

## СТАНОВИЩЕ

От Доц. д-р Весела Карамешева, д. м.  
Катедра „ Акушерство и гинекология”  
Медицински факултет, МУ гр. София  
Клиника по Обща и урогинекологична хирургия  
СБАЛАГ „ Майчин дом” гр. София

Представям настоящето становище в качеството си на външен член по процедура за придобиване на ОНС „Доктор“; професионално направление 7.1 Медицина ; научна специалност: „Акушерство и гинекология“; определено със Заповед № 1432 от 28.05.2024г. на Ректора на МУ-Плевен, Проф. Д-р Д. Димитров, д. м. и решение на Академичния съвет (Протокол №35 от 27.05.2024г)

**Относно:** Дисертационният труд на **Д-р Татяна Трендафилова Бодурска-Петкова**, редовен докторант към Катедра по акушерство и гинекология на Факултет Медицина, МУ-Плевен на тема: « **СЪСТАВ И ХАРАКТЕРИСТИКА НА ЕНДОМЕТРИАЛНИЯ МИКРОБИОМ ПРИ ПОВТАРЯЩИ СЕ РЕПРОДУКТИВНИ НЕУСПЕХИ**» с научни ръководители : **Доц. Д-р Тихомир Панков Тотев, д.м. и Доц. Д-р Емилияна Илиева Конова, д.м.**

Становището е изготвено въз основа на представения Дисертационен труд и Автореферат. Те са оформени правилно и отговарят на изискванията за структура на научна работа, съгласно Закона за развитие на Академичния състав в Република България и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в МУ гр. Плевен.

### **Данни за докторанта:**

Д-р Татяна Трендафилова Бодурска-Петкова е родена на 15.02.1980 г. Средно образование завършва в ПМГ „Яне Сандански“ гр. Гоце Делчев. Приета е и завършва Медицински университет – София през 2003 г. През 2012 г. придобива специалност „Акушерство, гинекология и репродуктивна медицина“ в Медицински университет –

Плевен. В периода от декември 2007 г. до септември 2019 г. е била асистент в Медицински университет – Плевен в Катедра „Акушерство и гинекология“. От 01.10.2012 г. до момента – Лекар-ординатор по Акушерство и гинекология в МЦ КИРМ, гр. Плевен. Има множество курсове и специализации у нас и в чужбина.

**Актуалност на темата:**

Инфертилитетът по дефиниция на СЗО спада към групата на хроничните болести, което показва продължителност на протичане на процесите. От друга страна той е със силна социална значимост поради емоционално-психически и чисто икономически аспекти. Независимо от напредъка на технологиите и изследователската дейност, процентът на засегнатите пациенти остава постоянно висок. Това налага търсенето на нови насоки за определяне на причинно-следствените връзки и подобряване на резултатите. Множество проучвания показват сложните взаимодействия между микроорганизмите в човешкото тяло, влиянието им върху патогенезата и протичането на редица заболявания в това число и инфертилитета. Напредъкът в генетиката и новите технологии води до развитие на съвсем нови клонове в медицината като нутригенетиката и съответно с водеща роля на микробиома в изявата и протичане на заболяванията.

В тази връзка считам темата за изключително интересна, съвременна и един поглед в бъдещите насоки за развитие на медицината. Самият автор на дисертационния труд също определя ясно значимостта на проблема още в увода, а по-късно в изложението.

**Структура на дисертацията:** Трудът е написан на литературен български език и е изложен четливо и нагледно. Дисертационният труд е написан в обем от 181 страници, онагледен с 6 таблици и 45 фигури. Библиографията включва 267 източника, основно на чужди езици. Това показва съвременност на проблем и необходимост от българско проучване. Дисертационният труд включва: литературен обзор – 81стр., цел и задачи – 2стр., клиничен материал и методи –9стр. Резултати и обсъждане са 50стр., изводи – 3 стр., приноси– 2 стр., книгопис – 37 стр.

**Литературният обзор** е изключително богат, информативен , с цялостен анализ на съществуващите данни. Очертават се и основните проблеми: какъв е състава на ендометриалния микробиот при здрав и „Болен“(с репродуктивен неуспех) организъм и как всичко това влияе върху постугане на желана бременност.

**Поставената цел е:** *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.*

Целта е подробно формулирана и дава представа за поставяне на задачите.

Самите задачи са 6 и тяхното решение дава много добра възможност за постигане на поставената цел.

