



**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“ – ВАРНА
ФАКУЛТЕТ ПО МЕДИЦИНА
КАТЕДРА ПЕДИАТРИЯ**

Д-р Калина Бинкова Ганева

**ВЪЗМОЖНОСТИ НА НЯКОИ ЕХОКАРДИОГРАФСКИ
ТЕХНИКИ И МИКРОРЪЧКИ ЗА УСТАНОВЯВАНЕ НА
СУБКЛИНИЧНА МИОКАРДНА УВРЕДА ПРИ ДЕЦА И
МЛАДИ ВЪЗРАСТНИ С БЕТА ТАЛАСЕМИЯ МАЙОР**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на образователна и
научна степен „доктор“

Специалност: „Педиатрия“

Научни ръководители:

Доц. Д-р Петър Атанасов Шивачев, дм
Проф. Д-р Валерия Игнатова Калева, дмн

Варна, 2023 г.

Настоящият дисертационен труд е разработен в:

- Катедрата по педиатрия към Факултет по медицина на Медицински университет – Варна.
- Катедра по клинична и имунологична лаборатория към УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД – Варна.

Дисертационният труд е представен на 130 страници и е онагледен с 14 таблици, 39 фигури и 2 приложения. Цитирани са 147 литературни източника, от които 6 на кирилица и 141 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита от Катедрен съвет на Катедрата по педиатрия при Медицински университет – Варна във връзка с доклад от проф. д-р Виолета Михова Йотова, дмн, Ръководител на Катедрата по педиатрия при МУ – Варна.

Публичната защита на дисертационният труд ще се проведе на 01.06.2023 г. в Blackboard системата на Медицински университет – Варна въз основа на Заповед № Р-109-187 на проф. д-р Валентин Любомиров Игнатов, Ректор на МУ – Варна, пред научно жури в състав:

Председател:

Доц. Д-р Лъчезар Радославов Маринов, д.м.

Външни членове:

Проф. д-р Анна Иванова Кънева-Ненчева, д.м.н.

Проф. д-р Петранка Илиева Чакърлова, д.м.н.

Доц. д-р Димитър Стефанов Карастатев, д.м.

Вътрешни членове:

Доц. д-р Лъчезар Радославов Маринов, д.м.

Доц. д-р Мария Стоянова Димова-Милева. д.м.

Резервни членове:

Доц. д-р Анна Тончева Дашева-Димитрова, д.м.

Доц. д-р Милена Иванова Белчева, д.м.

Материалите по защитата са публикувани на интернет-страницата на Медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“-Варна и са на разположение в Научния отдел на МУ-Варна.

СЪДЪРЖАНИЕ

I. Въведение	6
II. Работна хипотеза	8
III. Цел на дисертационният труд	8
IV. Задачи на дисертационният труд	9
V. Материали и методи	10
1. Пациенти и контроли	10
1.1. Пациенти	10
1.2. Контроли	11
2. Методика на изследването.....	12
VI. Резултати и обсъждане	17
1. Анализ на демографските, антропометрични и хемодинамичните показатели на пациентите с бета-таласемия майор и сравняване с контролната група.....	17
2. Анализ и обсъждане на морфологичните ехокардиографски показатели на пациентите с бета-таласемия майор и здравите контроли.....	24
3. Систолна функция при пациенти с бета-таласемия майор.....	31
4. Доплерово изследване и показатели за диастолна функция при пациенти с бета-таласемия майор и здрави контроли.....	37
5. Изследване на феритин при пациенти с бета-таласемия майор.....	49
6. Изследване на микроРНКи при пациентите с бета-таласемия майор и здрави контроли	52
7. Корелационен анализ на някои ехокардиографски показатели и определени микроРНКи.....	63
7.1. RQ Has-miR-150-5p и някои ЕхоКГ показатели.....	63
7.2. RQ Has-miR-30a-5p и някои ЕхоКГ показатели.....	65

8. Оценка на отложеното в миокарда желязо при пациенти с бета-таласемия майор посредством ЯМР T2* техниката.....	67
9. Изработване на протокол за ехокардиографско изследване при деца и млади пациенти с бета-таласемия майор.....	70
VII. Изводи.....	73
VIII. Заключение.....	75
IX. Приноси.....	78
1. С оригинален характер.....	78
2. С потвърдителен характер.....	78
X. Публикации и участия, свързани с дисертационния труд.....	79

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АН	артериално налягане
БТМ	бета-таласемия майор
ЕКГ	електрокардиография
ЕФ	ежекционна фракция
ЕхоКГ	ехокардиография
ЗСЛК	задна стена на лява камера
КМП	кардиомиопатия
ЛК	лява камера
ЛКММ	лявокамерна мускулна маса
ЛП	ляво предсърдие
МКС	междукамерен септум
НТСЖ	нетрансферин-свързано желязо
СН	сърдечна недостатъчност
СЧ	сърдечна честота
ТДДЛК	теледиастолен диаметър на лява камера
ТКМП	таласемична кардиомиопатия
ТСДЛК	телесистолен диаметър на лява камера
ТСДЛП	телесистолен диаметър на ляво предсърдие
ФС	фракция на скъсяване
ЯМР	ядреномагнитен резонанс
BNP	мозъчен натриуретичен пептид
BSA	телесна повърхност
DecT	време на децелерация
Em	тъканна диастолен скорост в митралния пръстен
GLS	глобален лонгитудинален стрейн
HLA	главен комплекс на тъканната съвместимост при човека
HbF	фетален хемоглобин
IGF1	инсулиноподобен растежен фактор-1
IRT	време на изоволуметрична релаксация
LVMi	индексирана лявокамерна мускулна маса
SD	стандартно отклонение
Sm	тъканна систолен скорост в митралния пръстен
TGF-β	трансформиращ растежен фактор-β

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Таласемиите са група наследствени заболявания, които се характеризират с намалена или липсваща продукция на нормалните глобинови вериги на хемоглобина. Бета-таласемия майор (БТМ) се причислява към трансфузионно-зависимите форми на таласемия, които изискват регулярни доживотни хемотрансфузии, без които биха настъпили редица усложнения.

Клиничната изява на БТМ настъпва между 6-24 месечна възраст с прогресираща анемия, жълтеница и хепатоспленомегалия. **Препоръките за лечение** включват регулярни доживотни хемотрансфузии на всеки две до пет седмици. Хемотрансфузиите осигуряват нормално физическо развитие и предотвратяват редица усложнения, но с течение на времето настъпва желязно свръхобременяване от развиващата се вторична хемохроматоза. Свободната форма на желязо, която е силно токсична, се отлага във вътрешните органи, засягайки предимно сърцето, черният дроб и жлезите с вътрешна секреция, предизвиквайки редица смущения като сърдечна недостатъчност, чернодробна цирроза, ендокринни нарушения.

В миналото сърдечните усложнения са били основна причина за смъртност при пациентите с БТМ и то в млада възраст – около 10-тата година. По настоящем, в развитите страни, с провеждането на регулярна и адекватна хелаторна терапия, се осигурява нормално качество и продължителност на живота на тези пациентите, но сърдечните усложнения са все още водеща причина за болестност и смъртност. Съществуват сведения за много ранно отлагане на желязо в миокарда – на 7-годишна възраст, основно при ограничен достъп до хелаторна терапия.

През последните години навлязоха нови методи за оценка на систолната и диастолната функция на сърцето като тъканен доплер и още по-новите техники – миокарден стрейн и стрейн рейт. Тяхното използване все още не е широко навлязло в

ежедневната клинична практика на детския кардиолог, предвид особеността на миокардната дисфункция и техническата специфичност и трудоемкост. Затова и по настоящем, не са много литературните данни за оценка на сърдечната функция сред детската популация, използвайки показателя миокарден стрейн. Децата с БТМ са контингент, който става прицел за детския кардиолог обикновено след 10-годишна възраст. Независимо, че магнитнорезонансната техника T2* се счита за основен метод за оценка на желязното натрупване в миокарда, методът все още е скъп и не се провежда повсеместно. Новите ехокардиографски методи за оценка и проследяване на сърдечна функция при тези деца са по-достъпни и икономически изгодни. Въпреки това, проучванията при деца с БТМ, особено под 10-годишна възраст, не са много. Съществуват сведения за латента систолна, но преди всичко диастолна дисфункция, оценени чрез тъканен доплер, при асимптомни деца с БТМ, включително и под 10 години. Новите техники за миокардна деформация демонстрират регионални нарушения в миокарда, дължащи се вероятно на нехомогенното отлагане на желязо в миокарда.

Наскоро микроРНК-ите започнаха да привличат вниманието на изследователи и клиницисти като потенциални биомаркери за различни патологични състояния. Тяхното широко разпространение в телесните течности, стабилност и устойчивост, ги прави особено подходящи за изолиране, идентифициране и изследване. На теория микроРНКите притежават много от спецификите, необходими за идеалния биомаркер - регулатори на редица патологични процеси, широко разпространение в биологични течности, стабилност и устойчивост. Натрупват се достатъчно доказателства за намесата на определени микроРНКи (микроРНК-1, микроРНК-21, микроРНК-29, микроРНК-30 и микроРНК-150) в патогенезата и прогресията на сърдечна недостатъчност (СН), миоцитната

хипертрофия и апоптоза, интерстициалната фиброза, сърдечно ремоделиране.

В центъра по Коагулопатии и редки анемии към УМБАЛ „Св. Марина“ в гр. Варна медицинският персонал се грижи за пациенти с БТМ и бета-таласемия интермедия от цяла Североизточна България. Ежедневната ни работа с децата ни стимулира да се запознаем подробно с особеностите на заболяването, актуалността на лечението, и най-вече, със съвременните усложнения и тяхната своевременна диагностика. Факт е, че в детските години липсва клинична изява на усложненията или те са твърде редки. Проявата на заболяването с изявена сърдечна увреда обаче може да настъпи в най-активните години от живота на пациентите, като отлагането на желязо е твърде вероятно да е започнало още от детска възраст. Затова ние си поставихме задачата да търсим достатъчно сензитивни, надеждни и неинвазивни методи за ранна диагностика на сърдечната увреда, преди настъпването на клиничните симптоми, защото профилактиката винаги си остава най-доброто лечение, както за пациентите, така и за обгрижващите ги лекари. Не на последно място, важно е методите да са максимално щадящи и неинвазивни за децата.

II. РАБОТНА ХИПОТЕЗА

Начални изменения в сърдечната функция при асимптомни млади пациенти, дължащи се на заболяването БТМ и натрупването на желязо в миокарда, могат да се идентифицират посредством съвременни неинвазивни ехокардиографски техники и някои микроРНКи.

III. ЦЕЛ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯТ ТРУД

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.

IV. ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯТ ТРУД

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 - сърдечната дейност, СЧ, АН. Да се направи съпоставка със здрави контроли.

2. Да се извърши ехокардиографска оценка на лявокамерната сърдечна функция при пациенти с БТМ, като се сравни със здрави контроли, включваща:

- Измерване и оценка на сърдечните размери и систолната лявокамерна функция - ТДДЛК, ТСДЛК, ЕФ на ЛК, ФС, дебелини на МКС и ЗСЛК, ЛКММ, включително индексирана спрямо телесна повърхност, ТСДЛП и индексиран обем на ЛП спрямо телесна повърхност. Оценка на миокардна деформация посредством спекъл трекинг и изчисляване на GLS.
- Оценка на диастолна функция на ЛК – измерване скоростите на митралния кръвоток (т.Е, т.А, Е/А), оценка на тъканните миокардни систолна (S_m) и диастолна скорости в медиален и латерален митрален клапен сегмент (e' , a'), оценка на лявокамерното налягане на пълнене - отношението E/e' .
- Да се анализират диагностичните възможност на тъканния доплер и GLS за оценка на ранна сърдечна дисфункция при асимптомни деца и млади пациенти с БТМ.

3. Да се изследва лабораторен маркер за железен свръхтовар при деца и млади пациенти с БТМ – феритин.

4. Да се изследва експресията на специфични микроРНКи – микроРНК-1, микроРНК-21, микроРНК-29, микроРНК-30 и

микроРНК-150, като маркери за СН, ремоделиране и фиброза при пациентите с БТМ и здрави контроли.

5. Да се направи съпоставка между резултатите от изследваните микроРНКи 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 год възраст.

7. Да се предложи протокол за ехокардиографско изследване и проследяване на сърдечно-съдовия статус при пациентите с БТМ.

V. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Пациенти и контроли.

Дисертационното изследване обхваща общо 78 изследвани лица, от които 27 деца и млади пациенти с доказана БТМ, на средна възраст от 15,14 год., които провеждат лечение в Експертния център по коагулопатии и редки анемии към УМБАЛ „Св. Марина”, както и 51 здрави контроли, съответстващи по пол и възраст. Пациентите посещават Центъра периодично на всеки 2 до 5 седмици, в зависимост от индивидуалното им клинично състояние, с цел извършване на хемотрансфузии и хелаторна терапия.

Изследването стартира на 22.07.2019 г., след получаване на разрешение от Комисията по етика на научните изследвания при Медицински университет - Варна с Решение №84 от дата 27.06.2019 г. и обхвана периода юли 2019 г. – юни 2022 г.

1.1. Пациенти:

Пациентите са общо 27, от които 13 момичета и 14 момчета. Средната възраст е 15,14 год ($SD \pm 5,83$). Подборът на

пациентите се извърши посредством определени критерии за включване:

- Възраст: 0-25 години
- Потвърдена диагноза БТМ, посредством електрофореза на хемоглобина и генетично изследване.
- Липса на придружаваща патология, повлияваща сърдечно-съдовата система.
- Подписано информирано съгласие от родител или настойник на лицата под 18-годишна възраст.

1.2. Контроли:

Изследването включи 51 контроли, съответстващи по пол и възраст, които бяха подбрани според следните критерии:

- Възраст: 0-25 години.
- Липса на подлежащо сърдечно заболяване и анемиен синдром.
- Подписано информирано съгласие от родител или настойник на лицата под 18-годишна възраст.

2. Методика на изследването.

При прегледа на пациентите и здравите контролите се извършиха следните процедури:

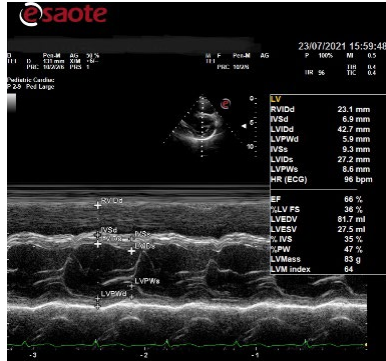
- 2.1. Физикален преглед с измерване на антропометричните показатели: ръст (в сантиметри), тегло (в килограми) и телесна повърхност (body surface are, BSA), изчислена по формулата на Du Bois. Снемане на подробен сърдечно-съдов статус – сърдечен ритъм, СЧ, аускултаторна находка, АН, периферни пулсации.
- 2.2. Електрокардиограма с 12 отвеждания, използвайки електрокардиограф марка Shiller, модел AT-2 plus.
- 2.3. Изследване на лабораторни показатели:

- При пациентите: пълна кръвна картина (пре- и посттрансфузионно), серумен феритин, отделяне на серум за изследване на микроРНК-1, микроРНК-21, микроРНК-29, микроРНК-30 и микроРНК-150.
- При контроли: пълна кръвна картина, отделяне на серум за изследване на микроРНК-1, микроРНК-21, микроРНК-29, микроРНК-30 и микроРНК-150.

При определяне на показателите от пълната кръвна картина се използва 5-diff хематологичен анализатор Sysmex XN 1000 по метода на флуоресцентна поточна цитометрия с използване на полупроводников лазер и хидродинамично фокусиране. Изследването на феритин се извърши по имунометричен хемилуминисцентен метод на анализатор Immulite 2000 XPi с аналитична чувствителност 0,4 ng/ml.

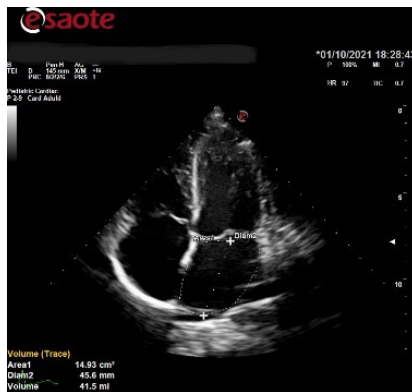
2.4. Ехокардиографско изследване за оценка на сърдечна структура и функция се извърши на апарат Esaote, модел MyLabOmega, произведен през 2020 г. с трансдюсер в диапазона 1-9 MHz в зависимост от възрастта и телосложението на изследваните лица, спазвайки препоръките на Американската асоциация по ехокардиография в детска възраст. При изследването са измервани и оценявани следните параметри:

- **Размери на ЛК:** дебелини на МКС и ЗСЛК, ТДДЛК, ТСДЛК, изчисли се абсолютната лявокамерна мускулна маса, както и индексиранията спрямо телесната повърхност мускулна маса (LVMi) (фиг. 1).



