

# ЕМБРИОЛОГИЯ



ISSN 1312-7349



Настоящият брой се издава с финансовата подкрепа на МОН и Споразумение ДО1-308/20.12.2021 за Научна Инфраструктура по Клетъчни Технологии в Биомедицината от НПКНИ 2020-2027



This issue has been published with the kind support of the Ministry of Education and Science under Grant ДО1-308/20.12.2021 for the Research Infrastructure "Cell Technologies in Biomedicine" of the NRRI 2020-2027

ИЗДАВА БЪЛГАРСКА АСОЦИАЦИЯ  
ПО РЕПРОДУКТИВНА ЧОВЕШКА ЕМБРИОЛОГИЯ

ТОМ 12 КНИЖКА 1  
2022

## Чипове за селекция на сперматозоиди ZyMot™ / Fertile Chip® :

**Естествено, просто,  
ефективно селектиране  
на сперматозоиди**

**Оптимизиране на работния процес**

**Подобряване на резултатите**

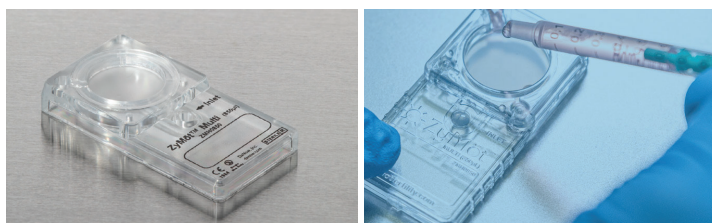
**Лесни за използване**

**Естествено, просто, ефективно  
селектиране на сперматозоиди**

**Без специално оборудване**

**Само 5 минути общо време за  
работа на проба**

**Производителност и качество  
на пробите**



Чиповете за селектиране на сперматозоиди ZyMöt са по-добър начин за обработка на сперматозоидите. Всеки е проектиран да осигурява проба с най-високо качество с възможно най-ниски нива на ДНК фрагментация, без необходимост от многократни центрофугирания, увреждащи сперматозоидите. По-здравите сперматозоиди водят до важни за пациентите резултати: подобрена прогресивна подвижност, по-висок дял на нормалната морфология, повишени нива на оплождане и по-високи нива на еуплоидия и бременност.

## СЪДЪРЖАНИЕ:

<b>Увод</b>	<b>2</b>
<i>Г. Николов</i>	
<b>Трансплантация на хемопоетични стволови клетки в Източна България</b>	<b>4</b>
<i>И. Резник, В. Геров, Й. Петров, С. Димитрова, А. Антонов, Т. Червенков, В. Калева, Е. Петева, Ц. Николова, И. Мичева</i>	
<b>Маточен микробиом</b>	<b>8</b>
<i>Е. Маринова, Р. Сотиров, Г. Николов</i>	
<b>Абстракти от Сателитен симпозиум “Стволовите клетки – нов хоризонт за персонализираната медицина”</b>	<b>13</b>
<i>Климентови дни на Биологически факултет към СУ “Св. Климент Охридски” 4-5 ноември 2022 г.</i>	

## CONTENTS:

<b>Introduction</b>	<b>3</b>
<i>G. Nikolov</i>	
<b>Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Eastern Bulgaria</b>	<b>4</b>
<i>I. Resnick, V. Gerov, Y. Petrov, S. Dimitrova, A. Antonov, T. Chervenkov, V. Kaleva, E. Peteva, C. Nikolova, I. Micheva</i>	
<b>Uterine microbiome</b>	<b>8</b>
<i>E. Marinova, R. Sotirov, G. Nikolov</i>	
<b>Abstracts from the Satellite Symposium “Stem Cells – New Horizon For Personalized Medicine”</b>	<b>14</b>
<i>Kliment’s Days of the Faculty of Biology, Sofia University “St. Kliment Ohridski”</i>	

### Редакционна Колегия

*Д-р Георги Николов, дб – главен редактор  
Проф. Пламен Тодоров, дбн – зам. гл. редактор*

### Членове:

*Акад. Румен Панков, дбн  
Проф. Росица Конакчиева, дбн      Димитър Баров  
Доц. д-р Иван Николов, дм      Десислава Тачева, дб  
Доц. Янчо Тодоров, дб      Диана Гуленова, дб  
Елена Христова, дб      д-р Георги Вакрилов*

### Предпечатна подготовка и печат

*"Л и Д Тера" ООД  
office@ldtera.eu*

### Чуждестранни членове:

*проф. Владимир Исаченко - Германия  
проф. Кристина Магли - Италия  
проф. Анна Вейга - Испания  
проф. Миодраг Стойкович - Сърбия*

Уважаеми колеги, скъпи приятели,

Пред вас е новото издание на списание Ембриология. Броят за изтеклата 2022 г. се появи в условия на невиджана за последните десетилетия икономическа и финансова криза в Света, провокирана от неспиращата война на Русия с Украйна и COVID-19 пандемията, която упорито отказва да приключи. През годината се случиха твърде много събития, за да бъдат описвани тук и сега, а и не това е целта на моето кратко въведение.

Не мога, обаче, да не спомена за Световното първенство по футбол и то не къде и да е, а в Катар и не кога и да е, а през късната есен на годината. Явно парите, многото пари, неимоверно многото пари купуват всичко – ръководството на FIFA, заместник-председател на Европейския парламент и най-вече „разумни“ обяснения на въпроса „Защо точно в Катар?“. Впрочем няма да се учудя, ако някои от следващите зимни олимпийски игри се проведат в Обединените арабски емирства...

На наш терен нещата определено не вървят – като се започне с родния футбол, премине се през образованието и здравеопазването и стигнем до почти пълната деградация на властите в родната ни република. Поредица от парламентарни избори без никаква перспектива за съставяне на нормално действащо правителство...

Какво ни остава? Да запазим душевния си интегритет и да не се поддаваме на тоталната разруха на ценностната система в България, а въпреки и по Света.

Честита и успешна 2023 година – по-здрава и по-креативна, а също и с много късмет!

*Д-р Георги Николов,  
Главен редактор*

Dear colleagues and friends,

We present to you the new Embryology issue compiled during an unprecedented economic and financial World-wide crisis, provoked by the Russian aggression over Ukraine and the Covid-19 pandemic which obviously refuses to end. 2022 was so eventful that I have neither the inclination, nor the space to describe in detail; in fact, that is not the purpose of my short expose.

However, I can't restrain myself from mentioning the FIFA World football cup which was held, guess where, in Qatar and not in the summer but late autumn. Obviously, money, lots of money, gazillion amounts of money can buy everything – FIFA officials, a Vice-President of the European parliament and mostly reasonable answers to the question “Why the hell in Qatar?”. By the way, I won't be surprised if one of the subsequent Winter Olympics is to be held in the UAE...

In Bulgaria things are no any better – starting from our ridiculous football championship, through the inadequacy of education and healthcare and up to the almost complete disarray of our institutions. A succession parliamentary elections with no clear perspective for an upcoming working government.

So, what are we left with? Hopefully to be able to preserve our personal integrity and not to give in to the total destruction of the value system in Bulgaria and, mind you, in the World as well.

Have a Happy and successful New Year 2023 – healthier and more creative for us all!

*Dr Gueorgui Nikolov, MD, PhD,  
Editor in chief*

# ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА ХЕМОПОЕТИЧНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ В ИЗТОЧНА БЪЛГАРИЯ

И. Резник\*, В. Геров, Й. Петров, С. Димитрова, А. Антонов, Т. Червенков,  
В. Калева, Е. Петева, Ц. Николова, И. Мичева  
УМБАЛ „Света Марина“, Варна; Медицински университет Варна, Варна, България

## HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN EASTERN BULGARIA

I. Resnick\*, V. Gerov, Y. Petrov, S. Dimitrova, A. Antonov, T. Chervenkov,  
V. Kaleva, E. Peteva, C. Nikolova, I. Micheva  
S. Marina University Hospital, Varna; Medical University of Varna, Varna, Bulgaria

### Увод

Въведената в края на 60<sup>-те</sup> години на миналия век трансплантация на хемopoетични (стволови) клетки (ТХСК), е първата и единствена конвенционална процедура от множество подходи за използване на стволови/прогениторни клетки в рутинната клинична практика. До момента в целия свят има информация за милион и половина различни видове трансплантации на хемopoетични клетки<sup>(1)</sup> за лечението на редица нелечими по друг начин химио- и имуночувствителни злокачествени и доброкачествени заболявания. По последни данни на Европейското дружество за трансплантация на кръв и костен мозък (ЕВМТ), България се намира на едно от последните места в Европа без регистрирано нарастване на активността на трансплантации на хемopoетични клетки между 2004 и 2014 г.<sup>(2)</sup> Единственият център за трансплантации до 2015 г. се намира в София. През 2016 г. изградихме и инсталирахме нов Център за костно-мозъчна трансплантация (КМТ) в УМБАЛ „Св. Марина“, Варна.

### Background

The hematopoietic (stem) cell transplantation (HCT) transplantation introduced in the late 1960s became the first and the only conventional procedure from multiple approaches to use stem/progenitor cells in routine clinical practice. Until now one and a half million different types of HCTs were reported all around the world<sup>(1)</sup> for the treatment of a range of otherwise incurable chemo- and immune-sensitive malignant and non-malignant diseases. According to the latest EBMT data, Bulgaria takes one of the last places in Europe and showed no registered increase in HCT activity between the years 2004 and 2014.<sup>(2)</sup> The only center for transplantation till 2015 was located in Sofia. In 2016 we constructed and installed a new Bone Marrow Transplantation (BMT) Center at S. Marina University Hospital, Varna.

### Материали и методи

Тук представяме ретроспективен анализ въз основа на базата данни на Центъра за КМТ във Варна. За периода 2015-2022 г. (септември) са извършени 248 трансплантации на хемopoетични клетки на 237 пациенти; от тях 164 получиха автоложна и 73 алогенна трансплантация (като първа трансплантация на хемopoетични клетки). Възрастта на пациентите е от 2 до 69 години. Статистическият анализ е извършен с помощта на Т-тест, еднопосочна ANOVA, U-тест на Mann-Whitney за групирани променливи, логаритмичен рангов тест за обща преживяемост (OS) и хи-квадрат за сравнения на разпределението.

### Резултати и дискусия

Автоложна трансплантация на хемopoетични клетки (ТХСК) са получили предимно пациенти с лимфоидни злокачествени заболявания: Болест на Ходжкин (HD) – 24 (15%), Неходжкинови лимфоми (NHL) – 55 (34%) и Множествен миелом (MM), както и други болести на плазмените клетки (PCD) – 72 (44%); освен това 5 пациенти са имали солидни тумори, 2 са имали остра миелoидна левкемия (AML), а 6 пациенти са получили

### Materials and Methods

Here we present a retrospective analysis based on the Varna BMT Center database. For the period 2015-2022 (September) 248 HCTs for 237 patients were performed; from them 164 got autologous and 73 allogeneic transplantations (as the first HCT). The patient's age was 2 to 69 years. Statistical analysis was performed using the T-test, one-way ANOVA, Mann-Whitney U-test for grouped variables, log-rank test for overall survival (OS), and chi-square for distribution comparisons.

### Results and Discussion

Autologous HCT received mostly patients with lymphoid malignancies: Hodgkin's disease (HD) – 24 (15%), non-Hodgkin's lymphomas (NHL) – 55 (34%) and multiple myeloma (MM) and other plasma cell diseases (PCD) – 72(44%); in addition, 5 patients had solid tumors, 2 had acute myeloid leukemia (AML), and 6 patients were transplanted for multiple sclerosis (MS) (a clinical trial), altogether 7%. Six years OS for the whole group is 43%. Most of the patients with lymphomas received BEAM or TECAM

трансплантация за множествена склероза (MS) (клинично изпитване), общо 7%. Шестгодишната обща преживяемост (OS) за цялата група е 43%. Повечето от пациентите с лимфоми са получили подготвителен режим ВЕАМ или ТЕСАМ, пациентите с Множествен миелом (ММ) са получили висока доза мелфалан. Сравнението на пациенти с лимфом от групата на УМБАЛ „Св. Марина“ (n=55) с последните публикувани данни на подобна група от регистъра на Европейското дружество за трансплантация на кръв и костен мозък (ЕВМТ) (проучване на Работната група по лимфома на Европейското дружество за трансплантация на кръв и костен мозък; n= 1149)<sup>(3)</sup> показва еднакви резултати: съответно 63% и 65% 36 месеца обща преживяемост (OS).

