

## СТ А Н О В И Щ Е

**Относно:** дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен “ДОКТОР” на тема: „**Възможности на някои ехокардиографски техники и микроРНК-и за установяване на субклинична миокардна увреда при деца и млади възрастни с бета таласемия майор**“.

**Автор на дисертацията:** Д-р Калина Бинкова Ганева, асистент в Катедра по Педиатрия на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна, докторант редовна форма на обучение в докторска програма „Педиатрия“, професионално направление 7.1. Медицина, специалност „Педиатрия“ в област на висшето образование 7. “Здравеопазване и спорт“.

**Научни ръководители:** Доц. д-р Петър Атанасов Шивачев, д.м.

Проф. д-р Валерия Игнатова Калева, д.м.

**Изготвил становището:** доц. д-р Лъчезар Радославов Маринов, д.м., детски кардиолог, вътрешен член на Научното жури определено със заповед на Ректора на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна № Р-109-187/15.03.2023 г.

На първото неприсъствено заседание на Научното жури (Протокол № 1/24.03.2023 година) съм определен да изготвя становище.

Становището е изготвено според Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за приложение на ЗРАСРБ (ПРЗРАС) и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна.

Представеният комплект материали на хартиен/електронен носител е в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ, правилника и процедурата за придобиване на научна и образователна степен „доктор“ на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна.

Не установявам плагиатство при прегледа на предоставените ми за рецензиране дисертационен труд, автореферат и публикации, свързани с дисертацията.

Декларирам липсата на потенциален конфликт на интереси от участието ми в научното жури.

### **Кратки биографични данни**

Д-р Калина Ганева завършва „Медицина“ през 2012 година в Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна. От 2013 до 2017 г. специализира „Детска кардиология“ в Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна. Придобива специалност „Детска кардиология“, считано от 01.01.2018 г., свидетелство за призната специалност № 3891. Придобива професионална квалификация за „Високоспециализирана дейност по неинвазивна функционална кардиологична диагностика“ от 11.03.2019 г., свидетелство № 000525. От 2018 г. до 2020 г. специализира „Педиатрия“ в Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна. Придобива специалност „Педиатрия“ считано от 01.06.2021 г., свидетелство за призната

специалност № 4653. От 01.02.2019 г. е зачислена като докторант редовна форма на обучение в докторска програма „Педиатрия“ в Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна.

Много добро ниво на владеене на Английски език.

Членува в Български лекарски съюз, Българска педатрична асоциация, Дружество на кардиолозите в България, European Society of Cardiology (ESC), European Association of Pediatric Cardiology (AEPIC).

### **Актуалност на темата**

Таласемията 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. 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 нарушения като сърдечна недостатъчност, чернодробна цироза, ендокринни нарушения. С провеждането на регулярна и адекватна хелаторна терапия се осигурява нормално качество и продължителност на живота, но сърдечните усложнения все още са водеща причина за болестност и смъртност. Съществуват сведения за много ранно отлагане на желязо в миокарда, още на 7-годишна възраст, основно при ограничен достъп до хелаторна терапия. Магнитнорезонансната техника T2\* се счита за основен метод за оценка на желязното натрупване в миокарда, но методът е скъп и не винаги възможен. Новите ехокардиографски методи и техники за оценка и проследяване на сърдечната функция и миокардната деформация, като strain, strain-rate, torsion и twist при децата са по-приемливи, икономически изгодни и лесно осъществими.

В последните години микроРНК-ите привличат вниманието на изследователи и клиницисти като потенциални биомаркери за различни патологични състояния. Известно е участието на определени микроРНКи (микроРНК-1, микроРНК-21, микроРНК-29, микроРНК-30 и микроРНК-150) в патогенезата и прогресията на сърдечната недостатъчност (СН), миоцитната хипертрофия, апоптозата, интерстициалната фиброза и сърдечното ремоделиране. Усложненията с изявена сърдечна увреда настъпва в най-активните години от живота на пациентите, като отлагането на желязо е твърде вероятно да е започнало още от детска възраст.

В България до сега не са извършвани системни проучвания за оценка на сърдечната функция, миокардната деформация при деца и млади възрастни с БТМ. Изследването на микроРНКи е нов, иновативен метод за оценка на ролята им в патогенезата и прогресията на сърдечната увреда.

Дисертационният труд на д-р Калина Ганева е актуален и от съществено значение за обгрижване и проактивно поведение при тази група пациенти в България.

### **Структура на дисертационния труд**

Дисертационният труд на д-р Калина Ганева е написан на 130 страници, онагледен с 39 фигури, 14 таблици и 2 приложения. Библиографията включва 147 литературни източника, от тях 6 на кирилица и 141 на латиница. Цитираните източници в голямата си част са от последните 10 години, като от последните 5 години са над 20%.

