

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - ВАРНА
"Проф. д-р Параскев Стоянов"

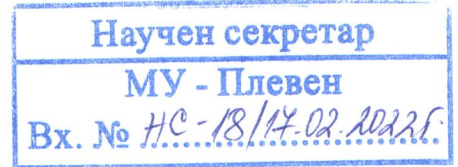
Ул. "Марин Дринов" 55, Варна 9002, България
Тел. : 052/65 00 57, Факс: 052/65 00 19
e-mail: uni@mu-varna.bg, www.mu-varna.bg



MEDICAL UNIVERSITY - VARNA
"Prof. Dr. Paraskev Stoianov"

55, Marin Drinov Str., 9002 Varna, Bulgaria
Tel. : + 359 52/ 65 00 57, Fax: + 359 52/ 65 00 19
e-mail: uni@mu-varna.bg, www.mu-varna.bg

СТАНОВИЩЕ



От Проф. д-р Емил Георгиев Ковачев, д.м.н.

Управител СБАГАЛ - Варна

Ръководител Катедра Акушерство и гинекология при МУ - Варна

Относно дисертационен труд за присъждане на научно-образователна степен „Доктор“ , научна специалност Акушерство и гинекология (03.01.45), Катедра Акушерство и гинекология, Медицински университет – Плевен.

Тема на дисертационния труд: **„Промени в нивата на циркулиращите биомаркери и ехографски критерии при хипертензивни състояния по време на бременност“**

Автор на дисертационния труд – **Д-р Никола Калинов Поповски**

Научни ръководители: Доц. д-р Йордан Попов, д.м. и доц. д-р Аспарух Николов, д.м.

Представеният за защита дисертационен труд съдържа общо 136 стандартни страници и е онагледен с 9 таблици и 23 фигури.

Библиографската справка съдържа 334 литературни източници, от които 14 на кирилица и 320 на латиница.

Актуалност на проблема

В своята разработка д-р Тодоров засяга съвременен проблем с важно медико-социално значение. Хипертензивните състояния на бременността (ХСБ) са най-често срещаните медицински усложнения, засягащи 5-10% от бременностите в глобален мащаб. Тяхното ранно откриване е важно за изясняване на риска и



предотвратяването на по-нататъшните компликации. Преeklampсията е основна причина за майчина и перинатална заболеваемост и смъртност и е едно от най-често срещаните хипертензивни нарушения на бременността. Над 2/3 от хипертензивните усложнения на бременността се класифицират като преeklampсия. Разбирането на ролята на MMPs, TIMPs и подокаликсин в утеро-плацентарното и съдовото ремоделиране и функция при ПЕ може да допринесе за изясняване патогенезата на ПЕ. Предвид високата перинатална майчина и детска заболеваемост и смъртност и рисковете за плода и бременната, са необходими и по-детайлни проучвания върху тези маркери за подобряване на диагнозата и прогнозата на жените с висок риск за развитие на преeklampсия.

Прегледът на литературния обзор ясно показва, че дисертантът е проучил задълбочено разнообразни съвременни литературни източници. Обзорът притежава добра познавателна стойност.

Целта на проучването е да се проучване ролята в патогенезата на преeklampсията на серумни матриксни металопротеинази, тъканни инхибитори на матриксни металопротеинази, подокаликсин и майчини ехографски параметри, както и оценка възможностите за диагноза и прогноза на заболяването посредством изследването на тези индикатори.

Задачите на дисертационния труд са ясно формулирани и са 8 на брой:

1. Определяне на среден пулсативен индекс на утеринна и на умбиликална артерия при преeklampсия и нормална бременност.
2. Определяне на среден пулсативен индекс на утеринна и на умбиликална артерия според времето на манифестацията на преeklampсията.



3. Определяне на среден пулсативен индекс на утеринна и на умбиликална артерия според тежестта на преекламписята.
4. Изследване на майчините ехокардиографски параметри при прееклампися.
5. Определяне на серумните нива на колагеназите MMP-8, -13 при прееклампися.
6. Определяне на серумните нива на желатиназите MMP-2, -9 при прееклампися.
7. Изследване на серумните нива на TIMP-1, -2 при прееклампися .
8. Проучване ролята на серумният подокалисин в патогенезата на преекламписята и определяне възможностите му като маркер за ранна диагноза и прогноза на прееклампися.