**Алогенна трансплантация на хемопоеични клетки (ТХСК)** е направена на 73 пациенти, предимно с левкемии: 21 (29%) с остра лимфобластна левкемия (ALL) и 39 (53%) с остра миелоидна левкемия (AML) (остра нелимфоцитна левкемия, ANLL); Болест на Хънтингтън (HD), Неходжкинов лимфом (NHL) и тежка апластична анемия SAA 4 (5%) и 1 (1%) пациент с Миелодиспластичен синдром (MDS). Протоколите за кондициониране преди трансплантация са миелоаблативни, базирани на комбинации от BuCy±ATG или FluCy±ATG в повечето случаи, с изключение на случаите със SAA (FluCyATG); за химиорезистентните пациенти с остра миелоидна левкемия (AML) са използвани протоколи, подобни на FLAMSA. Според вида на донора в 22 (30%) случая използвахме човешки левкоцитен антиген (HLA) (6 двойки алели) съвместими донори сиблинги, в 23 (32%) съвместими неродствени донори (MUD), в 3 (4%) 1 или 2 частично несъвместими донори и в 25 (34%) хаплоидентичен семеен донор. Медикаментозната профилактика при отхвърляне на присадка (GVHD) включва циклоспорин А (CsA), микофенолат мофетил (MMF) и циклофосфамид след трансплантация за всички трансплантации от хаплоидентични и избрани неродствени или несъвместими донори. Стратифицирането на пациентите според диагнозата, статуса на заболяването, вида на донора и т.н. е проблематично поради ограничения брой пациенти. При първото приблизително сравнение на най-новите публикации на Работната група по остра левкемия на Европейското дружество за трансплантация на кръв и костен мозък за остра миелоидна левкемия (AML), 24 месеца обща преживяемост (OS) за хаплоидентични донори и съвместими сиблинг донори, среден риск, CR1: 54% и 69%; висок риск, CR1: 61% и 50%;<sup>(4)</sup> съвместими сиблинг донори спрямо несродни донори, първично рефрактерни: 31% и 35%<sup>(5)</sup>; хаплоидентични донори спрямо съвместими неродствени донори (MUD) (10/10), несъвместими несродни донори (MMUD) (9/10), рецидивиращи/рефрактерни: 29%, 35% и 27%)<sup>(6)</sup> и УМБАЛ „Св. Ма-

preparative regimen, MM patients got high dose melphalan. Comparison of lymphoma patients from the S. Marina Hospital group (n=55) with the last published data of a similar group from the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) registry (study of the EBMT-Lymphoma Working Party; n=1149)<sup>(3)</sup> demonstrate equal results: 63% and 65% 36 months OS respectively.

**Allogeneic HCTs** were done for 73 patients, mostly with leukemias: 21 (29%) with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and 39 (53%) with AML (acute nonlymphocytic leukemia, ANLL); HD, NHL, and severe aplastic anemia SAA 4 (5%) each and 1 (1%) patient with MDS. Pre-transplant conditioning protocols were myeloablative, based on BuCy±ATG or FluCy±ATG combinations for most cases with exception of SAA cases (FluCyATG); for chemoresistant AML patients, FLAMSA-like protocols were used. According to the donor type in 22 (30%) cases we used HLA (6 allele pairs) matched sibling, in 23 (32%) matched unrelated (MUD), in 3 (4%) 1 or 2 loci mismatched, and in 25 (34%) haploidentical family donor. A medicamentous GVHD prophylaxis consisted of cyclosporin-A (CsA), mycophenolate mofetil (MMF), and post-transplant cyclophosphamide for all transplants from haploidentical and selected unrelated or mismatched donors. Stratification of patients according to diagnosis, disease status, donor type, etc. was problematic due to a limited number of patients. In the first approximation comparison of the most recent EBMT Acute Leukemia Working Party publications for AML, 24 months OS Haplo and MSD, intermediate risk, CR1: 54% and 69%; high risk, CR1: 61% and 50%;<sup>(4)</sup> MSD vs UD, primary refractory: 31% and 35%;<sup>(5)</sup> Haplo vs MUD (10/10), MMUD (9/10), relapsed/refractory: 29%, 35%, and 27%)<sup>(6)</sup> and S. Marina Hospital 24 months OS of the entire AML group (n=34, maximal follow up 4.1 years) 41% provide a rough idea that results are comparable. The graft-vs-host disease (GvHD) prevalence was not high: acute GvHD grade 2-4 developed in 15 (21%) and chronic GvHD in 6 (8%) transplanted patients; in 7 patients (10%) GvHD was the cause of death.

## Conclusion

The new Department in S. Marina University Hospital, Varna opens the possibility to get a spectrum of the major types of HCTs for patients with worldwide acceptable results in the regional center. The transplantation activity of the Department at present is about its upper limit: 15 to 20 allogeneic and 25 to 35 autologous HSC transplantations per year. Normalized

рина“ 24 месеца обща преживяемост (OS) на цялата група с остра миелоидна левкемия (AML) (n=34, максимално проследяване 4,1 години) 41% дават приблизителна представа, че резултатите са съпоставими. Разпространението на отхвърлянето на присадката (GvHD) не е високо: остра степен на GvHD 2-4 се развива при 15 (21%), а хронична GvHD – при 6 (8%) от пациентите с трансплантация; при 7 пациенти (10%) GvHD е причина за смъртта им.

### Заклучение

Новото отделение на УМБАЛ „Св. Марина“, Варна, открива възможност за установяване на спектъра от основните видове трансплантации на хемопоеични клетки за пациенти със приемливи в световен мащаб резултати в областния център. Трансплантационната активност на отделението до момента е около горната си граница: 15 до 20 алогенни и 25 до 35 автоложни трансплантации на хемопоеични стволови клетки годишно. Нормирана към населението на Източна България от приблизително 2.5 млн. жители, това дава в цифри 60-80 алогенни трансплантации и 100-140 автоложни трансплантации на 10 млн. жители годишно. Тези цифри все още са ниски: в развитите страни те са от порядъка на 200-300 до >300 на 10 млн. души за алогенни трансплантации и 300-400 до >400 за автоложни трансплантации на 10 млн. души население годишно според последното проучване на Европейското дружество за трансплантация на кръв и костен мозък от 2016 г., проведено от Passweg и други автори.<sup>(2)</sup> Ето защо считаме, че е необходимо разширяване и увеличаване на капацитета на Центъра за КМТ във Варна и изготвянето на специализирани и адаптирани ръководства за грижи за пациентите след трансплантация, както и достъп до информация, съобразена с нуждите на пациентите.

### Източници / References

1. Niederwieser D., Baldomero H., Bazuaye N. *et al.* One and a half million hematopoietic stem cell transplants: continuous and differential improvement in worldwide access with the use of non-identical family donors. *Haematologica*; 2022, 107(5):1045-1053.
2. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P. *et al.* Is the use of unrelated donor transplantation leveling off in Europe? The 2016 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. *Bone Marrow Transplant*, 2018, 53: 1139-1148.
3. Robinson, S., Boumendil, A., Finel, H. *et al.* Long-term outcome analysis of reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation in patients with mantle cell lymphoma: a retrospective study from the EBMT Lymphoma Working Party. 2018, *Bone Marrow Transplant*, 53: 617-624.
4. Salvatore D., Labopin M., Ruggeri A. *et al.* Outcomes of hematopoietic stem cell transplantation from

to the population of Eastern Bulgaria of approximately 2.5 million inhabitants it gives numbers 60-80 allo-HCTs and 100-140 auto-HSCs per 10M population per year. These numbers are still low: developed countries demonstrate numbers from 200-300 to >300 per 10M for allo-HCTs and 300-400 to >400 for auto-HCT per 10M population per year according to the latest EBMT survey from 2016 by Passweg *et al.*<sup>(2)</sup> Therefore, we consider the need for the enlargement and increase in power of the Varna BMT Center and the preparation of specialist and adapted guidelines for post-transplant patient care, as well as access to information tailored to patients.

### Acknowledgement

This research was financially supported by the European Commission Horizon 2020 Framework Program (project 856871—TRANSTEM).

### Благодарности

Настоящото изследване е финансирано от Рамковата програма „Хоризонт 2020“ на Европейската комисия (проект 856871—TRANSTEM).

\*Prof. Dr. Igor B. Resnik, D.Sci. is the corresponding author of this article

„St. Marina“ General Hospital, Varna, Bulgaria

\*Проф. Д-р Игор Б. Резник, д.м.н., е кореспондиращият автор на тази статия  
УМБАЛ „Света Марина“, бул. „Хр. Смирненски“ №1, Варна 9010, България

E-mail: resnick@mu-varna.bg

unmanipulated haploidentical versus matched sibling donor in patients with acute myeloid leukemia in first complete remission with intermediate or high-risk cytogenetics: a study from the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*, 2018, 103(8): 1317-1328.

5. Brissot E., Labopin M., Stelljes M. *et al.* Comparison of matched sibling donors versus unrelated donors in allogeneic stem cell transplantation for primary refractory acute myeloid leukemia: a study on behalf of the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *J Hematol Oncol.* 2017, 10(1): 130.
6. Brissot E., Labopin M., Ehninger G. *et al.* Haploidentical versus unrelated allogeneic stem cell transplantation for relapsed/refractory acute myeloid leukemia: a report on 1578 patients from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *Haematologica.* 2019, 104(3): 524-532.



Биосистеми ООД в качеството си на дистрибутор на *ESCO Medical*, предлага time-lapse инкубаторите *MIRI-TL* освен със специализирания *Viewer & Assist* софтуер на производителя и с годишен лиценз за валидиран *CHLOE* софтуер.



Отлични характеристики на уреда и висока добавена стойност на аналитичния софтуер:

- ◆ 6 или 12 самостоятелни инкубационни клетки
- ◆ температурен контрол и контрол на газовете за всяка клетка
- ◆ стабилна инкубационна среда без риск от кондензация (капак с нагряване)
- ◆ вградени смесител на газове и рН-контролна система
- ◆ вградени камера и микроскоп за непрекъснато наблюдение
- ◆ съхранение на данни за развитието на всеки ембрион: *Viewer & Assist*
- ◆ аналитична оценка на ембрионите: *CHLOE EQ, BLAST & RANK* (Fairtility)

*CultureCoin* за инкубиране на 14 ембриона в индивидуални ямки на едно петри

 биосистеми

 ESCO  
LIFESCIENCES GROUP



За повече информация: д-р Мая Кичева, Биосистеми ООД  
тел. 0887575365 ◆ електронна поща: [maya@biosystems.bg](mailto:maya@biosystems.bg)

## МАТОЧЕН МИКРОБИОМ

Е. Маринова, Р. Сотиров, Г. Николов

*Лаборатория по молекулярна генетика, МЦ „РепроБиоМед“ – София*

## UTERINE MICROBIOME

E. Marinova, R. Sotirov, G. Nikolov

*Laboratory of Molecular Genetics, Medical Centre ReproBioMed – Sofia*

При хората се откриват множество микроорганизми, най-често в симбиотични взаимоотношения както помежду си, така и с нашето тяло, подпомагайки нормалното му функциониране. При нарушение на тези съществуващи взаимодействия възниква дисбаланс на процесите и нарушение на нормалното функциониране на някои системи.

Съвкупността от всички микроорганизми, които живеят в нашето тяло или се намират върху него (напр. кожата), се нарича микробиом. Към него спадат бактерии, гъбички и вируси, които населяват определена част от организма. За първи път е описан като „екологична общност на коменсални, симбиотични и патогенни микроорганизми, които споделят определена част от нашето тяло“.<sup>(1)</sup> Така дефинирано, понятието „микробиом“ описва различните микроорганизми и взаимодействията помежду им и със средата на обитание. От молекулярно-генетична гледна точка, микробиомът описва генетичния материал на всички микроорганизми в дадена среда.

