

SOCIETATEA DE IMUNOLOGIE DIN ROMÂNIA



A 46-A
CONFERINȚĂ ANUALĂ
DE IMUNOLOGIE
CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ

5 – 7 Octombrie 2016

Facultatea de Biologie, Universitatea din București
Platforma de Cercetare pentru Biologie și Ecologie Sistemică
INCD „Victor Babeș”, București

Comitet științific: Prof. Dr. Victor CRISTEA
Dr. Cornel URSACIUC
Prof. Dr. Monica NEAGU

Comitet de organizare:

- din partea SIR: Dr. Cornel URSACIUC
Prof. Dr. Monica NEAGU
Ch. Mihaela SURCEL
Dr. Gheorghîța ISVORANU
Dr. Andreea-Roxana LUPU
Bioch. Adriana Narcisa MUNTEANU
Bioch. Ioana Ruxandra PÎRVU

- din partea Facultății de Biologie: Prof. Dr. Marieta COSTACHE
Prof. Dr. Carmen CHIFIRIUC
Prof. Dr. Veronica LAZĂR
Dr. Bianca GĂLĂȚEANU

Procesare text: Ch. Mihaela SURCEL
Dr. Cornel URSACIUC

SPONSORI:

A&A Dialab Solutions
Biomedica Medizinprodukte Romania
NovaIntermed
Medist Life Science
Proton Impex 2000

TOTAL PUBLISHING
www.totalpublishing.ro
ISBN 978-606-8003-39-9

INFORMAȚII GENERALE

Miercuri, 5 Octombrie 2016, între orele 11:00 - 13:00, se va desfășura Masa Rotundă „Medicina de precizie a viitorului: Biologie moleculară, Genetică și Imunologie”.

Amfiteatrul „Ioan Moraru”, INCD „Victor Babeș”.

1. ÎNREGISTRARE ȘI SECRETARIAT TEHNIC

Va funcționa în holul Platformei de Cercetare pentru Biologie și Ecologie Sistemică, Facultatea de Biologie - Universitatea din București.

- Miercuri 5 Octombrie: 13:00 - 18:30
- Joi 6 Octombrie: 08:30 - 18:30
- Vineri 7 Octombrie: 08:30 - 13:00

2. LUCRĂRILE CONFERINȚEI - se vor ține în Sala de Conferințe a Platformei de Cercetare pentru Biologie și Ecologie Sistemică, Facultatea de Biologie - Universitatea din București.

3. POSTERELE - vor fi expuse conform programului în 6 Octombrie 2016, între orele 11:45 - 18:00. Discuții între orele 18:30 - 20:00.

4. PROGRAM SOCIAL:

COCKTAIL – Miercuri 5 Octombrie, orele 20:00

Holul Platformei de Cercetare pentru Biologie și Ecologie Sistemică, Facultatea de Biologie - Universitatea din București.

WINE AND CHEESE – Joi 6 Octombrie, orele 20:00

Terasa Platformei de Cercetare pentru Biologie și Ecologie Sistemică, Facultatea de Biologie - Universitatea din București.

Vineri, 7 Octombrie 2016, între orele 13:00 - 13:30, va avea loc

Adunarea generală a membrilor SIR

Sala de Conferințe a Platformei de Cercetare pentru Biologie și Ecologie Sistemică, Facultatea de Biologie - Universitatea din București.

PROGRAM ȘTIINȚIFIC

= MIERCURI 5 OCTOMBRIE 2016 =

11:00 – 13:00 MASĂ ROTUNDĂ (INCD „Victor Babeș”)

Medicina de precizie a viitorului:

Biologie moleculară, Genetică și Imunologie

Moderatori:

Prof. Dr. Ștefan Constantinescu, *Catholic University Leuven, Belgium*;
Prof. Dr. Victor Cristea, *UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca*;
Prof. Dr. Mihail Eugen Hinescu, *INCD „Victor Babeș”, București*;
UMF „Carol Davila”, București

Participanți: Prof. Dr. Emilia Severin, *UMF „Carol Davila” București*;
Prof. Dr. Cristiana Tănase, *INCD „Victor Babeș”, București*;
Universitatea „Titu Maiorescu”, București; Prof. Dr. Monica Neagu,
INCD „Victor Babeș”, București; *Facultatea de Biologie, Universitatea
din București*; Prof. Dr. Diana Deleanu, *UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-
Napoca*; Dr. Gabriela Anton, *Institutul de Virusologie „Ștefan S.
Nicolau”, București*; Dr. Eugen Radu, *UMF „Carol Davila”, București*;
Dr. Carmen Diaconu, *Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau”,
București*; Dr. Aurora Arghir, *INCD „Victor Babeș”, București*; Dr.
Viviana Roman, *Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau”, București*.