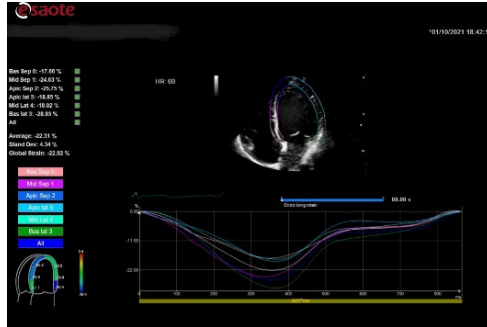
Фиг. 1. Измерване на размери на ЛК: ТДДЛК, ТСДЛК, МКС, ЗСЛК; измерване на ЛКММ и LVMi; изчисляване на ЕФ и ФС.

- **Обемът на ЛП и индексираният обем на ляво предсърдие** спрямо телесна повърхност (LAVi) (фиг. 2).



Фиг. 2. Измерване на обем на ЛП.

- **Оценка на систолна функция на ЛК.** Най-често използваните показатели за оценка на глобална лявокамерна систолна функция са ЕФ и ФС. Изчисляване на показателя за миокардна деформация GLS се извърши посредством техниката спекъл трекинг (speckle-tracking), спазвайки препоръките на Американската асоциация по ехокардиография (фиг. 3).



Фиг. 3. Изчисляване на GLS.

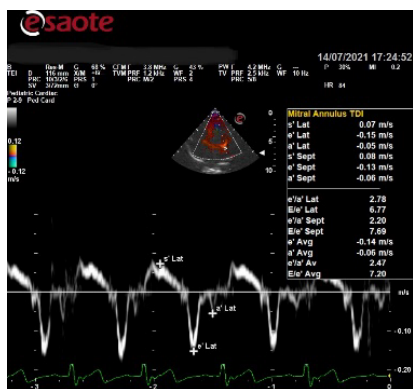
- Оценка на диастолна функция на ЛК.** Измерване на пиковата ранна диастолна скорост (Е-вълната), пиковата късна диастолна скорост по време на предсърдната контракция (А-вълната), и времето на децелерация (DecT). Пресметна се отношението Е/А (фиг. 4). Чрез тъканен доплер се измериха систолна миокардна скорост (s'), ранната и късната диастолна миокардни скорости (e' , a'), съответно в медиалния и латералния сегменти на митралния клапен пръстен. Изчисли се отношението E/e' (фиг. 5, фиг. 6).



Фиг. 4. Измерване на трансмитралния кръвоток чрез пулсов доплер; изчисляване на отношението E/A и $DecT$.



Фиг. 5. Измерване чрез тъканен доплер на тъканните миокардни скорости в медиалния митрален пръстен.



Фиг. 6. Измерване чрез тъканен доплер на тъканните миокардни скорости в латералния митрален пръстен.

3. Изследване на некодиращи малки рибонуклеинови киселини (микроРНКи).

Избрани за целите на изследването са следните микроРНКи: микроРНК-1, микроРНК-21, микроРНК-29, микроРНК-30 и микроРНК-150. МикроРНКите са селектирани на базата на наличната в научните среди информация за тяхното

участие в сърдечната патология – остра сърдечна увреда, сърдечно ремоделиране и фиброза. Изследването беше одобрено и финансирано от Фонд Наука по проект №19007 – „Сърдечна увреда при млади пациенти с бета-таласемия майор“.

Използвания материал за изследване на микроРНКи е кръвен серум. Изолиране на микроРНКите бе извършено от 200 μ l серум, чрез готов търговски набор miRNeasy Serum/Plasma Kit (50), каталожен №217184 (QIAGEN, Германия), според протокола на производителя. След това всяка от пробите е подложена на обратна транскрипция чрез готов търговски набор miScript II RT Kit (50), каталожен №218161 (QIAGEN, Германия), според протокола на производителя.

Впоследствие всяка от пробите е подложена на количествена полимеразна реакция в реално време (RealTime PCR) чрез готов търговски набор miScript SYBR Green PCR Kit (200), каталожен номер №218073 (QIAGEN, Германия) и готови праймери miScript Primer Assay (100), каталожен №218300 (QIAGEN, Германия) според протокола на производителя.

Относителната концентрация на изследваните таргетни микроРНКи е изчислена чрез $\Delta\Delta C_t$ метод, спрямо референтна микроРНК – нормализационен контрол *C. elegans* miR-39 спрямо референтна проба – представена от средногеометрична стойност на C_t на всички изследвани проби, изчислена чрез Microsoft Office Excel 2016 и представена като относително количество спрямо референтната проба.

4. Статистически методи.

За статистическата обработка на микроРНКи са използвани следните методи: непараметрична дескриптивна статистика и непараметрично сравнение на основните тенденции между групите (пациенти и контроли) с тест Mann-Whitey, използващ GraphPad Prism версия 9.3.0 64-bit на Windows 10 OS.

Статистическата значимост на резултатите беше определена на $p < 0.05$.

За целите на дисертационният труд се използваха следните статистически методи:

- Статистическа групировка на данните
- Описателни (дескриптивни) методи
- Проверка на статистически хипотези
- Корелационен анализ

VI. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

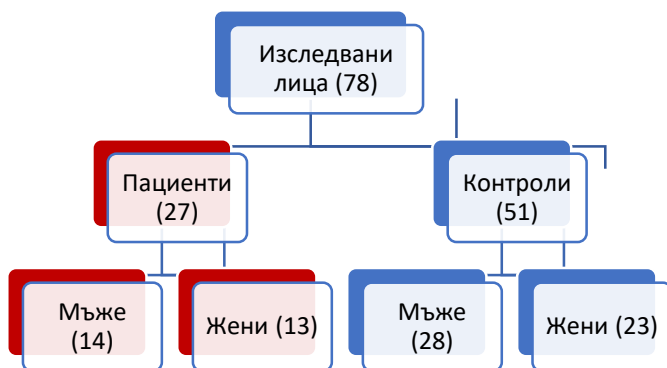
1. Анализ на демографските, антропометрични и хемодинамичните показатели на пациентите с бета-таласемия майор и сравняване с контролната група.

Настоящото изследването включва общо 78 лица, от които 27 деца и млади пациенти с диагноза БТМ и 51 здрави контроли. Анализът на демографските и антропометрични показатели при пациентите с БТМ и контролната група показва следните резултати:

- 1.1. Пациентите с БТМ са на **средна възраст** от 15,15 год. ($\pm 5,83$), а здравите контроли съответно 14,45 год ($\pm 5,73$). Разликата не е сигнификантна с $p=0,613$.
- 1.2. При разпределението по **пол** и в двете групи превалира мъжкият пол: при пациентите с БТМ 52%, при здрави контроли – 55% (фиг. 7).
- 1.3. По отношение на **телесната повърхност** пациентите с БТМ са с по-малка BSA ($1,42 \text{ m}^2 \pm 0,37$) в сравнение със здравите контроли ($1,48 \text{ m}^2 \pm 0,44$), като тази разлика не е сигнификантна ($p=0,527$) (табл. 1).

Показател	Група	n (%)	Средна стойност	Стандартно отклонение ($\pm SD$)	p value / p=0.05/
Възраст (год.)	Пациенти	27	15,15	5,83	p=0,613
	Контроли	51	14,45	5,73	
Пол - жени	Пациенти	13 (48%)			
	Контроли	23 (45%)			
BSA (м²)	Пациенти	27	1,42	0,37	p=0,527
	Контроли	51	1,48	0,44	

Табл. 1. Демографски показатели на изследваните лица.



Фиг. 7. Разпределение на изследваните лица по пол.

За по-малка телесна повърхност при пациентите с БТМ съобщават и други автори (*Wood et al, 2003; Farmakis et al, 2004; Noori et al, 2006; Westwood et al, 2007*). Изоставането във физическото развитие е често срещана и добре позната патология при БТМ. Установено е, че децата растат относително добре до към 9-10 год. възраст, след което се наблюдава забавяне в растежната скорост с късен пубертет и по-нисък окончателен ръст (*Skordis, Kyriakou, 2011*). Патогенезата на нарушенията в растежа е мултифакторна, като за основна причина се счита отлагането на желязото в ендокринните жлези с последващата желязна токсичност (*Skordis, Kyriakou, 2011; Pemde et al, 2011*).

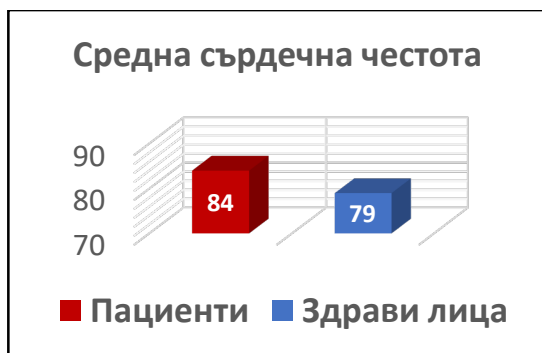
Редица доклади съобщават за корелация между ниския ръст на пациентите с БТМ и високите серумни нива на феритин (*Rathaur et al, 2020; Hashemi et al, 2011, Moiz et al 2018*). Като допълнителни фактори се считат хроничната хипоксемия, хранителните дефицити, хроничната чернодробна увреда и дисрегулацията по остта растежен хормон - инсулиноподобен растежен фактор (IGF1) (*Skordis, Kyriakou, 2011; Moiz et al, 2018*). Според различните проучвания нисък ръст се наблюдава при 33,11% до 65,71% от пациентите (*Pemde et al, 2011; Hashemi et al, 2011; Rathaur et al 2020*), а късен пубертет в до 71% (*Najafopour et al 2008*). Всичко това идва да покаже, че пациентите с БТМ следва да се проследяват редовно за ендокринни нарушения, особено след 10 годишна възраст.

При настоящото изследване получихме следните резултати от клиничния преглед на пациентите с БТМ и контролната група, по отношение на **сърдечната честота и артериалното налягане** (табл. 2):

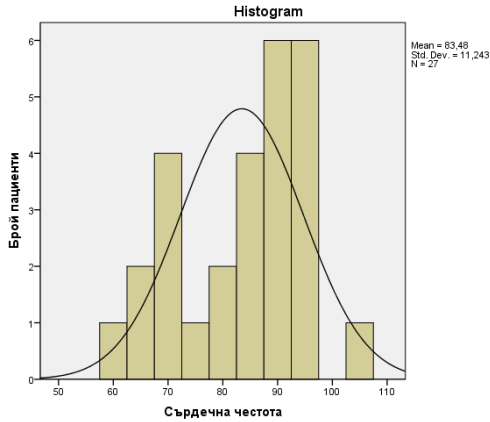
Показател	Група	n	Средна стойност	Стандартно отклонение ($\pm SD$)	p value
Сърдечна честота	Пациенти	27	83,5	11,24	p=0,195
	Контроли	51	79,47	13,67	
АН систола (mmHg)	Пациенти	27	103,7	12,78	p=0,062
	Контроли	51	109,5	12,96	
АН диастола (mmHg)	Пациенти	27	66,56	9,13	p=0,070
	Контроли	51	70,67	9,52	
АН средна стойност (mmHg)	Пациенти	27	78,78	9,84	p=0,054
	Контроли	51	83,53	10,38	

Табл. 2. Хемодинамични показатели на изследваните лица с БТМ.

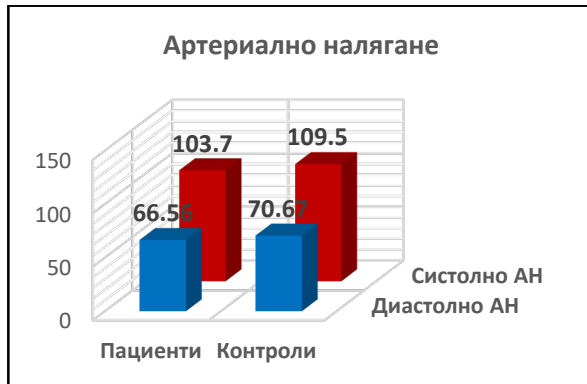
Средната **СЧ** при пациентите е по-висока ($84/\text{мин} \pm 11$) в сравнение със здравите контроли ($79/\text{мин} \pm 14$), но разликата не е значима ($p=0.195$) (фиг. 8, фиг. 9). При проучването се отчитат по-ниски средни стойности при пациентите с БТМ, както на **систоличното** (пациенти: $103,7 \pm 12,78 \text{ mmHg}$; контроли: $109,5 \pm 12,96 \text{ mmHg}$), така и на **диастоличното АН** (пациенти: $66,56 \pm 9,13 \text{ mmHg}$; контроли: $70,67 \pm 9,52 \text{ mmHg}$) в сравнение с контролната група, но разликата не е сигнификантна ($p=0,070$). Съответно и **стойностите на средното АН** сред пациентите са по-ниски в сравнение със здравите контроли ($p=0,054$) (фиг.10). При 66,6% от пациентите с БТМ се отчитат ниски, спрямо възрастта стойности на артериалното налягане, в сравнение с 43% от здравите контроли. АН е класифицирано като ниско или нормално на базата на референтните стойности, представени от Европейската асоциация по хипертония.



Фиг. 8. Средни стойности на сърдечната честота при пациентите с БТМ и здравите контроли.



Фиг.9. Хистограма, демонстрираща разпределението на сърдечната честота при пациентите с БТМ.



Фиг. 10. Средни стойности на АН при пациентите с БТМ и здравите контроли.

Добре известно е, че бета-таласемията е хронично високо-дебитно състояние, при което хроничната анемия и намалената доставка на кислород до тъканите се компенсира от увеличаването на сърдечния дебит, посредством нарастване на СЧ и ударният обем при пациентите (Metivier et al, 2000). Затова

не е изненадващо, че при пациентите с БТМ се регистрира по-висока СЧ. Въпреки, че не открихме статистически значима разлика, регистрираната СЧ при пациентите е по-висока. Spirito et al. (1990) също не установяват сигнификантни различия в СЧ при пациенти с БТМ и контроли ($73 \pm 11/\text{мин}$ и $74 \pm 12/\text{мин}$). Veglio et al. (1998) изследват вариациите в СЧ и АН при млади пациенти с БТМ на 18 год. възраст. Средната СЧ при изследваните от тях пациенти е $75/\text{мин}$ ($66\text{-}86/\text{мин}$) без разликата да е сигнификантна, но установяват значимо по-високи стойности през нощните часове, в сравнение със здравите контроли. Нашите резултати за СЧ са по-близки, по абсолютни стойности, до предствените от Westwood et al. (2007). Те провеждат подробно ЯМР изследване на 205 млади пациенти с БТМ на средна възраст 28 ± 7 год. Тяхната цел е да анализират лявокамерните обеми, функция и хемодинамика на пациентите, за които е доказано, че все още нямат миокардно желязно обременяване (т.е. ЯМР $T2^* > 20$ msec), като по този начин се изключва токсичното влияние на желязото върху сърдечно-съдовата система. Средните стойности на СЧ при пациентите е $81,7 \pm 16,4/\text{мин}$. ($p < 0.001$). Aessopoulos et al. (2004) също изследват голяма група от 202 млади пациенти с БТМ на възраст $27,3 \pm 6,3$ год. и регистрират средна СЧ $84 \pm 12/\text{мин}$, значително по-висока в сравнение със здрави контроли ($p < 0.001$).

Наблюдават се вариации в средните стойностите на СЧ представени от различните автори, което не е изненадващо, имайки предвид факторите, които я повлияват, като: възраст на пациентите, нивото на хемоглобин към момента на изследването, емоционалното състояние и др. Интересен обаче е фактът, че пациентската кохорта на Spirito et al. от 1990 г. със средна възраст от 17 ± 5 год. и на Veglio et al. от 1998 г. – средна възраст 18 год., демонстрират средни стойности на СЧ почти с 10 удара в минута по-ниски, в сравнение с представените от нас и другите автори резултати. Средната възраст на изследваните от нас пациенти е

по-близка до възрастта на пациентите на Spirito et al. и Veglio et al., отколкото до пациентите на Westwood et al. и Aessopos et al. Не успяхме да открием логично обяснение на това разминаване в стойностите, имайки предвид, че изследването при всички пациенти е извършвано след кръвопреливане за да се избегне влиянието на анемийния синдром върху оценката на хемодинамиката.