Условно човешкият микробиом би могъл да се раздели на няколко популации в различни части на тялото - кожа, дихателни пътища, урогенитален и гастроинтестинален тракт. Всяка една от споменатите популации има значение за нормалното функциониране на организма и мястото (системата), в която се намира. В този смисъл, микроорганизмите в урогениталния тракт имат важно значение за репродуктивните процеси. Нарушаване нормалния генитален микробиом може да доведе до различни негативни последствия като възпаления, инфекции, а в някои случаи дори до невъзможност за зачеване.

Вагиналната микрофлора се състои основно от „добри“ бактерии, като около 98% от тях са рода на *Lactobacillus*. Балансираният вагинален микробиом съдържа и минимално количество условно-патогенни микроорганизми като *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Atopobium vaginae*, *Candida* spp., *Gardnerella vaginalis* и други.<sup>(2)</sup> В случая, ключово значение за поддържане на баланса имат лактобацилите. Те притежават способността да произвеждат млечна киселина, която ефективно поддържа киселинна средата на влагалището с рН 3.8-4.5, като по този начин

Numerous microorganisms are found in the human body, which are most often in symbiotic relationships with each other and with our body, supporting its normal functions. When these existing interactions are disturbed, an imbalance of processes occurs and the normal functioning of some systems is disturbed.

The collective of all microorganisms living in / on our body (e.g. skin) is called the microbiome. It includes bacteria, fungi and viruses that reside in particular parts of the organism. It was first described as “an ecological community of commensal, symbiotic, and pathogenic microorganisms that share a particular part of human body”.<sup>(1)</sup> Thus defined, the term “microbiome” describes the various microorganisms and their interactions with each other and with their environment or from molecular genetic point of view - the microbiome describes the DNA/RNA of all microorganisms in a particular environment.

Conventionally, the human microbiome could be divided into several populations residing in different parts of the body - skin, respiratory tract, urogenital and gastrointestinal tract. Each of these populations is important for the normal functioning of the organism and the place (system) in which it is located. In this sense, microorganisms in the urogenital tract are important for the reproductive processes. Disruption of the normal genital microbiome can lead to various negative consequences such as inflammation, infection and in some cases even the inability to conceive.

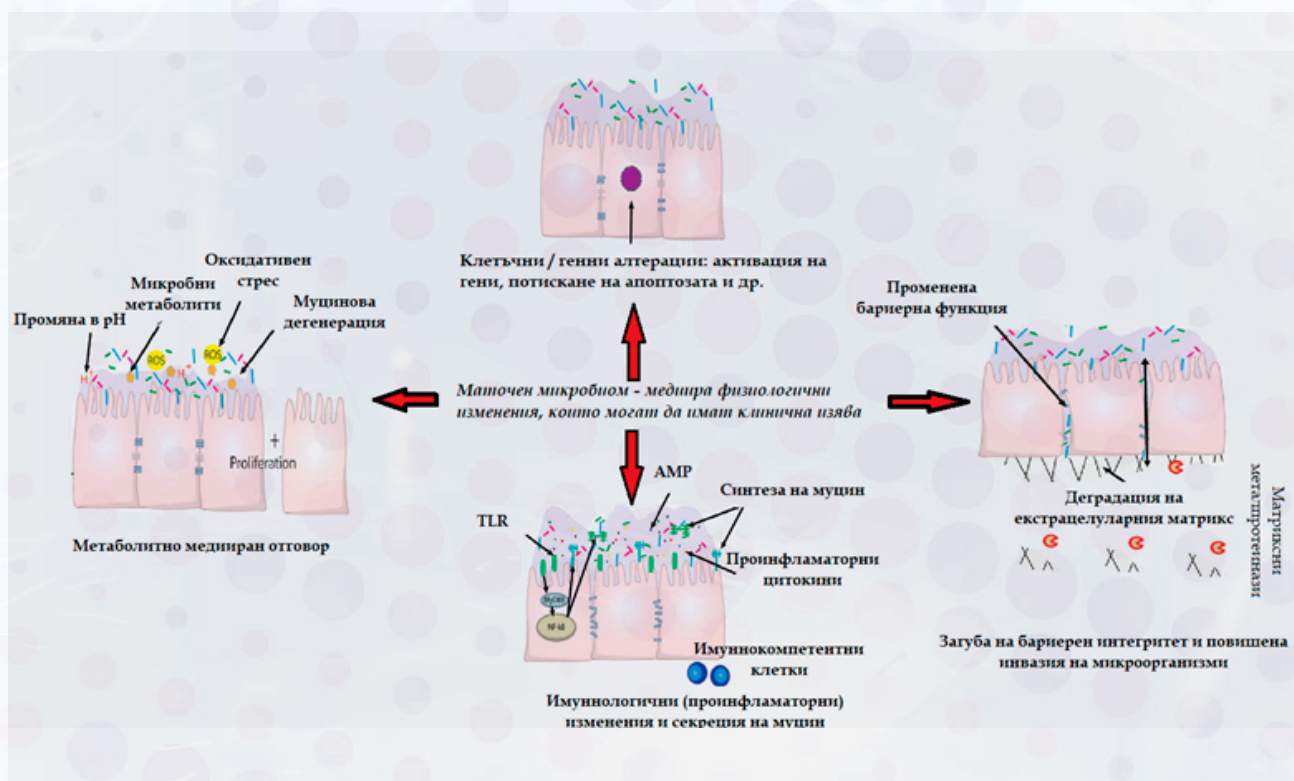
The vaginal microflora consists mainly of “good” bacteria, about 98% of which are of the genus *Lactobacillus*. A balanced vaginal microbiome also contains a minimal amount of conditionally pathogenic microorganisms such as *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Atopobium vaginae*, *Candida* spp., *Gardnerella vaginalis*, etc.<sup>(2)</sup> In this case, lactobacilli are key to maintaining the balance. They have the ability to produce lactic acid, which effectively maintains the acidic environment of the vagina at a pH of 3.8-4.5, thus providing an

осигурява неблагоприятни условия за развитие и разпространение на патогените. При нарушение баланса на вагиналния микробиом, количеството на лактобацилите се понижава, което благоприятства развитието на патогенни микроорганизми (Фиг. 1).

Дълги години се е смятало, че матката е стерилна и в нея не се срещат микроорганизми, подобно на други части на тялото, напр. перитонеалната кухина. Последните проучвания обаче показват, че това не е така (2, 3, 7-9). Точно обратното, матката притежава собствена микрофлора, която е представена основно от лактобацили, очевидно свързана с нормалната вагинална биоценоза. В много малка степен е възможно да се открият и други видове като Gardnerella, Atopobium и Streptococcus. Нарушаване баланса на маточния микробиом е съпроводен с развитие на тези и други патогенни микроорганизми, което от своя страна може да доведе до неспецифични възпаления и да повлияе неблагоприятно процесите на имплантация на ембриона (5). Изобилието на патогени в маточната кухина води до промяна на рН на средата, производство на възпалителни цитокини от страна на ендометриума и генериране на свободни радикали (Фиг.1) (4).

unfavorable environment for the development and spreading of pathogens. When the balance of the vaginal microbiome is disturbed, the number of lactobacilli decreases, which favours the development of pathogenic microorganisms (Fig. 1).

For many years, it was believed that the uterus was sterile and did not harbour microorganisms like other parts of the body, e.g. the peritoneal cavity. However, recent studies have shown that this is not the case (2, 3, 7-9). On the contrary, the uterus has its own microflora, which is mainly represented by lactobacilli, apparently related to the normal vaginal biocenosis. Other species such as Gardnerella, Atopobium and Streptococcus are also detectable to a very small extent. Disruption of the balance of the uterine microbiome is accompanied by the development of these and other pathogenic microorganisms, which in turn can lead to nonspecific inflammation and adversely affect the processes of embryo implantation. The abundance of pathogens in the uterine cavity leads to a change in the pH of the environment, production of inflammatory cytokines by the endometrium, and generation of free radicals (Fig. 1) (4).



Фиг.1. Патогенетични механизми на увреда при промяна в нормалния ендометриален микробиом (4)  
 Fig.1. Pathogenetic mechanisms of disturbance in case of alteration of the normal endometrial microbiome through four basic pathways – cell/gene alterations (top), altered barrier function (right), immune (inflammatory) changes and increased secretion (bottom) and metabolically mediated response (left) (4)

Хипотезата за нестерилната матка и нарастващите доказателства, които сочат важната роля на вагиналния и маточния микробиом за здравето на жените, предполагат, че микроорганизмите са от ключово значение за имплантацията и поддържането на бременността.<sup>(5)</sup> Промените в маточната среда биха могли да намалят успеха на IVF процедурите, вероятно чрез задействане на имунни реакции и метаболитни флуктуации. При двойки с репродуктивни проблеми, установяване развитието на патогенни микроорганизми в репродуктивния тракт, респ. нарушение на микробиома в маточната кухина и последващо целенасочено лечение, може да помогне за по-добри резултати при асистираната репродукция.

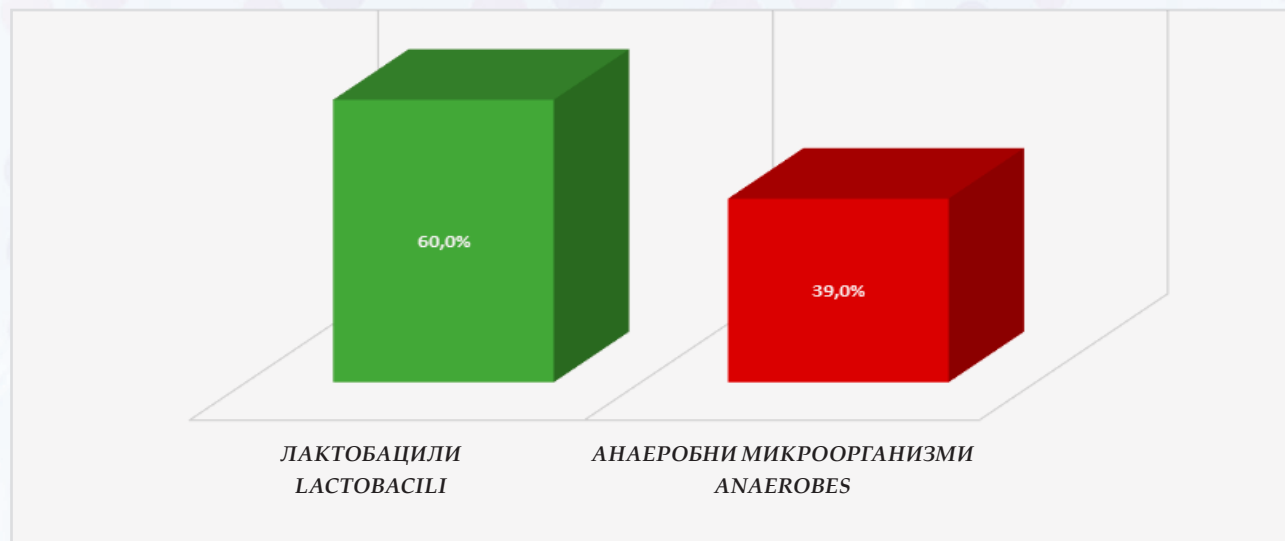
В наше проучване на приложимостта и значимостта на тази концепция, използвахме стандартна real-time PCR техника за детектиране на панел от микроорганизми от ендометриални проби на 270 пациенти с репродуктивни неуспехи. Извършен бе подбор на жени с инфертилитет и повтарящи се имплантационни неуспехи (RIF). На базата на предварителна консултация бе предложена декларация за информирано съгласие за участие в изследването. Пробите бяха взети от жени на възраст между 25 и 43 г. с доказан стерилитет и/или патология на ендометриума.<sup>(6)</sup>

При пациентите, съгласно утвърден протокол, бе предприета ендометриална биопсия в средна лутеална фаза. Биопсията бе извършвана съгласно стандартна процедура чрез офис-хистероскопия или вакуумно шприх-абразия (по Пипеле), като взетата тъкан за анализ се съхранява за не повече от 24 часа при +4°C във физиологичен разтвор. След това, пробите бяха почиствани и подготвени за изолиране на ДНК по установен и валидиран протокол. Последващата PCR реакция детектира наличието на микроорганизми, които най-често се откриват в маточния микробиом.

