

СТАНОВИЩЕ

от

проф. д-р Юлия Георгиева Николова, дм,

катедра Физиология, МФ, МУ-Пловдив

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор', професионално направление: Медицина, направление 4.3.Биологични науки, докторска програма: Физиология на животните и човека,

Автор: *д-р Цветелина Валентинова Петкова-Маринова,*

Катедра по Физиология и патофизиология, МФ, МУ - Плевен

Тема: 'ПРОУЧВАНЕ УЧАСТИЕТО НА ХЕПСИДИН, МЕД И СЕЛЕН В ПОДДЪРЖАНЕ НА ЖЕЛЯЗНАТА ХОМЕОСТАЗА ПРИ МОМИЧЕТА В ЮНОШЕСКА ВЪЗРАСТ И БРЕМЕННИ ЖЕНИ'

Научен ръководител: *доц. д-р Боряна Крумова Русева, дм,* катедра Физиология и патофизиология, Медицински факултет, Медицински университет – Плевен

Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на електронен носител е в съответствие с актуалната Процедура за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ – Плевен и Правилникна МУ-Плевен и включва следните документи:

- Заявление до Ректора на МУ Плевен за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд,
- автобиография в европейски формат с подпис на докторанта,

- нотариално заверено копие от диплома за висше образование,
- нотариално заверено копие от диплома за специалност,
- заповеди за записване в докторантура и за отчисляване с право на защита,
- заповед за провеждане на изпит от индивидуалния план и съответен протокол за издържан изпит или докторантски минимум по специалността,
- протокол от катедрен съвет за предварително обсъждане на дисертационния труд и взетите решения за разкриване на процедура и за състав на научно жури,
- дисертационен труд,
- автореферат,
- списък на научните публикации по темата на дисертацията,
- копия на научните публикации
- списък на участията в научни форуми,
- списък на забелязани цитирания,
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи,
- други документи, свързани с хода на процедурата.

Д-р Цветелина Валентинова Петкова-Маринова е родена на 10.06.1981 г. Завършва средно образование в СОУ “Христо Смирненски“ град Плевен. Дипломира се като магистър лекар в МУ - Плевен през 2004 г. с Хипократова награда за отличен успех. През 2009 г. успешно полага изпит по специалността детски болести. В периода 2010 – 2014 г. работи като лекар детски болести в МБАЛ Благоевград и Първа МБАЛ – София. От 2014 г. д-р Петкова-Маринова работи като асистент към катедрата по Физиология и патофизиология при Факултета по медицина на Медицински университет – Плевен. През 2017 г. д-р Петкова-Маринова е зачислена като докторант на самостоятелна подготовка в специалност Физиология на човека и животните. Д-р Петкова-Маринова членува в Българско дружество по физиологични науки, Българско дружество по хранене и диетика, Съюз на учените в България, Балкански медицински съюз.

Темата, избрана от д-р Цветелина Петкова-Маринова е актуална и основание за това са следните факти:

- участието на желязото(Fe) в телесната хомеостаза и ролята му за физическото и нервно-психическо развитие на организма, тъй като както недостигът, така и излишъкът на Fe водят до нарушени клетъчни функции;
- в периода на растеж на организма и по време на бременност потребностите от макро- и микроелементи, и конкретно от Fe, са повишени и са предпоставка за развитие на железен дефицит(ЖД);
- рискови групи за развитие на ЖД са момичетата в юношеска възраст и бременните жени поради повишената вероятност за загуба на Fe;
- желязодефицитната анемия(ЖДА), най-честата последица от ЖД, е все още сериозен социален и клиничен проблем и е едно от 10-те водещи заболявания в световен мащаб
- все още оскъдни са данните, относно неостатъчния или липсващ клиничен ефект при лечението на ЖД с Fe-съдържащи медикаменти при около 40-60% от пациентите.

Защо д-р Петкова-Маринова е насочила научните си дирения към момичетата в юношеска възраст и бременните жени. Това са периоди, характеризиращи се с интензивно развитие на тъканите и органите и с повишена необходимост от макро- и микроелементи, в това число, и от Fe. Д-р Петкова-Маринова, посочва, че по литературни данни в световен мащаб анемия се среща при 25,4% от децата между 5 и 14 годишна възраст като относителният дял на ЖДА достига до 90%. При бременните жени честотата на анемия достига до 38,2%, като половината от тях се дължат на ЖДА. Д-р Петкова-Маринова търси отговор и на още един въпрос – защо Fe-съдържащите препарати са ефективни само при около 40-60% от пациентите.

