

РЕЦЕНЗИЯ

от

Проф. д-р Красимира Илиева Икономова, дм

**Началник Клинична лаборатория и имунология
Национална многопрофилна транспортна болница – София**

на

**дисертационния труд за придобиване образователно-научна степен
„Доктор”**

на

д-р Моника Тошкова Тодорова

**РОЛЯ НА ВИТАМИН D И ВИТАМИН B12 ПРИ БРЕМЕННИ ЖЕНИ
И НОВОРОДЕНИ**

за

**присъждане на образователна и научна степен
„ДОКТОР”**

Научен ръководител:

доц. д-р Даниела Иванова Герова, д.м.

Научна специалност – „Клинична лаборатория“

Област на висше образование „Здравеопазване и спорт“

Професионално направление 7.1. Медицина

Известно е, че в периода на бременността здравословното състояние и начинът на живот на бременната жена са от съществено значение за нормалното развитие на плода и раждането на здраво новородено.

Съществуват множество доказателства, че витамин D дефицит е често срещано явление сред бременните жени в световен мащаб. Дефицитът на витамин D се свързва с усложнения на бременността като гестационен захарен диабет, преекламписия, преждевременно раждане. Дефицитът оказва влияние и на новородените, като чести отклонения са ниското тегло, неонатална смърт и мъртво раждане.

В България има съвсем ограничени данни относно витамин D статуса на бременните жени и честотата на витамин D дефицит/недостатъчност сред тази таргетна група. Липсват данни за връзката между витамин D дефицит и евентуални усложнения, настъпващи по време на бременността.

Все по-често сред бременните жени се установява и дефицит на витамин B12. Като най-чести усложнения от страна на майката се наблюдават гестационен диабет, преекламписия, спонтанни аборти, депресия. Признаците на B12 дефицит от страна на новороденото се свързват с дефекти на невралната тръба, нарушения в растежа на плода, изоставане в нервно-психичното развитие.

Реалното определяне на статуса витамин B12 не зависи само от тоталния витамин B12, но и от няколко допълнителни параметъра като активен B12 и метаболитните показатели метилмалонова киселина и хомоцистеин.

В България липсват данни както за витамин B12 статуса на бременните жени, така и за връзката между витамин B12 дефицит и усложнения, настъпващи по време на бременността.

Сравнителното малко са и проучвания за аналитичната надеждност на методите, изследващи тези показатели. Натрупването на нова информация върху тези проблеми ще улесни интерпретацията на получените резултати и ще подпомогне диагнозата, мониторирането и проследяването на бременните жени.

Това определя темата на предложения за рецензия труд като актуална, съвременна и значима.

Дисертационният труд е написан на 187 стандартни страници. Структуриран е по следния начин: заглавна страница, списък на използваните съкращения и съдържателен текст на дисертацията, групиран в глави: въведение – 3 стр., литературен обзор – 51 стр., цел и задачи – 2 стр., материал и метод – 10 стр., резултати – 46 стр., дискусия – 32 стр., изводи – 2 стр., приноси – 2 стр.

Дисертационният труд съдържа 34 фигури и 59 таблици. Цитирани са 350 литературни източника, от които 5 на кирилица, 342 на латиница и 3 интернет сайта. Болшинството от статиите публикувани през последните десет години.

Литературният обзор включва четири раздела, завършващи с обобщение. Най-напред е направен преглед на бременността като особено физиологично състояние. Обръща се внимание на патологична бременност и неблагоприятни усложнения за майката и новороденото. Проследяват се патофизиологичните механизми на възникването и развитието на гестационен захарен диабет, прееклампсия, преждевременно раждане, раждане на деца с ниско тегло, интраутеринна ретардация на плода.

В следващия раздел се разглежда биосинтеза и метаболизма на витамин D. Сравнена е аналитичната надеждност на имунологичните и хроматографските методи за определяне статуса на витамин D. Представени са границите за дефицит, недостатъчност и нормални стойности за витамин D. Изтъкнати са препоръки за суплементиране с витамин D.

Обръща се внимание на витамин D метаболизма при здрави бременни жени. Представена е справка за честота на витамин D дефицит при бременни жени. Разисквани са ефектите на витамин D дефицит за хода на бременността и развитието на плода. Разгледана е връзката между витамин D дефицита и редица отклонения - инсулиновата резистентност, гестационния диабет, прееклампсията, бактериалната вагиноза, следродилна депресия, преждевременно раждане, ниско тегло на новороденото.

