

## РЕЦЕНЗИЯ

ОТ

**проф. д-р Елена Димитрова Димитракова, д.м.**

**Катедра по Акушерство и гинекология, МУ-Пловдив**

**Началник Родилно отделение, АГ к-ка-УМБАЛ „Св.Георги“-Пловдив**

**Относно:** дисертационен труд на тема : „Състав и характеристика на ендометриалния микробиом при повтарящи се репродуктивни неуспехи“

на д-р Татяна Трендафилова Бодурска-Петкова за присъждане на ОНС „Доктор“, област на Висше образование: 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.1 Медицина, Научна специалност „ Акушерство и гинекология“, съгласно Заповед №1432/28.05.2024 год. на Ректора на МУ - Плевен

Научни ръководители: доц.д-р Тихомир Тотев, д.м.

доц.д-р Емилияна Конова, д.м.

### **I.БИОГРАФИЧНИ ДАННИ**

Д-р Татяна Бодурска е родена през 1980 година. Завършва средно образование в ПМГ „Яне Сандански“ – гр.Гоце Делчев през 1997 година. 2003 е годината, в която се дипломира като магистър-лекар в Медицински университет- София. След успешно издържан изпит придобива специалност „Акушерство и гинекология“ през 2012 година. От същата година и понастоящем е част от екипа на МЦ КИРМ- гр.Плевен. В периода 2007-2019 година е лекар/асистент в УМБАЛ „Д-р Георги Странски“- Плевен, а от 2022 година е докторант в самостоятелна форма на обучение към Катедрата по акушерство и гинекология, Медицински факултет на Медицински университет – Плевен.

Д-р Бодурска удостоверява със съответните сертификати голям брой проведени обучителни курсове и квалификации – основи на колпоскопията при проф. Алберт Сингер – Лондон, ултразвукова и доплерова диагностика в АГ, основен курс по ултразвук на ISUOG- Гърция, гинекологична ендокринология и др. Съобщава и за посещение на престижни световни форуми в областта на акушерството и гинекологията, в частност- феталната медицина.

Д-р Бодурска участва в настоящата процедура с достатъчен брой публикации и участия в научни форуми (в България и в чужбина).

Представя и участие в научно-изследователски проект – 22/2022 година на тема: „Проучване на ендометриалния имунен профил при жени с повтарящи се имплантационни неуспехи“.

Владее отлично английски език.

## **II. ЗНАЧИМОСТ НА ПРОБЛЕМА**

Инфертилитетът е проблем с нарастващо значение през последните години. Засяга между 8-12% от двойките в репродуктивна възраст. Безспорен е напредъкът на технологиите за асистирана репродукция, но очевидно- все още недостатъчен, за да обясни случаите на неуспешна имплантация и ранните загуби на бременност.

Една от съвременните гледни точки, които се опитват да допълнят вече известното, е изучаването на ендометриалния микробиом. Традиционно считаните за „стерилни органи“ - матката и плацентата, също притежават свой уникален такъв. Благодарение на нови методики е възможно да се открият бактерии, които са недоказуеми с други утвърдени във времето изследвания. Към днешна дата дебатът за участието на ендометриалния микробиом в областта на репродуктивната медицина е факт.

Предвид гореизложеното определям темата на представения за рецензиране дисертационен труд като важна и актуална.

Цел на дисертационния труд: да се приложи комплексен подход за начална оценка на състава и характеристиката на микробиома в ендометриума, да се потърси връзка с ролята му при пациенти с повтарящи се имплантационни неуспехи и повтарящи се спонтанни аборти, и да се изгради протокол за неговото изследване, базиран на генни технологии, с приложение в клиничната практика.

Дисертантът формулирани 6 задачи:

1. Да се определи наличието и количеството на лактобацилите в ендометриума при пациентки с RIF (група 1) и RPL(група 2).

2. Да се анализира влиянието на възрастта върху количеството на лактобацилите в ендометриума при пациентки с RIF (група 1) и RPL(група 2).

3. Да се изследват състава и честотата на видовете еубиотичен и дисбиотичен ендометриален микробиом при пациентки с RIF (група 1) и RPL(група 2).

4. Да се характеризира бактериалния състав по вид и честота на изолираните патогенни микроорганизми при дисбиотичен ендометриален микробиом.

5. Да се анализира влиянието на изолираните дисбиотични микроорганизми върху степента на увреда на микробиома и да се сравни с двете изследвани групи.

6. Да се проучат подходите за изследване на ендометриалния микробиом и да се предложи създаване на оптимизиран протокол за неговата оценка с помощта на геном-базирани технологии.

### III. СТРУКТУРА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Дисертацията е написана на 181 печатни страници . Има класическа структура и включва: увод, литературен обзор (71 страници), цел и задачи, материал и методи (10 страници), собствени резултати и обсъждане (49 страници), изводи, приноси, библиография.

Библиографската справка е представена от 267 заглавия, като значителна част от тях са от последните 10 години.

Научният труд е онагледен с 6 таблици и 45 фигури.

