



До „Медицински Университет – Плевен
Факултет „Здравни Грижи“
Катедра „Клинична лаборатория, клинична имунология и алергология“

Становище

Относно дисертационен труд на тема **„Проучване на ендометриалния имунен профил и ендометриалната микробиота при жени с репродуктивни неуспехи“**, с автор д-р **Светла Огнянова Блажева** от Медицински Университет – Плевен. Катедра „Клинична лаборатория, клинична имунология и алергология“ за защита и получаване на научната степен “Доктор”, професионално направление 7.1. „Медицина“ по докторска програма “Имунология”.

от Доц. д-р Румен Г. Русев, д.м., Катедра „Анатомия, хистология, цитология и биология“, на Факултета по Медицина към Медицински Университет – Плевен; Научен Директор на Fertility and Cryogenics, Chicago, IL, САЩ и Управител на Репро Инова Имунологична Лаборатория към МЦ „Сигридов“ София.

Представеният за рецензиране дисертационен труд е актуално, задълбочено и с безспорно приносен характер изследване с научно-приложна стойност в областта на репродуктивната имунобиология. Тематиката на труда разглежда някои от характеристиките на ендометриалния имунен профил и микробиота при жени с репродуктивни неуспехи. Актуалността на проблема е свързана с повишаващото засягане от демографската криза на българското население и нуждата от фертилна популация и с крайна цел разработване на диагностични и терапевтични подходи.

Дисертационният труд е написан на 183 страници, структуриран като: Въведение; Литературен обзор; Цел; задачи; Материали и методи; Резултати; Дискусия; Изводи; Заключение и Приноси; Приложения. Илюстриран е с 21 фигури и 15 таблици. В библиографския списък са цитирани 336 литературни източника.

В представеният дисертационен труд, автора си поставя за цел да се проучат характеристиките на ендометриалният имунен профил и ендометриалната микробиота при жени с повтаряща се имплантационна недостатъчност и повтарящи се загуби на плода след ART процедури.

Осем задачи на проучването са формулирани по начин, позволяващ постъпателното вникване в проблема. Изследването преминава през няколко етапа: 1. Подбор и групиране на пациентите. 2. Внедряване на метод за определяне на ендометриалните левкоцитни популации. 3 и 4. Изследване на жени с репродуктивни проблеми след асистираните технологии за определяне на ендометриалните имунни клетки и чрез ДНК анализ на ендометриални биопсии. 5, 6 и 7. Анализ на резултатите и проучване значението на резултатите с възможности за терапия. 8. Изработване на алгоритъм за диагностика и терапия.

Експерименталният материал е подходящ за целите на изследването и е достатъчен обем за достоверен статистически анализ. Използваните методи са комплексни и адекватни на поставената цел. Те включват голям набор от високо информативни и взаимно допълващи се съвременни методи (събиране на ендометриални проби, изследване на ендометриалната микробиота чрез Femoflor 16 Real-time PCR, флоу-цитометрия,) и статистически анализи, осигуряващи достоверност на получените резултати.

Резултатите са описани подробно и задълбочено в 9 раздела, като са дискутирани подробно и критично. Получените резултати имат фундаментален характер с приложно значение за медицинската практика като молекулярно-генетичният анализ показва, че 77 биопсии имат значително нарушена микробиота с преобладаване на дисбиотични бактерии и намалени лактобацили. За разлика от предишни проучвания при ендометрити, резултатите на д-р Блажева показват по ниски нива на утеринните uNK CD16-/CD56+, но и по-висок % CD3+ клетки. Изследванията показват различия в имунния профил на пациентите и могат да имат важни клинични последици, които да повлияят на терапията и прогнозата.

От изследванията на д-р Блажева могат да се направят няколко обобщени извода: 1. Наличието на достатъчно ниво на Лактобацили е важно за ефективната имплантация; 2. Намалението им може да доведе до локално възпаление и съответно до количествени промени в разпределението на имунните клетки; 3. Дисбиозата на ендометриалната

микробиота може да е част от патогенеза при репродуктивните неуспехи; 4. Високите нива на левкоцитите свидетелстват за възпалителен процес; 5. Липсата на лактобацили може да доведе до локално възпаление с количествени промени в ендометриалните имунни клетки; 6. Пробиотиците могат да модулират ендометриалната микробиота и да бъдат нова терапевтична възможност.

Формулираните 5 приноси с оригинален характер отразяват правилно получените резултати и имат научно-приложна стойност. Разработена е методика за флуоцитометрично определяне на ендометриални лимфоцитни популации от биопсичен материал. Приложен е комплексен подход при изследване на биопсии, комбиниращ молекулярно-генетичен и флуоцитометричен анализ. Анализирано е влиянието на ендометриалната микробиота върху локалният имунен отговор. Използван е метод за групиране на ендометриални биопсии въз основа на състава на микробиотата. Направено е проучване, което оценява патогените от горните генитални пътища и тяхната роля за хроничния ендометрит и ендометриалната дисбиоза.

Списъкът на научните трудове на д-р Светла Блажева включва 4 заглавия в списания с IF. Има 10 участия в национални и международни научни форуми, както и участие и ръководство в два проекта във връзка с дисертацията.

