

**СТАНОВИЩЕ**

**от Проф. Д-р Славчо Томов Томов, д.м.н.**

**Председател на Общото събрание на Медицински Университет – Плевен, Член на Научно жури, определено със заповед на Ректора на Медицински Университет - Плевен №3379/21.12.2021 на основание на Решение на АС (Протокол № 7 от 20.12.2021 г.)**

**Относно: дисертационен труд на тема „Промени в нивата на циркулиращите биомаркери и ехографски критерии при хипертензивни състояния по време на бременност”**

**За присъждане образователна и научна степен “ДОКТОР”**

**Област на висше образование: 7. Медицина и спорт, професионално направление 7.1 Медицина, научна специалност „Акушерство и гинекология”**

**на Д-р Никола Калинов Поповски**

**Катедра „Акушерство и гинекология”, Факултет „Медицина”, Медицински Университет - Плевен**

**Научен ръководител: Доц. Д-р Йордан Попов д.м.**

**Научен ръководител: Доц. Д-р Аспарух Николов д.м.**

Дисертационният труд на Д-р Никола Калинов Поповски обхваща актуален и социално-значим здравословен проблем, което се подкрепя от следните основания:

1. Хипертензивните състояния на бременността (ХСБ) са най-често срещаните медицински усложнения, засягащи 5-10% от бременностите в глобален мащаб. Преeklampсията (ПЕ) усложнява около 2-8% от бременностите по целия свят.

2. ПЕ е основна причина за майчина и перинатална заболеваемост и смъртност. Над 2/3 от хипертензивните усложнения на бременността се класифицират като ПЕ.
3. ПЕ е най-честото усложнение на бременността и е сред основните причини за майчина смъртност в България.
4. Все повече данни съществуват за участието на биомаркерите от групата на матриксните металопротеинази и техните инхибитори в патофизиологията на прееклампсията.

От направения литературен обзор става ясно, че Д-р Поповски задълбочено се е запознал с научната литература по темата, като в края на обзора стига до следните обобщения:

1. Въпреки че, прееклампсията е едно от най-често срещаните хипертензивни нарушения на бременността, тя все още не е напълно проучена. Ранното ѝ откриване е критично важно за стратификацията на риска и за поведението.
2. Екстрацелуларният матрикс играе много важна роля в патофизиологията на прееклампсията посредством матриксните металопротеинази (MMPs) и техните тъканни инхибитори (TIMPs). Все повече литературни данни са налице относно участието на MMPs и TIMPs в патогенетичните механизми на прееклампсията. Налице е необходимост от задълбочено изследване на ролята на MMPs и TIMPs в патогенезата на прееклампсията и оценка на възможностите за диагноза и прогноза на заболяването посредством изследването на тези индикатори. Необходими са и по-детайлни проучвания върху ролята на серумният подокаликсин в патогенезата на ПЕ.
3. За да се намалят случаите с ПЕ е важно да бъдат идентифицирани жените с висок риск. Необходими са по-детайлни изследвания на биомаркерите на ЕЦМ и ехографските показатели при ПЕ. Използването на подходящи индикатори би позволило ранно детектиране на ПЕ и прилагане на своевременна терапия.

Тези изводи аргументиран основната цел и задачите на проучването на д-р Поповск

## Структура на дисертационния труд

Настоящият дисертационен труд е в обем 138 страници, разпределени както следва: Въведение - 2 стр., Обзор – 56 стр., Цел и Задачи - 1 стр., Материал и Методи - 12 стр., Собствени резултати - 17 стр., Обсъждане - 14 стр., Изводи - 2 стр., Приноси - 2 стр., Библиография - 24 стр. Научния труд е онагледен с 9 таблици и 23 фигури. Използвани са 334 литературни източника, от които 15 на кирилица. Дисертационният труд е правилно структуриран. Целта и задачите са ясно формулирани, което е предпоставка за качествена работа и получаване на адекватни резултати. За изследване на сърцето, съдовете и бременността са използвани съвременни неинвазивни методи, с акцент върху ехокардиографията и трансабдоминалната ехография за определяне на Доплеров PI на умбиликална и утеринна артерия. Актуални са лабораторните и имунологичните методи за оценка на промените в серумните нива на MMP-2,-9,-8,-13, TIMP-1, -2 и Подокаликсин при преeklampсия.