Литературният обзор е обстоен. В него подробно са разгледани исторически аспекти от развитието на концепцията за микробиома, особености на микробиома на женския генитален тракт, поставен е акцент върху състава на ендометриалния микробиом и взаимодействието му с имунната система, коментира се влиянието на менструалния цикъл и половите хормони върху ендометриалния микробиом , а също и въздействието на други фактори. Като отделни пунктове в обзора са обособени и известните в литературата данни за микробиома и ролята му в репродуктивната патология, а именно- при имплантационни неуспехи и спонтанни аборти.

**МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ:** включени са 199 жени с RIF и RPL, диагностицирани, лекувани и проследени в МЦ КИРМ- гр.Плевен. Проучването обхваща периода октомври 2019 година- ноември 2022 година, има ретро- и проспективен характер. Формулирани са включващи и изключващи критерии.

Изследвани са две основни групи: RIF (с повтарящи се имплантационни неуспехи) и RPL(с повтарящи се спонтанни аборти)- съответно 103 пациентки в първата група (51,8%) и 96 във втората (48,2%).

Използвани са богата гама методи- биопсия на ендометриума, ДНК-екстракция, PCR амплификация на таргетни ДНК- последователности.

Статистически методи- дескриптивен анализ, графичен и вариационен, и др. Данните са въведени и обработени със статистически пакет IBM SPSS Statistics 25.0. и Excel на Office 2021. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза, е прието  $p < 0,05$ .

**СОБСТВЕНИ РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ:** дисертантът представя изчерпателно получената информация, следвайки поставените задачи и сравнявайки ги с резултати от други проучвания:

- При пациентки с повтарящи се репродуктивни неуспехи има висок процент липсващи лактобацили, като не се намира разлика между двете изследвани групи- RIF и RPL ;
- Повтарящите се репродуктивни неуспехи се асоциират с ендометриална дисбиоза в половината от изследваните случаи;
- Налице е изразена връзка между повтарящите се репродуктивни неуспехи и силно нарушения микробиом. Липсва статистически значима разлика в двете изследвани групи по отношение на ендометриалната дисбиоза в подкрепа на общия патогенетичен механизъм на дисрупция на начална бременност;
- При сравнение на патогенните микроби в двете групи при RIF статистически достоверни са облигатно анаеробните *Megasphaera spp.*, *Veilonella spp.*, *Dialister spp.*, а при RPL- факултативно анаеробните *Staphylococcus spp.* При силно нарушен микробиом няма статистически достоверен резултат за конкретен патоген.

Формулирани са 8 извода.

**ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД:** представени са в две групи- с оригинален и с потвърдителен характер. Първите са десет и от тях бих отличила 4,5,6,7,8 и 9. Вторите са три на брой.

#### **IV.ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Оценявам представения дисертационен труд като едно много съвременно, актуално и полезно за практиката проучване, отговарящо на изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото прилагане и съответния Правилник на МУ- Плевен .

Давам своето положително мнение и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да гласуват утвърдително за присъждане на ОНС „Доктор” на д-р Татяна Трендафилова Бодурска-Петкова.

08.07. 2024 г.

гр. Пловдив

Изготвил рецензията: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

/Проф. д-р Елена Димитракова, д.м./

## RECENTIONS

From

Prof. Dr. Elena Dimitrova Dimitrakova, Ph.

Department of Obstetrics and Gynecology , MU-Plovdiv

Head of the Maternity Ward, Obstetrics and Gynecology Department, St. George Hospital - Plovdiv

Subject: dissertation on : "Composition and characteristics of the endometrial microbiome in recurrent reproductive failures"

of Dr. Tatyana Trendafilova Bodurska-Petkova for the award of PhD, field of higher education: 7. Health and Sport, Professional field 7.1 Medicine, Scientific specialty "Obstetrics and Gynaecology", according to the Order №1432/28.05.2024 of the Rector of Medical University - Pleven.

Scientific supervisors.

Prof. Dr. Emiliana Konova, PhD.

### I. BIOGRAPHICAL DATA

Dr. Tatiana Bodurska was born in 1980. She graduated from the secondary school "Yane Sandanski" - Gotse Delchev in 1997. 2003 was the year she graduated as a Master Doctor at the Medical University - Sofia. After successfully passing the exam she acquired the specialty "Obstetrics and Gynecology" in 2012. Since the same year and currently she is part of the team of the Medical Center KIRM - Pleven. In the period 2007-2019 she was a physician/assistant at the University Hospital "Dr. Georgi Stranski"- Pleven, and since 2022 she has been a PhD student at the Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Faculty of Medical University - Pleven.

Dr. Bodurska certifies with relevant certificates a large number of training courses and qualifications - basics of colposcopy under prof. Albert Singer - London, ultrasound and Doppler diagnostics in AG, basic ultrasound course of ISUOG - Greece, gynecological endocrinology, etc. He also reports attending prestigious world forums in the field of obstetrics and gynecology, in particular- fetal medicine.

Dr Bodurska has participated in the present procedure with a sufficient number of publications and participations in scientific forums (in Bulgaria and abroad).

She is also participating in a scientific research project - 22/2022 on "Study of endometrial immune profile in women with recurrent implantation failure".

Fluent in English.

