-р Ганева доказва леко до умерено повишени нива на феритина при пациентите с БТМ, което е израз на адекватно хелаторно лечение и нисък сърдечно-съдов риск.

По задача 4- пет микроРНК са изследвани при 50 случая – 27 пациенти и 23 контроли. Д-р Ганева доказва експресия на две от тях при всички пациенти с БТМ и статистическа значимост със здрави контроли – значимо по-ниски нива при MIR 30a-5p и значимо по-високи при MIR 150-5p, което се интерпретира като белег на повишен сърдечно-съдов риск. Извършен е задълбочен анализ на експресията на останалите микроРНК, които не се намират при всички болни като липсва значима разлика със здравите контроли. Може да се приеме, че патологична експресия на MIR -1-3 p и MIR-29 b-3p са потенциал за сърдечна фиброза.

По задача 5 д-р Ганева намира умерена обратна връзка между MIR 150-5p и индексираният обем на ляво предсърдие ($r=0,44$)

По задача 6 отлагането на желязо в миокарда е оценено чрез ЯМР при 19 пациента. Тежка степен на натрупване на желязо се доказва при 2 пациенти и това е в съзвучие с понижените стойности на систолна функция и увеличено ляво предсърдие. Малкият брой не позволява извършване на корелационен анализ, но липсата на

желязно отлагане в миокарда при останалите 17 пациенти (90%) е израз на адекватното хелаторно лечение.

По задача 7 д-р Ганева изработва протокол за детайлно ехокардиографско изследване на пациентите с БТМ

Изводите, 9 на брой логично и правилно формулирани, следват данните от резултатите и статистическият анализ и отговарят на поставените цел и задачи. Съгласна съм представените 5 приноса, два с оригинален и три с потвърдителен характер.

Представени са 2 публикации в пълен текст, 1 от тях в реферирано в международна база данни списание и 2 участия в национални научни форуми, с което са покрити изискванията на МУ Варна.

Авторефератът отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичните кадри.

В заключение дисертационният труд на д-р Калина Ганева, изграден на база проспективна, задълбочена оценка на миокардната увреда при деца и млади възрастни от североизточна България с БТМ, чрез използването на достъпни, неинвазивни методи доказва много добра рехабилитация на пациентите до 25 - годишна възраст. Адекватното лечение, включващо периодични кръвопреливания и хелаторна терапия доказват чрез ЯМР отлагане на желязо в миокарда само при 10 % от изследваните пациенти и това корелира със стандартните методи за оценка на лявокамерна функция, които са в референтни стойности. Независимо от това хроничната анемия и свързаното с нея хипердебитно състояние са причина за повишена лявокамерна мускулна маса и витални показатели. Използването на съвременните ехокардиографски показатели при тези асимптомни пациенти намира дискретни промени в диастолната функция на лява камера, израз на нарушена релаксация от основния патологичен процес. Особен интерес представлява изследването на микроРНКи, което се прави за първи път у нас при пациенти с БТМ и доказва патологични стойности на MIR 30a-5p и MIR 150-5p, което би могло да се асоциира с повишен сърдечно-съдов риск.

Дисертационният труд на д-р Калина Ганева, педиатър и детски кардиолог, поставя стабилна основа на сърдечното засягане на асимптомни деца и млади възрастни с БТМ и позволява разширяване и задълбочаване на проучванията върху

еволюцията на сърдечното засягане, оценено със съвременните ехокардиографски техники и микроРНКи

Убедено препоръчвам на членовете на научното жури да оценят положително дисертационният труд **„Възможности на някои ехокардиографски техники за установяване на субклинична миокардна увреда при деца и млади възрастни с бета таласемия майор“** и удостоят д-р Калина Бинкова Ганева с научната и образователна степен „доктор“.

София

Изготвил рецензията:



04.05. 2023

(проф. Анна Кънева-Ненчева дм)