Материал и методи

Проведено е проспективно проучване на 90 бременни пациентки в УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен за периода от Юли 2020 до Август 2021 г. Данните са събирани по време на рутинни прегледи и хоспитализирани пациентки, дали информирано съгласие за включване в проучването. На всяка пациентка е взет серум се изследване. За изпълнение на поставените задачи д-р Поповски е използвал следните методи:

- Клинични методи-анамнеза и физикален статус;
- Документален и социологически;
- Лабораторни и имунологични изследвания;
- Неинвазивни методи (доплерови) за изследване на сърцето, съдовете и бременност;
- Приложени са разнородни статистически методи.



Собствени резултати и обсъждане

Проучването обхваща 90 бременни жени, разделени в две групи – 55 пациентки с прееклампсия и контролна група от 35 здрави жени с нормално протичане на бременността. Анализирайки получените данни дисертантът представя коректно своите резултати.

Определени са среден пулсативен индекс на утеринна и на умбиликална артерия посредством Доплер при прееклампсия и нормална бременност. Средният пулсативен индекс на артерия утерина и средният пулсативен индекс на артерия умбиликалис са сигнификантно по-високи при прееклампсия спрямо нормална бременност. При ранна прееклампсия в 71.43% от случаите се открива висок среден пулсативен индекс на утеринна артерия, докато 28.57% са с нормален индекс. Тези резултати потвърждават нарушената трофобластна инвазия в спиралните артерии при ранна прееклампсия. При късна прееклампсия в 85.37% от случаите се открива висок среден пулсативен индекс на умбиликална артерия, докато 14.63% са с нормален индекс, показвайки значимо нарушение на фетоплацентарната циркулация при късна прееклампсия. При тежка прееклампсия в 84.62% от случаите се открива висок среден пулсативен индекс на утеринна артерия, докато 15.38% са с нормален индекс. Тези резултати предполагат, че с увеличаване на тежестта на ПЕ се наблюдава нарушаване на утероплацентарната циркулация водеща до плацентарна исхемия, намалено маточно перфузионно налягане, абнормално съдово и маточно ремоделиране.

Посредством трансторакална ехокардиография са оценени хемодинамичните промени при прееклампсия. Визуализират се следните патологични находки, като диастолна дисфункция, повишен левокамерен краен диастоличен диаметър,



повишен левокамерен краен систоличен диаметър, увеличена дебелина на междукамерният септум и дебелина на задната стена на лявата камера. Въпреки че, стойностите на тези параметри попадат в референтните граници, изброените ехокардиографски показатели са сигнификантно по-високи при преeklampсия, спрямо жени с нормална бременност.

Серумните нива на Подокаликсин при пациентки с преeklampсия са сигнификантно завишени спрямо жени с нормална бременност. Дефинирана е прагова стойност от 3ng/ml за серумен подокаликсин, която разграничава преeklampсия от нормална бременност. Конструираният логистичен регресионен модел показва, че завишените серумни подокаликсинови нива индицират 3 пъти по-висока вероятност за развитие на преeklampсия, спрямо здрави бременни жени без повишени нива. Връзките между Доплеровите ултразвукови показатели- среден пулсативен индекс на утеринна и умбиликална артерия и подокаликсин разкриват васкуларни промени свързани с патологично ремоделиране на тези артерии при преeklampсия.

Оценка на изводи и приноси

В своята разработка д-р Поповски, формулира 8 извода и 10 приноса, като разделя приносите си в две категории: приноси с оригинален характер и приноси с потвърдителен характер. Особено важно е да се акцентуират приносите с оригинален характер, а именно:

1. Анализирано е честотното разпределение на средният пулсативен индекс на утеринна и на умбиликална артерия според времето на манифестацията на преeklampсията и според тежестта ѝ.



2. Извършено е проучване на подокаликсина при пациентки с прееклампсия. За първи път е дефинирана прагова стойност от 3ng/ml за серумен подокаликсин, която разграничава прееклампсия от нормална бременност. Конструиран е логистичен регресионен модел показващ, че завишените серумни подокаликсинови нива индицират 3 пъти по-висока вероятност за развитие на прееклампсия, спрямо здрави бременни жени без повишени нива. Базирайки се на тези резултати, настоящето проучване дава основания да се счита, че серумният подокаликсин може да бъде използван като индикатор за диагноза и прогноза на прееклампсия.