13:00 – 14:00 PAUZĂ DE PRÂNZ

13:00 – 14:00 ÎNREGISTRARE PARTICIPANȚI

14:00 – 14:30 DESCHIDEREA OFICIALĂ

14:30 – 16:00 CONFERINȚE PLENARE

Moderator: Prof. Dr. Monica Neagu, *INCD „Victor Babeș”, București;*
Facultatea Biologie, Universitatea din București

CP1. Mediatorii moleculari ai răspunsului imun și începutul utilizării lor în diagnosticul clinic

Prof. Dr. Victor Cristea^{1,2}, Lucian Pop^{1,2}

¹UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca; ²Centrul Medical „Sf. Iosif”, Cluj-Napoca

CP2. Celulele tumorale circulante (II): misiunea secretă a ganglionului santinelă

Dr. Cornel Ursaciuc

INCD „Victor Babeș”, București

16:00 – 16:30 PREZENTAREA ASOCIAȚIEI PACIENȚILOR CU AFECȚIUNI AUTOIMUNE

Rostul asociației de pacienți

Rozalina Lăpădatu, președinte APAA

16:30 – 16:45 PAUZĂ DE CAFEA

16:45 – 18:15 CONFERINȚE PLENARE – SISTEMUL MHC

Moderator: Prof. Dr. Cristiana Tănase, *INCD „Victor Babeș”, București;*
Universitatea „Titu Maiorescu”, București

CP3. Antigene din structura primară a tirozinazei din melanom, N-glicozilate în regiunea epitopului, blochează complexarea epitopilor MHC1-dependenți

Prof. Dr. Ștefana M. Petrescu

Departmentul de Biologie Celulară și Moleculară, Institutul de Biochimie al Academiei Române, București

CP4. Prezentarea MHC: există oare reguli?

Corina Cianga, **Prof. Dr. Petru Cianga**

UMF „Grigore T. Popa”, Iași

18:15 – 18:30 PAUZĂ DE CAFEA

18:30 – 20:00 WORKSHOP – IMUNITATE ANTIINFEȚIOASĂ

Moderatori: Prof. Veronica Lazăr, *Facultatea Biologie, Universitatea din București*

Prof. Carmen Chifiriuc, *Facultatea Biologie, Universitatea din București*

W1. Probiotice și paraprobiotice – proprietăți imunomodulatorii și efecte benefice asupra stării de sănătate

Lia Mara Dițu

Universitatea din București, Facultatea de Biologie, Departamentul de Microbiologie și Imunologie, București

W2. Diagnosticul serologic în maladiile parazitare: toxocaroză, trichineloză, cisticercoză și echinococoza chistică

Patricia Mihăilescu¹, Ionica Ceașu¹, Claudia Istrate¹, Carmen-Michaela Crețu^{1,2}

¹*Eco-Para-Diagnostic SRL, București;* ²*Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București*

W3. Particularitățile răspunsului imun în boala Lyme

Ani Ioana Cotar, Daniela Bădescu

Laboratorul Infecții cu transmitere prin vectori, INC „Cantacuzino”, București

W4. Utilitatea modelului experimental *Drosophila melanogaster* pentru studiul in vivo al interrelațiilor gazdă-agent infecțios

Mihaela Raluca Mihalache (Radu)¹, Alina Neagu¹, Veronica Lazăr^{2,3}

¹*Departamentul de Botanică și Microbiologie, Facultatea de Biologie, Universitatea din București;* ²*Departamentul de Genetică, Facultatea de Biologie, Universitatea din București;* ³*Institutul de Cercetare al Universității din București*