Не са много докладите, които представят конкретни стойности на АН при деца с БТМ. Spirito et al. (1990) съобщава за средни систолни стойност от 109 ± 10 mmHg и средни диастолни стойности 69 ± 7 mmHg, като двете стойности са сигнификантно по-ниски ($p < 0,02$) в сравнение със здрави контроли. Средната възраст на изследваната от тях група пациенти е 17 ± 5 год. Въпреки, че установената от нас разлика между АН на пациентите с БТМ и здравите контроли не е сигнификантна, нашите резултати, както на систолните, така и на диастолните стойности, отново са по-близки до представените от Aessopos et al. (2004), който съобщава за средна систолна стойност на АН в тяхната група пациенти (средна възраст $27,3 \pm 6,3$ год.) от 102 ± 5 mmHg, а средна диастолна са съответно 65 ± 4 mmHg, като разликите със здравите контроли са сигнификантни ($p < 0,001$). При пациентите, изследвани от Veglio et al. (1998), средните систолни стойности са 106 mmHg (97 - 114) mmHg, а средните диастолни – 74 mmHg (65 - 83) mmHg, като при почти половината от пациентите се наблюдава нарушение в циркадния ритъм с незадоволителен спад на артериалното налягане през нощните часове.

Тези резултати не са изненадващи предвид променената хемодинамика при пациентите. Хроничната анемия и последващите от нея повишен сърдечен дебит с нарастване на СЧ и ударният обем, води до спадане на периферното съдово съпротивление (Metivier et al, 2000).

2. Анализ и обсъждане на морфологичните ехокардиографски показатели на пациентите с бета-таласемия майор и здравите контроли.

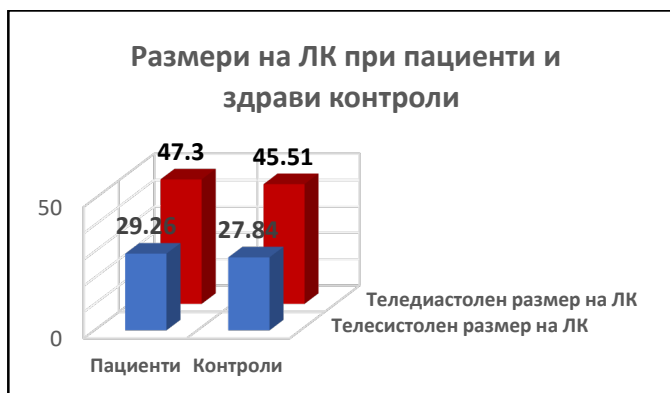
Обобщено получените резултати за диаметрите на лявата камера, лявокамерната мускулна маса, индексирания лявокамерна мускулна маса и индексирания обем на лявото предсърдие са представени на таблица 3.

<i>Показател</i>	<i>Група</i>	<i>n</i>	<i>Средна стойност</i>	<i>Стандартно отклонение</i>	<i>p value</i>
Теледиастолен диаметър на ЛК (mm)	Пациенти	27	47,30	8,11	p=0,271
	Контроли	51	45,51	5,96	
Телесистолен диаметър на ЛК (mm)	Пациенти	27	29,26	5,62	p=0,224
	Контроли	51	27,84	4,42	
Лявокамерна мускулна маса (g)	Пациенти	27	158,37	67,69	p=0,031
	Контроли	51	126,41	57,21	
LVMi	Пациенти	27	107,15	26,29	p=0,000
	Контроли	51	81	22,03	
LAVi (ml/m ²)	Пациенти	27	32,19	7,87	p=0,000
	Контроли	51	22,69	9,24	

Табл. 3. Ехокардиографски показатели при пациенти с БТМ и здрави контроли.

2.1. Според нашите резултати при пациентите с БТМ, както теледиастолният (пациенти: $47,3 \pm 8,11$ mm; контроли: $45,51 \pm 5,96$ mm), така и телесистолният (пациенти: $29,26 \pm 5,62$ mm; контроли: $27,84 \pm 4,42$ mm) **диаметър на ЛК** е по-голям в сравнение със здравите контролите, но без сигнификантна разлика ($p=0,27$; $p=0,224$) (фиг. 11). Само при 1 от пациентите (3%) се установиха **увеличени**

размери на ЛК, спрямо референтните стойности за възрастта.



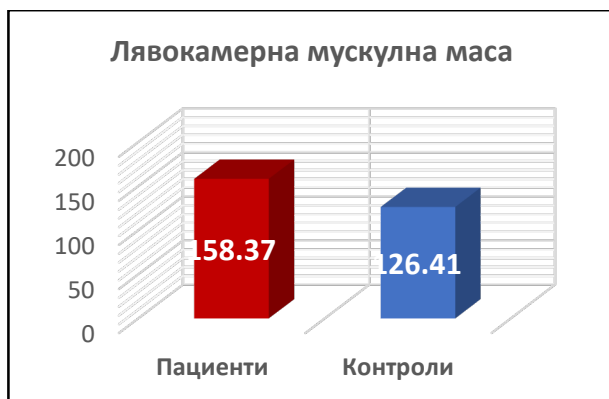
Фиг.11. Сравнително представяне на размерите на ЛК при пациенти с БТМ и здрави контроли.

Spirito et al. (1990) съобщават, близки до нашите резултати теледиастолни и телесистолни размери на ЛК при техните пациентите с БТМ – $46 \pm 5 / 30 \pm 4$ mm. Подобни са представените и от Veglio et al. (1998) резултати: 48 mm (42 - 53) – за теледиастолен и 32 mm (29 – 37) – за телесистолен размер. Българско изследване на деца с БТМ от 2011 г., проведено от д-р Чакърров, съобщава също за близки лявокамерни теледиастолни размери, съответно $46,5 \pm 6,52$ mm. След подробен анализ на съществуващите в литературата бази данни са подбрани точно тези групи пациенти, имащи близка до нашите пациенти възраст: пациентите на Spirito et al. са със средна възраст 17 ± 5 год., кохортата на Veglio et al. – 18 год., а на д-р Чакърров – $17,8 \pm 7$ год. Този факт се взема под внимание поради интензивният растеж на пациентите именно в тази възрастова група и големите вариации в размерите на сърдечните кухини, които могат да се наблюдават.

Увеличените размери на ЛК при пациентите с БТМ има своето логично обяснение, подобно на СЧ и АН и то е свързано с

променената хемодинамика при това състояние. БТМ представлява едно хронично, високо-дебитно състояние, като компенсаторен отговор на сърдечно-съдовата система спрямо хроничната анемия (*Wood et al, 2005*). Дългосрочните последици от това са увеличените размери на лявокамерните кухини и сърдечната маса. Това е доказано многократно от редица изследвания, включващи не само ехокардиографска, но и магнитно-резонансна оценка на размерите на сърдечните кухини, сърдечните обеми, както и на сърдечния индекс (*Wood et al, 2005; Aessopos et al, 2004; Westwood et al, 2007*).

2.2. **Средната мускулната маса на лява камера** при нашите пациенти с БТМ ($158,37 \pm 67,69$ g) е по-голяма, от колкото при здравите контроли ($126,41 \pm 57,21$ g), като разликата в този случай е статистически значима ($p=0,031$) (фиг. 12).

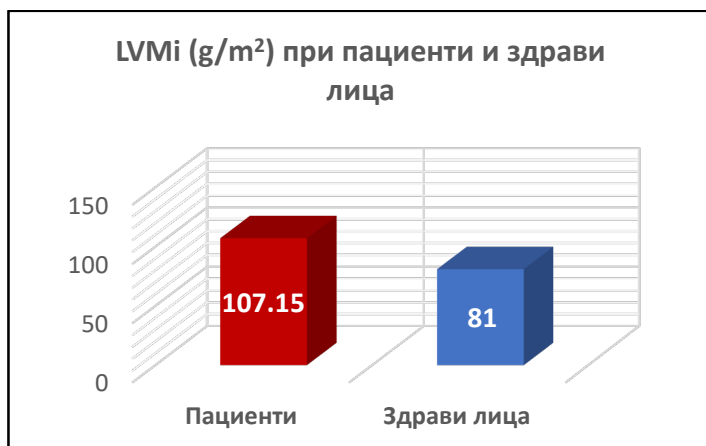


Фиг.12. Сравнително представяне на ЛКММ при пациентите с БТМ и контролите.

Имайки предвид увеличения, както теледиастолен, така и телесистолен диаметър на ЛК, не е учудващ фактът за увеличената ЛКММ сред пациентите с БТМ. Подобни на нашите резултати съобщава и д-р Чакърв. Изследваните от него деца с

БТМ са с абсолютни стойности на ЛКММ $140,07 \pm 52,10$ g. Значително разминаващи се, спрямо нашите, са резултатите докладвани от Spirito et al. (1990). При тяхната група пациенти средната ЛКММ е 111 ± 41 g. Не успяхме да намерим логично обяснение на тази разлика в резултатите, имайки предвид факта, че пациентите на Spirito et al. са изследвани близо 30 години преди българските деца. Пациентите са провеждали хелаторна терапия единствено с Дефероксамин под формата на 8-12 часова подкожна инфузия, за разлика от нашите пациенти, които са на терапия със съвременни перорални хелатори.

2.3. Отношението на индексиранията **лявокамерна мускулна маса към телесната повърхност (LVMi)** при пациентите с БТМ е също сигнификантно по-голяма ($p=0,000$) в сравнение със здравите контроли ($107,15$ g/m² срещу 81 g/m²) (фиг. 13). При сравняване с референтните стойности се установи, че при 25 от пациентите (**92,6%**) има данни за **лявокамерна хипертрофия** (табл. 4, фиг. 14).



Фиг.13. Сравнение на индексиранията ЛКММ към телесната повърхност (LVMi) при пациенти с БТМ и здрави контроли.

Пациенти с БТМ	Брой	Процент
С ЛК хипертрофия	25	92,6%
Без ЛК хипертрофия	2	7,4%
Общо	27	100%

Табл. 4. Брой пациенти с БТМ с данни за лявокамерна хипертрофия спрямо увеличен LVMi



Фиг.14. Схематично представяне на пациентите с данни за лявокамерна хипертрофия спрямо увеличен LVMi.

За увеличената индексирана ЛКММ спрямо телесната повърхност при пациенти с БТМ съобщават много автори (*Spirito et al, 1990; Aessopose et al, 2004; Bossi et al, 2003; Westwood et al, 2007; Casale et al, 2015*). Casale et al. (2015), които изследват деца < 18 год. с БТМ установяват увеличени, както теледиастолен, така и телесистолен обем на ЛК. За разлика от нашите, изследваните от тях пациенти демонстрират по-ниски стойности на LVMi. Те разделят пациентите с БТМ на три групи в зависимост от миокардното желязно обременяване. Напълно логично, пациентите с данни за хомогенно желязно отлагане в миокарда, демонстрират и най-голяма LVMi, съответно $67 \pm 13,9 \text{ g/m}^2$. Причината за тези значими различия би могла да се обясни

с възрастовата разлика в изследваните пациенти. Нашата група пациенти обхваща и млади възрастни до 25 год., което неизменно се отразява, както върху телесната повърхност, така и върху ЛКММ.

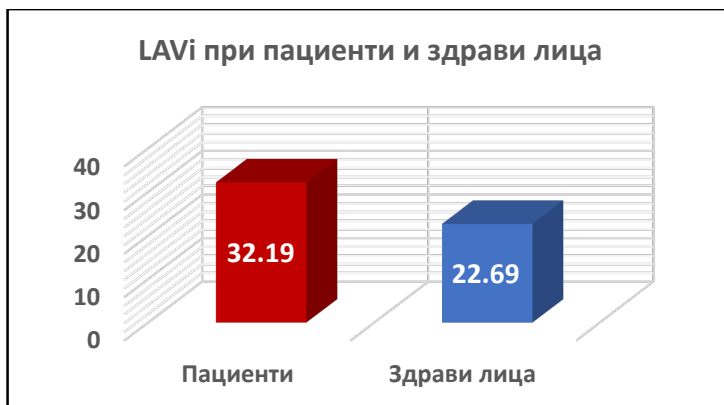
Сходни на нашите резултати съобщават Bosi et al. (2003), които провеждат подробно изследване на 197 млади пациенти с БТМ, без данни за сърдечна дисфункция. LVMi при техните пациенти е $99,2 \pm 22,1 \text{ g/m}^2$, като съответно лявокамерните теледиастолен и телесистолни обеми са по-големи.

Значимо, но не и неочаквано, в 92,6% от нашите пациенти се установиха данни за лявокамерна хипертрофия, спрямо референтните за възрастта стойности. Добре известно е, че хемодинамичните изменения предизвикват нарастване размерите на сърцето и лявокамерна хипертрофия. Така, че увеличението на ЛКММ при съхранена систолна функция при пациентите с БТМ се интерпретира по-скоро като компенсаторен механизъм.

2.4. При **55,6%** от пациентите се установи **увеличен индексирани обем на ЛП към телесната повърхност (LAVi)** (фиг.15). LAVi показва сигнификантно по-високи стойности при пациентите (32,19) в сравнение със здравите контроли (22,69) с **p=0,000** (фиг. 16).



Фиг.15. Схематично представяне на пациентите с БТМ с данни за увеличени размери на ЛП спрямо LAVi.



Фиг.16. Сравнително представяне между пациенти с БТМ и здрави контроли на отношението LAVi.

За увеличени обеми на ЛП при пациенти с БТМ съобщават редица автори (*Spirito et al, 1990; Kremastinos et al, 1993; Aessopos et al, 2004*). При младата група пациенти на *Spirito et al. (1990)* ЛП е увеличено в сравнение със здрави контроли, макар разликата да не е сигнификантна. Нашите резултати са близки до стойностите представени от *Kremastinos et al. (1993)* – $32,19 \pm 7,87$ срещу 28 ± 8 , като при това възрастта на изследваните пациенти е изключително сходна – $15,15 \pm 5,83$ год. срещу $15,1 \pm 3,2$ год. И при двете изследвания разликата в LAVi при пациентите с БТМ и здравите контроли е сигнификантна.

В подробното ЯМР изследване на деца с БТМ на *Casale et al. (2015)* се прави съпоставка между размерите на ЛП при пациенти със сърдечна фиброза и тези без фиброза. Авторите установяват сигнификантно по-големи размери на ЛП при децата със сърдечна фиброза.

Shabanian et al. (2010) провеждат магнитнорезонансно изследване на 42 млади пациенти с БТМ на възраст < 21 год., със съхранена лявокамерна ежекционна фракция, с цел да установят прогностичната роля на ЕФ на ЛП за ранната детекция на

миокардно желязно свръхобременяване. Те разделят пациентите на две групи в зависимост от наличието или липсата на миокардно желязно свръхобременяване, оценено посредством ЯМР T2*. Авторите установяват увеличен лявопредсърден обем индексирани към телесната повърхност, както при пациентите със желязно обременяване, така и при тези без, макар разликата да не е сигнификантна – $40,17 \pm 15,16$ и $43,25 \pm 15,92$. Любопитни са резултатите в тяхното изследване относно индексът на ежекционна фракция на лявото предсърдие, със сензитивност до 93% и специфичност 74%, като този показател може да бъде прогностичен за установяване на критично желязно свръхобременяване. Българско изследване на възрастни пациенти с бета-таласемия майор на доц. М. Димова от 2017 г. доказва по-голям лявопредсърден обем в сравнение със здрави контроли, като лявопредсърдната фракция на изтласкване е пониска. Освен това, доц. Димова установява корелация между индексираният обем на ЛП и стойностите на NT-proBNP, което е в потвържение на прогностичната роля на увеличените размери на ЛП за бъдеща сърдечна увреда.

Дилатацията на ЛП се дължи не само на желязното отлагане, но и на увеличеното лявокамерно диастолно налягане поради диастолна дисфункция (*Kostopolou et al, 2014*). Редица автори установяват, че дилатираното ЛП е много ранен белег на сърдечна увреда (*Kostopolou et al, 2014; Pepe et al, 2017*), освен това е прогностичен рисков фактор за бъдещи аритмии като предсърдното трептене, предсърдно мъждене и интра-атриална ри-ентри тахикардия (*Pepe et al, 2017; Russo et al, 2016, 2019*).