3. За първи път е открито, че промените в подокаликсиновите нива играят определена роля в процеса на повишаване на артериалното налягане по време на бременност, като по този начин са свързани с патогенезата на прееклампсията. За това свидетелства намерена корелация на Подокаликсин със систоличното и диастоличното артериално налягане.

4. За първи път е показано взаимодействие между РСХ и специфични сърдечни структури, основаващо се на откритата корелация между майчините ехокардиографски параметри дебелина на междукламерният септум и дебелина на задната стена на лявата камера и подокаликсин. Намерена е и връзка между Доплеровите ултразвукови показатели среден пулсативен индекс на утеринна и умбиликална артерия и подокаликсин, която отразява съдови изменения асоциирани с развитието на абнормалното ремоделиране на тези артерии при прееклампсия.

5. За първи път в България са определени серумните нива на желатиназите MMP-2, -9; колагеназите MMP-8, -13 и тъканните им инхибитори: TIMP-1, -2 при прееклампсия.



6. За първи път е установена взаимовръзка между промените в серумните нива ММР-2 и средният пулсативен индекс на артерия утерина. Констатирано е отношение на ММР-2 към патологично повишената васкуларна резистентност при прееклампсия, съдовото ремоделиране, развитието и прогресията на прееклампсията, като горе-споменатата металопроотеиназа играе важна роля в патогенетичните механизми за развитието на това хипертензивно състояние на бременността.

7. За първи път е изследвана ММР-8 при прееклампсия. Извършеният анализ разкрива, че нивата на серумна ММР-8 не показват статистически значима разлика при прееклампсия спрямо нормална бременност. Установено е, че ММР-8 не участва директно в патогенезата на прееклампсията.

Критични бележки и съвети

Д-р Поповски не се е съобразил с всички предварително направени критични бележки. Библиографската му справка е хаотична и не са коректно отбелязани някои български разработки и дисертационни трудове в тази насока.

Учебно-преподавателска дейност

Д-р Поповски е роден през 1988г. в гр. Плевен. Завършва „Медицина“ през 2013г. в Медицински университет – Плевен, а през 2018г. придобива специалност по „Акушерство и гинекология“. От 2014г. До момента работи лекар АГ в УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ ЕАД гр. Плевен и като асистент в Катедрата по Акушерство и гинекология към МУ – Плевен. Има проведени множество курсове в областта на пренаталната диагностика и ендоскопската гинекологична хирургия.



Заклучение

Представеният дисертационен труд на д-р Поповски „Промени в нивата на циркулиращите биомаркери и ехографски критерии при хипертензивни състояния по време на бременност“ е актуален и отговаря на общоприетите критерии. Позволявам си да препоръчам на уважаемите членове на Научното жури да гласуват положително за присъждане на научна и образователна степен „Доктор“ по научна специалност „Акушерство и гинекология“ на д-р Никола Поповски, според Правилника за развитие на академичния състав в Медицински университет – Плевен.

Дата: 16.02.2022г.

Проф. д-р Е. Ковачев, д.м.н.

OPINION

By Prof. PhD Emil Georgiev Kovachev, MD

Head of the Specialized Hospital of Obstetrics and Gynecology- Varna
Head of Obstetrics and Gynecology Department at the Medical University of
Varna

Regarding the dissertation work for the award of educational and scientific degree - DOCTORAL DEGREE, scientific speciality - Obstetrics and Gynecology (03.01.45), Department of Obstetrics and Gynecology at the Medical University of Pleven.

Subject of the dissertation: “Changes in levels of circulating biomarkers and echographic criteria in hypertensive conditions during pregnancy“

Author of the dissertation-**Dr. Nikola Kalinov Popovski**

Ph.D advisors: Assoc. Prof. PhD Yordan Popov, MD, and Assoc. Prof. PhD Asparuh Nikolov, MD.

The dissertation presented for defence contains a total of 136 standard pages and is illustrated by 9 tables and 23 figures.

The bibliographic data contains 334 literature sources, of which 16 in Cyrillic and 320 in Latin characters.