The non-sterile uterus hypothesis and growing evidence pointing to the important role of the vaginal and uterine microbiome in women's health suggest that microorganisms are crucial for implantation and pregnancy maintenance.<sup>(5)</sup> Changes in the uterine environment could reduce the success of IVF procedures, possibly by triggering immune responses and metabolic fluctuations. In couples with reproductive problems, detection of the development of pathogenic microorganisms in the reproductive tract, or disturbance of the uterine cavity microbiome, and subsequent targeted treatment, respectively, may help improve assisted reproduction outcomes.

In our study of the feasibility and relevance of this concept, we used a standard real-time PCR technique to detect a panel of microorganisms from endometrial samples of 270 patients with reproductive failure. Women with infertility and recurrent implantation failure (RIF) were selected. A declaration of informed consent for participation in the study was offered based on a preliminary consultation. Samples were collected from women aged between 25 and 43 years with proven infertility and/or endometrial pathology.<sup>(6)</sup>

The patients, according to an established protocol, underwent endometrial biopsy in the mid-luteal phase. The biopsy was performed according to standard procedure by office hysteroscopy or vacuum aspiration (Pipelle's method), and the tissue taken for analysis was stored for no more than 24 hours at +4°C in saline solution. Samples were then cleaned and prepared for DNA isolation according to an established and validated protocol. The subsequent PCR reaction detected the presence of microorganisms most commonly found in the uterine microbiome.



Фиг.2. Честота на детекция на нормална микрофлора и анаероби в биопсични проби от ендометриум  
Fig.2. Prevalence of Normal microflora and anaerobic bacteria in endometrial biopsy samples

В получените резултати диференцирахме от цялостната бактериална маса, нормофлора (лактобацили), както и 21 различни аеробни и анаеробни микроорганизми, гъби и микоплазми. *Lactobacillus* е основно срещания бактериален представител, като в нашето проучване се среща в 60% от общия брой пациенти, включени в проучването (Фиг. 2).

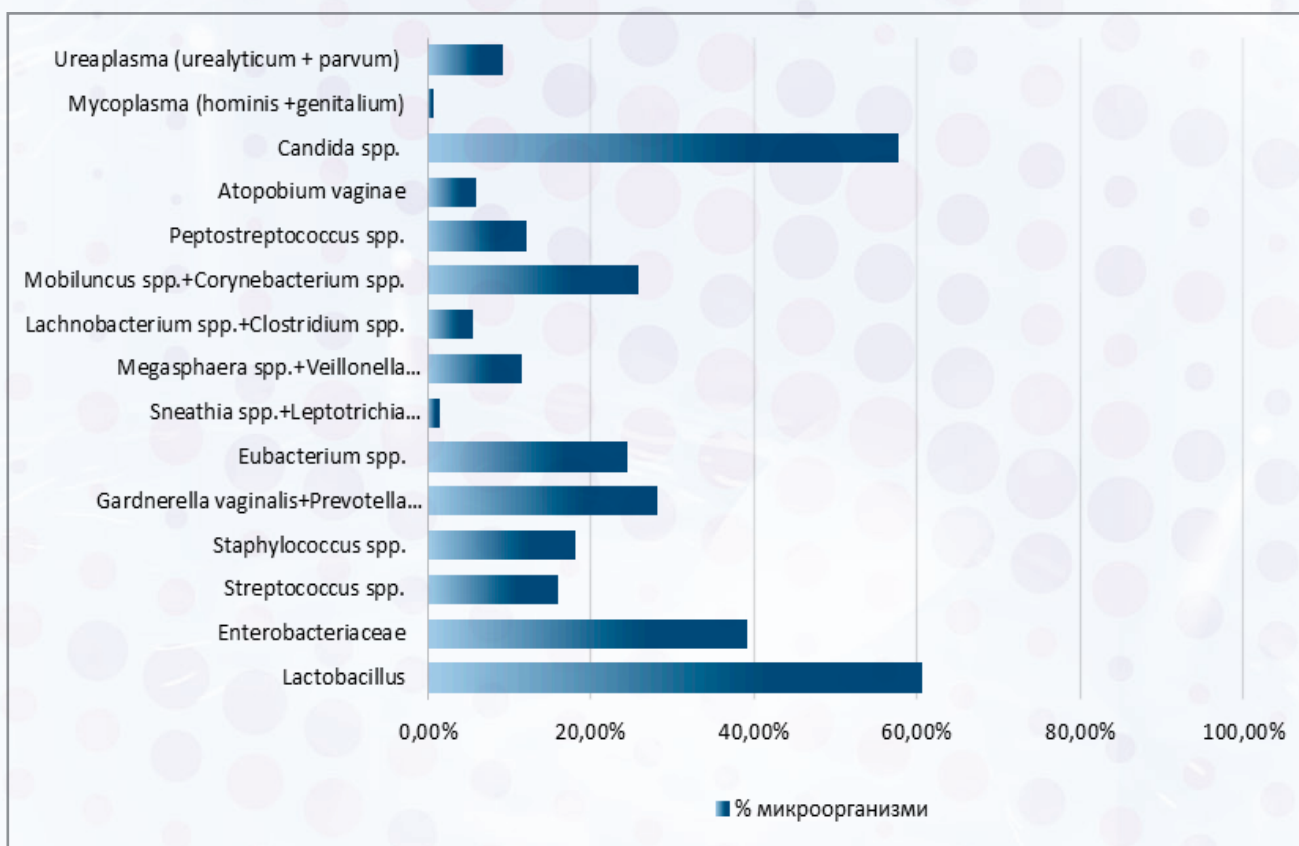
От присъстващите анаеробни бактерии (39%) най-често се срещат *Gardnerella*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Peptostreptococcus* и *Atopobium*. По-рядко се срещат *Staphylococcus* и *Streptococcus*, както и *Mycoplasma* и *Ureaplasma* spp. (Фиг. 3). Наличието на този тип патогенни бактерии в ендометриума, заедно с изчерпването на *Lactobacillus* spp., показва нарушение в микрофлората на маточната кухина и би могло да е свързано с нарушена рецептивност на ендометриалната лигавица и репродуктивни неуспехи, както предполагат и *Cela V. et al.* в едно скорошно проучване.<sup>(7)</sup> Редица проучвания сочат, че ендометриалният микробиом трябва да се разглежда като възможна възникваща причина за неуспешна имплантация и/или загуба на бременност.<sup>(5, 8, 9)</sup>

При голяма част от пробите (58%) се среща *Candida* spp., но не е напълно доказано значението в цялостната оценка на ендометриалния микробиом.

In the results obtained, we differentiated from the total bacterial mass, normal flora (*Lactobacilli*), as well as 21 different aerobic and anaerobic microorganisms, fungi and mycoplasmas. *Lactobacillus* was the predominant bacterial representative, occurring in 60% of the total number of patients included in our study (Fig. 2).

Of the anaerobic bacterial microorganisms present (39%), *Gardnerella*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Peptostreptococcus*, *Atopobium* were the most common. Less common were *Staphylococcus* and *Streptococcus*, as well as *Mycoplasma* and *Ureaplasma* sp. (Fig. 3). The presence of this type of pathogenic bacteria in the endometrium, together with the depletion of *Lactobacillus* spp. indicates a disturbance in the microflora of the uterine cavity and could be related to impaired receptivity of the endometrial mucosa and reproductive failures, as suggested by *Cela V. et al.* in a recent study.<sup>(7)</sup> A number of studies have suggested that endometrial microbiome should be considered as a possible emerging cause of implantation failure and/or pregnancy loss.<sup>(8, 9)</sup>

*Candida* spp. was also present in the majority of samples (58%), but its importance in the overall evaluation of the endometrial microbiome has not been fully established.



Фиг.3. Разпределение на получените микроорганизми от ендометриални проби N = 270  
 Fig.3. Distribution of microorganisms obtained from endometrial samples N = 270

Lactobacillus spp. и неговото доминантно присъствие в ендометриалния микробиом, служи като своеобразен биомаркер, предсказващ успеха на ин витро процедурите.<sup>(6,8)</sup> Прилагането на изследването за ендометриален микробиом, като подготовка преди ин витро процедура и ембриотрансфер при пациенти с репродуктивни неуспехи, значително подобрява прогнозирането, диагностиката и стратегиите за лечение.<sup>(2,10)</sup>

Въпреки, че повечето проучвания показват, че голямото изобилие от Lactobacillus spp. представлява идеална среда за имплантиране на ембриони и реализиране на бременност, няма консенсус за това доколко и как микробиомът на ендометриума влияе върху репродуктивните процеси. Необходимо са повече проучвания, за да се анализира механизъмът за това как патогенните микроорганизми могат да повлияят на имплантирането на ембриона.

#### Благодарности

Част от изследванията са проведени с финансовата подкрепа на Ф НИ Договор КП-06-Н33/13

#### Източници / References

1. Lederberg J, McCray AT. 'Ome sweet' omics—a genealogical treasury of words. 2001, *Scientist*, 15:8.
2. Toson B., Simon C., Moreno I. The Endometrial Microbiome and Its Impact on Human Conception. 2022, *Int J Mol Sci*, 23: 485.
3. Møller BR, Kristiansen FV, Thorsen P. *et al.* Sterility of the uterine cavity. 1995, *Acta Obstet Gynecol Scand*, 74: 216-219
4. Baker JM, Chase DM, Herbst-Kralovetz MM. Uterine Microbiota: Residents, Tourists, or invaders? Review. 2018, *Frontiers in Immunology*, 9, 208: 1-16
5. Franasiak JM, Alecsandru D, Forman EJ *et al.*, A review of the pathophysiology of recurrent implantation failure. 2021, *Fertil Steril*, 116(6): 1436-1448
6. Kyono K., Hashimoto T., Kikuchi S. *et al.* A pilot study and case reports on endometrial microbiota and pregnancy outcome: An analysis using 16S rRNA gene sequencing among IVF patients, and trial therapeutic

Lactobacillus spp. and its dominant presence in the endometrial microbiome serves as a unique biomarker predicting the success of in vitro procedures.<sup>(6,8)</sup> The use of endometrial microbiome testing as a preparation before in vitro procedure and embryo transfer in patients with reproductive failures significantly improves prognosis, diagnostics, and treatment strategies.<sup>(2,10)</sup>

Although most studies have shown that the abundance of Lactobacillus spp. is an ideal environment for embryo implantation and realization of pregnancy, there is no consensus on how much and how the endometrial microbiome influences reproductive processes. More studies are needed to analyze the mechanism of how pathogenic microorganisms may affect embryo implantation.

#### Acknowledgements

Part of the research was conducted with the financial support of NSF under Grant КП-06-Н33/13

- intervention for dysbiotic endometrium. 2019, *Reprod Med Biol*. 2019; 18: 72- 82.
7. Cela V., Daniele S., Obino MER *et al.* Endometrial Dysbiosis Is Related to Inflammatory Factors in Women with Repeated Implantation Failure: A Pilot Study. *J Clin Med.*, 2022, 11(9): 2481.
8. Moreno I., Codoñer FM, Vilella F. *et al.* Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. 2016, *Am J Obstet Gynecol.*; 215(6): 684-703.
9. Ichiyama T., Kuroda K., Nagai. Y. *et al.* Analysis of vaginal and endometrial microbiota communities in infertile women with a history of repeated implantation failure. 2021, *Reprod Med Biol*; 20: 334- 344.
10. Moreno I., Simon C. Deciphering the effect of reproductive tract microbiota on human reproduction. 2019, *Reprod Med Biol*; 18: 40-50.



БИОЛОГИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ  
СОФИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ

# КЛИМЕНТОВИ ДНИ

*4. НОЕМВРИ 2022 г.*

**eatris**  
BULGARIA

САТЕЛИТЕН СИМПОЗИУМ  
“СТВОЛОВИТЕ КЛЕТКИ –  
НОВ ХОРИЗОНТ ЗА  
ПЕРСОНАЛИЗИРАНАТА  
МЕДИЦИНА”

*4. - 5. НОЕМВРИ 2022*

## АБСТРАКТИ

*СОФИЯ, 2022*



FACULTY OF BIOLOGY  
SOFIA UNIVERSITY

# SCIENTIFIC CONFERENCE KLIMENT'S DAYS

*4th NOVEMBER 2022*

**eatris**  
BULGARIA

## SATELLITE SCIENTIFIC SYMPOSIUM STEM CELLS - NEW HORIZON FOR PERSONALIZED MEDICINE

*4th - 5th NOVEMBER 2022*

# ABSTRACTS

*SOFIA, 2022*



## БИОЛОГИЯ НА СТВОЛОВИТЕ КЛЕТКИ - РАЗВИТИЕ И ПЕРСПЕКТИВИ

Р. Панков

*Катедра „Клетъчна биология и биология на развитието“,  
Биологически факултет, СУ „Св. Климент Охридски“*

### BIOLOGY OF STEM CELLS - DEVELOPMENT AND PERSPECTIVES

R. Pankov

*Department of Cell and Developmental Biology,  
Faculty of Biology, Sofia University "St. Kliment Ohridski", Bulgaria*

Плурипотентните стволови клетки (PSC) притежават неограничен пролиферативен потенциал, който, съчетан със способността им да се диференцират във всички клетки на човешкото тяло, ги прави изключително атрактивен източник на материал за регенеративна медицина. Днес, двадесет и четири години след създаването на първите човешки PSC, биологията на стволовите клетки отбеляза съществен скок в разбирането на клетъчната пластичност. Идентифицирането на различни плурипотентни състояния и установяването на факторите, които могат да ги стабилизират в лабораторни условия, ни доближи значително до разбирането на тотипотентността, типична за бластомерите. Алтернативен подход, заместващ генерирането на iPS клетки с транскрипционни фактори, използвани от Яманака, сега позволява препрограмиране на соматични клетки с коктейл от малки молекули, инхибиращи специфични сигнални пътища и модифициращи епигенетичното състояние. Този революционен метод за генериране на CiPS клетки е значителна стъпка към генериране на стабилни и рентабилни GMP плурипотентни клетки. В допълнение, новата платформа за химическо препрограмиране предоставя възможност за изучаване на важни аспекти от все още слабо проучените възможности за регенерацията на човешката тъкан.

Pluripotent stem cells (PSCs) possess unlimited proliferative potential, which, combined with their ability to differentiate into all cells of the human body, makes them an extremely attractive source of material for regenerative medicine. Today, twenty-four years after the creation of the first human PSCs, stem cell biology has marked a major leap in the understanding of cellular plasticity. The identification of different pluripotent states and establishing the factors that can stabilize them in laboratory conditions brought us significantly closer to understanding the totipotent blastomere state. An alternative approach, replacing the generation of iPS cells with transcription factors used by Yamanaka, now allows somatic cell reprogramming with a cocktail of small molecules inhibiting specific signaling pathways and modifying the epigenetic state. This exciting method for generation of CiPS cells is a significant step towards generating defined and cost-effectively GMP-manufactured pluripotent cells. In addition, the new chemical reprogramming platform provides an opportunity to study important aspects of the still understudied capabilities of human tissue regeneration.

# СТВОЛОВИ КЛЕТКИ В РЕПРОДУКТИВНАТА СИСТЕМА - ЗНАЧЕНИЕ ЗА ЛЕЧЕНИЕТО НА БЕЗПЛОДИЕТО

П. Тодоров

*Институт по биология и имунология на размножаването - БАН, София*

## STEM CELLS IN THE REPRODUCTIVE SYSTEM - IMPLICATIONS FOR THE TREATMENT OF INFERTILITY

P. Todorov

*Bulgarian Academy of Sciences, Institute of Biology and Immunology of Reproduction, Sofia*

Безплодието е важен медицински и социален проблем, който засяга 10-12% от двойките в репродуктивна възраст. Въпреки че в наши дни за клинична употреба са достъпни съвременни методи за диагностика и лечение (техники за асистирана репродукция, роботизирана хирургия и други), процентът на успеваемостта все още е нисък. Тази предпоставка обуславя необходимостта от търсене на нови подходи за лечение на безплодието. Големи надежди в това отношение се възлагат на стволовите клетки.

Добре известно е, че ембрионите и репродуктивните органи съдържат различни видове стволови клетки - тотипотентни, плурипотентни, мултипотентни и различни прогенитори. Изследванията върху експериментални модели и клиничните изпитвания в начален стадий при хора показват, че стволовите клетки могат да се използват за подобряване на функцията на яйчниците (при жени с преждевременна овариална недостатъчност), за улесняване на имплантацията (за възстановяване на ендометриума), за запазване на фертилитета при млади момчета с предстояща химио-/радиотерапия (криоконсервация на сперматогониални стволови клетки), *in vitro* генериране на мъжки и женски гамети (от ембрионални или индуцирани плурипотентни стволови клетки), индуциране на изкуствени ембриони (като модел за изследване на процесите на имплантация и органогенеза), терапевтично клониране (междувидов ядрен трансфер) и др.

В този доклад ще бъде направен преглед на стволовите клетки, разположени в репродуктивните органи, и на съвременните постижения в опитите за използването им при лечение на безплодие. Важно е да се отбележи, че по-голяма част от методите са експериментални и все още не са намерили широко приложение в репродуктивната медицина.

Infertility is an important medical and social issue affecting 10 - 12% of the couples of reproductive age. Although nowadays modern methods for diagnosis and treatment are available for clinical use (techniques for assisted reproduction, robotic surgery and others) the success rate is still low. This prerequisite defines the necessity to search for new approaches for infertility treatment. High hopes in this respect are held in stem cells.

It is well known that the embryos and reproductive organs contain various types of stem cells - totipotent, pluripotent, multipotent and different progenitors. Research on experimental models and initial stage clinical trials in humans show that stem cells can be used to improve the ovarian function (in women with premature ovarian failure), to facilitate the implantation (for endometrial regeneration), fertility preservation in young boys with upcoming chemo/radiotherapy (cryopreservation of spermatogonial stem cells), *in vitro* generation of male and female gametes (from embryonic or induced pluripotent stem cells), induction of artificial embryos (as a model to investigate the processes of implantation and organogenesis), therapeutic cloning (interspecies nuclear transfer), etc.

In this report, an overview of the stem cells located in the reproductive organs and the current achievements in the attempts to use them in infertility treatment will be presented. It is important to be noted, that most of the methods are experimental and still have not found wide application in reproductive medicine.

# ИНДУЦИРАНИ ОТ ЧОВЕК ПЛУРИПОТЕНТНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ: УНИКАЛЕН ИНСТРУМЕНТ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ НА ВЪЗДЕЙСТВИЕТО НА ЗАМЪРСЯВАНЕТО С ПЛАСТМАСИ ВЪРХУ ЧОВЕШКОТО ЗДРАВЕ

М. Стойкович<sup>1</sup> и К. М. Станкович<sup>2</sup>

<sup>1</sup> SPEBO Medical, Лесковац, Сърбия

<sup>2</sup> Катедра по отоларингология – Хирургия на глава и шия,  
Медицински факултет към Станфордския университет, Станфорд, Калифорния

## HUMAN INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS: A UNIQUE TOOL TO STUDY THE IMPACTS OF PLASTIC POLLUTION ON HUMAN HEALTH

M. Stojkovic<sup>1</sup> and K. M. Stankovic<sup>2</sup>

<sup>1</sup> SPEBO Medical, Leskovac, Serbia

<sup>2</sup> Department of Otolaryngology – Head and Neck Surgery,  
Stanford University School of Medicine, Stanford, California

Замърсяването с пластмаса нараства с тревожни темпове, но въздействието на това замърсяване върху човешкото здраве е слабо проучено. След разграждането си пластмасите се появяват под формата на микропластмаси (MP) и нанопластмаси (NP), които могат да бъдат открити във въздуха, водата, почвата и храните. Наноразмерните пластмасови частици могат да преминават биологичните бариери и да се натрупват в различни животински органи, предизвиквайки функционални промени в клетките и органите. Използвайки кохлеарен експлант на мишка като нова *in vitro* система, ние потвърдихме последиците от взаимодействието на полистирен (PS) -MP/NP с клетките на вътрешното ухо, като открихме агрегати и хетероагрегати от полистиренови частици във власинковите клетки. Освен това в тестисите на третирани мъжки животни се натрупва MP/NP в интерстициалното пространство около семенните тубули, което е свързано с намаляване на нивата на тестостерон. При мъжките мишки се наблюдава повишена секреция на интерлевкини IL-12p35 и IL-23 от спленоцитите, а тестовите за цито- и генотоксичност показват нарушена жизнеспособност на клетките и повишено увреждане на ДНК в тъканта на далака. Доказахме също, че в условия *in vitro* частиците MP/NP се интернализират от човешки бластоцити и различни клетъчни типове, включително индуцирани от човек плурипотентни стволови клетки (hiPSC), като повлияват на транскрипционния профил на ембрионите и hiPSC. Чрез математическо моделиране (hiPathia и MIGNON) на човешките сигнални пътища демонстрирахме участието на многобройни болестни механизми, включително рак, възпалителни заболявания, глюконеогенеза, въглехидратен метаболизъм и вроден имунитет. В същото време два гена за плурипотентност, LEFTY1 и LEFTY2, които кодират секретирани лиганди на TGF-beta, бяха с понижено съдържание, докато CA4 и OCLM, които са свързани с развитието на очите, бяха повишени и в двете проби.

Plastic pollution is increasing at an alarming rate yet the impact of this pollution on human health is poorly understood. After degradation, plastics appear as microplastics (MP) and nano plastics (NP) which can be found in the air, water, soil, and food. Nanosized plastic particles can cross biological barriers and accumulate in different animal organs inducing functional changes in cells and organs. Using mouse cochlear explant as a novel *in vitro* system, we confirmed the consequences of polystyrene (PS)-MP/NP interaction with inner ear cells by detecting aggregates and hetero-aggregates of PS particles in hair cells. Additionally, the testes of treated male animals accumulated MP/NP in the interstitial compartment surrounding the seminiferous tubules, which was associated with a decrease in testosterone levels. Male mice showed increased secretion of interleukins IL-12p35 and IL-23 by splenocytes while cyto- and genotoxicity tests indicated impaired cell viability and increased DNA damage in spleen tissue. We also demonstrated that under *in vitro* conditions, MP/NP particles are internalized by human blastocysts and different cell types, including human induced pluripotent stem cells (hiPSC) affecting the transcriptional profile of embryos and hiPSC. Through mathematical modeling (hiPathia and MIGNON) of human signaling pathways, we demonstrated the involvement of numerous disease mechanisms including cancer, inflammatory disorders, gluconeogenesis, carbohydrate metabolism, and innate immunity. At the same time, two pluripotency genes, LEFTY1 and LEFTY2, which encode secreted ligands of the TGF-beta, were downregulated, while CA4 and OCLM, which are related to eye development, were upregulated in both samples. The gene set enrichment analysis showed that the development of atrioventricular heart valves and the dysfunction of the extracellular matrix were significantly affected

Анализът на обогатяването на генния набор показва, че развитието на атриовентрикуларните сърдечни клапи и дисфункцията на извънклетъчния матрикс са значително засегнати след излагането на hiPSCs на полистирен. На последно място, използвайки метода hiPathia, определихме веригата APOC3, която е отговорна за повишения риск от исхемична болест на сърцето. Тези резултати показват, че по-доброто разбиране на замърсяването на околната среда с пластмаси, биоактивността на нанопластмасите и последиците от това за човешкото здраве са от изключително значение. Ето защо нашата платформа открива допълнителни аспекти за изучаване на взаимодействията между различните замърсявания на околната среда и вътреклетъчните замърсявания с цел разшифроване на механизма и произхода на човешките заболявания.

after exposure of hiPSCs to PS. Finally, using the hiPathia method, we determined the APOC3 circuit, which is responsible for increased risk for ischemic cardiovascular disease. These results demonstrate that a better understanding of plastic environmental pollution, NP bioactivities, and its implications for human health are extremely important. Therefore, our platform opens further aspects to study interactions between different environmental and intracellular pollutions with the aim of deciphering the mechanism and origin of human diseases.