Така, предизвикателството да се изследва хомеостазата на Fe при рискови групи от една страна, и от друга - да се открият фактори, повлияващи неудовлетворителното лечение с Fe-съдържащи медикаменти при около 40-60% от пациентите генерира обосновано научните дирения на д-р Петкова-Маринова да проучи ролята на хепсидина и микроелементите селен(Se) и мед(Cu). Хепсидинът, секретирани от хепатоцитите, не само играе свързваща роля между факторите, контролиращи хомеостазата на желязото, но участва и в резорбцията и в освобождаването му от макрофагите и хепатоцитите, както и в трансплацентарния му транспорт по време на бременност. Този хормон

осигурява Fe, необходимо за еритропоезата, и в същото време намалява вероятността за оксидативен стрес в клетките. Хепсидинът се оказва, че играе роля и на свързващо звено между желязния метаболизъм и микроелементите селен и мед, чиито механизми на взаимодействие все още не са изяснени.

Структурата на дисертационния труд и на представения автореферат е основана на необходимите елементи, посочени в правилника на МУ-Плевен, подредени в общоприетата последователност. Дисертацията е изложена в 156 страници, добре онагледена е с 9 таблици, 145 фигури и две приложения.

Литературният обзор е обстоен, изцяло насочен към темата на дисертационния труд, и заема половината от представения дисертационен труд. Базира се на 334 литературни източника, повечето от които са от последните десет години. Цитираните български източници са едва 17 на брой и това илюстрира ограничената информация по проблема в страната. Литературният обзор актуално и обширно отразява дискусиата относно оценката на желязния статус в организма, препоръчителните норми за дневен хранителен прием на желязо, състоянията на желязен дефицит и желязно претоварване, синтеза, секрецията, структурата, и физиологичните ефекти на хепсидина, както и участието му при ЖДА и при нормална и усложнена бременност, клетъчната и системна хомеостаза на медта и селена, биологичната им роля, препоръчителните норми за дневен хранителен прием и връзката с желязната хомеостаза.

Изводите, произтичащи от литературния обзор са логична предпоставка за формиране на **целта** на дисертационния труд. Тя е подчинена на идеята да се да се проучи участието на пептидния хормон хепсидин и на микроелементите мед и селен в поддържане на желязната хомеостаза при момичета в юношеска възраст и при бременни жени

Задачите, правилно изведени от поставената цел, д-р Петкова-Маринова обосновава конкретно в седем пункта: при изследваните работни и контролни групи да се определят серумните концентрации на хепсидин, IL-6, Cu и Se, хематологичните показатели, биохимичните маркери на желязната обмяна, както и да се оцени желязния, медния и селеновия статус и се регистрират зависимостите помежду им и да се разработи алгоритъм за диагноза и поведение при деца в юношеска възраст

с ЖДА и за мониториране на желязния метаболизъм и селеновия статус при бременни жени с проблемна бременност, предшествана от репродуктивни неудачи или асоциирана с хронични възпалителни заболявания, в т. ч. автоимунни.

Материалът и методите за реализиране на поставените задачи са адекватни и подходящо съобразени с поставените цел и задачи. *Анкетният метод*, е реализиран чрез изготвени от докторанта фишове. Коректно са извършени *антропометричните* измервания на базата на стандартна методика за измерване на телесната маса. Приложени са *клинични методи* за снемане на анамнеза и физикално изследване. Предвид физиологичните денонощни колебания на показателите, отразяващи обмяната на микроелементите, венозната кръв е вземана сутрин на гладно. *Хематологичните и клинично-химичните показатели* са изследвани чрез хематологичен и клинично-химичен анализатори с оригинални реактиви. За изследване на биохимичните маркери на желязната обмяна и определяне на серумните концентрации на хепсидин, IL-6, Cu и See отделян кръвен серум до 2 часа след венепункцията, след престой на стайна температура (20°C), разпределян в криоепруветки и съхраняван при температура -70°C до момента на изследването. Данните от проведените анкетно проучване, клиничен преглед, антропометрични измервания и получените стойности на хематологичните и клинично-химичните показатели са нанасяни в здравна карта на пациента. Чрез *имунологични методи* (ELISA методика „сандвичов” принцип) и *атомно-абсорбционна спектрофотометрия* са определяни серумните концентрации на феритин (Ferr), хепсидин, IL-6, мед и селен. *Статистическите методи* (дескриптивни, непараметрични и параметрични) са съобразени с естеството на задачите и дават сигурност за достоверност на данните при $p\text{-value} < 0.05$. Приложени са статистически програмни продукти Microsoft Office Excel 2003 и STATGRAPHICS Centurion XVI. Работните и контролните групи момичета в юношеска възраст и бременни жени са оформени на базата на критерии за включване и изключване. Всички участващи в изследванията са включени в проучването след писмено информирано съгласие.