**Материал и методи:** Проучването е с про- и ретроспективен характер. Включени са общо 199 жени с RIF и RPL, диагностицирани, лекувани и проследени в МЦ КИРМ Плевен за периода м. октомври 2019 г. – м. ноември 2022 г. на средна възраст  $35,69 \pm 5,16$  години

Критериите за включване и изключване на оформените групи са правилни и точни.

Приложените методи за изследване са много разнообразни, всеобхватни и достатъчни за оценка на разработената тема. Това допринася за яснотата и добрия анализ на получените резултати.

**Статистическа обработка на резултатите:** Извършена е прецизно и методично. Използвани са утвърдени и съвременни методи за математически анализ на обработваните резултати.

**Резултатите** в проучването са представени последователно и систематизирано. Те следват последователно поставените задачи.

- ✓ Още при поставяне на първата задача: Опредеяне на количеството на лактобацилите в ендометриума при пациентки с повтарящи се имплантационни неуспехи и загуба на бременности, се цели решение на един от големите проблеми, свързан с инфертилитета. В съответствие с актуалните литературни данни се доказва високия процент на отклонения от приетите за нормални концентрации на лактобацили. Само при една четвърт от случаите се установи нормална концентрация на лактобацили. В останалите 76,4% има значително нарушение в нормалния състав на микробиома.

- ✓ По отношение на влиянието на възрастта върху количеството на лактобацилите в ендометриума при пациентки с RIF и RPL се установява, че при жените над 36 години има значително понижение на интраутеринните лактобацили, особено при раждали, сравнени с нераждали. От получените резултати в цялата група се потвърждава негативния ефект на възрастта върху лактобацилното насищане и доминиране
- ✓ Ценна за практиката е задача 4- Д-р Бодурска е анализирала дисбиотичния състав на нарушения микробиом, който показва най-често срещаните микроорганизми, а така също и влиянието им върху степента на нарушение в двете изследвани групи. Най-много (116 или 58,3%) са от *Fungi Candida spp.*, следвани от ОАНМ *Atopobium vaginae* с 30,7% и ОАНМ *Mobiluncus spp. plus Corynebacterium spp.* с 22,1%.
- ✓ При анализиране влиянието на изолираните дисбиотични микроорганизми върху степента на увреда на микробиома пациентките се разделят на две групи - с умерено и със силно нарушен микробиом. Установявана е негативна връзка между лактобацилите и факултативни и облигатни анаероби – *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Gardnerella*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Mobiluncus* и *Corynebacterium*, като тази негативна връзка е най-силно изразена при *Enterobacteriaceae*.
- ✓ Като особено полезно намирам последната задача „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“

-избор на достъп - трансцервикален достъп;

- пробовземане- избор на техниката на ендометриална биопсия пред аспирация, за да има възможност получаване на материал за изследване и от дълбоките слоеве на ендометриума.

- унифициране и селекция на пациентките за изследване, хирургичния метод и използвания инструментариум

При интерпретиране на собствените резултати от докторанта прави впечатление и е похвално, че следва обсъждане и съответните изводи, съпоставка с чужди източници.

**Изводите** са осем на брой, са изведени много точно, научно, академично. Произтичат от резултатите на проучването и са подкрепени с достатъчно данни. Получените резултати и изводи могат да послужат за подобряване успеваемостта и прогнозата на пациентките с репродуктивни проблеми.

Като особено полезен и клинично приложим смятам:

1. Повтарящите се репродуктивни неуспехи се асоциират с ендометриална дисбиоза в половината от изследваните случаи  
И
2. наличието на изразена връзка на повтарящите се репродуктивни неуспехи със силно нарушения микробиом.

**Приносите** са правилно формулирани, с научно-практическа стойност.

Особено ценно е разработената методика за класификация на видовете ендометриален микробиом, както и протоколите за изследване и последващо персонализирано етиологично лечение, комплексна оценка на маточната кухина.

**Публикации и участие в конгреси:** Докторантът е представил 7 публикации ,от тях като първи първи автор-4 , свързани с дисертационния труд.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:**

Представеният ми за становище дисертационен труд отговаря на всички изисквания на Правилника за научните степени. В него са представени научни резултати, които са ценни, актуални и приложими в ежедневната практика.