20:00 – 22:00 COCKTAIL (hol)

= JOI 6 OCTOMBRIE 2016 =

9:00 – 9:45 CONFERINȚĂ PLENARĂ

Moderator: Dr. Gheorghita Isvoranu, INCD „Victor Babeș”, București

CP5. Markerii moleculari în imunoterapia cancerului

Prof. Dr. Monica Neagu^{1,2}, Andreea Lupu¹, Carolina Constantin¹

¹Laborator Imunobiologie, INCD „Victor Babeș”, București; ²Facultatea de Biologie, Universitatea din București

9:45 – 11:45 PREZENTĂRI ORALE – IMUNOLOGIE FUNDAMENTALĂ

Moderatori: Dr. Gina Manda, INCD „Victor Babeș”, București

Dr. Lorelei Brașoveanu, Centrul de Imunologie, Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau”, București

PO1. Mediatorii moleculari ai răspunsului imun

Lucian Pop¹, **Victor Cristea**^{1,2}

¹Centrul Medical „Sf. Iosif”, Cluj-Napoca; ²UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca

PO2. O metodă electroforetică non-denaturantă pentru identificarea oligomerilor proteinei precursoră a amiloidului în cortexul cerebelos de șoarece de laborator

Ana-Maria Enciu^{1,2}, Maria Dudău^{1,2}, Elena Codrici¹, Daniela Ionela Popescu¹, Simona Mihai¹, Laurențiu Anghelache^{1,3}, Radu Albulescu^{1,4}, Cristiana Tănase^{1,5}

¹INCD „Victor Babeș”, București; ²UMF „Carol Davila”, București; ³USAMV București; ⁴ICCF București; ⁵Universitatea “Titu Maiorescu”, București

PO3. Genotipul KIR2DL4 negativ – o caracteristică foarte rară

Daniela Constantinescu^{1,2}, Corina Cianga^{1,2}, Camelia Mihăilă², Petru Cianga^{1,2}

¹Disciplina Imunologie, UMF „Grigore T. Popa” Iași; ²Laboratorul de Imunologie, Spitalul „Sf. Spiridon”, Iași

PO4. SOD Natural, produs al Institutului “Cantacuzino”: de la tradiție la inovare

Andreea-Roxana Lupu^{1,2}, Lidia Cremer¹, Adrian Onu¹, Cristina Cercel³

¹Grup Imunomodulare, INC „Cantacuzino” București; ²Laborator Imunobiologie, INCD „Victor Babeș” București; ³Facultatea de Biologie, Universitatea din București

PO5. Tehnologia Single-Cell – principiu și aplicații. Importanța aplicațiilor pentru imunologie

Sorina Dinescu, Marieta Costache

Departamentul de Biochimie și Biologie Moleculară, Universitatea din București

PO6. Analiza populațiilor limfocitare la șoareci purtători de tumoră

Gheorghita Isvoranu¹, Bogdan Marinescu¹, Laurențiu Anghelache¹, Mihaela Surcel^{1,2}, Cornel Ursaciuc¹, Cătălin Gabriel Manole¹, Gina Manda¹

¹INCD „Victor Babeș”, București; ²Facultatea de Biologie, Universitatea din București

11:45 – 12:00 PAUZĂ DE CAFEĂ

Montare postere

12:00 – 13:15 WORKSHOP – CITOMETRIE ÎN FLUX

Analiza multiparametrică - Workshop organizat de Biomed Mol

Moderatori: Dr. Bianca Gălățeanu, *Facultatea Biologie, Universitatea din București*

Dr. Cornel Ursaciuc, *INCD „Victor Babeș”, București*

W5. Noi perspective în stabilirea panelului multicolor

Gabriela Elena Androsiac, *Application Specialist, Novaintermed, România*

W6. Aplicații ale citometriei în flux pentru practica clinică actuală

Bianca Gălățeanu¹, Ariana Hudică¹, Mirela Șerban¹, Carolina Negrei², Codruța Vagu³, C. Șerban³, Anca Gheorghe³, Marieta Costache¹

¹Departamentul de Biochimie și Biologie Moleculară, Universitatea din București; ²Facultatea de Farmacie, UMF “Carol Davila” București;

