

Propuneri pentru Planul de cercetare al Academiei Române 2022

Program fundamental

Boli transmisibile prioritare - diagnosticarea infecției cu SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), investigarea variantelor virale circulante în România și a unor potențiale strategii terapeutice (continuare)

Responsabili: CSI, Dr. Carmen Diaconu și CSI, Dr. Coralia Bleotu

Faza 1. Detectia SARS-CoV-2 în probele recoltate la subiecții incluși în Programul Național de supraveghere și control al bolilor transmisibile prioritare sau la solicitare în IVN-dezvoltarea biobancii stabilite în anii 2020-2021 simultan cu participarea la efortul național de testare a SARS-CoV-2

Faza 2 Izolarea tulpinilor de virus SARS-CoV-2 și investigarea variantelor virale circulante în România. Investigarea unor potențiale strategii de neutralizare SARS-CoV-2 și tratament.

În urma participării la efortul național de diagnostic SARS-CoV-2 în cadrul Programului Național de supraveghere și control al bolilor transmisibile prioritare, IVN a putut stabili în perioada 2020-2021 o bancă de probe, deosebit de importante pentru evaluarea variantelor virale circulante în România. Propunem dezvoltarea acestei biobancii cu probe de la pacienți SARS-CoV-2 infectați în 2022, izolarea unor variante circulante (în condițiile laboratorului BSL-3) și investigarea acestora la nivel molecular cu determinarea variantelor genomice cu semnificație prognostică în evoluția COVID-19 către sindrom de dereșă respiratorie. De asemenea, propunem investigarea unor potențiale strategii de neutralizare SARS-CoV2 și tratament.

Programe prioritare

Programul 1

1.1. Monitorizarea răspunsului imun post-infecție și post-vaccinare SARS-CoV-2

Responsabil: Prof Dr Simona Ruta

Faza I. Evaluarea persistenței pe termen lung a anticorpilor neutralizanti post infecție și post-vaccinare SARS-CoV-2 în contextul circulației unor variante virale cu transmisibilitate crescută

Faza II. Evaluarea răspunsului imun celular post vaccinare

Celule T si B de memorie asigura protectia impotriva infectiei cu SARS CoV-2, la care se asociaza si rolul anticorpilor neutralizanti, rol subliniat din ce in ce mai mult de studiile recente care raporteaza capacitatea transferului pasiv de anticorpi neutralizanti de a preveni infectia, atat la modele animale cat si la om. In acest context, studii asupra duratei persistentei pe termen lung a anticorpilor neutralizanti, ca si intelegerea implicarii raspunsului imun celular in protectia impotriva infectiei sunt absolut necesare pentru planificarea etapelor urmatoare in programul si tipul de vaccinare impotriva SARS CoV-

1.2. Eficacitatea tratamentelor tintite in infectia cu diferite variante ale SARS CoV-

Responsabil: Conf Dr Camelia Sultana

Faza I. Markeri de apreciere a evolutiei infectiei sub tratament cu inhibitori de interleukine

Faza II. Evaluarea comparativa a evoluției pacientilor infectati SARS-CoV-2 aflati sub diferite scheme terapeutice

Exista numeroase dovezi ale implicarii sindromului hiperinflamator in evolutia grava a pacientilor infectati SARS-CoV-2, iar tratamentul cu Tocilizumab (anticorpi monoclonali care inhiba receptorul IL-6) sau Anakinra (antagonist al receptorului IL-1) sunt cele mai utilizate in practica medicala. In studii prospective pacientii tratati cu Tocilizumab sau Anakinra au prezentat un risc mai mic de mortalitate si o rata de supravietuire neajustata mai mare comparativ cu cei netratati. Din aceste considerente, studii asupra markerilor de evolutie a infectiei sub tratament ca si efectul acestor medicamente asupra infectiilor produse cu diferite variante SARS-CoV-2 sunt necesare pentru cresterea eficacitatii tratamentului in formele critice de boala.

1.3. Biomarkeri de prognostic pentru evaluarea pacientilor cu infectie SARS CoV-2

Responsabil: Prof. Dr. Simona Ruta

Faza 1. Monitorizarea nivelului citokinelor si chemokinelor proinflamatorii la pacienti cu diferite forme clinice ale infectiei SARS CoV-2.

Faza 2. Evaluarea eficacitatii unor tratamente tintite (anticorpi monoclonali inhibitori de receptor IL-6 sau inhibitori al IL-1 beta) in preventia sau stoparea evolutiei spre forme critice ale infectiei cu SARS CoV-2.

Patogenia infectiei SARS CoV 2 este insuficient inteleasa in prezent. Evolutia severa in a doua saptamana de infectie, dupa ce replicarea virala incepe sa scada, a fost atribuita unui sindrom hiperinflamator, ca urmare a unei activari aberante a raspunsului imun, cu aparitia unei asa numite furtuni de citokine, care conduce la Sindrom de Detresă Respiratorie Acută (ARDS), cu hipoxemie severă si cu o mortalitate estimată de aproximativ 40%. Ne propunem monitorizarea profilului unor citokine si chemokine proinflamatorii la pacienti cu diferite forme clinice ale infectiei SARS CoV-2 pentru a defini biomarkeri care sa ghideze initierea unui tratament imunomodulator tintit, bazat pe anticorpi monoclonali inhibitori de receptor IL 6 (tocilizumab) sau inhibitori al IL-1 beta (anakinra) pentru preventia sau stoparea evolutiei spre forme critice ale infectiei cu SARS CoV-2.