Въз основа на гореказаното давам положително становище за дисертационния труд на тема « **СЪСТАВ И ХАРАКТЕРИСТИКА НА ЕНДОМЕТРИАЛНИЯ МИКРОБИОМ ПРИ ПОВТАРЯЩИ СЕ РЕПРОДУКТИВНИ НЕУСПЕХИ**» за присъждането на образователна и научна степен “**ДОКТОР**” на Д-р **Татяна Трендафилова Бодурска-Петкова**.

02.07.2024 г.

Гр. София

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

/Доц. д-р Весела Карамешева, д.м./

## OPINION

By Associate Professor Vesela Karamisheva, MD, PhD

Department of Obstetrics and Gynecology

Faculty of Medicine, Medical University - Sofia

Clinic of General and Urogynecological Surgery

SBALAG "Maichin dom" Sofia

I am presenting this opinion in my capacity as an external member in a procedure of acquiring an educational and scientific degree "Doctor"; professional field 7.1 Medicine; doctoral program "Obstetrics and gynecology", according to the Order of the Rector of MU-Pleven, Prof. Dr. D. Dimitrov, MD PhD, No. 1432/28.05.2024 and decision of the Academic Council (Protocol No. 35/27.05.2024).

**About:** The dissertation of **Dr. Tatiana Trendafilova Bodurska-Petkova**, PhD student in independent form of study at the Department of Obstetrics and Gynecology of the Faculty of Medicine, MU-Pleven on the topic: **"COMPOSITION AND CHARACTERIZATION OF ENDOMETRIAL MICROBIOME IN RECURRENT REPRODUCTIVE FAILURE"** with scientific supervisors: **Assoc. Prof. Tihomir Pankov Totev, MD, PhD** and **Assoc. Prof. Emiliana Ilieva Konova, MD, PhD**.

The opinion was prepared on the basis of the presented Dissertation and Abstract. They are properly formulated and correspond to the requirements for structure of scientific work, according to the Law for Development of the Academic Staff in Republic of Bulgaria and the Rules for the Terms and Conditions for Acquiring Scientific Degrees and Occupation of Academic Positions at Medical University - Pleven.

Data for the PhD candidate:

Dr. Tatyana Trendafilova Bodurska-Petkova was born on February 15, 1980. She completed her secondary education at "Yane Sandanski" Secondary School, Gotse Delchev. She was accepted and graduated from Medical University - Sofia in 2003. In 2012, she acquired specialty "Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine" at Medical University - Pleven. From December 2007 to September

2019, she was an assistant at Medical University - Pleven in Department of Obstetrics and Gynecology. Since 01.10.2012 she is an obstetrician and gynecologist at MC CIRM, Pleven. She completed numerous courses and specializations in Bulgaria and abroad.

### **Relevance of the topic:**

Infertility, according to the WHO definition, belongs to the group of chronic diseases, which indicates the duration of the processes. On the other hand, it is of strong social significance due to emotional-psychological and purely economic aspects. Despite advances in technology and research, the percentage of affected patients remains consistently high. This necessitates the search for new guidelines for determining causal relationships and improving outcomes. Numerous studies have shown the complex interactions between microorganisms in the human body, their influence on the pathogenesis and course of a number of diseases, including infertility. Advances in genetics and new technologies lead to the development of completely new branches of medicine such as nutrigenetics and, accordingly, the leading role of the microbiome in the appearance and progression of diseases.

In this regard, I consider the topic extremely interesting, modern and a glimpse into the future directions for the development of medicine. The author of the dissertation also clearly defines the significance of the problem already in the introduction, and later in the exposition.

**Structure of the dissertation:** The work is written in literary Bulgarian and is presented legibly and clearly. The dissertation work is written in a volume of 181 pages, illustrated with 6 tables and 45 figures. The bibliography includes 267 sources, mainly in foreign languages. This shows the actuality of the problem and the need for a Bulgarian study. The dissertation includes: literature review - 81 pages, objective and tasks - 2 pages, clinical material and methods - 9 pages, results and discussion - 50 pages, conclusions - 3 pages, contributions - 2 pages, bibliography - 37 pages.

**The literature review** is extremely rich, informative, with a comprehensive analysis of existing data. The main problems are also outlined: what is the composition of the endometrial microbiota in a healthy and "Sick" (with reproductive failure) organism and how all this affects the achievement of a desired pregnancy.

**The objective is:** To implement a complex approach to initially assess the composition and characterization of the microbiome in the endometrium, to look for a relationship with its role in patients with recurrent implantation failures and recurrent miscarriages, and to create a protocol for its study based on gene technologies, with application in clinical practice.

