

doi: 10.3897/bgcardio.28.e81214

## СЪВРЕМЕННИ НЕИНВАЗИВНИ МЕТОДИ ЗА ДИАГНОЗА НА РАННА СЪРДЕЧНА ДИСФУНКЦИЯ ПРИ МЛАДИ ПАЦИЕНТИ С БЕТА-ТАЛАСЕМИЯ МАЙОР

*К. Ганева, П. Шивачев*

*Първа детска клиника, УМБАЛ „Св. Марина” – Варна, Медицински университет – Варна*

## CONTEMPORARY NON-INVASIVE METHODS FOR THE DIAGNOSIS OF EARLY CARDIAC DYSFUNCTION IN YOUNG PATIENTS WITH BETA-THALASSEMIA MAJOR

*K. Ganeva, P. Shivachev*

*First Pediatric Clinic, UMHAT St. Marina – Varna Medical University – Varna*

### Резюме.

Таласемиите са група наследствени заболявания, изискващи регулярни доживотни хемотрансфузии, които са жизнено необходими за нормалното развитие и живот на пациента. С течение на времето настъпват усложнения, дължащи се на отлагането на желязо във вътрешните органи, с развитие на хронична хемохроматоза и предимно засягане на сърцето, черния дроб и жлезите с вътрешна секреция. Независимо от липсата на изявена клинична картина при млади пациенти, налице са достатъчно данни в подкрепа на ранното отлагане на желязо в миокарда. Това налага необходимостта от въвеждането на достатъчно надеждни методи и техники за откриване и проследяване на ранни сърдечни нарушения преди изявената симптоматика. Измерването на отложеното в сърцето желязо посредством T2\*-техниката на ядрено-магнитен резонанс се утвърждава като надежден, неинвазивен метод с добра възпроизводимост и нисък процент на вариабилност. Ехокардиографията като метод не дава информация за отложеното желязо, но е лесно достъпна, безопасна и широко разпространена за скрининг и проследяване на пациентите. Използването на нови техники като лонгитудинален стрейн превръщат метода в почти съизмерим за оценка на ранната субклинична миокардна увреда. Макар все още в сферата на научните изследвания, идентифицирането на специфични микроРНК, асоциирани със сърдечна увреда, фиброза и ремоделиране, се очертават като нов, потенциален биомаркер за миокардна увреда, който би могъл да е в подкрепа на цялостната сърдечно-съдова оценка на пациентите. Настоящият обзор се фокусира върху съвременната изява на сърдечните усложнения при млади пациенти с бета-таласемия майор, както и върху по-горе изложените неинвазивни методи за оценка на сърдечната функция.

### Ключови думи:

таласемична кардиомиопатия, T2\*-ядрено-магнитен резонанс, лонгитудинален стрейн, микрорибонуклеинови киселини

### Автор

за кореспонденция: Д-р Калина Ганева, Първа Детска клиника, УМБАЛ „Св. Марина”, Варна, e-mail: kalinabganeva@gmail.com

### Abstract.

Thalassemias are a group of inherited disorders, that require regular lifelong blood transfusions, which are vital for the normal development and life of the patients. With time, complications occur due to iron deposition in internal organs with subsequent chronic hemochromatosis development and predominantly affecting the heart, the liver and the endocrine glands. Despite the absence of clinical symptoms in young patients, enough data are supporting the fact that early myocardial iron deposition occurs. This necessitates the introduction of sufficiently reliable methods and techniques for the detection and follow-up of early heart disorders before the onset of symptoms. Evaluation of myocardial iron deposition by the T2\* MRI technique is established as a reliable, non-invasive method with good reproducibility and a low percentage of variability. Echocardiography as a method does not give information concerning the iron deposition in the heart but is easily applicable, safe and widespread for screening and follow up of patients. The use of new technique such as longitudinal strain makes the method almost comparable for the assessment of early subclinical myocardial damage. Although still in the field of research, the identification of specific miRNAs associated with cardiac stroke, fibrosis and remodeling is emerging as a new, potential biomarker for myocardial damage that could support the overall cardiovascular assessment of patients. This review will focus on current manifestations of cardiac complications in young patients with beta-thalassemia major, as well as the noninvasive methods for assessing cardiac function described above.