Programul 2

2.1. Factori genetici si epigenetici ai gazdei corelati cu severitatea infectiei cu SARS-CoV-2.

Responsabil: CSII, Dr. Anca Botezatu

Faza 1. Identificarea unor markeri genetici și epigenetici asociați infecției cu virusul SARS-CoV

Faza 2. Corelația mutațiilor genelor virale SARS-CoV2 cu evoluția infecției virale în contextul de susceptibilitate a gazdei

Tema își propune să identifice markerii genetici și epigenetici ai gazdei care pot fi corelați cu evoluția infecției virale SARS-CoV-2 în relație cu mutațiile în anumite gene virale cheie (S, Orf1ab, Orf8).

2.2. Markeri genetici și epigenetici în glioblastoma

Responsabil: CS, Drd Adrian Albulescu

Faza 1. Evaluarea unor specii de ARN necodificator în probe tumorale de glioblastoma.

Faza 2. Studiul unor mutații cu posibil rol în apariția glioblastomului.

Scopul acestei teme constă în identificarea unor factori genetici și epigenetici implicați în apariția glioblastomului și evaluarea potențialului acestora ca biomarkeri în probe tumorale provenite de la pacienți.

2.3. Investigarea mecanismelor epigenetice în oncogeneza cervicală

Responsabil: CS, Drd Alina Fudulu

Faza 1. Evidențierea rolului unor factori care intră în alcătuirea complexelor de remodelare a cromatinei în oncogeneză (model experimental).

Faza 2. Evaluarea în probe biologice a factorilor care intră în alcătuirea complexelor de remodelare a cromatinei.

Scopul acestui studiu este de a evalua rolul unor factori care intră în alcătuirea complexelor de remodelare a cromatinei în oncogeneza cervicală ca potențiale ținte de tratament.

Programul 3

3.1. Evaluarea factorilor genetici implicați în dermatite alergice de contact

Responsabil Dr. Lilia Matei

În pofida a numeroase studii, predispoziția genetică la dermatita alergică de contact este doar parțial cunoscută. Prezența polimorfismelor și a mutațiilor în genele implicate în metabolism (de ex. glutathion-S-transferaza, N-acetiltransferaza 1 și 2 etc) ar putea fi asociate cu un risc crescut de dermatită alergică. În acest context, scopul studiului este evaluarea preliminară a rolului factorilor genetici în declanșarea dermatitelor alergice de contact în populația din România.

Faza I: Dezvoltarea unei băncii de probe de la subiecți cu și fără dermatite alergice de contact.

Faza II: Identificarea factorilor genetici implicați în dermatitele alergice de contact.

3.2. Caracterizarea moleculară a leucemiilor cu componentă monocitară

Responsabil Dr. Cristina Mambet

Leucemiile cu componentă monocitară ocupă un loc distinct în cadrul neoplaziilor hematologice, fiind reprezentate de afecțiuni cu patogenie și modalitate de evoluție diferite. Sunt incluse atât boli cu evoluție cronică cum ar fi leucemia mielomonocitară cronică (LMMC) și leucemia mielomonocitară juvenilă (LMMJ), cât și afecțiuni cu debut acut – leucemiile acute mieloide (LAM) *de novo* subtipurile morfologice LAM4 și LAM5 (conform clasificării French-American-British). Atât LMMC cât și JMML pot suferi conversie blastică, LAM secundare având un prognostic mult mai puțin favorabil în comparație cu LAM *de novo*.

Pentru a aduce informații noi cu privire la diferențele în patogenia moleculară a acestor afecțiuni vor fi analizate expresiile de citokine, chemokine, factori de creștere și proteine implicate în procesul de apoptoză în monocite și celule blastice de tip monocitoid (monoblaști și promonocite) izolate de la pacienți cu diverse tipuri de leucemii monocitare, atât la debut cât și la momentul transformării/recăderii bolii. Vor fi utilizate kituri multianalit de tip dot-blot pentru screeningul proteomic inițial, iar proteinele care prezintă diferențe semnificative de expresie vor fi investigate cantitativ prin tehnici ELISA și multiplex (tehnologia Luminex).

Vor fi stabilite corelații cu datele morfologice, de imunofenotipare, citogenetice și de genetică moleculară disponibile pentru fiecare pacient inclus în studiu.

3.3. Studiul dinamicii infecției SARS-CoV-2 utilizând modele celulare in vitro

În timpul infecției acute, pacienții cu COVID-19 sunt într-o stare aparent hiperinflamatorie cu un răspuns imunitar dereglat (limfopenie severă și furtună citokinică asociată cu severitatea bolii). În co-/culturi de celule (celule epiteliale pulmonare și monocite/macrofage) vor fi evaluate leziunile virale directe produse de virus/ proteinele structurale SARS-CoV-2 cât și acest răspuns imun hiperactivat al gazdei.

Faza I. Analiza contribuției proteinelor virale de suprafață la declanșarea inflamației într-o manieră specifică tipului de celule (utilizând proteinele structurale SARS-CoV-2).

Faza II. Analiza funcțională, pe un panel de celule disponibile, a unor căi de semnalizare implicate în infecția SARS-CoV-2 (activarea ROS și a căii de semnalizare HIF-1 α , activarea căii de semnalizare a inflamazomului NLRP, etc).