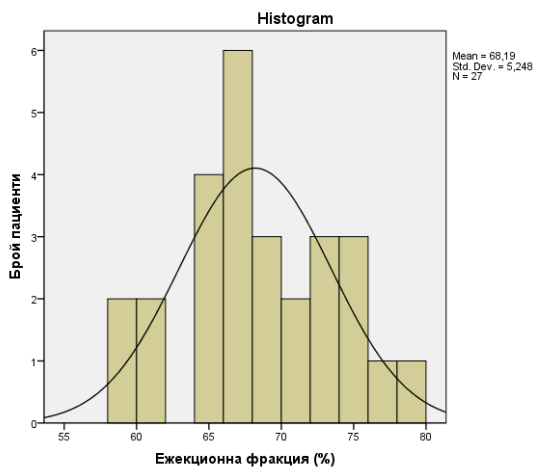
3. Систолна функция при пациенти с бета-таласемия майор.

3.1. Средната стойност на **ежекционната фракция** при пациентите с БТМ е 68,19% ($SD \pm 5,25$). В сравнение със здравите контроли ($69,61\% \pm 4,85$) не се установява

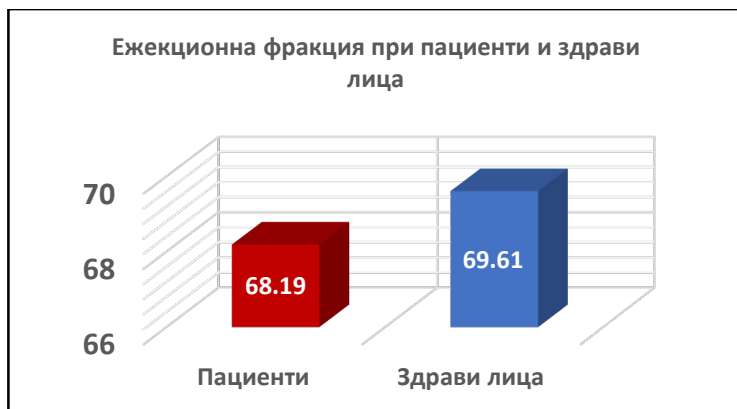
сигнификантна разлика ($p=0,235$). При 2-ма от пациентите (7,9%) се регистрира $E\Phi \leq 59\%$ (табл. 5, фиг. 17, фиг. 18).

<i>Показател</i>	<i>Група</i>	<i>n</i>	<i>Средна стойност</i>	<i>SD</i>	<i>p value</i>
Ежекционна фракция (%)	Пациенти	27	68,19	5,25	p=0,235
	Контроли	51	69,61	4,85	
Глобален лонгитудинален стрейн (%)	Пациенти	27	-21,35	2,97	p=0,276
	Контроли	51	-20,64	2,05	

Табл.5. Ежекционна фракция и GLS при пациентите с БТМ и здравите контроли.



Фиг. 17. Средни стойности на ЕФ сред пациентите с БТМ.



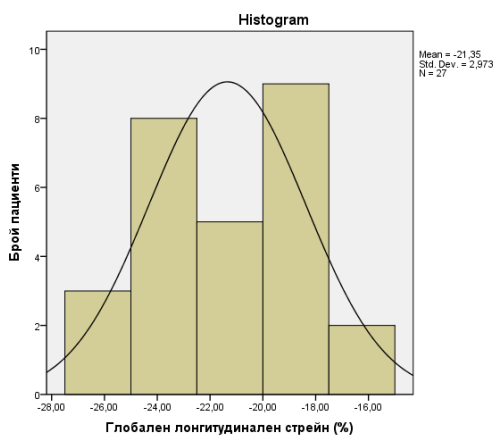
Фиг.18. Сравнение на стойностите на ЕФ при пациентите с БТМ и здравите контроли.

Добре известно е, че ЕФ на ЛК е белег за глобалната систолна функция, а снижението и е крайна фаза в прогресията на ТКМП (*Murphy and Oudit, 2010*). Нашите резултати на съхранена ЕФ потвърждават горната теза, имайки в предвид липсата на клинична изява на сърдечна увреда при пациентите. При двамата пациенти с долно-гранични стойности на ЕФ се установи и леко увеличен LAVi, със стойности съответно 35,06 и 34,79.

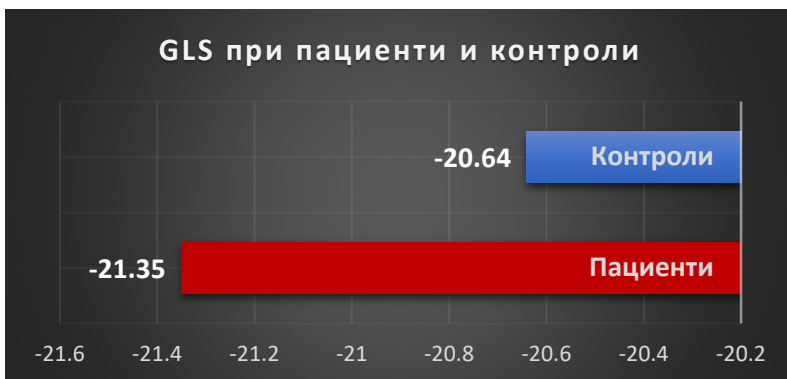
Проучване на д-р Чакъров на български деца с БТМ установява ЕФ < 65% при 29% от пациентите. Липсват данни, обаче колко от тях са с патологично снижение в систолната функция, т.е. ЕФ < 59% (*Чакъров, 2011*). При магнитнорезонансно изследване *Casale et al (2015)*, разделят децата с БТМ на 4 основни групи: без данни за миокардно желязно обременяване, с хетерогенно отлагане, но с ЯМР T2* > 20 msec., с хетерогенно отлагане и ЯМР T2* < 20 msec. и с хомогенно миокардно желязно отлагане. Тенденцията, която те отчитат е прогресивно снижение в ЕФ от първата към последната група, т.е. с тежестта на обременяването на миокарда с желязо.

Макар разликата да не е сигнификантна, тенденцията е очевидна със стойности на ЕФ в групи, съответно: 62%, 59,5%, 59% и 59,5%. Въпреки това, ЕФ не може да се използва като надежден показател за оценка на ранните нарушения в сърдечната функция, именно поради късното и понижаване в еволюцията на сърдечната увреда. Друг интересен резултат в тяхното изследане е по-ниската регистрирана ЕФ, макар отново несигнификантна, при децата с данни за сърдечна фиброза.

3.2. Средната стойност на измереният показател **GLS** при пациентите с БТМ е $-21,35\%$ ($SD \pm 2,97$) (табл. 5). При сравняване със здравите контроли ($-20,64\% \pm 2,05$) разликата се оказва не значима ($p=0,276$) (фиг. 19, фиг. 20). При 7 от 19 пациенти (**37%**) на **възраст до 18 год.** се регистрираха стойности на GLS под средните за съответната възраст ($GLS < -20,15\%$), докато при **50% от пациентите над 18 год.** се регистрираха стойности под средните ($GLS < -19,7\%$).



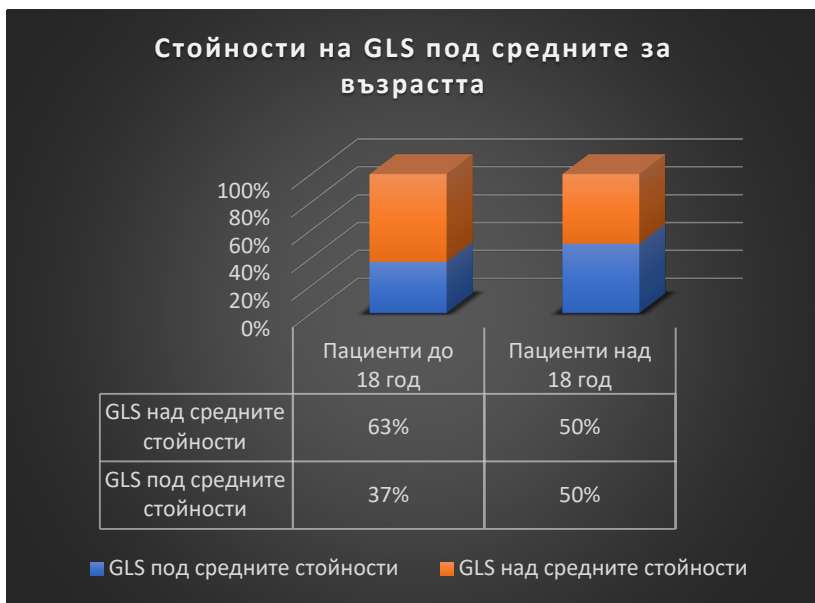
Фиг.19. Разпределение на средните стойности на GLS при пациентите с БТМ.



Фиг.20. Сравнително представяне на средни стойности на GLS при пациентите с БТМ и здравите контроли.

Същевременно само при 1 пациент до 18 год. се измери патологично нисък GLS $< -15,30\%$. При него се установи също и леко повишено отношение E/e' 8,66, както и увеличени размери на лявото предсърдие с LAVi 43,8. Въпреки, че не покрива всички критерии за диастолна дисфункция, все пак при пациентът са налице данни за повишено диастолно налягане в ЛК, както и дилатация на ЛП. За съжаление, поради изразена клаустрофобия не е извършван ЯМР T2* на сърцето до този момент.

При един от пациентите над 18 год. се регистрира долнограничен GLS $-16,65\%$. При него обаче има и данни за тежко миокардно желязно свръхобременяване с ЯМР T2* 8,5 msec, както и увеличени размери на лявото предсърдие с LAVi 37,03 (фиг. 21).



Фиг.21. Пациенти с БТМ с измерени стойности на GLS под средната за съответната възраст норма.

Съществуващите в литературата данни, относно показателя GLS при деца с БТМ, към момента са доста оскъдни предвид факта, че техниката е все още нова и не е широко навлязла в рутинното изследване на детските кардиолози. Измерените от нас средни стойности на GLS са в рамките на референтните за възрастта. Нашите резултати са сходни с представените от El-Shanshory et al. (2020), които изследват 140 деца с БТМ на средна възраст от $10,9 \pm 3,7$ год. Авторите провеждат комбинирано ядреномагнитно резонансно и ехокардиографско изследване, използвайки техниката спекъл трекинг, като целта им е не само да оценят сърдечната функция, а и да направят съпоставка между различните техники. Измерените стойности на GLS при пациентите им без желязно обременяване не се различават статистически от тези с миокарден желязен свръхтовар и са съответно $-21,23 \pm 2,68\%$ и -

21,375 ± 2,06%. Освен това стойностите са в рамките на референтните.

Pizzino et al. (2017) изследват възрастни пациенти с БТМ (средна възраст 37,4 ± 10 год.) и установяват средни стойности на GLS -20,6 ± 2,8%. Те откриват и корелация между GLS и ЯМР T2* стойностите, като GLS е по-нисък при пациентите с миокардно желязно отлагане, а стойностите < -19,5% са високо сензитивни за тежко миокардно обременяване. Parsaee et al. (2018), също установяват корелация между GLS и ЯМР T2*. Изследваните от тях пациенти са отново възрастни (30,79 ± 9,37 год.) и са разделени на две групи в зависимост от наличието или липсата на миокардно желязно обременяване. Средният GLS при пациентите без обременяване е -19% (-20% до -18%), а при тези с обременяване е сигнификантно по-нисък (p<0,0001) със средна стойност съответно -17% (-19% до -16%). Според тях прогностични за миокардно желязно обременяване са стойности на GLS < -18%. Rezaeian et al. (2020) разделят своята пациентска кохорта (средна възраст 24,6 ± 6,2 год.) на 2 групи, съответно с миокардно желязно обременяване (ЯМР T2* < 20 msec) и без такова (ЯМР T2* > 20 msec). Средната стойност на GLS при пациентите с миокардна увреда са -12,90 ± 4,18%. Интересното в тяхното изследване е, че дори пациентите с ЯМР T2* > 20 msec. са със сигнификантно по-нисък GLS в сравнение със здрави контроли. Според авторите тези резултати идват да покажат, че дори минимална степен на желязно отлагане в миокарда могат да повлияят миокардната функция и стрейн.

4. Доплерово изследване и показатели за диастолна функция при пациенти с бета-таласемия майор и здрави контроли.

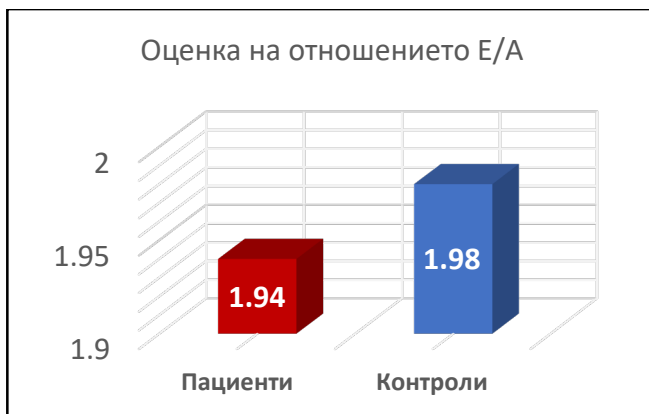
Добре известно е, че в еволюцията на ТКМП първоначално настъпва нарушение в диастолната сърдечна функция, а

систолната дисфункция със снижение и в ЕФ, е вече краен етап от сърдечната увреда. Редица автори са изследвали целенасочено ранните нарушения в диастолната функция при млади пациенти и деца с БТМ с оглед откриването на началните промени. Въпреки това все още съществуват редица противоречия, именно при пациентите с БТМ, поради поначало променената от болестта хемодинамика, както и от младата възраст и изразената лявокамерна релаксация.

Ние не открихме сигнификантни различия в **отношението на бързото (т.Е) към бавното (т.А) камерно пълнене (Е/А)** при измерването на трансмитралния кръвоток при пациентите с БТМ и здравите контроли. Средните стойности при пациентите и контролите са съответно $1,94 \pm 0,36$ и $1,98 \pm 0,37$, като нивото на значимост е несигнификантно ($p= 0,678$) (табл. 6, фиг. 22). Измереното отношение е в рамките на референтното.

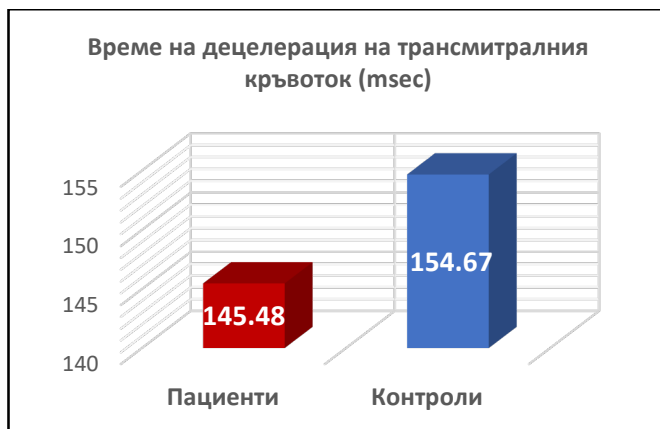
<i>Показател</i>	<i>Група</i>	<i>n</i>	<i>Средна стойност</i>	<i>Стандартно отклонение</i>	<i>p value</i>
Е/А	Пациенти	27	1,94	0,36	p=0,678
	Контроли	51	1,98	0,37	
Време на децелерация (msec)	Пациенти	27	145,48	30	p=0,293
	Контроли	51	154,67	39,40	
s' (cm/sec)	Пациенти	27	8,41	1,248	p=0,020
	Контроли	51	7,61	1,484	
e' септ. (cm/sec)	Пациенти	27	13,11	1,81	p=0,919
	Контроли	51	13,16	1,91	
e' лат (cm/sec)	Пациенти	27	17,74	3,02	p=0,654
	Контроли	51	17,43	2,82	
Е/е' ср	Пациенти	27	6,69	1,21	p=0,001
	Контроли	51	5,76	1,01	

Табл.6. Сравнителни резултати от изследване на показатели за диастолна функция при пациенти и здрави контроли посредством пулсов и тъканен доплер.