## СРЕДСТВА ЗА ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНО ВЪЗДЕЙСТВИЕ НА ХЕМОПОЕТИЧНИТЕ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ ПРИ ХИМИОТЕРАПИЯ НА ЗЛОКАЧЕСТВЕНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

С. М. Константинов

*Медицински университет - София, Фармацевтичен факултет,  
Катедра „Фармакология, фармакотерапия и токсикология“*

## TOOLS FOR PHARMACOTHERAPEUTIC INFLUENCE OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS IN CHEMOTHERAPY OF MALIGNANT DISEASES

S. M. Konstantinov

*Medical University of Sofia, Faculty of Pharmacy,  
Dept. of Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology, Bulgaria*

Хемопоезата е уникален процес, който играе ключова роля в хомеостазата, газообмена и снабдяването с хранителни вещества. Той осигурява растежа и преноса на сигнали между различните клетки. Всички кръвни клетки произхождат от специфична популация хемопоетични стволови клетки (ХСК) със специфичен имунофенотип и способности за самообновяване и асиметрична пролиферация и диференциация в зрели периферни кръвни клетки. Хемопоетичните стволови клетки са отговорни за имунните, автоимунните и противораковите реакции. Съвременното флуоцитометрично имунофенотипизиране позволява да се разграничат и изолират различни субпопулации на ХСК и прогенитори във всеки източник на ХСК, като периферна кръв, костен мозък и кръв от пъпна връв. Въз основа на специфичните модели на експресия на антигени е възможно да се изолират ХСК и да се подложат на генно насочена терапия извън човешкото тяло, напр. генериране на CAR-T клетки за одобрено лечение на CD19(+) хематологични злокачествени заболявания. Реинфузията на такива манипулирани клетки може да се използва за унищожаване на раковите клетки. Освен това, ХСК се научават да

Hematopoiesis is a unique process, which plays a key role in homeostasis, gas exchange and nutrient supplementation. It ensures growth and signal transfer between different cells. All blood cells originate from a specific population of hematopoietic stem cells (HSC) with particular immunophenotype and abilities for self-renewal and asymmetric proliferation and differentiation into mature peripheral blood cells. Hematopoietic stem cells are responsible for the immune, auto-immune and anti-cancer reactions. Modern flow-cytometric immunophenotyping allows to distinguish and isolate different subpopulations of HSC and progenitors in every source of HSC such as peripheral blood, bone marrow and umbilical cord blood. Based on specific antigen expression patterns it is possible to isolate HSC and to subject them on gene targeted therapy outside of the human body, e.g. generation of CAR-T cells for approved treatment of CD19(+) hematological malignancies. Reinfusion of such manipulated cells can be used to eradicate cancer cells. Moreover, HSC are taught to possess plasticity, which enables differentiation

придобиват пластичност, която позволява диференциране в множество нехематопоеични тъкани, като по този начин се доближават до ембрионалните стволови клетки. Трансплантацията на ХСК остава стандарт за лечение на редица хематологични и нехематологични злокачествени заболявания. Тази терапевтична интервенция обикновено се предшества от медикаментозно и/или радиационно кондициониране на реципиента. Напоследък се наблюдава тенденция за извършване на множество процедури с намалена интензивност и неаблативни процедури вместо миелоаблативни процедури с висок риск от смъртност. В повечето случаи след алогенна трансплантация на ХСК трябва да се проведе имуносупресивна терапия, за да се избегне реакцията на присадката спрямо реципиента. Бързото начало на функционирането на ХСК транспланта зависи от броя на трансплантираните клетки и трябва да бъде достигнато количество от минимум 2 милиона ХСК на килограм телесно тегло чрез инжектиране на hrG-CSF и дори Mozobil преди събирането на CD34(+) клетки от периферната кръв. Освен това се обобщават специфични експериментални методи за достъп, като например CFU-S *in vivo* тестове и дълготрайни клетъчни култури от костен мозък (LTBMCC) с количествено определяне на колонии в полутвърди културни среди. Личният опит на автора включва експериментална оценка на пентапептида (pEEDCK) в неговата мономерна и димерна форма. Хроничната миелодна левкемия (СМЛ) не позволява използването на автоложна трансплантация на ХСК поради високата честота на рецидиви, като по този начин открива предизвикателството за прочистване на ХСК с антисенс олигонуклеотиди и противолевкемични лекарствени продукти, например Еруфозин. Последният е алкилфосфохолин без хематологична токсичност и дори стимулира нормалните хематопоеични прогенитори. Следователно Еруфозинът изглежда е полезен партньор в редица миелотоксични химиотерапии. В заключение, последните постижения позволяват трансплантацията на ХСК да бъде в по-голяма степен съобразена със заболяването и пациента. Все още е възможно да се разширят приложенията, които се възползват от пластичността на ХСК.

into multiple non-hematopoietic tissues thus being close to the embryonic stem cells. HSC transplantation remains a standard of care for many hematological and non-hematological malignancies. This therapeutic intervention is typically preceded by drug and/or radiation conditioning of the recipient. Recently, there is a trend to perform numerous reduced intensity and non-ablative schedules instead of myeloablative procedures with high risk of mortality. In most cases after allogenic HSC transplantation immunosuppressive therapy should be performed to avoid graft versus host reactions. Rapid start of function of the HSC transplant depends on the transplanted number of cells and the amount of at least 2 Mio of HSC per kg body weight has to be reached by hrG-CSF and even Mozobil injections before harvesting CD34(+) cells from the peripheral blood. Furthermore, specific experimental access methods are summarized such as CFU-S *in vivo* tests and long term bone marrow cell cultures (LTBMCC) with colony quantification in semisolid cultural media. Own experience of the author involves experimental evaluation of the pentapeptide (pEEDCK) in its monomeric and dimeric form. CML does not allow the use of autologous HSC transplantation because of the high incidence of relapse thus opening the challenge for HSC purging with antisense oligonucleotides and anti-leukemic drugs, e.g. Erufosine. The latter one is an alkylphosphocholine without hematological toxicity and even stimulates normal hematopoietic progenitors. Therefore, Erufosine seems to be a beneficial partner in many myelotoxic chemotherapies. In conclusion, recent advances allow HSC transplantation to be more tailored to disease and patient. Expanded applications capitalizing on HSC plasticity remain feasible.

## ГЕНОМИКА И ЧОВЕШКО ЗДРАВЕ

Акад. Ат. Атанасов<sup>1</sup>, Ив. Панчев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Съвместен Геномен Център (СГЦ) към Софийски Университет*

<sup>2</sup> *Катедра „Биохимия“, Биологически факултет*

## GENOMICS AND HUMAN HEALTH

Acad. A. Atanassov<sup>1</sup>, I. Panchev<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Joint Genomic Center (JGC) to Sofia University*

<sup>2</sup> *Biochemistry Department, Biology Faculty and JGC to Sofia University*

Настоящата презентация е фокусирана върху разбирането на генетичните и геномните основи на човешкото здраве. Човешката генетика е наука за наследствеността, за начина по който тя се проявява при хората. Геномът представлява цялата ДНК, съдържаща се в даден организъм или клетка, включително ядрената и митохондриалната ДНК. Човешкият геном е общата съвкупност от всички гени в човека, които се съдържат в 23-те двойки човешки хромозоми и се състоят от повече от 3 милиарда нуклеотида.

Геномиката се отнася до областта на генетиката, фокусирана върху структурните и функционалните изследвания на генома. Проектът „Човешки геном“ (Human Genome Project - HGP) успява да секвенира в продължение на над 20 години цялата ДНК в човешкия геном и да открие, че човешкият геном се състои от приблизително 20 000 протеин-кодиращи гени.

Промените в нашите гени са отговорни за повече от 5 000 ясно изразени наследствени заболявания, като например хипертрофична кардиомиопатия, сърповидно-клетъчна болест, муковисцидоза и Болест на Хънтингтън и др.

В исторически план свързването на даден ген с конкретно заболяване е бавен, неточен и мъчителен процес преди напредъка, постигнат от Проекта „Човешки геном“ и молекулярната геномика. Почти всички 100 трилиона клетки в човешкото тяло съдържат копие на целия човешки геном като подобен е броя на микробиомите, чиито гени са много повече от човешките. Както генетичните инструкции в човешките клетки и органи, така и начинът на живот и хранене изграждат човешкото същество, фино настроено от различни епигенетични механизми, с цел да контролират биологията ни - да бъдем здрави или не.

Генното редактиране отвори и предостави огромни възможности за подобряване на превенцията на генно базираната диагностиката и терапия.

The current presentation is focused on the understanding of the genetic and genomic basis of human health. Human genetics is the study of inheritance as it occurs in human beings. A genome is all the DNA contained within an organism or a cell including nuclear and mitochondrial DNA. The human genome is the total collection of all genes in a human being contained in the 23 pairs human chromosomes and composed of more than 3 billion nucleotides.

Genomics refers to the field of genetics focused on structural and functional studies of the genome. Human Genome Project (HGP) was able to sequence for more than 20 years all the DNA in the human genome and to discover that the human genome was composed of approximately 20,000 protein-coding genes.

Alterations of our genes are responsible for more than 5,000 clearly hereditary diseases such as a hypertrophic cardiomyopathy, sickle cell disease, cystic fibrosis and Huntington disease to name a few.

Linking a gene with a specific disease is historically a slow, imprecise and painful process before the progress made by HGP and molecular genomics. Almost all the 100 trillion cells in the human body contain a copy of the entire human genome and similar amount are the number of microbiomes which genes are much more than the human ones. Both genetic instructions in the human cells and organs along the lifestyle and nutrition build a human being fine-tuned by various epigenetic mechanisms to control our biology - to be healthy or not.

Gene editing opened and provides enormous opportunities for improvement of the prevention and gene-based therapy diagnosis.

## СЪПОСТАВКА НА КОЛИЧЕСТВОТО СТВОЛОВИ КЛЕТКИ МЕЖДУ ЛЕЗИИТЕ ОТ ЕНДОМЕТРИОЗА И АДЕНОМИОЗА

Д. Методиев<sup>1</sup>, М. Русева<sup>2\*</sup>, Д. Първанов<sup>2</sup>, Р. Ганева<sup>2</sup>,  
М. Ханджийска<sup>2</sup>, Н. Видолова<sup>2</sup>, Г. Стаменов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>. Отделение по „Патология“, МБАЛ „Надежда“

<sup>2</sup>. Научноизследователски отдел, МБАЛ „Надежда“

<sup>3</sup>. Отделение по „Акушерство и гинекология“, МБАЛ „Надежда“

### COMPARISON OF STEM CELL QUANTITIES BETWEEN ENDOMETRIOSIS AND ADENOMYOSIS LESIONS

D. Metodiev<sup>1</sup>, M. Ruseva<sup>2\*</sup>, D. Parvanov<sup>2</sup>, R. Ganeva<sup>2</sup>,  
M. Handzhiyska<sup>2</sup>, N. Vidolova<sup>2</sup>, G. Stamenov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>. Pathology Department, Nadezhda Women's Health Hospital

<sup>2</sup>. Research Department, Nadezhda Women's Health Hospital

<sup>3</sup>. Obstetrics and Gynaecology Department, Nadezhda Women's Health Hospital

Аденомиозата и ендометриозата са ненеопластични гинекологични състояния, характеризирани се с ектопичен растеж на ендометриална тъкан - съответно в миометриума или извън матката. Въпреки че са различни заболявания, те имат общи симптоми и са свързани с безплодие. Етиологията и патофизиологията им остават неизяснени. Съществуват различни хипотези, някои от които сочат стволови клетки като източник на заболяването. Стволовите клетки в лезиите на ендометриозата и аденомиозата обаче все още не са количествено определени и сравнени.