Написан е на литературен български език, добре структуриран в съответствие с възприетите стандарти за изготвяне на научна работа за придобиване на научна и образователна степен „Доктор“. Съдържа следните страници: Заглавна страница – 1 стр.; Съдържание – 2 стр.; Използвани съкращения – 1 стр.; Въведение - 2 стр.; Литературен обзор - 29 стр.; Цел и задачи - 1 стр.; Материал и методи - 12 стр.; Резултати и обсъждане - 47 стр.; Изводи - 1 стр.; Заключение - 2 стр.; Приноси - 1 стр.; Публикации и участия свързани с дисертационния труд - 1 стр.; Приложения – 12 стр.; Библиография – 16 стр.

Пропорционалното разпределение между отделните раздели е спазено.

**Въведението** е на 2 страници и насочва към същността на научната работа.

### **Литературен обзор**

Представен на 49 страници, изключително подробен и информативен. Написан е на литературен български език. Дисертантът демонстрира умело боравене с научната терминология, добра осведоменост по отношение на епидемиологията, клиничната изява на БТМ, патофизиологията, метаболизма на желязото, мониториране на неговото ниво в човешкия организъм, засягането на сърцето – хемодинамичните промени, желязо-индуцираната сърдечна увреда и настъпващите от това усложнения. Особено място в обзора е отделено на съвременните неинвазивни методи за ранна оценка на желязно отлагане в миокарда при пациенти с БТМ – ЯМР T2\* изследване и ЕхоКГ. През последните години са разработени нови ехокардиографски техники оценяващи миокардната деформация, като strain, strain-rate, torsion и twist.

Основното живото-ограничаващо сърдечно усложнение при пациентите с БТМ е таласемичната кардиомиопатия (ТКМП) със/без СН и нарушенията в сърдечния ритъм. Аритмии и внезапна сърдечна смърт могат да се наблюдават дори при липса на изяви клинични симптоми при налична миокардна сидероза.

Специално внимание е обърнато на възможностите на съвременната терапия – хелаторна, алогенна трансплантация на хематопоеични стволови клетки, препоръчителна за пациенти в ранна възраст преди да са настъпили усложненията от желязното свръхобременяване. При наличие на HLA-идентичен донор остава единственото дефинитивно лечение на таласемията. Най-новите терапевтични опции са JAK2 инхибиторите и рекомбинантните протеини. Те се превръщат в обещаваща алтернатива за подобряване нивата на хемоглобина и намаляване на честите хемотрансфузии.

В последната част на обзора е отделено специално място на изследването на нови лабораторни показатели за ранна сърдечна дисфункция – микроРНКи – те. Установено е, че микроРНКите са от значение, както за нормалното развитие на сърдечно-съдовата система, така и за появата на редица патологични процеси, като сърдечна хипертрофия, интерстициална фиброза и сърдечно ремоделиране. Основните, които имат отношение към сърдечно-съдовата система са: МикроРНК-1, МикроРНК-21, МикроРНК-29, МикроРНК-30. Предполага се, че те ще са с голям потенциал както в диагностиката, така и в таргетираната терапия при пациентите с БТМ.

Авторът показва много добри и задълбочени познания по темата на дисертацията.

Изводите от литературния обзор са смислено формулирани и логично аргументират работната хипотеза, целта и задачите на дисертационния труд.

### **Цел и задачи**

Целта на настоящия дисертационен труд е: „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“.

За осъществяване на горепосочената цел коректно са формулирани 7 конкретни задачи.

### **Материал и методи**

Изследването е проспективно, обхваща общо 78 изследвани лица на възраст до 25 години, от които 27 деца и млади пациенти с доказана БТМ, на средна възраст от  $15,14 \pm 5,83$  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. Изследването е стартирано след получаване на разрешение от Комисията по етика за научни изследвания при Медицински университет - Варна с Решение №84/27.06.2019 г. и обхваща периода юли 2019 г. – юни 2022 г.

Извършените процедури са физикален преглед, ЕКГ, лабораторни показатели с изследване на кръвна картина, серумен феритин, 6 микроРНКи: микроРНК-1, микроРНК-21, микроРНК-29, микроРНК-30 и микроРНК-150, селектирани на базата на наличната научна информация за тяхното участие в сърдечната патология – остра сърдечна увреда, сърдечно ремоделиране и фиброза. ЕхоКГ изследване е извършено 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 гарантира достоверността на получените резултати. Включва детайлна оценка на сърдечните структури - левокамерна мускулна маса, индексирания спрямо телесната повърхност ЛК мускулна маса (LVMI), изчисляване обема на ЛП, оценка на систолната и диастолна функция на лява камера.