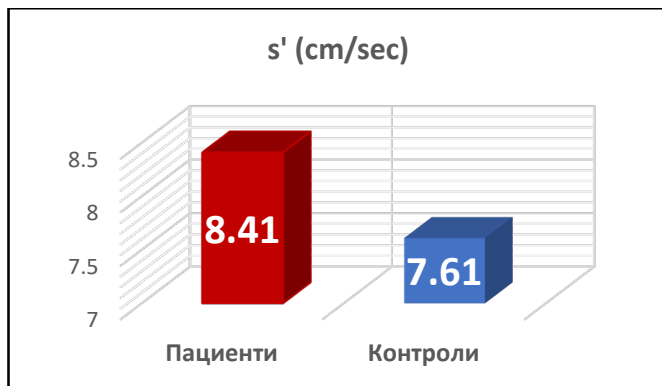
Фиг.22. Отношение E/A на трансмитралния кръвоток при пациентите с БТМ и здрави контроли.

Установеното време на децелерация при нашите пациенти с БТМ е 145,48 msec (SD ± 30), а при здравите контроли 154,67 msec (SD ± 39,40), без наличие на сигнификантна разлика (p=0,293) (табл. 6, фиг. 23).



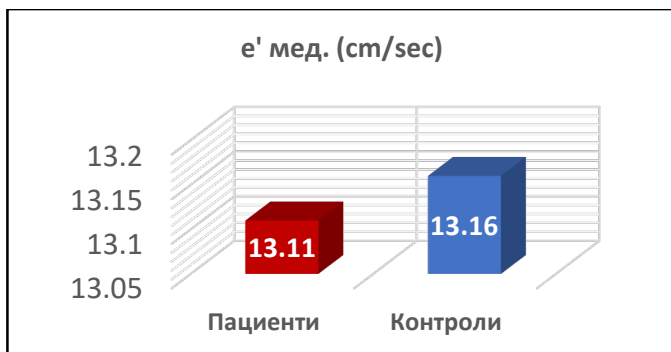
Фиг.23. Сравнително представяне на времето на децелерация при измерването на трансмитралния кръвоток при пациентите с БТМ и здравите контроли.

При измерването на систолните миокардни скорости (s') чрез тъканен доплер в нашето проучване получихме следните резултати. Средните **сistolни тъканни миокардни скорости** при пациентите с БТМ са 8,41 cm/sec (SD \pm 1,248), а за контролите съответно 7,61 cm/sec (SD \pm 1,484), като тази разлика е статистически сигнификантна с $p=0,020$ (табл. 6, фиг. 24).



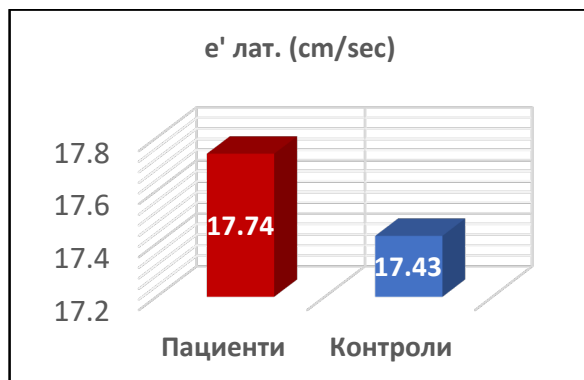
Фиг.24. Сравнение между средните систолни тъканни миокардни скорости при пациентите с БТМ и здравите контроли.

Измерване на ранната диастолна миокардна скорост в медиалния сегмент на митралния пръстен (**e'септум**) показва незначителна разлика с $p=0,919$ между пациентите с БТМ ($13,11 \pm 1,81$) и здравите контроли ($13,16 \pm 1,91$) (табл. 6, фиг. 25). Само при 2ма пациенти (7,41%) се регистрира патологично снижение в тъканните диастолни миокардни скорости.



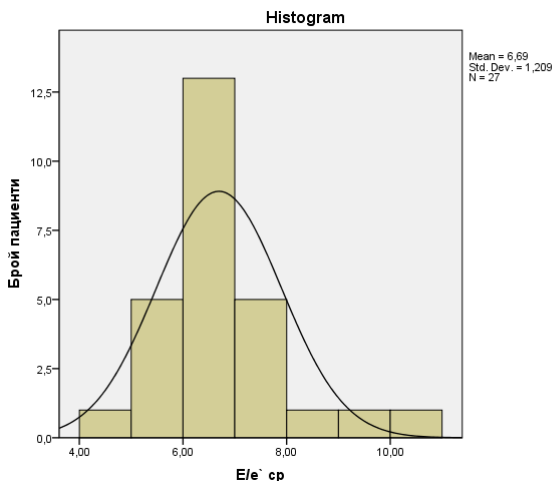
Фиг.25. Тъканни скорости в медиални митрален пръстен при пациентите с БТМ и здравите контроли.

Измерване на ранната диастолна миокардна скорост в латералния сегмент на митралния клапен пръстен (**е'латерално**) също показва незначителна разлика с $p=0,654$ между пациентите с БТМ ($17,74 \pm 3,02$) и здравите контроли ($17,43 \pm 2,82$) (табл. 6, фиг. 26). Отново при същите двама пациенти (7,4%) се регистрира патологично снижение в тъканните диастолни миокардни скорости в латералния митрален сегмент.

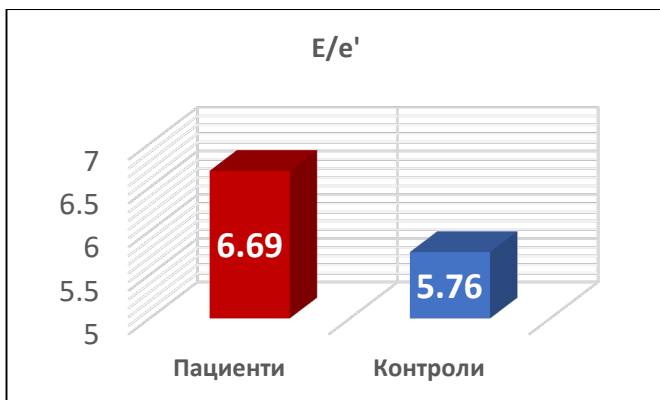


Фиг.26. Тъканни скорости в латералния митрален пръстен при пациентите с БТМ и здравите контроли.

При изчисляване на средните стойности на **отношението E/e'** при пациенти с БТМ и здрави контроли се установи сигнификантна разлика с **p=0,001** ($6,69 \pm 1,21$ срещу $5,76 \pm 1,01$) (табл. 6, фиг. 27, фиг. 28). Нашите пациенти демонстрират високи стойности на отношението E/e', което е показателно за пълнежното налягане на ЛК, в сравнение със здравите контроли. Но само при 3-ма пациенти (11%) се регистрира патологично увеличено отношение E/e' (фиг. 29). За разлика от тях при нито един от здравите контроли не се установиха данни за повишено E/e'.



Фиг.27. Схематично представяне на средни стойности на измереното отношение E/e' сред пациентите с бета таласемия майор.



Фиг.28. Сравнение между средните стойности на E/e' при пациентите с БТМ и здравите контроли.



Фиг.29. Схематично представяне на пациентите с БТМ с данни за повишено отношение E/e'.

За сходни на нашите резултати по отношение на бързото към бавното камерно пълнене (E/A) съобщават и много други автори, като повечето от тях също не установяват сигнификантна разлика в сравнение със здрави контроли (*Kremastinos et al, 1993; Iarussi et al, 2003; Ucar et al, 2009; Garadah et al, 2010;*

Abdelmuktader et al, 2013). Iarussi et al. (2003) изследват характеристиките на трансмитралният кръвоток при своите пациенти преди кръвопреливане и след кръвопреливане. Те установяват, че преди хемотрансфузия скоростите на бързото (т.Е) и съответно бавното лявокамерно пълнене (т.А) са ускорени в сравнение със здрави контроли, докато след хемотрансфузия не се отчита разлика. По този начин авторите потвърждават, че промените в трансмитралният кръвоток се дължат по-скоро на хемодинамичното състояние на повишено преднатоварване, отколкото на нарушение в лявокамерната релаксация.

Установихме, че нашите резултати се различават съществено от получените при първото изследване на диастолната функция при млади пациенти с БТМ, докладвано от Spirito et al. (1990). Те съобщават за средни стойности на Е/А $2,7 \pm 0,7$, което е сигнификатно по-голямо в сравнение със здрави лица и авторите го интерпретират като начална диастолна дисфункция. Тъй като, пациентската кохорта на Spirito et al., е много близка по възраст до нашите пациенти, анализирахме позадълбочено резултатите в опит да си обясним разминаванията. Трансмитралният кръвоток и отношението Е/А зависи до голяма степен от хемодинамичните особености, лявопредсърдното диастолно налягане, и лявокамерната релаксация. При нашите пациенти средната сърдечна честота е с 10 удара в минута по-висока в сравнение с пациентите на Spirito et al., съответно: $83,5 \pm 11,24$ /мин и 73 ± 11 /мин, а средното АН е по-ниско: $103,7/66,56$ mmHg срещу $109/69$ mmHg. Това идва да покаже, че хемодинамичните промени с хипердинамичната циркулация вероятно е по-изразена при нашите пациенти, в сравнение с тези на Spirito et al., и не обяснява съществуващите различия.

Скъсяването на DecT се асоциира с тежка степен на диастолна дисфункция и високо налягане на лявокамерно пълнене. Предвид нормалните скорости на трансмитралният кръвоток (отношението Е/А), независимо от тенденцията към

скъсяване на DecT при нашите пациенти с БТМ, не бихме могли да го интерпретираме като патологично. Сходни на нашите резултати съобщават и други автори, които изследват ехокардиографски сърдечната функция при деца и млади пациенти с бета-таласемия майор: Iarussi et al. (2002) – средно DecT 144 ± 40 msec., Abdelmoktader et al. (2013) – 122 ± 27 msec. и Garadah et al. (2010) – $170,83 \pm 20,023$ msec. Повечето от тях също не установяват сигнификантна разлика в сравнение със здрави контроли.

Значително скъсено е DecT в съобщенията на Spirito et al. (1990), Ucar et al. (2009) и Kremastinos et al. (1993). Според Spirito et al., промяната в характеристиките на митралния кръвоток се дължи на начални нарушения на сърдечната функция, преди желязното свръхобременяване да е нарушило и систолната функция. За разлика от тях, Kremastinos et al. (1993) интерпетират своите резултатите като следствие от хипердебитното състояние.

Резултатите от характеристиките на трансмитралният кръвоток при нашите пациенти показаха нормален модел на лявокамерно пълнене, без данни за нарушена лявокамерна релаксация. Но, както е известно, оценката на диастолната функция на базата само на трасмитралния кръвоток е крайно недостатъчно информативна.

Ние не установихме снижение в тъканните систолни миокардни скорости при пациентите с БТМ, а дори значимо повишаване спрямо здравите контроли. Въпреки това, измерените тъканни систолни миокардни скорости при нашите пациенти са в нормални референтни стойности и това не е изненадващо, имайки в предвид съхранена систолна функция. За сходни на нашите резултати съобщават Ragab et al. (2015), Ucar et al. (2009) и Abdelmoktader et al. (2013), съответно систолни миокардни скорости от: $7,90 \pm 0,87$ cm/sec; $9,53 \pm 1,59$ cm/sec; $7,3 \pm 2,2$ cm/se. За разлика от нас те не установяват сигнификантни

различия със здравите си контроли с изключение на Abdelmokter et al., които съобщават за сигнификантно по-ниски систолни миокардни скорости при своите пациенти с БТМ в сравнение със здравите лица. Сравнявайки обаче, абсолютните средни стойностите, индексирани спрямо телесната повърхност, според съвременните препоръки на Choi et al. от 2016 г., представените резултати от Abdelmokter et al. са в рамките на референтните за възрастта.

Iarussi et al. (2003) измерват, посредством тъканен доплер, миокардните скорости на своите пациенти преди хемотрансфузия и след хемотрансфузия. Те не установяват разлики в систолните скорости пре- и пост-трансфузионно със стойности съответно 10 ± 2 cm/sec. Това отново потвърждава факта, че миокардните тъканни скорости са независими от преднатоварването на ЛК, което е особено важно за оценката на сърдечната функция при пациентите БТМ.

За сигнификантно по-ниски, в сравнение с нашите систолни тъканни скорости съобщава Garadah et al. (2010) – $4,82 \pm 1,2$ cm/sec. Предвид факта, че пациентската кохорта е много близка по възраст до нашата ($15,7 \pm 8,9$ год. и съответно $15,15 \pm 5,83$ год.), ние се опитахме да намерим правдоподобно обяснение на тези различия. Техните пациенти са получавали редовно хемотрансфузии на всеки 3 седмици, но хелаторната терапия се е извършвала с Desferrioxamine с 8-12 часови подкожни инфузии, най-малко веднъж годишно, което предполага повишен риск от миокардно желязно обременяване. Освен това авторите установяват и рестриктивен модел на лявокамерно диастолично пълнене, което прави напълно правдоподобно понижението в систолните миокардни скорости при техните пациенти, за разлика от нашите.

Скоростта на е' вълната е относително независима от пред- и следнатоварването и отразява обективно релаксацията на ЛК в ранната диастола. Латералната е' вълна е с по-високи нормални

стойности от септалната e' вълна, поради влиянието на дясната камера върху междукамерната преграда (*Витлиянова и съавт. 2018*). При повечето от нашите пациенти с БТМ установихме нормални стойности на ранните диастолни миокардни скорости. Пациентите, при които се регистрираха снижение в скоростите демонстрират отклонения и в други от показателите за диастолна дисфункция. Първият пациент е с патологично нисък GLS (-15.3%), увеличено отношение E/e' (8,66), както и увеличено LAVi (43,8). При вторият пациент се регистрира увеличено E/e' (10,41), както и увеличено ЛП, съответно LAVi – 53,77. За сходни на нашите резултати, без сигнификантни различия спрямо здрави контроли, съобщават и други автори – *Iarussi et al. (2003)* и *Ucar et al. (2009)*, съответно със стойности: 12 ± 5 cm/sec и $14,48 \pm 2,18$ cm/sec (за медиален сегменти), $20,66 \pm 3,01$ cm/sec (за латерален сегмент. Значимо по-ниски ранни диастолни миокардни скорости регистрират *Garadah et al. (2010)* ($4,31 \pm 2,7$ cm/sec за медиален сегмент), *Abdelmoktader et al. (2013)* ($8,1 \pm 3,3$ cm/sec за медиален сегмент и $9,1 \pm 5,4$ cm/sec за латерален сегмент) и *Ragab et al. (2015)* ($11,5 \pm 2,2$ cm/sec за медиален сегмент и $12,9 \pm 1,85$ cm/sec за латерален сегмент). Авторите коментират тези резултати като белег за ранна диастолна дисфункция при техните пациенти.

Ragab et al. (2015) и *Ucar et al. (2009)* съобщават за сходни на нашите резултати на отношението E/e' , съответно $8 \pm 2,09$ и $5,88 \pm 1,26$, но без значителна разлика в сравнение със здравите пациенти. За сравнение, *Garadah et al. (2010)* съобщават за патологично увеличено отношение ($15,027 \pm 2,291$), което е и сигнификантно по-високо при техните пациенти, отколкото при здрави лица, като основната причина, според тях, е понижението в тъканните диастолни миокардни скорости. Освен това, авторите установяват, че отношението E/e' има позитивна корелация с нивата на серумният феритин.

Обобщени резултати за диастолната функция при пациентите с БТМ

Според препоръките на Европейската асоциация по сърдечно-съдова образна диагностика и Американското дружество по ехокардиография, оценката на диастолната сърдечна функция се извършва на базата на няколко показателя: тъканните ранни диастолни миокардни скорости в медиалния и латералния митрален пръстен, отношението E/e' , индексираният спрямо телесната повърхност обем на лявото предсърдие (LAVi), времето на децелерация, скорост на трикуспидалният регургитационен джет. За определянето на функцията като нарушена е нужно повече от половината показатели да бъдат извън референтните стойности. При нашите пациенти констатирахме следните обобщени резултати по отношение на диастолната функция, оценена посредством пулсов и тъканен доплер:

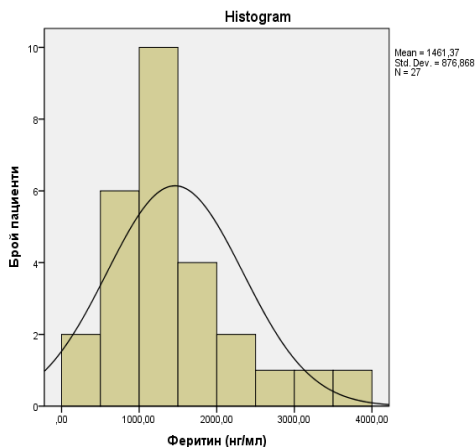
- Отношението E/A при всички пациенти е в рамките на нормалните стойности.
- Времето на децелерация също е в референтни стойности, независимо от тенденцията към скъсяване.
- Не установихме патологично снижение в тъканните систолни миокардни скорости.
- Не установихме патологично снижение в тъканните диастолни миокардни скорости, с изключение на 2-ма пациенти.
- Отношение E/e' при пациентите с БТМ е сигнификантно увеличено в сравнение със здравите контроли.