Това е обсервационно проучване на 13 пациента с аденомиоза и 13 с ендометриоза (овариална и тубарна (n=6), интестинална (n=3), инцизионна (n=2), повърхностна перитонеална ендометриоза (n=2)), на които е направена съответно биопсия на матката с хистероскопия или биопсия на тъкани при ендометриоза. Пациентите са на възраст между 26 и 54 години. Извършено е имунохистохимично оцветяване с NOTCH1 за идентифициране на стволовите клетки в съответната тъкан.

Процентът на NOTCH1+ клетките в лезиите на аденомиозата (Група 1, n=13) и лезиите на ендометриозата (Група 2, n=13) е изчислен след преброяване от двама независими изследователи в множество тъканни разрези и сравнен чрез U-тест на Ман-Уитни.

Изследваният маркер за стволови клетки е изразен в тъканните проби на всички пациенти с относително висока вариабилност. Процентът на NOTCH1+ стволовите клетки варира между 0.03% и 0.33% с медиана от 0.11% в лезиите на аденомиозата и между 0.08% и 28.70% с медиана от 1.93% в лезиите на ендометриозата.

Средният процент на NOTCH1+ стволови клетки е значително по-висок в лезиите на ендометриозата в сравнение с лезиите на аденомиозата ( $5.94 \pm 8.73\%$  спрямо  $0.12 \pm 0.09\%$ , съответно,  $p=0.001$ ). Освен това

Adenomyosis and endometriosis are non-neoplastic gynecological conditions characterized by ectopic growth of endometrial tissue - within the myometrium or outside the uterus, respectively. Although they are distinct diseases, they share symptoms and are both associated with infertility. Their etiology and pathophysiology remain elusive. Various hypotheses exist, some of which implicate stem cells as the origin. However, stem cells in endometriosis and adenomyosis lesions have not yet been quantified and compared.

This is an observational study of 13 patients with adenomyosis and 13 with endometriosis (ovarian and tubal (n=6), intestinal (n=3), incisional (n=2), superficial peritoneal endometriosis (n=2)) who had a hysteroscopy uterine biopsy or endometriosis tissue biopsy, respectively. Patients were aged between 26 and 54 years. Immunohistochemistry staining against NOTCH1 was performed to identify stem cells in the corresponding tissue.

The percentage of NOTCH1+ cells in the adenomyosis lesions (Group 1, n=13) and endometriosis lesions (Group 2, n=13) was calculated after enumeration by two independent investigators in multiple tissue sections and compared via Mann Whitney U test.

The studied stem cell marker was expressed in the tissue samples of all patients with a relatively high variability. The percentage of NOTCH1+ stem cells ranged between 0.03% and 0.33% with a median of 0.11% in the adenomyosis lesions and between 0.08% and 28.70% with a median of 1.93% in the endometriosis lesions.

The mean percentage of NOTCH1+ stem cells was significantly higher in endometriosis lesions compared to the adenomyosis lesions ( $5.94 \pm 8.73\%$  vs.  $0.12 \pm 0.09\%$ , respectively,

делът на NOTCH1-позитивните стволови клетки е значително по-висок при случаите с инцизионна ендометриоза (11.49%, 6.02÷16.97%) в сравнение с овариална и тубарна ендометриоза (1.16%, 0.25÷14.22%,  $p=0.009$ ), интестинална ендометриоза (3.30%, 2.26÷28.70%,  $p=0.006$ ) и повърхностна перитонеална ендометриоза (0.13%, 0.08÷0.17%,  $p<0.001$ ).

Резултатите от това проучване подкрепят схващането, че ендометриозата и аденомиозата имат различна етиология. Ендометриозата изглежда е свързана със значително по-голям брой NOTCH1+ стволови клетки. Тази констатация може добре да обясни появата на ендометриална тъкан, особено в случаите с отдалечени локализации. Ектопичната диференциация на стволовите клетки може да доведе до появата на ендометриоза, докато при аденомиозата това вероятно не е така.

$p=0.001$ ). Moreover, the proportion of NOTCH1-positive stem cells was significantly higher in cases with incisional endometriosis (11.49%, 6.02÷16.97%) in comparison with ovarian and tubal endometriosis (1.16%, 0.25÷14.22%,  $p=0.009$ ), intestinal endometriosis (3.30%, 2.26÷28.70%,  $p=0.006$ ), and superficial peritoneal endometriosis (0.13%, 0.08÷0.17%,  $p<0.001$ ).

The results from this study support the notion that endometriosis and adenomyosis have distinct etiology. Endometriosis appears to be associated with significantly more NOTCH1+ stem cells. This finding may well explain the appearance of endometrial tissue especially in cases with distant localizations. Ectopic differentiation of stem cells may give rise to endometriosis, while that is likely not the case in adenomyosis.

### ВРЪЗКИ МЕЖДУ СТВОЛОВИТЕ КЛЕТКИ И МАКРОФАГИТЕ В СРЕДНОСЕКРЕТОРНАТА ФАЗА НА ЕНДОМЕТРИУМА

Р. Ганева<sup>1,2\*</sup>, Д. Първанов<sup>1</sup>, Н. Видолова<sup>1</sup>, М. Русева<sup>1</sup>, М. Ханджийска<sup>1</sup>,  
Д. Методиев<sup>1</sup>, В. Московска-Думанова<sup>2</sup>, Г. Стаменов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> МБАЛ „Надежда“, София, България

<sup>2</sup> Катедра „Клетъчна биология и биология на развитието“, Биологически факултет,  
Софийски университет „Свети Климент Охридски“, София, България

### ASSOCIATIONS BETWEEN STEM CELLS AND MACROPHAGES IN THE MID-SECRETORY ENDOMETRIUM

R. Ganeva<sup>1,2\*</sup>, D. Parvanov<sup>1</sup>, N. Vidolova<sup>1</sup>, M. Ruseva<sup>1</sup>, M. Handzhiyska<sup>1</sup>,  
D. Metodiev<sup>1</sup>, V. Moskovska-Doumanova<sup>2</sup>, G. Stamenov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Nadezhda Women's Health Hospital, Sofia, Bulgaria

<sup>2</sup> Department of Cell and Developmental Biology, Faculty of Biology,  
Sofia University "St. Kliment Ohridski", Sofia, Bulgaria

\* Автор кореспондент: [rum.ganeva@gmail.com](mailto:rum.ganeva@gmail.com)

\* Corresponding author: [rum.ganeva@gmail.com](mailto:rum.ganeva@gmail.com)

**Ключови думи:** ендометриум, средносекреторна фаза, макрофаги, стволови клетки

Стромата на ендометриума при човека съдържа определени типове стволови клетки, като NOTCH1-позитивни и CD117-позитивни стволови клетки, които са от съществено значение за перидичната регенерация на матката. Освен ролята им в тъканното ремоделиране, се предполага, че те имат имуномодулиращо и противовъзпалително въздействие върху компонентите на имунната система. Един от основните компоненти на имунните регулатори на ендометриума по време на средносекреторната фаза на менструалния цикъл е популацията на макрофагите. Известно е, че имунореактивността на макрофагите, по отношение на секрецията на про- и противовъзпалителни цитокини в ендометриума по време на имплантационния прозорец, е от ключово значение за успешното имплантиране на ембриона.

The human endometrial stroma contains certain stem cell types, such as NOTCH1-positive and CD117-positive stem cells, which are essential for the periodic uterine regeneration. Besides their role in tissue remodeling, it has been proposed that they exert immunomodulatory and anti-inflammatory effect on the components of the immune system. One of the main components of the endometrial immune regulators during the mid-secretory phase of the menstrual cycle is the macrophages population. It is known that the macrophages immunoreactivity, in terms of pro- and anti-inflammatory cytokines secretion in the endometrium during the implantation window, is pivotal for the successful embryo implantation. The association of the endometrial stem cells with macrophages during mid-secretory phase of the menstrual cycle is poorly studied. The aim of this study was to find associations between the amounts of the local



Връзката на ендометриалните стволови клетки с макрофагите по време на средната секреторна фаза на менструалния цикъл е слабо проучена. Целта на това проучване е да се открият връзките между количествата на локалните стволови клетки и макрофагите в средносекреторната фаза на ендометриума при пациентите с *in vitro* оплождане.

Ендометриални проби от 107 пациенти с *in vitro* оплождане са взети като редовна диагностична биопсия по време на средносекреторната фаза на менструалния цикъл (LH+7). Проби от пациенти с имунологични или ендометриални патологии не са включени. За идентифициране на CD68+ макрофаги, CD117+ стволови клетки и NOTCH1+ стволови клетки всички проби са имунохистохимично оцветени със съответните антитела. Оценката на положително оцветените стромални клетки е извършена чрез микроскопско наблюдение на множество тъканни области. Резултатите са представени като процент положително оцветени стромални клетки. Статистика: SPSS v.21.

В средносекреторната фаза на стромата на ендометриума на изследваните пациенти са открити 0.55% (0.07-14.44%) CD68+ макрофаги, 0.02% (0-0.21%) CD117+ стволови клетки и 0.062% (0-2.1%) NOTCH1+ стволови клетки. Корелационният анализ на Спирман разкрива ниска, но значима положителна връзка между процентното съотношение на CD68+ макрофаги и CD117+ стволови клетки ( $R=0.216$ ,  $p=0.025$ ), докато не се наблюдава корелация с процентното съотношение на NOTCH1+ стволови клетки ( $R=0.150$ ,  $p=0.123$ ).

В заключение, наблюдаваната корелация между CD68+ макрофагите и CD117+ стволовите клетки и липсата на връзка с NOTCH+ стволовите клетки предполага възможна регулация на разпределението на макрофагите в ендометриума от локалните CD117+ стволови клетки или обратното. Тези констатации показват, че в стромата на ендометриума съществува комуникация между CD117+ стволови клетки и имунни клетки, която може да бъде свързана с фертилитета и следва да бъде допълнително проучена.

stem cells and macrophages in the mid-secretory endometrium of IVF patients.

Endometrial samples from 107 female IVF patients were obtained as regular diagnostic biopsy during the mid-secretory phase of the menstrual cycle (LH+7). Samples from patients with immunological or endometrial pathologies were not included. For identification of CD68+ macrophages, CD117+ stem cells and NOTCH1+ stem cells, all samples were immunohistochemically stained with the respective antibodies. Evaluation of the positively stained stromal cells was performed by microscopic observation of multiple tissue areas. Results were presented as percentage of positively stained stromal cells. Statistics: SPSS v.21.

In the mid-secretory endometrial stroma of the studied patients 0.55% (0.07-14.44%) CD68+ macrophages, 0.02% (0-0.21%) CD117+ stem cells and 0.062% (0-2.1%) NOTCH1+ stem cells were found. Spearman correlation analysis revealed low, but significant positive relation between CD68+ macrophages and CD117+ stem cells percentages ( $R=0.216$ ,  $p=0.025$ ), while no correlation was observed with NOTCH1+ stem cells percentage ( $R=0.150$ ,  $p=0.123$ ).

In conclusion, the observed correlation between CD68+ macrophages and CD117+ stem cells, and lack of relation to NOTCH+ stem cells, suggests a possible regulation of the macrophages endometrial distribution by the local CD117+ stem cells or vice versa. These findings demonstrate that there is a CD117+ stem cell to immune cell communication in the endometrial stroma that could be associated to fertility and should be further studied.

## ПРЕДИМСТВА НА НАНОПОРОВОТО СЕКВЕНИРАНЕ В ИЗСЛЕДВАНЕТО НА СТВОЛОВИ КЛЕТКИ

С. Хайрабедян

*БАН, Институт по биология и имунология на репродукцията  
„Акад. Кирил Братанов“, София*

## ADVANTAGES OF NANOPORE SEQUENCING IN STEM CELL RESEARCH

S. Hayrabedian

*Bulgarian Academy of Sciences, Institute for Biology and Immunology of Reproduction,  
Sofia, Bulgaria*

Лекцията обхваща запознаване с технологията за секвениране от най-ново трето новогенерационно поколение с дълги прочети, основаваща се на нанопоров директен анализ в реално време на ДНК и РНК молекули. Разгледани са предимствата на дългите прочети за анализа на цели транскрипти, идентифицирането на експресирани изоформи, превключването им, както и предимствата при директния анализ на РНК, позволяващ идентифициране на модификации в РНК и анализ на динамиката на синтез на отделните молекули.