Другият митронутриент, обект на обзора, е Витамин B12. Разгледан е биосинтезът, метаболизмът и физиологична роля на витамин B12, както и фактори, определящи нуждите от витамин B12. Подчертано е значението на витамина в процесите на хемопоеза и развитието на централната и периферна нервна система. Изтъкната е ролята на Витамин B12 за възникването на социално-значими заболявания като инфаркти, инсулти, злокачествени тумори. Проследена е честота на витамин B12 дефицит сред общата популация и е представена информация за препоръчителен дневен прием на витамина. Направен е преглед на аналитични методи за определяне нивата на витамина.

В обзора подробно се разгледани ефектите на витамин B12 дефицит за хода на бременността и развитието на плода. Разгледана е връзка между дефицитът на витамин B12 и гестационния диабет, еклампсията, нарушенията в развитието на плода, преждевременното раждане и ниското тегло на новородените.

Като цяло литературният преглед показва добра информираност, критичен анализ и логично обединяване на научните факти. Изводите от литературния преглед са логични и правят плавен преход към следващата глава на дисертационния труд.

Целта на настоящия дисертационен труд е да се определи витамин D и витамин B12 статуса на бременни жени с нормална и патологична бременност и да оцени ролята на дефицита и/или недостатъчността им за хода на бременността и нейния изход.

Целта е формулирана ясно и точно. Логично са изведени и **10 конкретни задачи**.

В раздела **материал и метод** е представен клиничният контингент, обхващащ 259 бременни жени на възраст над 18 години, с едноплодна бременност, разделени в три групи - здрави бременни (167 лица), бременни с гестационен диабет (43 лица) и бременни с преeklampсия (49 лица). Проучването е проведено в ДКЦ „Св. Марина“ - Варна, АСС МЦ - Варна, СБГАЛ „Проф. д-р Д. Стаматов“ - Варна и МБАЛ „Св. Анна“ - Варна за периода от 02.07.2019 - 31.12.2021 год.

Бременните жени са попълват анкетна карта, съдържаща демографски данни и информация, свързана с начина им на живот, с протичането на предходни бременности (ако е имало такива) и акушерски резултати от тях, както и фамилна анамнеза.

От медицинската документация на АГ-консултативните кабинети и посочените болнични лечебни заведения е взета и обработена информация за състоянието на майката и плода в хода на бременността. Информация за антропометричните показатели на новородените след раждането е получена от неонатологичните отделения, АГ специалистите или от самите участници.

На всички бременни жени са извършени антропометрични изследвания - телесно тегло, гестационно наддаване на тегло (GWG - gestational weight gain), индекс на телесната маса (BMI).

На всички новородени са извършени антропометрични изследвания – ръст и тегло. Бипариеталният диаметър, обиколката на корема и дължината на бедрената кост са определени чрез ехографски методи.

Между 24-та до 28-ма гестационна седмица е вземана кръв за изследване на витамин D, тотален витамин B12, активен витамин B12, метилмалонова киселина и инсулин. В същия период на рисковите пациентки е проведен орален глюкозотолерантен тест (ОГТТ) с цел диагностициране на гестационен диабет. На бременните с преeklampсия витамин D и витамин B12 статуса е определян по време на болничния им престой.

Изследването на 25-хидрокси витамин D3 25(OH)D и метилмалонова киселина (ММА) е извършено с разработен и валидиранг течно-хроматографски метод с мас-селективна и UV детекция.

Тоталният витамин B12 и инсулинът са определяни по принципа на директна хемилуминисценция (CLIA) на имунологичен анализатор ACCESS 2. Активният витамин B12 (Holotranscobalamin) е определян по принципа на хемилуминисцентен имуноанализ с микрочастици (CMIA) на имунологичен анализатор ARCHITECT.

Глюкозата е определяна по хексокиназен метод на биохимичен анализатор Mindray.

Използваните лабораторни методи са съвременни и надеждни. Те дават възможност за получаване на достоверни резултати, съответстващи на общоприетите световни стандарти за подобен род проучвания.

Получените резултати са обработени със съвременни статистически методи (статистически пакет IBM SPSS).

Резултатите, значителна част от които са публикувани, са представени в 8 раздела. Те са логично систематизирани и добре онагледени с подходящи таблици и фигури.

При разглеждане на **демографските показатели** средната **възраст** на бременните е 29,84 години (с обхват от 19 до 43 години). Процентът на жените над 35 годишна възраст в групите с развити усложнения на бременността е по-голям (20.38%) в сравнение с този на здравите бременни жени (12.57%). Средната стойност на изчисления BMI за всички участници е 23.08+3.93 (обхват: от 15.24 до 44.98). В групата

на здравите бременни жени стойността е $22.69+3.69$, при бременните жени с GDM - $23.06+4.91$, при жените с прееклампсия - $24.25+3.66$.

Гестационното наддаване на тегло (gestational weight gain - GWG) при здравите бременни жени е $8.68+4.78$ кг, при бременни жени с GDM е $9.69+4.86$ кг, а при бременни жени с прееклампсия - $13.91+4.73$ кг.