В заключение, резултатите от параметрите на трансмитралният кръвоток, измерени чрез пулсов доплер, показаха нормален модел на лявокамерно пълнене, без данни за нарушена лявокамерна релаксация. От направените измервания чрез тъканен доплер се наблюдава тенденция към повишаване на

лявокамерното теледиастолично налягане. Въпреки, че нашите резултати не покриват всички критерии за да се оцени диастоличната функция като нарушена, увеличеното отношение на индексираният обем на лявото предсърдие спрямо телесната повърхност (LAVi) при 56% от нашите пациенти, както и тенденцията към покачване на лявокамерното теледиастолично налягане показват начални промени в диастоличната функция с повишен риск от нарушение в бъдеще.

5. Изследването на феритин при пациенти с бета-таласемия майор.

Средните стойности на серумния феритин при пациентите с БТМ са 1461,37 ng/ml (SD \pm 876,4 ng/ml). Максималната измерена стойност е 3991 ng/ml, а минимална, съответно 611 ng/ml. (фиг.30).



Фиг. 30. Хистограма, представяща разпределението на стойностите на феритина при пациентите с БТМ.

Въпреки че, както е известно, стойностите на серумния феритин не корелират с отложеното в миокарда желязо (*Anderson*

et al, 2001; Pepe et al, 2017, Demirkan et al, 2020), редица проучвания съобщават за повишен риск от сърдечни усложнения при високи нива на феритин в кръвта (*Olivieri et al, 1994; Borgna-Pignatti et al, 2004*). При интерпретацията и сравнението на стойностите му сред пациенти от различни проучвания е нужно да се вземат в предвид факторите, които определят до голяма степен повишените му нива: честотата на хемотрансфузиите, вида на провежданата хелаторна терапия, и не на последно място, сътрудничеството на пациентите.

Ретроспективно проучване на *Olivieri et al.* от 1994 г. демонстрира по-добра прогноза по отношение на сърдечните усложнения при пациентите с БТМ и серумен феритин < 2500 ng/ml. Не е за пренебрегване фактът, че изследваните пациенти са родени в периода 1954 – 1975 г. и хелаторната им терапия се е състояла от 10-12 часови подкожни инфузии на *Deferoxamine*, които пациентите сами са прилагали. На това се акцентира предвид неизбежно възникващото съмнение за колаборацията от страна на пациентите. Десет години по-късно, *Borgna-Pignatti et al.*, потвърждават прогностичното значение на серумния феритин при гранични стойности от 2500 ng/ml, но по техни данни общият феритин е прогностичен дори при стойности > 1000 ng/ml. Освен това, една част от пациентите с БТМ са преминали на орален хелатор - *Deferiprone*, поради липсата на сътрудничество или токсичен ефект от *Deferoxamine*. Проведено през 2015 г. голямо мултипараметрично ЯМР изследване само при деца с БТМ определя горногранични стойности на серумния феритин > 2000 ng/ml, над който рискът от сърдечни усложнения нараства (*Casale et al, 2015*). Повече от половината от изследваните деца провеждат перорална хелаторна терапия с *Deferiprone* и *Deferasirox*. Тази информация е полезна особено за педиатричната популация, сред която извършването на ЯМР на сърцето за оценка и проследяване на миокардното желязо обременяване е усложнено поради малката възраст на

пациентите, липсата на колаборация, както и технически и финансови причини.

Интересен е фактът, че средните стойности на феритин на нашите пациенти са изключително близки до групата пациенти на Casale et al., които са без миокардно желязно обременяване потвърдено чрез ЯМР T2* - 1461 ng/ml срещу 1459 ng/ml. Aessoros et al. (2004) изследват пациенти в по-голяма възраст ($27,3 \pm 6,3$ год.) и установяват, че стойностите на феритина при групата с изявена сърдечна увреда са по-ниски в сравнение с тези без сърдечно засягане (1699 ± 298 ng/ml срещу 1866 ± 518 ng/ml), като при това всички от пациентите са с добър къмплайънс към провежданото лечение. По този начин авторите правят заключение, че серумният феритин не корелира с лявокамерния контрактилитет и различията в стойностите могат да се дължат на фактът, че феритинът е и острофазов протеин. Независимо това, неуспорим факт е, че повишените нива на феритин в човешкият организъм неизбежно ще се отразят върху развитието на вторична хемохроматоза.

За значително по-високи стойности на феритин и тяхната асоциация със сърдечната функция съобщават El-Shanshory et al., които изследват 140 деца с БТМ в Египет (*El-Shanshory et al, 2020*). Средните феритинови нива са $4657,12 \pm 6835$ ng/ml като 32% от децата имат миокардно желязно обременяване, а 20% са с тежко обременяване и T2* < 10 msec. Дори пациентите без данни за желязно обременяване са със стойности на феритин > 2000 ng/ml ($2245,17 \pm 1401,89$ ng/ml). Децата са кръвопреливани на всеки 2 или 4 седмици, а Deferasirox е бил основният хелатор, прилаган самостоятелно или в комбинация с Deferoxamine. Вероятно други фактори, като сътрудничеството на пациентите, имат отношение към ефекта от лечението конкретно при тях.

За високи стойности на серумен феритин съобщава и българско изследване сред деца с БТМ на д-р И. Чакъров от 2011 г. Докладваните средни стойности са $2579,49 \pm 1521,75$ ng/ml,

независимо, че пациентите са използвали съвременно хелаторно лечение с трите основни вида хелатори – Desferal, Exjade, Ferriprox, самостоятелно или в комбинации. Една от причините, според автора, е неоптималното хелатиране при голяма част от болните. Не е за пренебрегване и логичното последствие от това – 29% от децата са били с ЕФ на ЛК < 65%.

Вземайки в предвид гореизложените данни, ние считаме, че нашите резултати от изследване нивата на феритин сред нашите пациенти с БТМ са показателни не само за адекватно извършваното лечение, но така също са и предиктор за намален сърдечно-съдов риск в бъдеще.

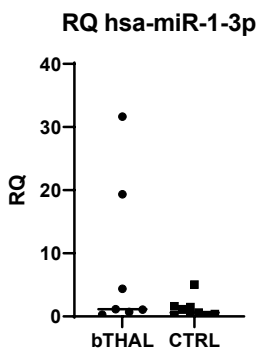
6. Изследване на микроРНКи при пациентите с бетаталасемия майор и здрави контроли.

Изследване на специфични микроРНКи се проведе при всички пациенти с БТМ и при 23 лица от здравите контроли. Изследвани бяха 5 вида микроРНКи, асоциирани с остра сърдечна увреда, сърдечна фиброза и сърдечно ремоделиране. Поради експерименталния характер на изследването и липсата на достатъчно научна информация в световен мащаб относно нормалната експресия на микроРНКите в човешкия серум, определянето на референтни стойности на този етап не е възможно.

При изследването на **микроРНК-1 (RQ has-miR-1-3p)** при нашето проучване се установи, че само 7 от пациентите (25,9%) я експресират, като средните стойности са 2,17 (SD \pm 6,99). При здравите контроли тя се експресира в 9 от изследваните лица (средна стойност 0,48 \pm 1,11). Разликата между групите не е несигнификантна - $p=0,21$ (табл. 7, фиг. 31).

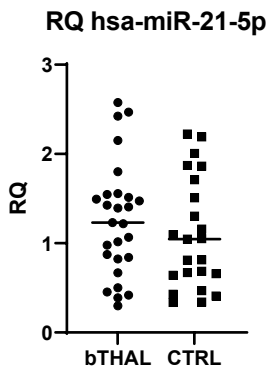
<i>Микро РНК</i>	<i>Група</i>	<i>n</i>	<i>Експресия на микро РНК</i>	<i>Средна стойност</i>	<i>SD</i>	<i>P Value</i>
RQ has-miR-1-3p	Пациенти	27	7	2,1720	6,99201	p=0,2105
	Контроли	23	9	0,4788	1,10826	
RQ has-miR-21-5p	Пациенти	27	27	1,2599	0,64147	p=0,3635
	Контроли	23	23	1,1000	0,62009	
RQ has-miR-29b-3p	Пациенти	27	27	1,1368	0,77123	p=0,4307
	Контроли	23	23	2,0307	3,39450	
RQ has-miR-30a-5p	Пациенти	27	27	1,0148	0,66806	p=0,0298
	Контроли	23	23	1,5563	0,99742	
RQ has-miR-150-5p	Пациенти	27	27	42,0431	30,0324	P<0,0001
	Контроли	23	23	13,7688	24,0497	

Табл. 7. Изследване на микроРНКи при пациентите с БТМ и здрави контроли.



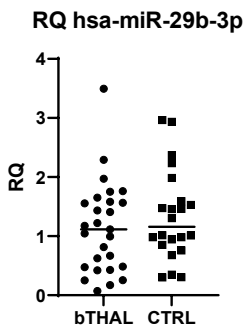
Фиг.31. Схематично представяне на експресията на RQ has-miR-1-3p при пациентите с БТМ и здрави контроли.

В кръвта на всички от изследваните лица се регистрира **микроРНК-21 (RQ has-miR-21-5p)**, като средните стойности при пациентите с БТМ и здравите контроли са съответно: $1,2599 \pm 0,64$ срещу $1,10 \pm 0,62$. Не се установи сигнификантна разлика между групите ($p=0,3635$) (табл. 8, фиг. 32).



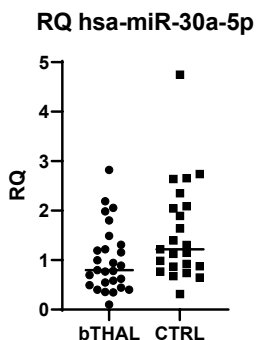
Фиг.32. Схематично представяне на експресията на RQ has-miR-21-5p при пациентите с БТМ и здрави контроли.

При всички изследвани в нашето проучване пациенти с БТМ и здрави контроли се установи експресия на **микроРНК-29 (RQ has-miR-29b-3p)**. Разликата между средните стойности при пациентите с БТМ и контролите се оказва несигнификантна с $p=0,4307$ (табл. 7, фиг. 33).



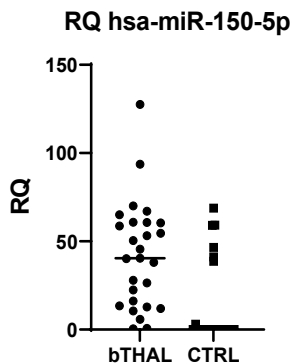
Фиг.33. Схематично представяне на експресията на RQ *has-miR-29b-3p* при пациентите с БТМ и здрави контроли.

При изследване на микроРНК-30 (**RQ *has-miR-30a-5p***) се установи, че тя се експресира в кръвта на всички от изследваните лица в нашето проучване. При пациентите с БТМ количеството на RQ *has-miR-30a-5p* е значимо по-ниско (средна стойност $1,0148 \pm 0,66$) в сравнение със здравите контроли ($1,55563 \pm 0,99$). **Разликата между групите е статистически сигнификантна с $p=0,0298$** (табл. 7, фиг. 34).



Фиг.34. Схематично представяне на експресията на RQ *has-miR-30a-5p* при пациентите с БТМ и здрави контроли.

При всички от изследваните от нас лица се експресира **микроРНК-150 (RQ has-miR-150-5p)**. За пациентите с БТМ средните стойности са $42,0431 \pm 30,032$, **сигнификантно по-високи в сравнение със здравите контроли**, съответно $13,7688 \pm 24,049$ ($p < 0.0001$) (табл. 7, фиг. 35).



Фиг.35. Схематично представяне на експресиата на RQ has-miR-150-5p при пациентите с БТМ и здрави контроли.

Както вече се спомена, от съществена важност е да се разграничат специфичните за самото заболяване БТМ микроРНКи от тези, които са с променена експресия вследствие на сърдечно увреждане, с потенциал да станат бъдещи маркери. Благодарение на наскоро публикуваните данни за експресиата на всички видове микроРНКи при деца и възрастни с БТМ става ясно, че **RQ has-miR-1-3p** не е специфична за самото заболяване и без наличие на усложнения не се открива в серума на пациентите (*Wang et al, 2021; Das et al, 2021*). Това ни накара да проведем проучване на международните и световни онлайн бази данни в опит да открием други доклади или публикации върху тази специфична микроРНК-а конкретно при пациенти с БТМ.

Към момента не успяхме да намерим информация дали RQ has-miR-1-3p е изследвана при пациенти с БТМ.

Тъй като концентрацията на RQ has-miR-1-3p се повишава при състояние на стрес за миокарда, фактът, че не се експресира при всички пациенти с БТМ, може да се обясни с липсата на остра сърдечна увреда към момента на изследването, както при пациентите, така и при здравите контроли. Наличието на RQ has-miR-1-3p наложи по-задълбочен анализ на пациентите, при които тя се експресира. Особенности на пациентите с БТМ, при които се установи повишена експресия на RQ has-miR-1-3p:

- пациент с тежка степен на желязно отлагане в миокарда, съответно ЯМР T2* 8,14 msec. и долно-гранични стойности на GLS (-18.66%).
- пациент с долно-гранични стойности на ежекционната фракция (ЕФ 59%) и увеличено ЛП.
- 4-ма пациенти с GLS под 19,5%.
- 4-ма пациенти с увеличени размери на ЛП (увеличен LAVi).

Резултатите покажат, че макар и не сигнификантно повишена, експресията на RQ has-miR-1-3p при пациентите с БТМ може да се асоциира с вече налична сърдечна увреда, както и да предвещава бъдещо влошаване в сърдечната функция. През 2021г., Badacz et al. изследват потенциалната роля на определени микроРНКи като рисков фактор за сърдечно-съдови инциденти. Тяхното проучване включва 142 възрастни пациенти, които са преживели остър инфаркт на миокарда или исхемичен мозъчен инсулт. Установяват повишена експресия на miR-1-3p и според авторите, тази специфична микроРНКа може да се асоциира с повишен риск от бъдещи сърдечно-съдови инциденти. Разбира се, нужни са по-големи клинични проучвания, които да обхванат по-голям брой пациенти за да може това да се потвърди.

RQ has-miR-21-5p също е една от микроРНКите, чиято експресия не е документирана при пациенти с БТМ (*Wang et al*,

2021). Според някои публикации повишената и концентрация се асоциира с активиране на фибробластите и последващо сърдечно фиброзиране. От друга страна, проучване от 2019г. на Moghaddam et al. за кардиопротективната роля на микроРНКите установява, че увеличената експресия на **RQ has-miR-21-5p** предполага кардиопротективен ефект посредством стимулиране на кардиомиоцитната пролиферация, супресия на кардиомиоцитната апоптоза и намаляване на сърдечната фиброза, подобрявайки сърдечната функция след прекаран остър инфаркт на миокарда. Както изглежда, изследването на микроРНКите все още е експериментален процес и липсва яснота относно специфичната им функция.

Подобно на **RQ has-miR-1-3p**, отново не успяхме да намерим информация в литературата дали **RQ has-miR-21-5p** е изследвана при пациенти с БТМ. Въпреки, че липсва статистически значима разлика, измерените средни стойности на **RQ has-miR-21-5p** при пациентите с БТМ при нашето проучване са по-високи в сравнение с тези при здравите контроли. Поради липсата на достатъчно информация в научната литература не бихме могли коректно да интерпретираме резултатите.

Макар, че не установихме значима разлика, средните стойности на **RQ has-miR-29b-3p** при пациентите с БТМ са пониски, сравнявайки ги със здравите контроли. **RQ has-miR-29b-3p** също е широко разпространена в сърдечните фибробласти и участва в процесите на сърдечно ремоделиране и фиброза (*Tijssen et al, 2012*). Но, за разлика от **RQ has-miR-21-5p**, пониженото количество на **RQ has-miR-29b-3p** допринася за развитието на сърдечна фиброза (*van Rooji et al, 2008*).