Изследвани са 55 пациентки с преeklampсия и контролна група от 35 здрави жени с нормална бременност от Клиника по „Акушерство и Гинекология“, УМБАЛ „Д-р Г.Странски“- Плевен, Катедра „Акушерство и гинекология“- Медицински Университет, Плевен през периода от Юли 2020 до Август 2021г. Анализирани са следните показатели:

1. Среден пулсативен индекс на утеринна и на умбиликална артерия при преeklampсия и нормална бременност
2. Среден пулсативен индекс на утеринна и на умбиликална артерия според времето на манифестацията на преeklampсията
3. Среден пулсативен индекс на утеринна и на умбиликална артерия според тежестта на преeklampсията
4. Майчини ехокардиографски параметри при преeklampсия
5. Серумни нива на колагеназите MMP-8, -13 при преeklampсия
6. Серумни нива на желатиназите MMP-2, -9 при преeklampсия
7. Серумни нива на TIMP-1, -2 при преeklampсия
8. Роля на серумният подокаликсин в патогенезата на преeklampсията и определяне възможностите му като маркер за ранна диагноза и прогноза на преeklampсия

Направена е съвременна статистическа обработка на резултатите чрез софтуерни статистически пакети STATGRAPHICS и SPSS.

### **Оценка на резултатите и дискусията**

1. Средният пулсативен индекс на артерия утерина и средният пулсативен индекс на артерия умбиликалис са сигнификантно по-високи при прееклампися спрямо нормална бременност.
2. При ранна прееклампися в 71,43% от случаите се открива висок среден пулсативен индекс на утеринната артерия, а в 28,57% - нормален индекс. Тези резултати потвърждават нарушената трофобластна инвазия в спиралните артерии при ранна прееклампися. При късна прееклампися 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 прееклампися.
3. При тежка прееклампися в 84,62% от случаите се открива висок среден пулсативен индекс на утеринна артерия, докато при 15,38% - индексът е нормален. 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 ЕЦМ съдово и маточно ремоделиране. При лека прееклампися в 6,9% от случаите се открива висок среден пулсативен индекс на умбиликална артерия, докато 93,1% са с нормален индекс. Определянето на UmA PI намалява перинаталната заболяемост и смъртност във високорисковите акушерски ситуации.
4. Посредством трансторакална ехокардиография са оценени хемодинамичните промени при прееклампися. Намерени са: диастолна дисфункция, повишени левокамерен краен диастоличен диаметър, левокамерен краен систоличен диаметър, 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 прееклампися спрямо жени с нормална бременност.

5. Серумните нива на MMP-8, -13 не показват статистически значима разлика при прееклампсия спрямо нормална бременност.

6. MMP-9 нивата при жени с нормална бременност са по-високи спрямо пациентки с прееклампсия, като тези стойности не са значими. Серумните нива на MMP-2 при пациентки с прееклампсия са статистически значимо по-високи в сравнение с жени с нормална бременност. Намерена е връзка и между промените в серумните нива MMP-2 и средният пулсативен индекс на артерия утерина. MMP-2 има отношение към патогенетичните механизми в развитието на прееклампсията.

7. Серумните нива на TIMP-1, -2 не се различават сигнификантно при прееклампсия спрямо нормална бременност.

8. Серумните нива на Подокаликсин при пациентки с прееклампсия са сигнификантно завишени спрямо жени с нормална бременност. Дефинирана е 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. РСХ участва в патофизиологията на хипертонията по време на бременността и развитието на прееклампсия. 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 прееклампсия.

Изводите, направени в края на дисертационния труд, следват логически резултатите от поставените задачи.