### Key words:

cardiomyopathy due to iron overload, T2\* MRI, longitudinal strain, microRNA

### Author

for correspondence: D-r Kalina Ganeva, First Pediatric Clinic, UMHAT St. Marina, Varna, e-mail: kalinabganeva@gmail.com

## ВЪВЕДЕНИЕ

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, изискващи регулярни доживотни хемотрансфузии, без които биха настъпили редица усложнения [1]. Изчислено е, че около 1.5% от световното население е носител на гена за бета-таласемия, или това се равнява на 80-90 млн. души в световен мащаб [2], а за нашата страна носителство е 2.5%, което се равнява на около 170 000 души [3].

Клиничната изява на бета-таласемия майор настъпва между 6-24-месечна възраст с прогресираща анемия, жълтеница и хепатоспленомегалия. Децата изостават във физическото си развитие, наблюдават се скелетни деформации, нарастваща обиколка на корема с развитие на характерни лицеве изменения. Препоръките за лечение включват регулярни доживотни хемотрансфузии на всеки 2 до 5 седмици [1]. Хемотрансфузиите осигуряват нормално физическо развитие и предотвратяват редица усложнения, но с течение на времето настъпва желязно свръхобременяване от развиващата се вторична хемохроматоза. Неефективната еритропоеза в съчетание с периферна хемолиза и повишената абсорбция на желязо в гастроинтестиналния тракт, надвишават неколккратно дневните норми на обмяна на желязо [1, 4], а човешкият организъм не разполага с ефективен биологичен механизъм, чрез който да екскретира излишното желязо. Така, свободната форма на желязо, която е силно токсична, се отлага във вътрешните органи, засягайки предимно сърцето, черния дроб и жлезите с вътрешна секреция, предизвиквайки редица смущения като сърдечна недостатъчност, чернодробна цироза, ендокринни нарушения.

В миналото сърдечните усложнения са били основна причина за смъртност при пациентите с БТМ и то в млада възраст – около 10-ата година [5]. По настоящем, в развитите страни, с провеждането на регулярна и адекватна хелатираща терапия, се осигурява нормално качество и продължителност на живота на тези пациентите, но сърдечните усложнения са все още водеща причина за болестност и смъртност наред с инфекциите [1, 6].

Целта на настоящият обзор е да се обобщат съвременните сърдечни усложнения при млади пациенти с бета-таласемия майор като основен фокус е таласемичната кардиомиопатия, както и неинвазивните методи за ранна оценка на сърдечната дисфункция. За целта бе проведено подроб-

но проучване и анализ на медицинската литература, използвайки предимно базите данни PubMed и ScienceDirect.

## СЪРДЕЧНИ УСЛОЖНЕНИЯ ПРИ МЛАДИ ПАЦИЕНТИ С БЕТА-ТАЛАСЕМИЯ МАЙОР

В съвременната ера на хелатираща терапия спектърът на сърдечните усложнения вече е видоизменен. Водещите нарушения са **сърдечната недостатъчност** вследствие на таласемична кардиомиопатия и **ритмологичните смущения**, а често срещаните в миналото перикардити и миокардити значително намаляват като честота [7].

**Таласемична кардиомиопатия (КМП)** се описва като вторична форма на кардиомиопатия в резултат от акумулирането на желязо в сърдечния миокард, поради нарушения в желязната метаболизъм или множество хемотрансфузии [8]. Водещите автори в тази област описват два фенотипни варианта [9]: дилатативна и рестриктивна КМП. В началото натрупването на желязо в миокарда води до нарушение в диастолната функция [8, 10]. При напредване на заболяването, липсата на редовна и адекватна хелатираща терапия води до левокамерно ремоделиране с последващо понижаване и на фракцията на изтласкване (сistolна дисфункция) [8].

Клиничната изява на сърдечна увреда е крайна фаза на таласемичната КМП и настъпва за кратко време [8]. В регионите, в които пациентите все още не получават редовна хелатираща терапия, се открива ранно и тежко засягане на миокарда от детска възраст (около 6 год.) вследствие на желязното свръхобременяване [11, 12]. Вежаоуи и съавт. (2013) изследват 391 пациенти в Тунис и докладват, че смъртта настъпва средно на 10-годишна възраст, като сърдечната недостатъчност е водещата причина [13].