Разгледан е и анализа на дълги и ултра-дълги фрагменти ДНК, с едновременен анализ на епигенетични промени, каквато са модификациите 5-метил-цитозин и 5-хидрокси-метил-цитозин. Обобщено е преимущество на този мулти-ОМИКс подход за разбирането на биологията на стволовите клетки, както и за тяхното репрограмане. Посочени са примери за бързо типизиране на HLA с фазиране, имащо значение при отхвърляне на транспланти и съответно при създаването на банки със стволови клетки.

The lecture covers an introduction to the latest third-generation long-read sequencing technology based on nanopore direct real-time analysis of DNA and RNA molecules. The advantages of long reads for the analysis of whole transcripts, the identification of expressed isoforms, their switching, as well as the advantages of RNA direct analysis, allowing the identification of modifications in RNA and the analysis of the synthesis dynamics of individual molecules are discussed.

The analysis of long and ultra-long DNA fragments is also considered, with simultaneous analysis of epigenetic changes such as 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine modifications. The advantage of this multi-omics approach for understanding stem cell biology as well as their reprogramming is summarized. Examples of rapid HLA typing with phasing relevant to transplant rejection and thus stem cell bank creation are given.

## СЪБИТИЕ

На 4-ти и 5-ти ноември 2022 българският национален възел на Европейската Инфраструктура по Транслационна Медицина (ЕАТРИС-България) съвместно с Биологически Факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ проведе научна сесия и информационна работна среща посветени на най-новите открития и перспективите за приложение в медицината на плурипотентните стволови клетки. Темата е уникална за България и представянето и пред широката научна общност е свързано с участието на Софийски Университет и по-специално Биологически Факултет в европейски проекти по програмите Хоризонт 2020 и Хоризонт Европа. Събитията имаха за цел да привлекат вниманието на научната общност към темата за персонализираната медицина с фокус върху последните разработки в областта на индуцираните плурипотентни стволови клетки, предизвикателствата пред транслирането на този тип изследвания както и съществуващите перспективи за тяхното приложение в медицината.

Сесията на САТЕЛИТЕН НАУЧЕН СИМПОЗИУМ „СТВОЛОВИ КЛЕТКИ – НОВ ХОРИЗОНТ ПРЕД ПЕРСОНАЛИЗИРАНАТА МЕДИЦИНА“ се състоя в Аулата на Биологически факултет на 4 ноември при широк публичен интерес и беше открита от професор Росица Конакчиева, координатор на ИНФРААКТ и национален директор на ЕАТРИС в България. Тя поздрави присъстващите и насочи вниманието им към актуалността на темата, необходимостта от провеждане на тези изследвания насочени към подобряване на човешкото здраве. Специално бе подчертана ролята на Националната Пътна Карта за Научни Инфраструктури за създаването на нови технологични възможности в университетите и БАН, надграждащи на наличния академичен потенциал и научна експертиза в България, за изграждането на цялостна национална инфраструктура за развитие на научните изследвания в областта на плурипотентните стволови клетки и тяхното приложение в персонализираната медицина.

От името на Деканското ръководство на Биологически факултет приветствие към присъстващите поднесе доцент Любомир Загорчев.

Поздравителен адрес от дирекция „Наука“ на Министерство на образованието и науката беше представен от името на госпожа Милена Дамянова, Директор на Дирекция „Наука“ на МОН, финансов координатор на ИНФРААКТ от НПКНИ 2020-2027.

В представянето с отделни лекции участваха уважавани български експерти, учени и преподаватели с дългогодишен опит, сред които академик Румен Панков (БФ на СУ „Св. Климент Охридски“), професор Пламен Тодоров (ИБИР-БАН) академик Атанас Атанасов (Съвместен Геномен Център при СУ), професор Сорен Хайрабедян (ИБИР-БАН), д-р Георги Николов (МЦ Репробиомед). Гости и поканени лектори на симпозиума бяха световно известният учен - пионер в изследванията на стволови клетки и човешка ембриология, както и дългогодишен редактор на списание „Stem cells“ – професор Миодраг Стойкович от Република Сърбия, професор Игор Резник от Университет „Хадаса“ Израел, изпълняващ длъжността Директор на Научно-изследователски сектор на МУ-Варна, професор Спирос Константинов от Фармацевтичен факултет на МУ-София.

Програмата включваше лекции в две научни сесии: „Стволовите клетки – съвременни реалности и перспективи за приложение“ и „Омикс технологии за развитието на персонализираната медицина – предизвикателства и нови възможности“. Бяха представени „Биология на стволовите клетки – развитие и перспективи“ (Р. Панков), „Стволови клетки в репродуктивната система – перспективи в приложението при лечение на инфертилитет“ (П. Тодоров); „Human induced pluripotent stem cells - a unique tool to study the impacts of environmental pollution on human health“ (М. Стойкович); „Възможности за фармакотерапевтично повлияване на хемопоеични стволови клетки при химиотерапия на малигнени заболявания“ (С. Константинов); „Геномика и човешко здраве“ (А. Атанасов); „Предимства на нанопорово секвениране в изследванията на стволови клетки“ (С. Хайрабедян); „Персонализираната медицина – медицински, правни и социални аспекти“ (Г. Николов).

Научните сесии преминаха при голям интерес от присъстващите в залата сред които изследователи от научни институти на БАН, университети и медицински институти от София, Варна и Пловдив, представители на частния сектор по медицинска молекулярна диагностика, стволови и тъканни банки и др. Специални гости на научната сесия бяха Дейвид Мороу, старши научен програмен мениджър - АТМР и VHM платформи на EATRIS – Европейска инфраструктура за транслационна медицина, Бегоня Аран и Естер Родригез от IDIBELL (Белвидж Институт по Биомедицински Изследвания) и Р. -СМР[С] (Програма за транслационни изследвания по регенеративна медицина в Каталуния).

На 5 ноември в хотел Шератон София Балкан зала Средец се състоя открита информационна работна среща „EATRIS-БЪЛГАРИЯ – КОНСОЛИДАЦИЯ НА НАЦИОНАЛНИЯ ИНФРАСТРУКТУРЕН КАПАЦИТЕТ ПО ТРАНСЛАЦИОННА МЕДИЦИНА“. Срещата беше ръководена и модерирана от проф. Росица Конакчиева. Присъстваха видни български изследователи сред които академик Атанас Атанасов (СПЦ - СУ), академик Румен Панков (БФ-СУ), проф. Радка Кънева (МУ-София), проф. Сорен Хайрабедян (ИБИР-БАН), проф. Красимира Тодорова (ИБИР-БАН), проф. Антон Тончев (МУ-Варна) проф. Пламен Тодоров (ИБИР-БАН), д-р Георги Николов (МЦ Репробиомед), старши изследователи от научни институти на БАН, Клиника по Клинична Имунология с Национална стволова банка, представители на научни структури и медицински институти от София, Варна и Пловдив, представители на частния сектор по медицинска молекулярна диагностика, стволони и тъканни банки като „Булген“, Биорегенерация“ „ИН витро АГ Център Димитров“ и др.

Дейвид Мороу изнесе презентация на тема „EATRIS ATMP и VIM платформи и новият пейзаж на транслационната медицина“ на РАБОТА „EATRIS-БЪЛГАРИЯ – КОНСОЛИДАЦИЯ НА НАЦИОНАЛНИЯ ИНФРАСТРУКТУРЕН КАПАЦИТЕТ В МЕДИЦИНАТА НА ПРЕВОДА“. Бяха представени най-новите разработки в платформата за иновативни клетъчни продукти на EATRIS за хуманна употреба (Advanced translational medicinal product –ATMP) и настоящите инициативи в подкрепа на развитието на следващо поколение клетъчни и генни терапии. Той фокусира изказването си върху проекта ISIDORE за подпомагане на изследователите в разработването на терапии и ваксини за инфекциозни заболявания, както и върху най-новия проект CANSERV, подкрепящ разработването на терапии срещу рак. Беше проявен голям интерес от страна на български изследователи да кандидатстват за достъп до технологичните платформи с услуги, предлагани от проектите. Националният директор на EATRIS проф. Росица Конакчиева и национален координатор на EATRIS доц. д-р Георги Георгиев представиха капацитета на националните инфратрутури и дейностите по участие в проекта EATRIS-Plus имащ за цел развитие и укрепване на националната инфраструктура по транслационна и персонализирана медицина. Проектът TRANSTEM: ERA Chair in Translational Stem Cell Biology към Медицински Университет – Варна беше представен от проф. Антон Тончев.

Беше представена и новофинансираният проект (2022-2026) CA21151 „HAPLO-iPS: ГЕНЕРИРАНЕ НА ЧОВЕШКИ ИНДУЦИРАНИ ПЛУРИПОТЕНТНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ ОТ HAPLO-СЕЛЕКТИРАНИ ПРОБИ ОТ КРЪВ ОТ ПЪПНА ВРЪВ“ по програма COST, в който Софийски Университет е български партньор и координатор. Бегоня Аран и Естер Родригез от водещия център на акцията в Барселона представиха подробно различни аспекти на проекта и възможностите за присъединяване на български участници в уникалната Европейска мрежа. Бяха обсъдени възможности за национално сътрудничество и перспективи за нови партньорства.

Абстрактите на някои от презентациите сме публикували в настоящото издание, а повече информация за инициативите организирани от Националната Инфраструктура ИНФРААКТ от НПКНИ и EATRIS – България, посветени на Климентови дни 2022 в Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ и други събития можете да проследите на линка: <http://biofac.info/sss.php>



## ИЗИСКВАНИЯ КЪМ АВТОРИТЕ:

Списание “Ембриология” е специализирано научно издание на Българска Асоциация по Репродуктивна Човешка Ембриология (БАРЧЕ). В него могат да бъдат публикувани оригинални научни статии и обзори в областта на експерименталната и клинична ембриология и асистиранията репродукция. Кратките предварителни съобщения, публикувани в това списание, могат в последствие да бъдат отпечатвани в разгърнат вид и в други научни списания.

Материалите следва да бъдат представяни единствено на електронен носител. Желателно е текстът на статиите да не надвишава 6 страници формат А4 при размер на шрифта 12 и разрядка 1 ред. Препоръчваме илюстрациите да не са повече от 4, да са включени в текста на определените от автора места и да са с максимално висока разделителна способност (формат .tiff или .eps).

Статиите следва да съдържат на български и английски език - заглавие, имена и месторабота на авторите и резюме. Основният текст следва да бъде правилно структуриран и да съдържа следните раздели: въведение, материали и методи, резултати и обсъждане, литературни източници, адрес за кореспонденция. Списъкът на използваната литература да бъде в стандартен формат (автори, наименование на статията, издание, година, том, брой, страници) и да не надвишава 20 автора, подредени по реда на цитиранията в текста.

Всички изпратени материали подлежат на рецензия от страна на редакционната колегия, като могат да бъдат връщани на авторите за корекция и доработка или да бъдат отказвани за публикация.

*Публикуваните материали са лични мнения на авторите и списанието не носи отговорност за тяхното съдържание.*

***За повече информация и изпращане на материали:***

Българска Асоциация по Репродуктивна Човешка Ембриология (БАРЧЕ),  
гр. София 1606, ул. “Константин Иречек” № 17.

Е-mail: gnikolov@yahoo.com

plamen.ivf@gmail.com

Тел.: 088 870 3786 (д-р Г. Николов)

088 821 7095 (П. Тодоров)

# MiOXSYS®

**ОСИГУРЯВА ПЪЛНА КАРТИНА**  
на окислително - редукционния баланс  
при мъжката репродуктивна система

 CaerusBiotech

**IWD**  **bg**





**New life  
deserves  
the best start**