Д-р Поповски участва в два научни проекта на Медицински Университет - Плевен. По темата на дисертацията Д-р Поповски има 6 научни публикации - 4 в български списания, една от които с импакт ранг и 2 - в чужди списания, една от които с импакт фактор. Посочени са и 4 участия в конгреси (3 в България и 1- в чужбина).

#### **Заклучение:**

*Комплексната оценка на така представения дисертационен труд ми дава основание да препоръчам на Уважаемото Научното Жури да присъди*

*образователната и научна степен „доктор” в професионално направление „медицина” по научна специалност „Акушерство и гинекология” на Д-р Никола Калинов Поповски.*

*Дата: 03.02.2022 г.*

*Подпис:*



*(Проф. Д-р Славчо Томов, дмн)*

## OPINION

By Prof. PhD Slavcho Tomov, MD

Chair of the General Assembly of Medical University - Pleven, Member of the Scientific Jury appointed through Order № 3379/21.12.2021 of the Rector of Medical University - Pleven, on the grounds of the decision of the Academic Board  
(Protocol № 7 of 20.12.2021)

Regarding: Dissertation work on subject "Changes in levels of circulating biomarkers and echographic criteria in hypertensive conditions during pregnancy"

For the award of educational and scientific degree - DOCTORAL DEGREE  
Field of higher education: 7. Medicine and sport, occupational branch 7.1 Medicine, scientific specialty Obstetrics and Gynecology of Dr. Nikola Kalinov Popovski

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Medical University - Pleven

Ph.D Advisor: Assoc. Prof. PhD Yordan Popov, MD.

Ph.D Advisor: Assoc. Prof. PhD Asparuh Nikolov, MD

The dissertation of Dr. Nikola Kalinov Popovski covers an up-to-date and socio-significant health problem, which is supported by the following grounds:

1. The hypertensive disorders of pregnancy (HDP) are the most common medical complications affecting 5-10% of the pregnancies on global basis. Preeclampsia (PE) complicates around 2-8% of pregnancies around the world.
2. PE is a major cause of maternal and perinatal morbidity and mortality. Over 2/3 of the pregnancy hypertensive complications are classified as PE.
3. PE is the most common complication of pregnancy and is among the main

causes of maternal mortality in Bulgaria.

4. There are increasing data on the involvement of biomarkers from the matrix metalloproteinase group and their inhibitors in the pathophysiology of preeclampsia.

From the literature review, it is clear that Dr. Popovski has been thoroughly acquainted with the scientific literature on the subject, with the following summaries at the end of the research work:

1. Although preeclampsia is one of the most common hypertensive pregnancy disorders, it has not yet been fully studied. Early detection of preeclampsia is critical for risk stratification and behaviour.
2. The extracellular matrix plays a very important role in the pathophysiology of preeclampsia by matrix metalloproteinase (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs). There is an increasing number of literature data on the participation of MMPs and TIMPs in the pathogenic mechanisms of preeclampsia. There is a need for a thorough study of the role of MMPs and TIMPs in the pathogenesis of preeclampsia and for evaluation of disease diagnosis and prognosis by examining these indicators. More detailed studies on the role of serum Podocalyxin in the pathogenesis of PE are also needed.
3. In order to reduce PE cases, it is important to identify high-risk women. More detailed studies of the ECM biomarkers and the ultrasound indicators of preeclampsia are required. The use of appropriate indicators would allow early detection of PE and prompt therapy.

These conclusions provide arguments on the main objective and tasks of the research of Dr. Popovski.

### **Structure of the dissertation**

The dissertation contains 138 pages, distributed as follows: Introduction - 2 pages, Synopsis - 56 pages, Objective and tasks - 1 pages, Material and methods - 12 pages, Own results - 17 pages, Discussion - 14 pages, Conclusions - 2



pages, Contributions - 2 pages, Bibliography - 24 pages. The scientific work is illustrated by 9 tables and 23 figures. 334 literature sources were used, of which 15 in Cyrillic. The dissertation work is well structured. The objective and tasks are clearly defined, which is a prerequisite for quality work and for adequate results. Modern non-invasive methods, focusing on echocardiography and transabdominal ultrasound, have been used to investigate the heart, vascular and pregnancy to determine the Doppler PI of the umbilical and uterine artery. The laboratory and immunological methods to evaluate changes in serum levels of MMP-2,-9,-8,-13, TIMP-1, -2 and Podocalyxin during preeclampsia are relevant.