При търсене на връзка между **сезонност** и развитие на усложнения на бременността не се доказва значима корелационна зависимост.

Антропометрични данни за новородените деца показват, че при здрави бременни жени процентът на новородените с тегло под 2500 г е 7.2%, при пациентки с диабет - 13.95%, при пациентки с прееклампсия - 33%.

При проследяване на **витамин D статус при бременните жени** се установява средната стойност на 25(OH)D $76.26+38.27$ pmol/l., медианата - 69.15 pmol/l (обхват: 10.25 pmol/l до 204.23 pmol/l). Най-ниска е средната стойност на 25(OH)D при бременните жени с гестационен диабет (73.98 pmol/l), последвана от тези при здрави бременни жени (76.72 pmol/l) и при бременните жени с прееклампсия (76.85 pmol/l). Не се установи статистически значима разлика в резултатите за 25(OH)D между трите изследвани групи.

В 54.05% от бременните жени се установяват нива на витамин D под общоприетото оптимално ниво от 80.00 pmol/l. От тях 4.63% са с **абсолютен дефицит**, а 49.41% са с различна степен на недостатъчност. Най-висока честота на абсолютен витамин D дефицит се установява при бременните жени с прееклампсия (6.12%), докато в групата на здравите бременни жени и в тази на жените с диабет процентът на тези от тях, които са с абсолютен дефицит, е приблизително еднакъв (4.79% за здравите и 4.65% за жените с диабет).

Витамин D недостатъчността е най-висока за групата с GDM (60.47%), последваната от групата на жените с прееклампсия (55.10%) и най-ниска в групата на здравите бременни жени (52.69%).

Установена е статистически значима разлика в стойностите за **витамин D в проби, взети през зимното и лятното полугодие** (зимното полугодие - $71.40+36.15$, лятно - $85.30+40.63$, $p < 0.01$). Не са доказани статистически значими различия в нивото на витамин D между трите основни групи изследвани бременни жени, разпределени в двете полугодия на годината.

При разпределение на бременните по **индекс на телесна маса** е установено, че 71.43% са с нормално телесно тегло (BMI < 25) и 28.57% са с наднормено тегло (BMI > 25). Не се откриват статистически значими различия в серумните нива на витамин D между групата с нормално телесно тегло и тази с наднормено тегло.

От бременни жени 32.82% не съобщават за **прием на витамин D**, докато 67.18% приемат витамин D като фармацевтичен продукт и/или хранителни добавки. Нивото на витамин D при несуплементираните жени е $56.05+29.78$ pmol/l, а при суплементирани $86.41+38.50$ pmol/l, $p < 0.0001$). Близко 60% от жените, които се суплементират достигат до оптимални серумни нива на 25(OH)D, докато само 21% от несуплементираните достигат до нива, сочещи достатъчност. Отчетени са статистически значими различия между групите бременни не само по отношение на приема на витамин D, но и по отношение на дозировката на приеманите единици дневно.

В настоящото проучване 12.45% от **новородените са родени преждевременно** (32 от общо 257 новородени). Най-висока е честотата на усложнението в групата на бременните жени с прееклампсия - 45.83% (n=22), последвана от 6.98% (n=3) за бременните жени с GDM и 4.21% (n=7) при здравите бременни. Делът на несуплементираните с витамин D е по-висок при преждевременно родилите в

сравнение с родилите на термин (37.50% vs 32.44% съответно). Вероятността от раждане на дете с ниско тегло е по-малка при тези от тях, които са суплементирани с адекватна доза витамин D (>600 IU/ден) в сравнение с тези, които са несуплементирани или суплементирани с ниска доза витамин D (<600 IU).

При изследване **Витамин В12 статус на бременните жени** е установено ниво на **тотален витамин В12** 177.58+90.24 pmol/l (медиана 429 pmol/l; обхват 76 - 782 pmol/l), на **активен витамин В12** 73.26+53.25 pmol/l (медиана 273.70 pmol/l; обхват 16.40 - 531 pmol/l) и на **метилмалонова киселина** 249.53+154.73 pmol/l (медиана 584.34 pmol/l; обхват 40.94 - 1127.74 pmol/l).

Нива на общ витамин В12 над 250 pmol/l или **достатъчност на витамина** се откри само при 13.51% от участниците. Активен витамин В12 или достатъчност над 50 pmol/l се наблюдават при 63.70% от бременните. По отношение на метаболитния параметър ММА, серумни концентрации над 300 pmol/l, доказващи витамин В12 дефицит, са измерени при 31.65% от участниците.

По-високи серумни концентрации на тотален и активен витамин В12 са измерени в серума на бременните жени, при които пробовземането е извършено през **зимното полугодие**.