Въз основа на гореизложеното, препоръчвам на уважаемият Научен съвет към Медицински Университет – Плевен да присъди научната степен “Доктор” по научна специалност “Имунология”, професионално направление „Медицина“, на д-р Светла Огнянова Блажева

10.05.2025

Рецензент: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

(доц. Д-р Румен Г. Русев, дм)

To the Medical University – Pleven
Faculty of Health Care
Department of Clinical Laboratory, Clinical Immunology and Allergology

Review

Regarding the dissertation entitled “*Study of the Endometrial Immune Profile and Endometrial Microbiota in Women with Reproductive Failures*”, authored by **Dr. Svetla Ognyanova Blazheva** from the Medical University – Pleven, Department of Clinical Laboratory, Clinical Immunology and Allergology, submitted for the acquisition of the scientific degree “Doctor” in the professional field 7.1. *Medicine*, within the doctoral program in *Immunology*.

By:

Assoc. Prof. Roumen G. Roussev, MD, PhD,

Department of Anatomy, Histology, Cytology and Biology,

Faculty of Medicine, Medical University – Pleven;

Scientific Director at Fertility and Cryogenics, Chicago, IL, USA;

Managing Director of Repro Innova Immunology Laboratory at MC “Sigridov,” Sofia.

The submitted dissertation is a current, in-depth, and undoubtedly original study with scientific and practical value in the field of reproductive immunobiology. The topic addresses some characteristics of the endometrial immune profile and microbiota in women with reproductive failures. The relevance of the problem lies in its connection to the increasing impact of the demographic crisis in Bulgaria and the need for a fertile population, with the ultimate goal of developing diagnostic and therapeutic approaches.

The dissertation is written in 183 pages and is structured as follows: Introduction; Literature Review; Aim; Objectives; Materials and Methods; Results; Discussion; Conclusions; Contributions; and Appendices. It is illustrated with 21 figures and 15 tables. The bibliography contains 336 cited sources.

The author aims to investigate the characteristics of the endometrial immune profile and microbiota in women with recurrent implantation failure and recurrent pregnancy loss after ART procedures.

Eight research objectives are formulated in a way that allows a stepwise understanding of the problem. The study proceeds through several stages:

1. Selection and grouping of patients;
2. Implementation of a method for determining endometrial leukocyte populations;
- 3 & 4. Investigation of women with reproductive issues after assisted reproductive technologies,

to determine endometrial immune cells and perform DNA analysis of endometrial biopsies;
5, 6 & 7. Analysis of results and investigation of their significance for therapy;

3. Development of a diagnostic and therapeutic algorithm.

The experimental material is appropriate for the aims of the study and is of sufficient volume for reliable statistical analysis. The applied methods are comprehensive and suitable for the objectives. They include a wide range of highly informative and complementary modern methods (collection of endometrial samples, analysis of endometrial microbiota via *Femoflor 16 Real-Time PCR*, flow cytometry), and statistical analyses ensuring the reliability of the results.

The results are described thoroughly across nine sections and are critically discussed. They have fundamental importance with practical medical implications, such as the molecular-genetic analysis showing that 77 biopsies presented significantly disrupted microbiota, with a predominance of dysbiotic bacteria and reduced lactobacilli. Contrary to previous studies on endometritis, Dr. Blazheva's results indicate lower levels of uterine uNK CD16-/CD56+ cells and a higher percentage of CD3+ cells. Her findings highlight differences in patients' immune profiles, which may have important clinical consequences affecting therapy and prognosis.

Several general conclusions can be drawn from Dr. Blazheva's study:

1. A sufficient level of Lactobacilli is essential for successful implantation;
2. Their reduction may lead to local inflammation and quantitative changes in immune cell distribution;
3. Dysbiosis of the endometrial microbiota may be part of the pathogenesis of reproductive failure;
4. High leukocyte levels indicate an inflammatory process;
5. The lack of lactobacilli may lead to local inflammation with quantitative changes in endometrial immune cells;
6. Probiotics may modulate the endometrial microbiota and serve as a new therapeutic option.

The five stated original contributions accurately reflect the obtained results and possess scientific and practical relevance. A methodology for flow cytometric determination of endometrial lymphocyte populations from biopsy material has been developed. A complex approach was applied in biopsy studies, combining molecular-genetic and flow cytometric analysis. The influence of endometrial microbiota on the local immune response was analyzed. A method for grouping endometrial biopsies

based on microbiota composition was used. A study evaluating upper genital tract pathogens and their role in chronic endometritis and endometrial dysbiosis was conducted.

Dr. Svetla Blazheva's list of scientific works includes 4 titles published in journals with impact factor. She has 10 participations in national and international scientific forums, as well as involvement and leadership in two research projects related to the dissertation.

Based on the above, I recommend that the esteemed Academic Council of the Medical University – Pleven confer the scientific degree of “Doctor” in the scientific specialty *Immunology*, professional field *Medicine*, to Dr. Svetla Ognyanova Blazheva.

12.05.2025

Reviewer: На основание чл. 59 от ЗЗЛД
Assoc. Prof. Dr. Rumen G. Rusev, MD, PhD