При млади пациенти с БТМ в развитите страни клинична изява на сърдечна недостатъчност почти не се среща. От друга страна, вече са налични достатъчно доказателства, които потвърждават, че натрупването на желязо започва от детска възраст независимо от адекватно провежданото лечение. Определящи са честотата на хемотрансфузиите, количеството на прелята кръв, както и регулярно провеждането на хелатиращата терапия. Wood и съавт. (2008) откриват посредством ядрено-магнитен резонанс (ЯМР) при 24% от децата между 9,5-15 год. и при 36% от юношите между 15-18 год. отлагане на желязо в миокарда [14]. При всички пациенти са провеждани редовно хемотрансфузии, като получават и съвременна хелатираща терапия. Borgna-Pignatti и съавт. (2014) провеждат комплексно ЯМР изследване при деца с таласемия майор

под 10 години, което включва оценка на желязното обременяване, сърдечната функция и фиброзата, с цел да се установи колко рано започва отлагането на желязо в миокарда. Най-малкото дете в тяхната кохорта е на 6,8 год. [15]. Българско изследване на сърдечната функция, оценено чрез ЯМР, при деца с таласемия майор, проведено от д-р И. Чакъров (2011), показва миокардно желязно обременяване при 21,4 % [16].

Отлагането на токсичната форма на свободно желязо в миокарда крие риск от развитие на **нарушения и в сърдечния ритъм**. Най-честите клинично значими ритъмни нарушения сред възрастните са предсърдното трептене, предсърдно мъждене и интраатриална риентри тахикардия [17], като злокачествените камерни аритмии са специфични за тежка кардиотоксичност. За разлика от възрастните, при децата с БТМ водещи са камерните екстрасистоли [18]. Срещат се и епизоди на надкамерна тахикардия [18]. Установени са определени електрокардиографски критерии, които се асоциират с риск от бъдещи аритмии [19]. Към тях спадат: увеличена дисперсия на Р-вълната (дефинира се като разликата между максималната и минималната продължителност на Р-вълната в 12-канално ЕКГ), удължен QT-интервал и коригиран QT-интервал [19].

От изложеното до тук става ясно, че на фона на съвременното и адекватно провеждано лечение на пациентите с БТМ отлагане на желязо в сърцето може да се наблюдава от ранна възраст. Поради липсата на клинична изява, предизвикателство остава откриването на най-подходящите методи и маркери за установяване на субклинична миокардна увреда.

## СЪВРЕМЕННИ НЕИНВАЗИВНИ ОБРАЗНИ И ЛАБОРАТОРНИ МЕТОДИ ЗА ДИАГНОЗА НА РАННА СЪРДЕЧНА ДИСФУНКЦИЯ

### 1. ЯМР T2\*-метод на изследване

Anderson и съавт. публикуват през 2001 г. разработена от тях нова ядрено-магнитно резонансна техника за количествена оценка на отложеното в миокарда желязо [20]. Техниката е наречена T2\* и представлява параметър за релаксация, който се генерира в резултат на нехомогенността на магнитното поле от отложеното желязо. T2\* параметърът се измерва в милисекунди. Същественото откритие е, че при пациентите с влошена левокамерна функция и увеличен теледиастолен размер на лявата камера, сърдечният T2\* е под 20 ms, т.е. стойностите на T2\* намаляват обратно пропорционално на количеството, отложено в миокарда желязо. Сърдечен T2\* под 10 ms се асоциира с тежко миокардно засягане [22]. От тогава ЯМР T2\* се превръща в

„златен стандарт“ за оценка на желязното обременяване на сърцето. При измерването се използва единичен срез през средата на лявата камера по късата ос и се оценява релаксационното време на миокарда [21]. Методът се оказва с добра възпроизводимост, като резултатите от различните марки апарати са напълно съизмерими с нисък процент на вариабилност [23-25].