Екипът на Wang et al. (2021) изследва всички видове микроРНКи, които се експресират при деца и възрастни пациенти с БТМ и съобщават за повишено количество на **RQ has-miR-29b-3p**, както при децата, така и при възрастните пациенти. Увеличеното количество на **RQ has-miR-29b-3p** в серума на

техните пациенти е по-вероятно да се дължи на подлежащото основно заболяване - БТМ. Но в изследването на Wang et al. липсва оценка на сърдечно-съдовият статус при пациентите с БТМ и контролите, поради което не би могла да се направи съпоставка със сърдечната им функция. За разлика от тях, в нашето изследване можем да съпоставим получените резултати за **RQ has-miR-29b-3p** и сърдечната функция при пациентите с БТМ. Оценена, посредством конвенционални ехокардиографски методи, систолната и диастолната сърдечна функция при нашите пациентите не демонстрира значими нарушения на този етап. Като недостатък се отчете невъзможността за сравняване на получените резултати за тази микроРНК със „златния стандарт“ за оценка на сърдечна фиброза - ЯМР на сърце. Изводът е, че макар и несигнификантно, понижената експресия на **RQ has-miR-29b-3p** при нашите пациентите, може да е потенциал за развитие на сърдечна фиброза, и е необходимо регулярно проследяване на сърдечната функция при тези пациенти.

Анализирайки съществуващите към момента научни данни, установихме, че **RQ has-miR-30a-5p** не е специфична за заболяването БТМ, а също и, че при здрави хора нейната експресия не е повишена. Различните подвидове микроРНКи от семейството на микроРНК-30 са широко разпространени в кардиомиоцитите. Duisters et al. (2009) доказват, че микроРНК-30 (miR-30) участва в патологичното сърдечно ремоделиране и фиброзиране посредством директно таргетиране на нивата на съединително-тъканният растежен фактор. Понижената експресия на miR-30 стимулира продукцията на съединително-тъканният растежен фактор, като по този начина допринася за повишено сърдечно фиброзиране. Т.е. нивата на miR-30 са сигнификантно по-ниски в хода на патологичната сърдечна хипертрофия, водеща до СН. Освен това, Duisters et al., наблягат на факта, че понижението в miR-30 се наблюдава много рано в хода на лявокамерната хипертрофия, преди изявата на клинични

симптоми. От друга страна, повишената експресия на miR-30c понижава нивата на съединително-тъканният растежен фактор и съответно потиска продукцията на колаген. Yang и Zhao (2022) също потвърждават ролята на miR-30 в сърдечното фиброзиране. Те установяват, че повишената експресия на miR-30a-5p потиска пролиферацията и формирането на колаген в сърдечните фибробласти при диабетната кардиомиопатия. Maciejak et al. (2018) намират връзка между **miR-30a-5p** и **miR-150-5p**, и лявокамерна дисфункция. Те изследват прогностичната роля на специфични микроРНКи при възрастни пациенти, които са прекарали остър инфаркт на миокарда, като ги проследяват за период от 6 месеца и отчитат рискът от развитие на СН. Интересното е, че се установяват повишени стойности на **miR-30a-5p** и **miR-150-5p**, както и на **miR-29b-3p** при пациентите, които в последствие развиват сърдечна недостатъчност.

Фактът, че при нашите пациенти с БТМ се установи сигнификантно по-ниска експресия на **RQ has-miR-30a-5p** в сравнение със здравите контроли налага стриктно проследяване на сърдечната им функция, предвид риска от бъдеща сърдечна увреда.

Както изглежда, участието на конкретните микроРНКи (**RQ has-miR-21-5p**, **RQ has-miR-29b-3p** и **RQ has-miR-30a-5p**) в процесите на сърдечно ремоделиране и фиброза е все още не напълно ясно и вероятно съществуват допълнителни фактори, отговорни за тези сложни процеси на сърдечна увреда. Нужно е провеждането на по-големи клинични проучвания, обхващащи голям брой пациенти, които да потвърдят потенциалната приложимост и надеждност на микроРНКите като биомаркери.

Wang et al. (2021), които изследват експресията на микроРНКи при деца и възрастни с БТМ установяват 4 вида микроРНКи, които се експресират едновременно, и при децата, и при възрастните пациенти. **RQ has-miR-150-5p** е една от тях заедно с **RQ has-miR-29b-3p**, което идва да покаже, че тези

микроРНКи вероятно са специфични за самото заболяване. Установено е, че **miR-150** има роля в нормалната еритропоеза. Тъй като тя потиска α -глобиновият синтез по време на еритроцитната диференциация, а съответно и еритропоезата, нейната експресия нормално е понижена. Това означава, че повишената експресия на **miR-150** при пациентите с БТМ води до потискане на α -глобиновият синтез, а съответно и до потискане синтезата на фетален хемоглобин (HbF). Клинични проучвания предполагат, че повишаването на количеството на HbF може да намали тежестта на заболяването (*Saki et al, 2016*). Така възникват и идеите за таргетирана фармакологична терапия посредством микроРНКи с цел да се стимулира продукцията на HbF. Разбира се, нужно е провеждането на множество големи проучвания за да се постигне тази цел.

Вече се спомена, че екипът на Maciejac et al. (2018) установява, че повишената експресия на **miR-150-5p** се асоциира с лявокамерна дисфункция. За разлика от тях, колективът на Devaux et al. (2013) съобщава за противоположни резултати. Те изследват микроРНКи, които играят роля в лявокамерно ремоделиране след прекаран остър инфаркт на миокарда, като насочват вниманието си към miR-150. Авторите установяват, че нейната експресия е понижена при пациентите със сърдечно ремоделиране, за разлика от тези без ремоделиране. Освен това, откриват корелация между miR-150 и нивата на NT-pro-BNP, който се счита за златен стандарт в биомаркерите за сърдечна увреда. Те дори установяват, че miR-150 би могла да превъзхожда NT-pro-BNP за предсказване на лявокамерно ремоделиране.

Както изглежда съществуват противоречиви данни по отношение ролята на микроРНК-150 в лявокамерното ремоделиране. Потвърдено е, че тази микроРНКа играе роля в процеса на еритропоеза, както и, че нейната експресия е повишена при пациенти с БТМ. Повишените и количества при нашите пациенти потвърждават този факт. Дали високите нива на

микроРНК-150 ще бъдат предвестник на бъдещи сърдечни усложнения не би могло да се интерпретира коректно, предвид наличната, на този етап информация в научните среди.

В обобщение изследването на микроРНКи при пациентите с БТМ и здравите контроли установи следното:

В достъпната научна литература не намерихме изследване на **RQ has-miR-1-3p** при пациенти с БТМ. Повишената и експресия при част от нашите пациентите би могла да се асоциира с бъдещи сърдечно-съдови увреждания, което налага още по-стриктно проследяване на пациентите.

Научната информация за **RQ has-miR-21-5p** при пациентите с БТМ също е оскъдна. Въпреки, че не установихме статистическа значимост, при нашите пациенти с БТМ регистрирахме по-високо ниво на експресия на тази микроРНКа. Поради противоречивите научни данни, че за нейната асоциация, както с процесите на сърдечно фиброзиране, така и с кардиопротекцията и потискане на кардиомиоцитната апоптоза, на този етап не бихме могли да прогнозираме ефектът от нейната повишена експресия при пациентите.

- Ние установихме понижена експресия на **RQ has-miR-29b-3p** в серума на нашите пациенти с БТМ. Тъй като тази микроРНКа се асоциира с процесите на патологично сърдечно фиброзиране, това би могло да повишава риска от сърдечни усложнения.

Установихме също сигнификантно по-ниска експресия на **RQ has-miR-30a-5p** при нашите пациенти с БТМ в сравнение със здравите контроли. Тази микроРНКА не е специфична за БТМ. Тя има роля в сърдечното ремоделиране и въпреки противоречивата научна информация за нейната функция, бихме свързали тези резултати с повишен сърдечно-съдов риск.

Сигнификантно по-високата експресия на **RQ has-miR-150-5p**, при нашите пациенти с БТМ, потвърждава литературните данни. Но, поради информацията за ролята и в сърдечната

дисфункция, не бихме могли да изключим вероятността от повишен сърдечно-съдов риск.

7. Корелационен анализ на някои ехокардиографски показатели и определени микроРНКи.

7.1. RQ Has-miR-150-5p и някои ЕхоКГ показатели.

Резултатите от корелационния анализ са представени на табл. 8.

Параметър	n	Pearson correlation	Sig (2-tailed)
RQ has-miR-150-5p/LVMi	27	-0,182	0,364
RQ has-miR-150-5p/ЕФ на ЛК	27	0,126	0,530
RQ has-miR-150-5p/GLS	27	0,160	0,425
RQ has-miR-150-5p/LAVi	27	-0,440	0,022

Табл. 8. Резултати от корелационния анализ на Pearson между RQ Has-miR-150-5p и някои ЕхоКГ показатели.

а) Has-miR-150-5p и LVM/BSA.

Двата показателя са количествени, разположени на интервална статистическа скала. В тази връзка като подходящ корелационен коефициент се счита този на Браве-Пирсън. След прилагане на корелационен анализ се открива слаба обратна връзка $r = -0,182$. Полученият корелационен коефициент не може да бъде приет за статистически надежен ($p=0,364 > \alpha=0,05$).

б) Has-miR-150-5p и ЕФ на ЛК.

При корелационния анализ се установи слаба, права връзка $r = 0,126$. Полученият корелационен коефициент не може да бъде приет за статистически надежен ($p=0,530 > \alpha=0,05$).

в) Has-miR-150-5p и GLS.

Корелацията между параметрите установи слаба, права връзка $r = 0,160$. Полученият корелационен коефициент не може да бъде приет за статистически надежен ($p=0,425 > \alpha=0,05$).

d) **RQ Has-miR-150-5p и LAVi.**

Корелационният анализ установи **умерена, обратна връзка** $r = -0,440$. Полученият корелационен коефициент **може да бъде приет за статистически надежен и значим** ($p=0,022 < \alpha=0,05$).

e) **Has-miR-150-5p и ЛКММ.**

Предвид факта, че едната променлива е количествена, разположена на интервална скала, а другата променлива качествена на номинална е приложим непараметричен корелационен коефициент Eta. Той може да характеризира силата и посоката на връзката, но предвид неговият характер не може да се провери статистическата му значимост. Открива се **слаба, права връзка** между **RQ Has-miR-150-5p** и ЛК хипертрофия ($r = 0,094$) (табл.9).

Directional Measures

			Value
Nominal by Interval	Eta	МиРНК150 Dependent	,094
		ЛК хипертрофия Dependent	1,000

Табл.9. Корелационен анализ между Has-miR-150-5p и лявокамерна хипертрофия.

f) **Has-miR-150-5p и увеличен LAVi.**

При извършената корелация се установява **умерена, права връзка** между **RQ Has-miR-150-5p** и увеличеният индекс на лявопредсърден обем ($r = 0,311$) (табл.10).

Directional Measures

			Value
Nominal by Interval	Eta	МиРНК150 Dependent	,311
		Увеличено отношение ЛП/BSA (мл/м2) Dependent	1,000

Табл.10. Корелационен анализ между микроРНК-150 и увеличен LAVi.

Проведеният корелационен анализ между **RQ Has-miR-150-5p** и ехокардиографските показатели на пациентите установи:

- Умерена, обратна връзка между **RQ Has-miR-150-5p** и **LAVi**. Полученият корелационен коефициент може да бъде приет за **статистически надежен и значим** ($p=0,022 < \alpha=0,05$).
- Умерена, права връзка между **RQ Has-miR-150-5p** и **увеличения LAVi**.
- Открива се слаба, права връзка между **RQ Has-miR-150-5p** и ЛК хипертрофия

7.2. RQ Has-miR-30a-5p и някои ЕхоКГ показатели.

Корелационни връзки между **RQ has-miR-30a-5p** и определени ехокардиографски показатели е представена на табл.11.

Параметър	n	Pearson correlation	Sig (2-tailed)
RQ has-miR-30a-5p/LVMi	27	0,125	0,535
RQ has-miR-30a-5p/ЕФ на ЛК	27	0,144	0,474
RQ has-miR-30a-5p/GLS	27	-0,088	0,661
RQ has-miR-30a-5p/LAVi	27	-0,158	0,430

Табл. 11. Резултати от корелационния анализ на Pearson между RQ Has-miR-30a-5p и някои ЕхоКГ показатели.

a) RQ has-miR-30a-5p и LVM/BSA

При изследването се установи слаба, права връзка $r = 0,125$. Полученият корелационен коефициент *не може да бъде приет за статистически надежден* ($p=0,535 > \alpha=0,05$).

b) RQ has-miR-30a-5p и ЕФ на ЛК.

При извършената корелация се намери слаба, права връзка с $r = 0,144$. Полученият корелационен коефициент *не може да бъде приет за статистически надежден* ($p=0,474 > \alpha=0,05$).

c) RQ has-miR-30a-5p и GLS.

Корелационният анализ установи слаба, обратна връзка между параметрите с $r = -0,088$. Полученият корелационен коефициент *не може да бъде приет за статистически надежден* ($p=0,661 > \alpha=0,05$).

d) RQ has-miR-30a-5p и LAVi.

При анализа се установи слаба, обратна връзка с $r = -0,158$. Полученият корелационен коефициент *не може да бъде приет за статистически надежден* ($p=0,430 > \alpha=0,05$).

e) RQ has-miR-30a-5p и пациенти с увеличен LAVi.

Данните са представени на табл.12.

Directional Measures

	Value
Nominal by Interval Eta	
МиРНК30 Dependent	,234
Увеличено отношение ЛП/BSA (мл/м2) Dependent	1,000

Табл.12. Корелационен анализ между микроРНК-30 и LAVi.

Открива се **слаба, права връзка** между **RQ has-miR-30a-5p** и увеличения **LAVi** ($r = 0,234$).

f) **RQ has-miR-30a-5p** и лявокамерна хипертрофия.

Данните са представени на табл.13.

Directional Measures			Value
Nominal by Interval	Eta	МиРНК30 Dependent	,105
		ЛК хипертрофия Dependent	1,000

Табл.13. Корелационен анализ между RQ has-miR-30a-5p и лявокамерна хипертрофия.

При извършената корелация се открива **слаба, права връзка** между **RQ has-miR-30a-5p** и ЛК хипертрофия ($r = 0,105$).

Проведеният корелационен анализ между **RQ has-miR-30a-5p** и ехокардиографските показатели на пациентите установи:

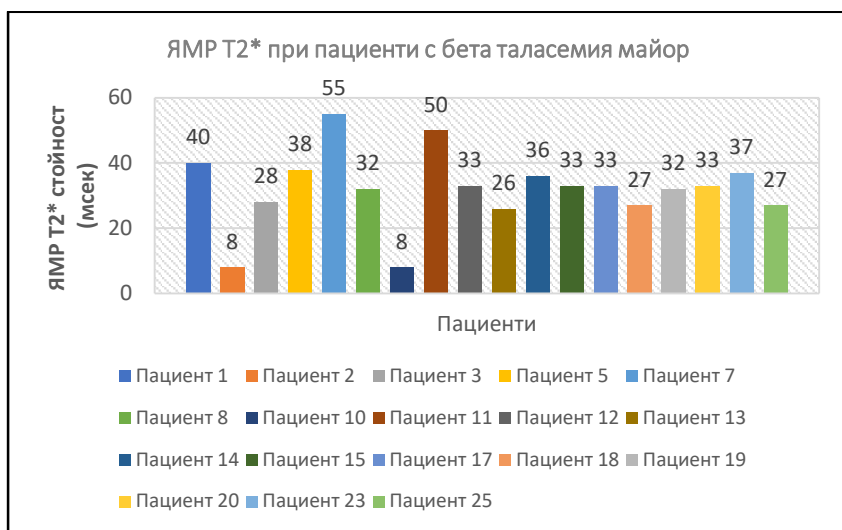
- **Слаба, права връзка** между **RQ has-miR-30a-5p** и увеличия индексиран лявопредсърден обем .
- **Слаба, права връзка** между **RQ has-miR-30a-5p** и ЛК хипертрофия.

8. Оценка на отложеното в миокарда желязо при пациенти с бета-таласемия майор посредством ЯМР T2* техниката.