Бременните жени с **висок ВМІ както и тези с нормален ВМІ** имат сходни средни, но ниски нива по отношение на показателите тотален и активен витамин В12 и сходни средни, но по-високи нива по отношение на метаболитния параметър ММА.

От включените в настоящото проучване бременни жени 34.75% не съобщават за **суплементация с витамин**. Статистически значимо по-висок процент на несуплементирани жени и жени, приемащи неадекватно количество витамин В12 се наблюдава при жените с гестационен диабет и прееклампсия.

Бременни, суплементирани с оптимална доза витамин В12, са с най-ниска вероятност от възникване на **преждевременно раждане**.

При **жените, родили деца с тегло под 2500 g**, средните серумните концентрации на параметрите тотален и активен витамин В12 са малко по-ниски, а средните серумни концентрации на метаболита ММА, съответно малко по-високи, в сравнение с тези при жените, родили новородени с нормално тегло.

Получените резултати покриват поставените цел и задачи на труда и показват способността на дисертанта за изграждане на научна хипотеза и критичен анализ на получените данни.

В **обсъждането** проличава умението на автора обективно да сравнява и съпоставя своите данни със световните резултати.

Разгледсани са рисков фактори за възникване на усложнения на бременността - възраст, ВМІ, гестационно наддаване на тегло, сезонност. Направена е оценка на серумните нива на 25(OH)D, тотален витамин В12, активен витамин В12 и метилмалонова киселина в изследваната кохорта. Установените данни за честотата на дефицит и/или недостатъчност за цялата кохорта, както и за трите изследвани групи са сравнени с данните от проучвания, касаещи бременни от различни региони по света. Направена е оценка на мястото на България по отношение на изследваните показатели. Дискутирана е зависимостта на витамин D и витамин В12 статуса от приема на витамин D и витамин В12 като фармацевтични продукти и/или хранителни добавки както за цялата кохорта така и в трите изследвани групи. Обсъдено е влиянието на посочените микронутриенти при здрави бременни и жени с усложнения както по отношение на възникване на преждевременно раждане така и по отношение раждане на дете с ниско тегло.

Изводите на дисертационния труд - 9 на брой - са ясно и точно дефинирани. Те произтичат от резултатите и отговарят на поставените цел и задачи.

Изтъкнати са **9 приноса – 5 с оригинален и 4 с приложен характер.**

За първи път в България е проведено проучване за изследване витамин D статуса на бременни жени - здрави и с патологични усложнения на бременността, чрез изследване на серумните концентрации на 25(OH)D посредством високоефективна течна хроматография с маспектрометрична детекция (LC-MS).

За първи път у нас се определя витамин B12 статус на бременни жени чрез три взаимосвързани лабораторни параметъра - тотален витамин B12, активен B12 и метилмалонова киселина, последната определена посредством високоефективна течна хроматография с маспектрометрична детекция (LC-MS).

За първи път в България е проведено проучване за изследване витамин B12 статуса на бременни жени - здрави и с патологични усложнения на бременността

За първи път са проучени взаимовръзките между витамин D и витамин B12 статуса на бременни жени и развитие на прееклампсия, гестационен захарен диабет, преждевременно раждане и ниско тегло на новородените.

Получени се данни за витамин D и витамин B12 статуса на бременните жени в Североизточна България, които до този момент липсват.

Потвърдена е сезонната зависимост на серумните концентрации на 25(OH)D, което трябва задължително да се има предвид при анализ на резултатите.

Споделям приносите на труда, които имат както научнотеоретичен, така и научноприложен характер. Те са с висока национална и международна научна и практическа стойност.

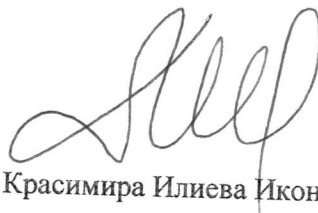
Публикациите във връзка с дисертационния труд са 3 на брой и са в реферирани медицински списания. Представени са и 6 доклада от научни форуми.

Авторефератът отговаря на изискванията. Отразява в синтезиран вид най-съществените моменти от дисертационния труд във всичките му раздели.

В заключение, въз основа на представения ми материал, считам че д-р Моника Тошкова Тодорова е придобила теоретични и методични познания и професионални умения, като е изпълнил планираните задачи точно и систематично. Считам, че дисертационният труд по обем, съдържание и актуалност отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в република България и препоръчвам на уважаемото Научно жури да присъди на д-р д-р Моника Тошкова Тодорова образователна и научна степен „Доктор” по професионално направление 7.1 Медицина, научна специалност „Клинична лаборатория”

12. 04. 2023.

София



Проф. д-р Красимира Илиева Икономова, дм