SIGNIFICANCE OF THE PROBLEM

In his work, Dr. Popovski addressed a modern problem with high medical and social importance. The hypertensive disorders of pregnancy (HDP) are the most common medical complications affecting 5-10% of the pregnancies on global basis. Their early detection is important for risk clarification and prevention of further compliance. Preeclampsia is the primary cause of maternal and perinatal

morbidity and mortality and is one of the most common hypertensive pregnancy disorders. Over 2/3 of the pregnancy hypertensive complications are classified as preeclampsia. Understanding the role of MMPs, TIMPs and podocalyxin and uterine-placental and vascular remodelling and function of PE can contribute to the understanding of the pathogenesis of PE. Given the high perinatal and infant morbidity and mortality and the risks to the foetus and pregnant women, more detailed studies on these markers are necessary to improve the diagnosis and prognosis of women at high risk of developing preeclampsia.

The assessment of the literature review clearly shows that the doctoral candidate has studied in depth a variety of contemporary literature sources. The review has a good knowledge value.

The subject of the study is to research the role of serum matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, podocalyxin and mother echographic parameters in the pathogenesis of the preeclampsia, as well as the diagnosis and prognosis of the disease by examining these indicators.

The tasks of the dissertation are clearly defined and are 8 in total:

1. Determination of the mean pulsatility index of the uterine and umbilical artery in preeclampsia and in normal pregnancy.
2. Determination of the mean pulsatility index of the uterine and umbilical artery over the duration of the manifestations of preeclampsia.
3. Determination of the mean pulsatility index of the uterine and umbilical artery according to the severity of the preeclampsia.
4. Examination of maternal echocardiography parameters in preeclampsia.
5. Determination of serum levels of collagenase MMP-8, -13 in preeclampsia.

6. Determination of serum levels of gelatinases MMP-2, -9 in preeclampsia.
7. Determination of serum levels of TIMP-1, -2 in preeclampsia.
8. A study on the role of serum podocalyxin in the pathogenesis of preeclampsia and its ability as a marker of early diagnosis and prediction of preeclampsia.

MATERIALS AND METHODS

A prospective study of 90 pregnant patients in Dr. Georgi Stranski University Hospital for Active Treatment-Pleven is conducted from July 2020 to August 2021. Evidences are collected during routine examinations and hospitalized patients who have provided their informed consent for inclusion in the study. Each patient has been sampled for serum testing.

To fulfil the tasks assigned, Dr. Popovski used the following methods:

- Clinical method- medical history and physical status;
- Documentary and sociological method;
- Laboratory and immunological lab tests;
- Non-invasive methods (Doppler) of examination of the heart, the vascular system and the pregnancy;
- Various statistical methods have been applied.

OWN RESULTS AND DISCUSSION

The study included 90 pregnant women, divided into two groups, 55 preeclampsia patients and a control group of 35 healthy women with normal pregnancy. By analysing the data received, the doctoral candidate correctly presents the results.

Determination of the mean pulsatility index of the uterine and umbilical artery using Doppler, in preeclampsia and in normal pregnancy. The mean pulsatility

index of uterine artery and the mean pulsatility index of umbilical artery were significantly higher in preeclampsia versus normal pregnancy. In early preeclampsia high mean pulsatility index of the uterine artery was detected in 71.43% of cases, while 28.57% of the cases had a normal index. These results confirm disrupted trophoblast invasion of spiral arteries in early preeclampsia. In late preeclampsia a high mean pulsatility index of the umbilical artery was detected in 85.37% of cases, while 14.63% had a normal index indicating significant fetus - placental circulation disturbance in late preeclampsia. In severe preeclampsia high mean pulsatility index of the uterine artery was detected in 84.62% of cases, while 15.38% of the cases had a normal index. These results suggest that as the severity of PE increases, disruption of uteroplacental circulation leading to placental ischemia, decreased uterine perfusion pressure abnormal EMC vascular and uterine remodelling were observed.

Hemodynamic changes in preeclampsia have been assessed by transthoracic echocardiography. The following pathological findings are visualized, such as diastolic dysfunction, left ventricular end-diameter increased, increased left ventricular end diastolic diameter, increased ventricular septum thickness and left ventricular rear wall thickness. Although these parameters fall within the reference limits, the examined echocardiographic parameters are significantly higher in preeclampsia cases compared to these in women with normal pregnancy.