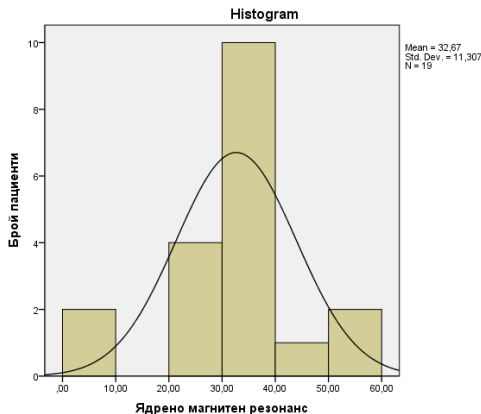
Ядреномагнитен резонанс е проведен на 19 от пациентите с БТМ. При останалите 8 пациента не е извършено изследването по следните причини: възраст под 10 години, наличие на кохлеоимплант или клаустрофобия. Оценката на отложеното в миокарда желязо е класифицирана по следният начин:

- T2* > 20 msec - без данни за натрупване;
- T2* 14 - 20 msec – лека степен на натрупване;
- T2* 10 - 14 msec – умерена степен на натрупване;
- T2* < 10 msec – тежка степен на натрупване на желязо.

При 2-ма от пациентите (10,5%) е установена тежка степен на желязно миокардно обременяване със стойности на T2* съответно 8,5 msec и 8,14 msec. При нито един пациент не се установи лека или умерена степен на натрупване. Пациентът, който е с ЯМР T2* 8,5 msec е и с нисък GLS (-16,65%), както и увеличено ЛП (LAVi 37,03). Вторият пациент, с ЯМР T2* 8,14 msec, е с долно-граничен GLS (-18,66%). Въпреки това, вероятно поради малкия брой пациенти, **ние не установихме корелационна връзка между GLS и ЯМР T2*** (фиг. 36, фиг. 37).



Фиг.36. Схематично представяне на измерените стойности на ЯМР T2* при всички от изследваните пациенти с БТМ.



Фиг.37. Схематично представяне на средните стойности на ЯМР T2* при изследваните пациенти с БТМ.

Pizzino et al. (2017) установяват сигнификантна корелация (с $p=0,001$) между GLS и ЯМР T2* стойностите. Пациентите с БТМ, миокардно желязно обременяване и ЯМР T2* < 20 msec, демонстрират и по-нисък GLS. От друга страна, авторите не установяват положителна корелационна връзка между ЯМР T2* и ЕФ или диастолната функция, по-специално E/e'. Като заключение авторите подчертават, че ЯМР си остава най-точният неинвазивен метод за оценка на желязното натрупване, но посредством GLS могат да се идентифицират пациенти с тежко миокардно обременяван. Подобно на горните автори, Parsaee et al. (2018) също установяват статистически сигнификантна корелация ($p<0.0001$) между ЯМР T2* и GLS на ЛК. Значим извод е, че посредством GLS може да се идентифицира миокардна увреда, вследствие на желязно отлагане, докато ЕФ на ЛК е все още съхранена, т.е. този показател (GLS) може да се използва като предиктор за нарушение в лявокамерната функция в ранните етапи на сърдечна увреда при пациентите с БТМ, дори при нормална ЕФ.

El-Shanshory et al. (2020) изследват 140 деца с БТМ и установяват положителна корелация само между ЯМР T2* и индексът на миокардно представяне (myocardial performance index), оценен посредством тъканен доплер. Те също установяват сигнификантно по-нисък, не само глобален, но и циркуферентен и радиален стрейн в сравнение със здравите контроли. Те също потвърждават, че ЕФ на ЛК е показател, който се нарушава в крайната фаза на заболяването. При 32% от техните пациенти авторите откриват миокардно желязно обременяване, като 20% са с ЯМР T2* < 10 msec (тежко обременяване), а всички деца имат нормална ЕФ, оценена посредством конвенционална ехокардиография.

9. Изработване на протокол за ехокардиографско изследване при деца и млади пациенти с бета-таласемия майор.

На базата на получените резултати и анализи предлагаме следния протокол при ехокардиографското проследяване на деца и млади пациенти с бета-таласемия майор.

ПРОТОКОЛ ЗА ЕХОКАРДИОГРАФСКО ИЗСЛЕДВАНЕ ПРИ ДЕЦА С БЕТА-ТАЛАСЕМИЯ МАЙОР

Име на пациента:

Възраст:

Тегло: кг.

Ръст: см.

Тел. Повърхн.

м²

1. Морфологични ехокардиографски показатели:

ПОКАЗАТЕЛ	ИЗМЕРВАНЕ	НОРМА
1. ТДДЛК (mm.)		Z-score индексиран спрямо BSA
2. ТСДЛК (mm.)		Z-score индексиран спрямо BSA
3. LVMass (g.)		
4. LVMi (g/m ²)		>45g/m ²
5. LAVi (ml/m ²)		При BSA <1 m ² : 31,5±5,5 ml/m ² ; При BSA >1 m ² : 26±4,2 ml/m ² ;

2. Изследване на систолна функция:

ПОКАЗАТЕЛ	ИЗМЕРВАНЕ	НОРМА
1. ЕФ (%)		59-83%
2. GLS (%)		(-16.7%) – (-23.6%)

3. Изследване на диастолна функция:

ПОКАЗАТЕЛ	ИЗМЕРВАНЕ	НОРМА
1. E/A		
2. DecTime (cm/sec.)		
3. e' sept. (cm/sec.)		
4. e' lat. (cm/sec.)		
5. E/e'		<8 – норма; 8-14 – гранично; >14 – патология

VII. ИЗВОДИ :

1. Пациентите с БТМ имат по-малка телесна повърхност в сравнение със здрави контроли, но разликата е несигнификантна.
2. Пациентите с БТМ имат по-висока сърдечна честота и пониски стойности на артериалното налягане в сравнение със здрави контроли, без разликата да е сигнификантна.
3. Пациентите с БТМ имат сигнификантно по-голяма лявокамерна мускулна маса по абсолютна стойност, както и индексирана спрямо телесната повърхност (**LVMi**).
4. Пациентите демонстрират статистически значим увеличен индексиран лявопрдсърден обем (LAVi).
5. Децата и младите възрастни с БТМ от Центъра по коагулопатии и редки анемии имат съхранена систолна функция на ЛК, оценена посредством ежекционната фракция. Въпреки, че измерените средни стойности на GLS са в рамките на референтните, при 37% от децата до 18 год. и 50% от младите пациенти над 18 год., при измерването на GLS се наблюдава тенденция към стойности под средните за възрастта. При пациентите, при които се регистрира патологично нисък GLS са налице начални нарушения в сърдечната функция, както и данни за миокардно желязно обременяване. При същите тези пациенти, ЕФ на ЛК е в нормални граници.
6. Пациентите с БТМ нямат снижение нито, в систолните, нито в диастолните тъканни миокардни скорости. При оценяването на диастолната функция единствено отношението E/e' показва статистически сигнификантно по-високи стойности в сравнение със здравите контроли.
7. Ние не установихме корелационна връзка между GLS и ЯМР T2* при пациентите с БТМ, възможно поради недостатъчния брой изследвания.

8. При изследването на микроРНКи при пациентите с БТМ се регистрираха следните резултати: повишената експресия на RQ has-miR-1-3p при част от пациентите; по-висока експресия на RQ has-miR-21-5p; по-ниска експресия на RQ has-miR-29b-3p; сигнификантно по-ниска експресия на RQ has-miR-30a-5p, както и сигнификантно по-висока експресия на Has-miR-150-5p в сравнение със здравите контроли.
9. Установи се умерена, обратна връзка само между **Has-miR-150-5p** и **LAVi**, както и между **Has-miR-150-5p** и **увеличения LAVi**. Установи се слаба, права връзка между **RQ has-miR-30a-5p** и **увеличения LAVi**, както и между **RQ has-miR-30a-5p** и **ЛК хипертрофия**.

VIII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

През последните години сме свидетели на невероятен прогрес в терапията на редица редки заболявания, включително и бета-таласемия майор. Благодарение на новите медикаменти и по-лесното им приложение, преживяемостта и качеството на живот на пациентите с БТМ драстично се подобриха.

Въпреки безспорния прогрес обаче, водещите причини за болестност и смъртност при тези пациенти остават сърдечно-съдовите заболявания. Не е за пренебрегване фактът, че и в Европа, независимо от качествената грижа, която пациентите получават, около $\frac{1}{4}$ от тях имат данни за миокардно желязно обременяване. Имайки предвид относително краткия период от изявата на клинични симптоми до разгърнатите прояви на сърдечна увреда, ние си поставихме задачата да търсим най-ранните белези и прояви на сърдечна дисфункция, като разбира се, започнем от детството. Използвайки съвременни ехокардиографски техники, както и иновативни лабораторни маркери, се опитахме да намерим достатъчно сензитивен, специфичен, максимално неизвазивен и безопасен начин за своевременно диагностициране на ранни сърдечни промени, преди разгърнатата им клинична изява.

Нашето изследване е тип „случай-контрола“, като обхвана деца и млади пациенти с БТМ до 25 год., които се лекуват в Центъра по коагулопатии и редки анемии към УМБАЛ „Св. Марина“ в гр. Варна. Единственото изследване в нашата страна, проведено от д-р Чакъров през 2011 г., установява при близо $\frac{1}{3}$ от българските деца с БТМ снижена систолна лявокамерна функция, което е късна изява на таласемичната кардиопатия.

Целта, която си поставихме в настоящите дисертационен труд, е да установим има ли ранни изменения в сърдечната функция при младите асимптомни пациенти с БТМ, и могат ли те да се установят посредством съвременни ехокардиографски

техники и показатели и някои микроРНКи, сравнени със здрави контроли, които съответстват по пол и възраст на нашите пациенти.

Нашите резултат потвърдиха литературните данни, че пациентите с БТМ имат по-висока сърдечна честота и по-ниски систолни и диастолни стойности на артериалното налягане. От друга страна те имат сигнификантно по-голяма лявокамерна мускулна маса по абсолютна стойност, както и индексирана спрямо телесната повърхност. Тези изменения могат да се обяснят с променената хемодинамика, вследствие на самото заболяване и са очаквани.

Към момента на изследването, всички наши пациенти са без изявена сърдечно-съдова симптоматика. При нашето изследване, най-широко използваният понастоящем показател за систолна ЛК функция – ЕФ, демонстрира нормални стойности. Целта ни беше да оценим сърдечната функция и чрез новите деформационни техники. Измерените средни стойности на GLS при пациентите с БТМ се оказаха съпоставими с тези при здравите контроли, като въпреки това се наблюдава тенденцията към регистриране на стойности под средните с напредването на възрастта. При пациентите с патологично нисък GLS са налице данни за начални сърдечни нарушения, като същевременно ЕФ е в нормални граници. Независимо от малкия брой изследвани пациенти, можем да заключим, че GLS, като ехокардиографски показател, може да идентифицира ранни сърдечни нарушения, преди снижението в ЕФ и изявата на клинични симптоми, поради което препоръчваме използването му в рутинната клинична практика.

Макар и да не са покрити всички критерии на съвременните препоръки за нарушена диастолната функция, ние наблюдавахме изменения в някои от показателите, които са в полза на начална диастолна дисфункция. Сигнификантно по-високото отношение E/e' , както и данните за увеличено ЛП са показателни за

нарастване на лявокамерното теледиастолично налягане. Това потвърждава ролята на тъканния доплер в ранната оценка на диастоличната дисфункция.

Ние за първи път изследвахме в България някои микроРНКи, асоцииращи се със сърдечна увреда при пациенти с БТМ. Сигнификантно по-ниската експресия на RQ has-miR-30a-5p, както и сигнификантно по-високата експресия на Has-miR-150-5p, биха могли да се асоциират с повишен сърдечно-съдов риск в бъдеще. В подкрепа на това са и установените връзки на тези микроРНКи с увеличеното ЛП и ЛКХ. Наша следваща задача е да проследим пациентите в бъдеще за да проверим тази хипотеза. Тъй като изследването на микроРНКи е все още в експериментална фаза, за да се потвърди тяхната надеждност в клиничната практика, е нужно да се проведат по-големи клинични проучвания, обхващащи голям брой пациенти.

С настоящият дисертационен труд ние успяхме да потвърдим хипотезата, която си поставихме. Изменения в сърдечната функция, вследствие на заболяването и отлагането на желязо в миокарда при пациенти с БТМ може да се наблюдава от ранна възраст и да се идентифицират посредством съвременни ехокардиографски методи включващи тъканния доплер и новите деформационни техники. Базирайки се на тези резултати препоръчваме използването им в рутинното клинично проследяване на пациентите с бета-таласемия майор, което трябва да започне от детска възраст, защото профилактиката и предотвратяването на усложнения си остават най-добрият подход както за пациентите, така и за нас, медицинските специалисти.

IX. ПРИНОСИ:

Проведе се подробна оценка на сърдечно-съдовият статус при деца и млади пациенти с диагноза бета-таласемия майор, които се лекуват в Центъра по коагулопатии и редки анемии към УМБАЛ Св. Марина в гр. Варна.

1. С оригинален характер:

- За първи път в България се използват нови ехокардиографски показатели, свързани с миокардна деформация за откриване на ранна сърдечна дисфункция при деца и млади пациенти с бета-таласемия майор с изработване на протокол за ехокардиографско изследване.
- За първи път в нашата страна се изследват специфични микроРНКи, асоциирани със сърдечна увреда при деца и млади пациенти с бета-таласемия майор.

2. С потвърдителен характер:

- Потвърдихме ролята на тъканният доплер в ранната оценка на диастолна дисфункция при деца и млади пациенти с БТМ.
- Потвърдихме, че GLS допринася за идентифициране на ранни сърдечни нарушения с по-голяма сензитивност от ежекционната фракция преди изявата на клинични симптоми.
- Установихме, че при пациентите с БТМ се наблюдават промени в експресията на специфични микроРНКи, които биха могли да бъдат бъдещи биомаркери за ранна сърдечна увреда.

Ограничения на изследването

Като ограничение отчитаме сравнително малкия брой пациенти с БТМ, включени в настоящето изследване. Бета-таласемия майор се причислява към редките заболявания с честота за Европа <5 на 10 000 души, а само за нашата страна – 3,66 на 100 000 души. Научните публикации и съобщения, касаещи разглежданата тематика, също обхващат малки кохорти от млади пациенти с това заболяване.

Х. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ СВЪРЗНИ С ДИСЕРТАЦИЯТА:

ПУБЛИКАЦИИ:

1. Ганева К., Шивачев П., Петрова К., Промени в сърдечната функция, свързани с железен свръхтовар при млади пациенти с бета таласемия майор – какво сме научили до момента. Нови методи за ранна диагностика. *Педиатрия*. 2021; *Supplementum*: 22-26.
2. Ганева К., Микро-РНКи и сърдечно здраве. Ролята им като потенциален биомаркер за сърдечна увреда. *Journal of the Union of scientists – Varna. Medicine and ecology series*.2021;26(1):5-9.

УЧАСТИЯ:

1. К. Ганева. Сърдечен статус при млади пациенти с бета-таласемия майор. Съвременни неинвазивни методи за ранна оценка. Първа работна среща Редки доброкачествени хематологични заболявания. 18-20.03.22г, Сливен.
2. Ганева К, Шивачев П, Калева В, Предварителни резултати от изследване на сърдечен статус при млади пациенти с бета таласемия майор посредством съвременни неинвазивни методики, XVII Национален конгрес по кардиология, 2022, Албена. Постер

БЛАГОДАРНОСТИ:

Издавам своите искрени благодарности и признателност на моите учители и наставници, доц. Петър Шивачев и доц. Лъчезар Маринов, за търпението, безрезервната подкрепа и вяра в моите възможности, и най-вече за оказаната неоценима помощ в разработването на настоящия дисертационен труд.

Благодаря на всички колеги и медицински сестри от Първа и Втора Детска клиника и Клиниката по Детска хематология и онкология към УМБАЛ „Св. Марина“, без които този труд нямаше да бъде осъществен. Специални благодарности на проф. Валерия Калева за огромната подкрепа през целия период на работата ми върху настоящата дисертация.

Искрени благодарности на колегите от Клинична лаборатория и имунология и най-вече на доц. Трифон Червенков за оказаната ми помощ в извършването на експерименталното изследване на микроРНКите. Благодаря за добрата колаборация и съдействие.

И не на последно място, искам да благодаря най-вече на моето семейство, на родителите ми и на мъжът до мен, които безрезервно вярваха в мен и ме подкрепяха. Благодаря ви за огромното търпение и разбирането ви в най-трудните моменти на моята работа.