Приложените съвременни статистически методи дават основание за достоверността на получените резултати.

### **Резултати и обсъждане**

Разделът е представен на 47 страници. Получените от д-р Калина Ганева резултати завършват с обсъждане, в което задълбочено и компетентно са сравнени с тези на други автори.

Анализът на получените резултати показват сигнификантно по голяма левокамерна мускулна маса, индексирана левокамерна мускулна маса към телесната повърхност (LVMI) и индексиран обем на ЛП към телесната повърхност (LAVi). Пациентите с БТМ имат по-малка телесна повърхност, по-висока сърдечна честота и по-ниски стойности на артериалното налягане спрямо контролите без разликите да са сигнификантни. Децата

и младите възрастни с БТМ имат съхранена систолна функция на ЛК, оценена посредством ежекционната фракция. Независимо от това да се счита, че GLS като ехокардиографски показател идентифицира ранни сърдечни нарушения преди снижението в ЕФ и изявата на клинични симптоми, поради което авторът препоръчва използването му в рутинната клинична практика. Показателите за диастолната функция от Доплеровото изследване при пациентите с БТМ показва, че само отношението E/e' при пациентите с БТМ е сигнификантно увеличено в сравнение със здравите контроли. От представените резултати дисертантът смята, че не се покриват всички критерии за оценка на диастолната функция като нарушена. Увеличеното отношение на индексираният обем на лявото предсърдие спрямо телесната повърхност (LAVi) при повече от половината пациенти, както и тенденцията към покачване на лявокамерното теледиастолно налягане показват начални промени в диастолната функция с повишен риск от нарушение в бъдеще. Не се установява корелационна връзка между глобалния лонгитудинален стрейн (GLS) и ЯМР T2\* при пациентите с БТМ, вероятно и поради малкия брой изследвани.

От изследваните 5 вида микроРНКи, асоциирани с остра сърдечна увреда, сърдечна фиброза и сърдечно ремоделиране, стойностите на микроРНК-30 са значимо по-ниски, а тези на микроРНК-150 са значимо по-високи при пациентите с БТМ спрямо контролите, като това корелира с увеличеното ЛП и наличната ЛКХ..

На базата на получените резултати и анализи е изготвен протокол за ЕхоКГ изследване на пациенти с бета-таласемия майор.

### **Изводи**

Направените 9 извода са ясно и логично формулирани от резултатите и статистическите анализи в контекста на поставените цел и задачи.

### **Приноси**

Приносите на дисертацията, пет на брой, от които два с оригинален и три с потвърдителен характер са резултат от проучването и добре формулирани.

**Авторефератът** в обем от 80 страници отразява основните резултати и обсъждане, изводите и научните приноси на дисертационния труд.

### **Публикации**

Авторът представя 4 свързани с дисертационния труд публикации ( 1 под печат) в реномирани български медицински издания реферирани в международна база данни, отговарящи на изискванията.

### **Препоръки**

Предвид високата научна стойност на дисертационния труд и неговата актуалност, препоръчвам на автора да продължи наблюдението на пациентите с БТМ и събирането на още данни, които да оптимизират проактивното поведение и адекватно лечение на тези деца. Да публикува получените данни в чуждестранната научна периодика.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният ми дисертационен труд от д-р Калина Бинкова Ганева съдържа данни с оригинален и потвърдителен характер и са принос в развитието на педиатричната наука и в частност за детската кардиология и хематология.

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, и е изработен протокол за ЕхоКГ изследване. За първи път в България се изследват специфични микроРНКи, асоциирани със сърдечна увреда при деца и млади пациенти с бета-таласемия майор. Потвърдена е ролята на тъканният доплер в ранната оценка на диастолна дисфункция при деца и млади пациенти е БТМ. Потвърдено е, че глобалния лонгитудинален стрейн (GLS) допринася за идентифициране на ранни сърдечни нарушения с по-голяма сензитивност от ежекционната фракция преди изявата на клинични симптоми. Изработеният протокол за ехокардиографско изследване при пациентите с бета-таласемия майор е особено ценен за практиката. При пациентите с БТМ се наблюдават промени в експресията на специфични микроРНКи, които биха могли да бъдат биомаркери за ранна сърдечна увреда.

Дисертационният труд отговаря на изискванията за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ залегнали в Закона за развитие на академичния състав в Република България и на Правилника за развитие на академичния състав на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна.

Това ми дава основание да гласувам с положителен вот и убедено препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да гласуват за присъждане на д-р Калина Бинкова Ганева образователната и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Педиатрия“, професионално направление 7.1. Медицина, област на висшето образование 7. „Здравеопазване и спорт“.

28.04.2023 г.

Изготвил становището:



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