Нарушената систолна функция и клинично изявената сърдечна недостатъчност са вече късен белег за желязна токсичност. Магнитно резонансната техника дава възможност за ранно откриване на пациентите, които се нуждаят от интензифицирана хелатираща терапия, преди началото на систолна дисфункция, както и за проследяването им в хода на лечението. Редица клинични проучвания потвърждават, че в хода на хелатиращата терапия, паралелно с подобрението в показателите на левокамерната функция и размери, се подобрява и миокардният T2\* [22, 26].

Неудобство за педиатричната популация се оказва фактът, че изследването се провежда при задържане на дишането, което е трудно изпълнимо при малките пациенти. Затова консенсусът на Американската кардиологична асоциация от 2013 г. препоръчва първият ЯМР T2\* да се проведе във възрастта между 6 и 10 год., когато детето започва да сътрудничи, без да се налага прилагане на обща анестезия [21]. Не е за пренебрегване и фактът, че изследването само по себе си е скъпо и все още не е достъпно до всички центрове, които се грижат за пациенти с таласемия.

### 2. Ехокардиография

Ехокардиографията (ЕхоКГ) като диагностичен метод не дава информация за обременяването на сърцето с желязо, но е лесно достъпен и безопасен метод за скрининг на асимптомни пациенти, както и за тяхното регулярно проследяване. Пациентите с бета-таласемия майор дълго време са със съхранена фракция на изтласкване благодарение на компенсаторните си възможности. Клинично изявена сърдечна недостатъчност с понижение в систолната функция е крайна фаза в еволюцията на таласемичната КМП. Достигне ли се до този етап, прогнозата не е обнадеждаваща, независимо от интензифицирането на хелатиращата терапия.

В исторически аспект, изследването на диастолна функция при пациенти с бета-таласемия майор започва през 90-те години на XX век [27-29]. Основната цел е да се установят най-ранните промени, преди клинично изявените сърдечни нарушения. В хода на оценяването на ранната диастолна дисфункция при асимптомни пациенти посредством двуразмерна ЕхоКГ и тъканен доплер обаче, настъпват противоречиви резултати.

Основният конфликт възниква от променената хемодинамика при тези пациенти във връзка с хроничната анемия – повишеното преднатоварване поради повишен сърдечен дебит и понижено следнатоварване. Традиционно използваният показател за оценка на диастолна дисфункция – отношението  $E/e'$ , неизбежно се повишава поради увеличената скорост на трансмитралния кръвоток (скоростта на кръвотока в т. Е). При млади пациенти с бета-таласемия майор това би могло да се обясни както с променената хемодинамиката, така и с факта, че са млади, без това задължително да означава, че имат нарушение в камерната релаксация [30].

Миокардният стрейн (разтягане), оценен посредством спекъл трекинг ЕхоКГ (проследяване движението на малки частици в миокарда), е нов диагностичен параметър за по-прецизна оценка както на глобална, така и на регионална сърдечна функция. В основата на този метод е оценяването на лонгитудинална, радиална и циркумферентна деформация на миокарда по време на сърдечния цикъл, като по този начин отпада необходимостта от измерване на митралния кръвоток [31]. Редица проучвания доказват предимствата на глобалния лонгитудинален стрейн (GLS) за идентифициране на субклинична левокамерна дисфункция, особено при пациенти със съхранена систолна функция [32, 33]. Установени са доказателства, че GLS има по-силна прогностична стойност за бъдещи сърдечни усложнения от фракцията на изтласкване [32], която е най-широко използваният за момента утвърден в клиничната практика параметър за оценка на левокамерна функция.

Изхождайки от възможностите на новата методика да идентифицира както глобална, така и регионална сърдечна дисфункция, и съответно ранна субклинична миокардна увреда, стрейнът се превръща в обнадеждаващ параметър за ранна оценка на таласемична КМП. Установена е корелация и между GLS и желязното миокардно натрупване, оценено посредством  $T2^*$ ЯМР. Изследването при пациенти с миокардно обременяване ( $T2^* < 20$  ms) демонстрират и по-нисък GLS [34, 35]. При децата с бета-таласемия също се установяват по-ниски стойности на GLS, както и на циркумферентния стрейн [36, 37].