55 patients with preeclampsia and control group of 35 healthy women with normal pregnancy from the Clinic of Obstetrics and Gynaecology, Dr.Georgi Stranski University Hospital in Pleven, Department of Obstetrics and Gynaecology, Medical University of Pleven between July 2020 and August 2021/20 are studied. The following indicators are analysed:

1. Mean pulsatility index of the uterine and umbilical artery in preeclampsia and in normal pregnancy.
2. Mean pulsatility index of the uterine and umbilical artery over the duration of the manifestations of preeclampsia.
3. Mean pulsatility index of the uterine and umbilical artery according to the severity of the preeclampsia.
4. Mother echocardiographic parameters in preeclampsia.
5. Serum levels of collagenase MMP-8, -13 in preeclampsia.
6. Serum levels of gelatinases MMP-2, -9 in preeclampsia.
7. Serum levels of TIMP-1, -2 in preeclampsia.
8. The role of serum Podocalyxin in the pathogenesis of preeclampsia and determining its ability as a marker for the purposes of early diagnosis and prediction of preeclampsia.

A modern statistical processing of the results has been performed using the STATGRAPHICS and SPSS statistical software packages.

### **Evaluation of results and discussion**

1. The mean pulsatility index of uterine artery and the mean pulsatility index of

umbilical artery were significantly higher in preeclampsia versus normal pregnancy.

2. 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 foetus - placental circulation disturbance in late preeclampsia.

3. 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, and abnormal EMC vascular and uterine remodelling are observed. In mild preeclampsia cases the high mean pulsatility index of the umbilical artery was detected in 6.9% of cases, while 93.1% normal index. The determination of Uma PI reduces perinatal morbidity and mortality in high-risk obstetric situations.

4. Hemodynamic changes in preeclampsia have been assessed by transthoracic echocardiography. The following are found: diastolic blood dysfunction, increased left ventricular end diastolic diameter, left ventricular end systolic diameter, ventricular septum thickness and left ventricular rear wall thickness. Although these parameters fall within the reference limits, the examined echocardiographic parameters were significantly higher in preeclampsia compared to these in women with normal pregnancy.

5. Serum levels of MPM-8, -13 did not show a statistically significant difference in preeclampsia over normal pregnancy.

6. MMP-9 levels in women with normal pregnancy were higher than the levels in patients with preeclampsia, and these values were not significant. Conducted studies showed that serum levels of MMP-2 in patients with preeclampsia were statistically significantly higher compared to the levels in women with normal pregnancy. A correlation between changes in serum levels MMP-2 and mean pulsatility index of the uterine artery was also found. MMP-2 has a relevance to

pathogenic mechanisms in the development of preeclampsia.

7. Serum levels of MPM-8, -2 did not show a statistically significant difference in preeclampsia over normal pregnancy.

8. Conducted studies showed 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. PCX is involved in the pathophysiology of hypertension during pregnancy and the development of preeclampsia. 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.

Conclusions drawn at the end of the dissertation follow logically the results of the tasks assigned.

Dr. Popovski has participated in two scientific projects of Medical University - Pleven. On the subject of the dissertation, Dr. Popovski has made 6 scientific publications - 4 in Bulgarian magazines, one of them with an impact rank and 2 in foreign magazines, one of which with an impact factor. He has also participated in 4 congresses events (3 in Bulgaria and 1- abroad).

### **Conclusion**

**The complex evaluation of the dissertation thus presented gives me reason to recommend to the honourable Scientific Jury to award to Dr. Nikola Kalinov Popovski DOCTORAL DEGREE as educational and scientific degree in the field of Medicine, scientific specialty Obstetrics and Gynecology.**

**Date: 03.02.2022**

**Signature:**

**Prof. PhD Slavcho Tomov, MD**