Собствените **резултати** са описани коректно, онагледени са чрез таблици и фигури и съответстват на поставените задачи. Данните са представени като средна стойност \pm стандартното отклонение на всяка величина.

Както при момичетата в юношеска възраст, така и при жените с нормална и усложнена бременност, д-р Петкова-Маринова не установява статистически значими различия между тези с ЖДА и здравите контроли по отношение на възраст и индекс на телесна маса (ВМІ), като прави извод, че групите са сравними по отношение на тези показатели.

При определяне на серумните концентрации на хепсидин и селен д-р Петкова-Маринова установява статистически значима по-ниска средна стойност при момичетата в юношеска възраст с ЖДА спрямо контролната група, но не и по отношение на стойностите на медта. Статистически значимо по-ниски са средните стойности на Hb концентрация и Hct, както и на еритроцитните индекси MCV и MCH при момичетата с ЖДА спрямо тези от контролната група, по-ниско 2,6 пъти в групата с ЖДА е и средното серумно ниво на Fe и паралелно по-висока е средната стойност на Желязо Свързващия Капацитет спрямо контролната група.

При бременните както с нормално протичаща, така и с проблемна бременност не се регистрират статистически значими различия в средните серумни концентрации на хепсидин, Cu и Se, както и в медианите на серумните нива на IL-6. Не се регистрират статистически значими различия и по отношение на хематологичните показатели. При сравняване стойностите на серумния Ferr между двете изследвани групи правят впечатление получените статистически значимо 2,4 пъти по-високи стойности при жените с проблемна бременност в началото на втория триместър. С нарастване на гестационната възраст се наблюдава отчетливо понижение в стойностите на серумния феритин и при двете изследвани групи бременни жени - сигнификантно се понижават два пъти в групата с нормално протичаща бременност и почти три пъти в групата с проблемна бременност. С нарастване на гестационната възраст д-р Петкова-Маринова отчита повишение в стойностите на Желязо Свързващия капацитет и при двете изследвани групи бременни жени. При момичетата в юношеска възраст с ЖДА 75,0% имат общ брой RBC в рамките на предложените от СЗО (2001 г.) референтни граници за съответната възраст и пол, а при три от децата показателят е под долните референтни граници. Хемоглобиновият дефицит при момичетата в юношеска възраст с ЖДА се категоризира като: лек (Hb концентрация между 110 g/L и предложената от СЗО гранична стойност за съответната възраст и пол) – при две деца, като умерен (Hb концентрация 80-109 g/L) –

при шест и като тежък (Hb концентрация < 80 g/L) – при четири. Установява се, че относителният дял на момичетата в юношеска възраст с подпрагови стойности на хематокрита според критериите на СЗО (2001 г.) в работната група е 91,67%.