Лонгитудиналният стрейн се утвърждава като нов диагностичен метод, чрез който могат да се идентифицират ранните нарушения в сърдечната функция при асимптомни пациенти. Освен това методът е по-евтин, по-бърз и е приложим без анестезия.

### 3. МикроРНКи – нов потенциален биомаркер за сърдечна недостатъчност, ремоделиране и фиброза

През последните няколко години микроРНКите (МиРНК) започнаха да привличат вниманието на изследователи и клиницисти поради потенциалът, който притежават за приложение в редица медицински специалности. Те представляват малки не-кодиращи молекули РНК (до 22 нуклеотида), които действат като посттранскрипционни регулатори на гени при повечето биологични и патологични процеси [38]. Тяхното широко разпространение в телесните течности, стабилността и устойчивостта им, ги прави особено подходящи за изолиране, идентифициране и изследване. Плазмените МиРНКи са стабилни при неблагоприятни условия като висока или ниска стойност на рН, варене, размразяване и дълго съхранение на стайна температура [38]. Количеството на МиРНКите може да се определи посредством различни техники: микрочипов анализ, хибридизация, дълбоко секвениране, qRT-PCR и анализ с микроперли [38].

Установено е, че МиРНКите са от значение както за нормалното развитие на сърдечно-съдовата система, така и за появата на редица патологични процеси [39]. Съществуват доказателства в полза на участието на МиРНКи в патологичното ремоделиране на сърцето посредством таргетиране на специфични гени, ангажирани с развитието на фиброза, ендотелна дисфункция и ангиогенеза [40]. **МиРНК-1** е една от първите микроРНКи, за която е установено, че регулира фундаментални аспекти от сърдечните функции и преди всичко процесите на кардиогенеза и патологично ремоделиране. Поради широкото ѝ разпространение в сърдечната тъкан при състояние на увреда (като остър инфаркт), експресията на тази специфична МиРНКа в кръвния серум нараства [41]. От друга страна, МиРНКи регулират експресията на няколко гена, участващи в процесите на левокамерно ремоделиране след прекаран остър инфаркт на миокарда. Devaux et al. (2013) установяват, че експресията на **МиРНК-150** е потисната при пациенти с ремоделиране, за разлика от тези без [42]. Установяват също, че МиРНК-150 превъзхожда NT-proBNP за предсказване на левокамерното ремоделиране. А както е добре известно, NT-proBNP се счита за „златен стандарт“ при биомаркерите за сърдечна увреда.

Установено е, че определени МиРНКи участват в процеса на сърдечна фиброза като МиРНК-21, МиРНК-29, МиРНК-30 и МиРНК-133. **МиРНК-21** се експресира в кардиомиоцитите, съдовата гладка мускулатура и ендотелните клетки, но преди всичко в сърдечните фибробласти [40]. Thum и сътр. (2008) са сред колективите, които доказват ролята на тази

специфична МиРНК в сърдечната фиброза. Те демонстрират в експериментален модел с мишки как инхибирането на МиРНК-21 протектира срещу сърдечна фиброза и сърдечна дисфункция [43].

Друг подобен пример е **МиРНК-29**. Понижената експресия на МиРНК-29 участва в патологичното сърдечно ремоделиране, медирано от трансформацията растежен фактор-бета (TGFB) [40]. Van Rooij и съавт. (2008) доказват, че МиРНК-29 директно таргетира гените за екстрацелуларни матриксни протеини като понижената ѝ експресия допринася за развитието на сърдечна фиброза [44].