The objective is formulated in detail and gives an idea of setting the tasks.

The tasks are 6 and their solution gives a very good opportunity to achieve the objective.

**Material and methods:** This is prospective and retrospective study. A total of 199 women with RIF and RPL, diagnosed, treated and followed up at MC CIRM Pleven for the period October 2019 - November 2022, with an average age of  $35.69 \pm 5.16$  years, were included.

The inclusion and exclusion criteria of the formed groups are correct and precise.

The applied research methods are diverse, comprehensive and sufficient to evaluate the developed topic. This contributes to the clarity and good analysis of the obtained results.

**Statistical processing of the results:** It was carried out precisely and methodically. Proven and modern methods for mathematical analysis of the processed results were used.

**The results** of the study are presented in a consistent and systematic manner. They consistently follow the assigned tasks.

- ✓ Setting the first task: Determining the amount of lactobacilli in the endometrium in patients with repeated implantation failures and pregnancy loss, the aim is to solve one of the major problems related to infertility. In accordance with current literature data, the high percentage of deviations from the accepted normal concentrations of lactobacilli is proven. A normal concentration of lactobacilli was found in only a quarter of the cases. In the remaining 76.4%, there is a significant disturbance in the normal composition of the microbiome.
- ✓ Regarding the effect of age on the amount of lactobacilli in the endometrium in patients with RIF and RPL, it was found that women over 36 years of age had a significant decrease in intrauterine



lactobacilli, especially in parous compared to nonparous. The results obtained in the entire group confirm the negative effect of age on lactobacilli abundance and dominance.

- ✓ Valuable for practice is task 4 – Dr. Bodurska analyzed the dysbiotic composition of the disturbed microbiome, which showed the most common pathogenic microorganisms, as well as their influence on the degree of disturbance in the two studied groups. The most (116 or 58.3%) were from *Fungi Candida spp.*, followed by OAHM *Atopobium vaginae* with 30.7% and OAHM *Mobiluncus spp. plus Corynebacterium spp.* with 22.1%.
- ✓ When analyzing the influence of the isolated dysbiotic microorganisms on the degree of damage to the microbiome, the patients are divided into two groups - with moderately and severely disturbed microbiome. A negative relationship was established between lactobacilli and facultative and obligate anaerobes - *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Gardnerella*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Mobiluncus* and *Corynebacterium*, and this negative relationship was most pronounced with *Enterobacteriaceae*.
- ✓ I find particularly useful the last task "To explore approaches to study the endometrial microbiome and to propose development of optimized protocol for its assessment using genome-based technologies":
  - Access selection - transcervical access;
  - Sampling - choosing the endometrial biopsy technique instead of aspiration, in order to obtain tissue from the deep layers of endometrium;
  - Unification and selection of patients for examination, surgical technique and used instrumentation.

Interpreting the own results, it is impressive and commendable that a discussion and relevant conclusions follow, comparing together with foreign sources.

There are 8 **conclusions** and they are drawn very precisely, scientifically, academically. Derived from research results and supported by sufficient data. The obtained results and conclusions can serve to improve the success rate and prognosis of patients with reproductive problems.

As particularly useful and clinically applicable I consider:

1. Recurrent reproductive failures are associated with endometrial dysbiosis in half of the studied cases  
And
2. The presence of pronounced relationship of repeated reproductive failures with highly disturbed microbiome.

**The contributions** are correctly formulated, with scientific and practical value.

Particularly valuable is the developed methodology for classification of endometrial microbiome types, as well as research protocols and subsequent personalized etiological treatment, complex evaluation of the uterine cavity.

Publications and participation in congresses: The doctoral student presented 7 publications and congress participations, in 4 of them as first author, related to the dissertation work.

### **CONCLUSION:**

The dissertation work submitted to me for opinion meets all the requirements of the Regulations for Scientific Degrees. It presents scientific results that are valuable, up-to-date and applicable in everyday practice.

Based on the above, I give a positive opinion on the dissertation work on the topic "**COMPOSITION AND CHARACTERIZATION OF ENDOMETRIAL MICROBIOME IN RECURRENT REPRODUCTIVE FAILURE**" for the awarding of educational and scientific degree "DOCTOR" to Dr. Tatiana Trendafilova Bodurska-Petkova.

02.07.2024

Sofia

The opinion was prepared by: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

Assoc.Proff. Vesela Karamisheva, MD, PhD