Обсъждането съдържа анализ на резултатите, добра съпоставимост с други проучвания и практически послания. Д-р Цветелина Петкова-Маринова тълкува получените данни с лекота, показвайки свободно боравене с информацията по дискутираната проблематика. Адекватното осмисляне на материята ѝ дава възможност да анализира и синтезира собствените си данни, съпоставяйки ги с обсъжданите такива в коментираните клинични проучвания. В България железният дефицит е много разпространен, като най-вече това се установява при деца и бременни жени. Желязодефицитната анемия е резултат на един относително продължителен процес на влошаване в железния статус на индивида. Д-р Петкова-Маринова, паралелно на данните от изследванията през последните години доказва водещата роля на пептидният хормон хепсидин в регулацията на желязната хомеостаза и за факторите, регулиращи хепсидиновия синтез и секреция. По-голяма част от резултатите са от експериментални проучвания. Изследванията, проведени *invivo* при хора, са предимно при пациенти с хемохроматоза (Ganzetal., 2008; Kemna, Kartikasari, etal., 2008), хемоглобинопатии (Kearneyetal., 2007; Origaelal., 2007), хронична бъбречна недостатъчност (Ganzetal., 2008) и инфекциозни или възпалителни заболявания. Представените в литературата данни не могат да бъдат отнесени към юношеската възраст, ЖДА или периода на бременността. Сравнявайки стойностите на серумните концентрации на хепсидин в юношеска възраст, д-р Петкова-Маринова установява, че момичетата с ЖДА са със значимо по-ниско серумно ниво на хепсидин спрямо контролите. Според д-р Петкова-Маринова получените данни отразяват, от една страна, повишените потребности от Fe при ЖДА, а от друга - повишения капацитет за чревна резорбция на Fe. Намалените хепсидинови нива, последвани от повишена чревната резорбция на Fe и освобождаване на Fe от макрофагите, се свързват с нарастване нивото на Fe за еритропоезата. Д-р Петкова-Маринова изказва предположението, че стойностите на серумния хепсидин в проведеното от нея проучване при бременни жени не следват динамиката на биохимичните показатели на железния метаболизъм, което може да се свърже с други хепсидин-регулирущи фактори, повлияващи статуса на Fe

през бременността. В проведеното изследване, д-р Петкова-Маринова не установява отчетливи промени в стойностите на Hb концентрация и Hct с нарастване на гестационния срок. Специфична е динамиката на Hbконцентрация и HtCв хода на бременността. в началото на първия триместър Концентрацията на Hb започва да намалява в началото на първия триместър, достига своята най-ниска стойност към края на втория триместър и започва отново да нараства през третия триместър.

Достойнство на дисертационния труд са алгоритмите на поведение при момичета в юношеска възраст, както и при бременни - алгоритъм за диагноза и поведение при деца в юношеска възраст с ЖДА и алгоритъм за мониториране на желязния метаболизъм и селеновия статус при бременни жени с проблемна бременност, предшествана от репродуктивни неудачи или асоциирана с хронични възпалителни заболявания, в т. ч. автоимунни. Чрез алгоритмите, д-р Петкова-Маринова, на базата на представените данни и задълбоченото познаване на научния проблем в литературен аспект, отправя послания за здравословна жизнена среда.

Приносите на дисертационния труд са оформени в две групи: приноси с оригинален характер, свързани с участието на хепсидина в контрола на желязния метаболизъм, като повишените серумни концентрации на хепсидин се свързват с понижени нива на Hb концентрация и Hct при жените с проблемна бременност в началото на третия триместър и оформянето на алгоритми на клинично поведение при ЖДА юношеска възраст и при бременни с проблемна бременност; и приноси потвърдителен характер.

Докторантът д-р Цветелина Петкова-Маринова представя свързани с дисертационния труд две публикации в пълен текст в международни списания с импакт фактор и две публикации в български научни списания с импакт фактор (IF) в Web of Science и/или с импакт ранг (SJR) в Scopus, както и 4 участия в международни и национални форуми (съответно 1 и 3). Д-р Петкова-Маринова участва в два вътреуниверситетски научни проекта, свързани с дисертационния труд

Заключение: Дисертационният труд на д-р Цветелина Валентинова Петкова-Маринова, редовен докторант към катедра Физиология и патофизиология при Медицински факултет на Медицински университет – Плевен, „Проучване участието на хепсидин, мед и селен в поддържане на

желязната хомеостаза при момичета в юношеска възраст и бременни жени“ е напълно завършен, методологично издържан, с научно-клинично приложение е и отговаря на изискванията за заемане на научната и образователна степен “ доктор”.

Съвкупността от актуални дискутабилни проблеми, коректните методи на изследване, залегнали в планираната научна разработка, както и формулираните изводи – оригинални, с научно-приложен характер и със социално значимо звучене са предпоставка да препоръчам убедено на уважаемото Научно жури да гласува положително за присъждане на д-р Цветелина Валентинова Петкова-Маринова Образователната и Научна Степен „Доктор“ в докторска програма по Физиология на животните и човека.

23.11.2021 г.

Гр. Пловдив

(проф.д-р Юлия Г.Николова, дм катедра Физиология, Медицински факултет, Медицински университет – Пловдив)