На теория микроРНКите притежават много от спецификите, необходими за идеалния биомаркер – регулатори са на редица патологични процеси, широко разпространени са в биологичните течности, като кръвна плазма, слюнка, урина, цереброспинална течност и др., притежават стабилност и устойчивост [45]. Проучванията върху тях на този етап са все още в сферата на научните изследвания, вкл. и в нашата страна, и тяхното повсеместно приложение в клиничната практика не е факт. Не е за пренебрегване и по-високата цена на изследването, несъизмерима с утвърдените до момента биомаркери. Необходимо е провеждане на големи клинични проучвания, които да потвърдят тяхната приложимост и надеждност, както и стандартизирани протоколи за тяхното изолиране и идентифициране. Въпреки това те се открояват като надежден метод с голям потенциал за приложение в диагностиката.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отлагането на желязо в миокарда при пациенти с бета-таласемия майор може да настъпи от млада възраст. Благодарение на съвременните методи за хелатираща терапия клиничната изява на сърдечна дисфункция е значително отложена. Съществуват редица лабораторни и образни методи, чрез които да се установят и прогнозирант началните изменения, а съответно и да се проведе своевременно лечение, за да се предотвратят необратимите увреждания. ЯМР изследването е златен стандарт за оценка на миокардното желязно обременяване, но методът все още е скъп и не е широко достъпен за всички центрове, които се грижат за пациенти с бета-таласемия. Новите ехокардиографски параметри са надежден и лесно приложим метод не само за оценка, но и за проследяване на сърдечна функция. Макар и все още в сферата на научните изследвания, микроРНКите също се очертават като потенциален диагностичен метод за бъдеща употреба. В заключение се подчертава необходимостта от интердисциплинарен екип от педиатри и специалисти по образна диагностика, който да осигури по-добрата грижа и своевременно лечение на пациентите с бета-таласемия майор.

He e деклариран конфликт на интереси

## Библиография

1. Guidelines for the Management of Transfusion Dependent Thalassemia, 3rd Edit., 2014.
2. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. Orphanet J Rare Dis. 2010 May 21;5(1):11. doi: 10.1186/1750-1172-5-11
3. Калева В, Михайлов Г, Пейчев Д. Методични указания за диагностициране, лечение и проследяване на пациенти със заболявания на кръвта и кръвотворните органи. 2011.
4. Hershko C, Link G, Cabantchik I. Pathophysiology of iron overload. Ann N Y Acad Sci. 1998 Jun 30;850:191-201. doi: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb10475.x.
5. Modell B. The management of the improved prognosis in thalassemia major. Birth Defects Orig Artic Ser. 1982;18(7):329-37.
6. Borgna-Pignatti C, Cappellini MD, De Stefano P, et al. Survival and complications in thalassemia. Ann N Y Acad Sci. 2005;1054:40-7. doi: 10.1196/annals.1345.006.
7. Russo V, Rago A, Papa AA, Nigro G. Electrocardiographic Presentation, Cardiac Arrhythmias, and Their Management in  $\beta$ -Thalassemia Major Patients. Ann Noninvasive Electrocardiol Off J Int Soc Holter Noninvasive Electrocardiol Inc. 2016 Jul;21(4):335-42. doi: 10.1111/anec.12389.
8. Kremastinos DT, Farmakis D. Iron overload cardiomyopathy in clinical practice. Circulation. 2011 Nov 15;124(20):2253-63. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.050773.
9. Kremastinos DT, Farmakis D, Aessopos A, et al. Beta-thalassemia cardiomyopathy: history, present considerations, and future perspectives. Circ Heart Fail. 2010 May;3(3):451-8. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.913863.
10. Murphy CJ, Oudit GY. Iron-overload cardiomyopathy: pathophysiology, diagnosis, and treatment. J Card Fail. 2010 Nov;16(11):888-900. doi: 10.1016/j.cardfail.2010.05.009.
11. Chen X, Zhang Z, Zhong J, et al. MRI assessment of excess cardiac iron in thalassemia major: When to initiate? J Magn Reson Imaging JMRI. 2015 Sep;42(3):737-45. doi: 10.1002/jmri.24781.
12. Yang G, Liu R, Peng P, et al. How Early Can Myocardial Iron Overload Occur in Beta Thalassemia Major? PLoS ONE. 2014; 9(1): e85379. doi: 10.1371/journal.pone.0085379.
13. Bejaoui M, Guirat N. Beta Thalassemia Major in a Developing Country: Epidemiological, Clinical and Evolutionary Aspects. Medtterr J Hematol Infect Dis. 2013 Jan 2;5(1):e2013002. doi: 10.4084/MJHID.2013.002.
14. Wood JC, Origa R, Agus A, et al. Onset of cardiac iron loading in pediatric patients with thalassemia major. Haematologica. 2008 Jun;93(6):917-20. doi: 10.3324/haematol.12513.
15. Borgna-Pignatti C, Meloni A, Guerrini G, et al. Myocardial iron overload in thalassaemia major. How early to check? Br J Haematol. 2014 Feb;164(4):579-85. doi: 10.1111/bjh.12643.
16. Чакъров И. Кардиопулмонално увреждане при болни от бета таласемия деца. 2011.
17. Russo V, Melillo E, Papa AA, et al. Arrhythmias and Sudden Cardiac Death in Beta-Thalassemia Major Patients: Noninvasive Diagnostic Tools and Early Markers. Cardiol Res Pract. 2019;2019:9319832. doi: 10.1155/2019/9319832.
18. Hamed AA, Elguindy W, Elhenawy YI, Ibrahim RH. Early Cardiac Involvement and Risk Factors for the Development of Arrhythmia in Patients With  $\beta$ -Thalassemia Major. J Pediatr Hematol Oncol. 2016 Jan;38(1):5-11. doi: 10.1097/MPH.0000000000000467.
19. emircan T, Onder Sivis Z, Tatlı Güneş B, Karadeniz C. Evaluation of electrocardiographic markers of cardiac arrhythmic