Conducted studies have shown that serum levels of podocalyxin in patients with preeclampsia were statistically significantly higher compared to the levels in women with normal pregnancies. A threshold value of 3ng/ml for serum podocalyxin was defined, which distinguishes preeclampsia from normal pregnancy. The developed logistic regression model showed that elevated serum podocalyxin levels indicate a 3-fold higher likelihood of preeclampsia

compared to healthy pregnant women without elevated levels. The relationships between Doppler ultrasound indicators- mean pulsatility index of the uterine and umbilical artery and podocalyxin revealed vascular changes associated with pathological remodelling of these arteries in preeclampsia.

ASSESSMENT OF LESSONS AND CONTRIBUTIONS

In his dissertation Dr. Popovski formulated 8 conclusions and 10 contributions, dividing his contributions into two categories: Contributions of an original nature and verifiable contributions. It is particularly important to emphasize the original contributions, namely:

1. The frequency distribution of the mean pulsatility index of the uterine and umbilical artery over the duration of the manifestations of preeclampsia and according to its severity has been analysed.
2. A study of the podocalyxin in patients with preeclampsia has been conducted. For a first time a threshold value of 3ng/ml for serum podocalyxin was defined, which distinguishes preeclampsia from normal pregnancy. The developed logistic regression model showed that elevated serum podocalyxin levels indicate a 3-fold higher likelihood of preeclampsia compared to healthy pregnant women without elevated levels. Based on these results, this study provides grounds for considering that serum podocalyxin may be used as an indication of diagnosis and prediction of preeclampsia.
3. For the first time, changes in podocalyxin levels have been found to play a role in the blood pressure increase during pregnancy, thus related to the pathogenesis of preeclampsia. The correlation between podocalyxin and the systolic and diastolic blood pressure is the evidence for that.
4. For the first time, an interaction between PCX and specific cardiac structures is indicated, based on the discovered correlation between maternal echocardiographic parameters, the intraventricular septum thickness and the

posterior wall thickness of the left ventricle and the podocalyxin. The relation between Doppler ultrasound indicators mean pulsatility index of the uterine and umbilical artery and podocalyxin revealed vascular changes associated with pathological remodelling of these arteries in preeclampsia.

5. For the first time in Bulgaria, serum levels of gelatinases MMP-2, -9, collagenases MMP-8, -13 and tissue inhibitors are determined: TIMP-1, -2 in preeclampsia.

6. A correlation between changes in serum levels MMP-2 and mean pulsatility index of the uterine artery was found for a first time. It has been established that MMP-2 is related to pathologically elevated vascular resistance in preeclampsia, vascular remodelling, development and progression of preeclampsia, with the above mentioned metalloproteinases playing an important role in the pathogenetic mechanisms for the development of this hypertensive state of pregnancy.

7. MMP-8 in preeclampsia was examined for a first time . The analysis performed have shown that serum levels of MMP-8 do not show a statistically significant difference in preeclampsia compared to normal pregnancy. MMP-8 has been found not to be directly involved in the pathogenesis of preeclampsia.

CRITICAL COMMENTS AND RECOMMENDATIONS:

Dr. Popovski has not taken into account all the critical comments made in advance. His bibliographic references are chaotic and some Bulgarian works and dissertations are not correctly recorded in this regard.

EDUCATION AND LECTURE ACTIVITIES

Dr. Popovski was born in 1988 in Pleven. He completed his degree in Medicine in 2013 at the Medical University of Pleven and in 2018 he acquired specialty in

Obstetrics and Gynecology. Since 2014 until now he is working as a physician at the Dr. Georgi Stranski University Hospital for Active Treatment EAD in Pleven and as an assistant professor at the Obstetrics and Gynecology Department of the Medical University in Pleven. He has attended a number of training courses in the field of prenatal diagnosis and endoscopic gynaecological surgery.

CONCLUSION

The presented dissertation "Changes in levels of circulating biomarkers and echographic criteria in hypertensive conditions during pregnancy" by Dr. Popovski is of immediate and topical character and complies with the general criteria. I would like to recommend to the honourable members of the Scientific Board to vote positively and in favour for the award of educational and scientific degree -DOCTORAL DEGREE - to Dr. Nikola Popovski, scientific specialty Obstetrics and Gynecology, in accordance with the Rules of the academic staff development at Medical University of Pleven.

Date: 16.02.2022

Prof. PhD E. Kovachev, MD: signature