## II.SIGNIFICANCE OF THE PROBLEM

Infertility has been a problem of increasing importance in recent years. It affects between 8-12% of couples of reproductive age. Advances in assisted reproductive technologies are undeniable, but apparently- still insufficient to explain cases of implantation failure and early pregnancy losses.

One of the modern perspectives that attempt to add to what is already known is the study of the endometrial microbiome. The organs traditionally considered "sterile"-the uterus and placenta-also have their own unique one. Thanks to new methodologies, it is possible to detect bacteria that are undetectable with other time-honored studies. To date, the debate about the involvement of the endometrial microbiome in the field of reproductive medicine is a fact.

Given the above, I define the topic of the dissertation submitted for review as important and relevant.

The aim of the dissertation: to apply a comprehensive approach to the initial assessment of the composition and characterization of the endometrial microbiome, to look for a link to its role in patients with recurrent implantation failures and recurrent miscarriages, and to develop a protocol for its study based on gene technologies with application in clinical practice.

The dissertator formulated 6 tasks:

1. To determine the presence and quantity of lactobacilli in the endometrium of patients with RIF (group 1) and RPL(group 2).
2. To analyze the effect of age on the amount of lactobacilli in the endometrium in patients with RIF (group 1) and RPL(group 2).
3. To study the composition and frequency of eubiotic and dysbiotic endometrial microbiome types in patients with RIF(group 1) and RPL(group 2).
4. To characterize the bacterial composition by type and frequency of pathogenic microorganisms isolated in dysbiotic endometrial microbiome.
5. To analyze the effect of isolated dysbiotic microorganisms on the degree of microbiome damage and compare with the two groups studied.
6. To investigate the approaches to study the endometrial microbiome and to propose an optimized protocol for its assessment using genome-based technologies.

## III.STRUCTURE OF THE DISSERTATION

The dissertation is written in 181 printed pages . It has a classical structure and includes: introduction, literature review (71 pages), aim and objectives, material and methods (10 pages), own results and discussion (49 pages), conclusions, contributions, bibliography.



The bibliography is represented by 267 titles, a significant part of them from the last 10 years.

The scientific work is illustrated with 6 tables and 45 figures.

The literature review is extensive. It discusses in detail the historical aspects of the development of the microbiome concept, features of the microbiome of the female genital tract, focuses on the composition of the endometrial microbiome and its interaction with the immune system, comments on the influence of the menstrual cycle and sex hormones on the endometrial microbiome, and also on the influence of other factors. As separate points in the review, the known data in the literature on the microbiome and its role in reproductive pathology, namely in implantation failures and miscarriages, are also highlighted.

**MATERIALS AND METHODS:** 199 women with RIF and RPL, diagnosed, treated and followed up in the MC KIRM- Pleven, were included. The study covers the period October 2019-November 2022, is retro- and prospective in nature. Inclusion and exclusion criteria were formulated. Two main groups were studied: RIF (recurrent implantation failures) and RPL(recurrent miscarriages)- 103 patients in the first group (51.8%) and 96 in the second group (48.2%), respectively.

A wide range of methods were used-endometrial biopsy, DNA extraction, PCR amplification of target DNA sequences.

Statistical methods- descriptive analysis, graphical and variational, etc. Data were entered and processed using IBM SPSS Statistics 25.0. statistical package and Office 2021 Excel. The significance level at which the null hypothesis was rejected was taken as  $p < 0.05$ .

**SIGNIFICANT RESULTS AND DISCUSSION:** The dissertation presents comprehensively the information obtained, following the set objectives and comparing them with results from other studies:

- Patients with recurrent reproductive failure have a high percentage of missing lactobacilli, finding no difference between the two groups studied- RIF and RPL ;
- Recurrent reproductive failure was associated with endometrial dysbiosis in half of the cases studied;
- There was a pronounced association between recurrent reproductive failures and a highly disturbed microbiome. There was no statistically significant difference in the two groups studied with respect to endometrial dysbiosis supporting a common pathogenetic mechanism of early pregnancy disruption;
- When comparing the pathogenic microbes in the two groups, obligate anaerobic *Megasphaera* spp., *Veilonella* spp., *Dialister* spp. in RIF and facultative anaerobic *Staphylococcus* spp. in RPL were statistically significant. In highly disturbed microbiome, there is no statistically reliable result for a specific pathogen.

8 conclusions were formulated.

CONTRIBUTIONS OF THE DISSERTATION: are presented in two groups- original and confirmatory. The former are ten and out of these I would single out 4,5,6,7,8 and 9. The second are three in number.

#### IV.CONCLUSION

I evaluate the presented dissertation as a very modern, up-to-date and useful for the practice study, meeting the requirements of the Law on Research and Development, the Regulations for its implementation and the relevant Regulations of the Medical University of Pleven.

I give my positive opinion and recommend the esteemed members of the Scientific Jury to vote in the affirmative for the award of the PhD degree to Dr. Tatiana Trendafilova Bodurska-Petkova.

08.07. 2024.

Prepared the review: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

Plovdiv

/Prof. Dr. Elena Dimitrakova, Ph.D./