- events and their correlation with cardiac iron overload in patients with  $\beta$ -thalassemia major. *Cardiol Young*. 2020 Nov;30(11):1666-71. doi: 10.1017/S1047951120002498.
20. Anderson LJ, Holden S, Davis B, et al. Cardiovascular T2-star (T2\*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur Heart J*. 2001 Dec;22(23):2171-9. doi: 10.1053/euhj.2001.2822.
21. Pennell DJ, Udelson JE, Arai AE, et al. Cardiovascular function and treatment in  $\beta$ -thalassemia major: a consensus statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2013 Jul 16;128(3):281-308. doi: 10.1161/CIR.0b013e31829b2be6.
22. Anderson LJ, Westwood MA, Holden S, et al. Myocardial iron clearance during reversal of siderotic cardiomyopathy with intravenous desferrioxamine: a prospective study using T2\* cardiovascular magnetic resonance. *Br J Haematol*. 2004 Nov;127(3):348-55. doi: 10.1111/j.1365-2141.2004.05202.x.
23. Westwood MA, Anderson LJ, Firmin DN, et al. Interscanner reproducibility of cardiovascular magnetic resonance T2\* measurements of tissue iron in thalassemia. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2003 Nov;18(5):616-20. doi: 10.1002/jmri.10396.
24. Kirk P, He T, Anderson LJ, et al. International reproducibility of single breathhold T2\* MR for cardiac and liver iron assessment among five thalassemia centers. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2010 Aug;32(2):315-9. doi: 10.1002/jmri.22245.
25. Westwood MA, Firmin DN, Gildo M, et al. Intercentre reproducibility of magnetic resonance T2\* measurements of myocardial iron in thalassaemia. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2005 Oct;21(5):531-8. doi: 10.1007/s10554-005-0651-2.
26. Pennell DJ, Berdoukas V, Karagiorga M, et al. Randomized controlled trial of deferiprone or deferoxamine in beta-thalassemia major patients with asymptomatic myocardial siderosis. *Blood*. 2006 May 1;107(9):3738-44. doi: 10.1182/blood-2005-07-2948.
27. Spirito P, Lupi G, Melevendi C, Vecchio C. Restrictive diastolic abnormalities identified by Doppler echocardiography in patients with thalassemia major. *Circulation*. 1990 Jul;82(1):88-94. doi: 10.1161/01.cir.82.1.88.
28. Kremastinos DT, Tsiapras DP, Tsetsos GA, et al. Left ventricular diastolic Doppler characteristics in beta-thalassemia major. *Circulation*. 1993 Sep;88(3):1127-35. doi: 10.1161/01.cir.88.3.1127.
29. Nagueh SF, Middleton KJ, Kopelen HA, et al. Doppler tissue imaging: a noninvasive technique for evaluation of left ventricular relaxation and estimation of filling pressures. *J Am Coll Cardiol*. 1997 Nov 15;30(6):1527-33. doi: 10.1016/s0735-1097(97)00344-6.
30. Ommen SR, Nishimura RA, Appleton CP, et al. Clinical utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of left ventricular filling pressures: A comparative simultaneous Doppler-catheterization study. *Circulation*. 2000 Oct 10;102(15):1788-94. doi: 10.1161/01.cir.102.15.1788.
31. Voigt J-U, Pedrizzetti G, Lysyansky P, et al. Definitions for a common standard for 2D speckle tracking echocardiography: consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr*. 2015 Feb;28(2):183-93. doi: 10.1016/j.echo.2014.11.003.
32. Kalam K, Otahal P, Marwick TH. Prognostic implications of global LV dysfunction: a systematic review and meta-analysis of global longitudinal strain and ejection fraction. *Heart Br Card Soc*. 2014 Nov;100(21):1673-80. doi: 10.1136/heartjnl-2014-305538.
33. Geyer H, Caracciolo G, Abe H, et al. Assessment of myocardial mechanics using speckle tracking echocardiography: fundamentals and clinical applications. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr*. 2010 Apr;23(4):351-69; quiz 453-5. doi: 10.1016/j.echo.2010.02.015.
34. Pizzino F, Meloni A, Terrizzi A, et al. Detection of myocardial iron overload by two-dimensional speckle tracking in patients with beta-thalassaemia major: a combined echocardiographic and T2\* segmental CMR study. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2018 Feb;34(2):263-71. doi: 10.1007/s10554-017-1219-7.
35. Parsaee M, Akiash N, Azarkeivan A, et al. The correlation between cardiac magnetic resonance T2\* and left ventricular global longitudinal strain in people with  $\beta$ -thalassemia. *Echocardiogr Mt Kisco N*. 2018 Apr;35(4):438-44. doi: 10.1111/echo.13801.
36. El-Shanshory M, Tolba O, El-Shafiey R, et al. Cardiac Iron Overload by MRI in Children With B-Thalassemia Major and its Correlation With Cardiac Function by Echocardiography. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2020 Aug;42(6):398-402. doi: 10.1097/MPH.0000000000001786.
37. El Razaky OA, El-Shanshory MR, El-Shehaby WA, et al. Left Ventricular Regional Function in Children with Beta Thalassemia with No Cardiac Manifestations (Four-Dimensional Echocardiographic Study). *Indian J Hematol Blood Transfus Off J Indian Soc Hematol Blood Transfus*. 2019 Oct;35(4):750-7. doi: 10.1007/s12288-019-01117-6.
38. Георгиева Ж и съавт. Биомаркери при сърдечно-съдови заболявания. От патогенезата до прогнозата. Първо издание. Под ред. Ж. Георгиева, София, Арбилис, 2016.
39. Omran A, Elimam D, Webster KA, et al. MicroRNAs: a new piece in the paediatric cardiovascular disease puzzle. *Cardiol Young*. 2013 Oct;23(5):642-55. doi: 10.1017/S1047951113000048.
40. Tijssen AJ, Pinto YM, Creemers EE. Non-cardiomyocyte microRNAs in heart failure. *Cardiovasc Res*. 2012 Mar 15;93(4):573-82. doi: 10.1093/cvr/cvr344.
41. Cheng Y, Tan N, Yang J, et al. A translational study of circulating cell-free microRNA-1 in acute myocardial infarction. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 2010 Apr 20;119(2):87-95. doi: 10.1042/CS20090645.
42. Devaux Y, Vausort M, McCann GP, et al. MicroRNA-150: a novel marker of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Genet*. 2013 Jun;6(3):290-8. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000077.
43. Thum T, Gross C, Fiedler J, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature*. 2008 Dec 18;456(7224):980-4. doi: 10.1038/nature07511.
44. Van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Sep 2;105(35):13027-32. doi: 10.1073/pnas.0805038105.
45. Saini V, Dawar R, Suneja S, et al. Can microRNA become next-generation tools in molecular diagnostics and therapeutics? A systematic review. *Egypt J Med Hum Genet*. 2021 Jan 25;22(1):4.