³Laboratorul de analize hematologice specializate pentru transplant medular, Institutul Clinic Fundeni, București

W7. Evaluarea multicoloră a subpopulațiilor limfocitare B din sângele periferic

Mihaela Surcel^{1,2}, Radu-Ionuț Huică^{1,3}, Adriana Narcisa Munteanu¹, Ioana Ruxandra Pîrvu¹, Dan Ciotaru¹, **Cornel Ursaciuc**¹

¹Secția Imunologie INCD „Victor Babeș”, București; ²Facultatea de Biologie, Universitatea din București; ³UMF „Carol Davila”, București

13:15 – 14:00 MASA DE PRÂNZ

14:00 – 15:30 CONFERINȚE PLENARE – NEUROIMUNOLOGIE

Moderator: **Dr. Andreea-Roxana Lupu**, INCD „Victor Babeș”, București

CP6. Influența stresului neuropsihic asupra statusului imun

Prof. Dr. Veronica Lazăr

Laboratorul de Microbiologie și Imunologie, Facultatea de Biologie, Universitatea din București

CP7. Boala Alzheimer din perspectiva semnalizării redox – proiectul Redbrain

Dr. Gina Manda¹, Ana-Maria Enciu^{1,2}, Antonio Cuadrado^{1,3,4}

¹Laboratorul Radiobiologie, INCD „Victor Babeș”, București; ²Departamentul Științe Morfologice, Catedra de Biologie Celulară și Moleculară, UMF „Carol Davila”, București; ³Universitatea Autonomă din Madrid, Spania; ⁴CIBERNED, Ciber de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Neurodegenerativas, Madrid, Spania

15:30 – 16:15 PREZENTĂRI FIRME SPONSORI

Moderator: **Dr. Cornel Ursaciuc**, INCD „Victor Babeș”, București

Tehnologia Sony pentru citometria în flux

Adina Iancu, Area Sales Manager, Proton Impex 2000 SRL

Sistemul QX200TM pentru droplet digital PCR – avantaje, aplicații, așteptări

Alexandra Livescu, Manager Life Science, Dialab Solutions SRL

16:15 – 16:30 PAUZĂ DE CAFEA

16:30 – 18:30 PREZENTĂRI ORALE – IMUNOLOGIE CLINICĂ

Moderatori: Prof. Victor Cristea, UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca
Dr. Crina Stăvaru, INC „Cantacuzino”, București

PO7. Confirmarea reticulocalbinei 1 și 3 drept biomarkeri proteomici ai expresiei clinice în sclerodermie

Paul Bălănescu^{1,2}, Anca Bălănescu^{1,3}, Eugenia Bălănescu², Cristian Băicuș^{1,2}, Gheorghe Andrei Dan^{1,4}

¹UMF „Carol Davila”, București; ²Lab. Imunologie, Sp. Clinic „Colentina”, București; ³INSMC „Alessandrescu-Rusescu”, București; ⁴Dept. Medicină Internă, Sp. Clinic „Colentina”, București

PO8. Inflamația și cancerul, stări fiziopatologice cu mecanisme intricate în care răspunsul imun este central. Efectul benefic al gemoterapiei

Didi Surcel¹, M. Surcel², S. Toader², M. Butan³, Simona Nițu⁴, Carmen Ponoran⁴

¹Blue Life Medical Center, Cluj-Napoca; ²UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca; ³Center of the Public Health, Cluj-Napoca; ⁴Plant Extract, Cluj-Napoca

PO9. Spectrul bolilor dependente de IgG4

Manole Cojocaru^{1,2}, Inimioara Mihaela Cojocaru^{3,4}, Bogdan Chicoș²

¹Facultatea de Medicină, Universitatea „Titu Maiorescu”, București; ²Centrul Clinic de Boli Reumatismale „Dr. Ion Stoia”, București; ³UMF „Carol Davila”, București; ⁴Clinica de Neurologie, Spitalul Clinic „Colentina”, București

PO10. Pahimeningită hipertrofică intracraniană dependentă de IgG4, relevată de cefalee zilnică cronică

Inimioara Mihaela Cojocaru^{1,2}, Daniela Ștefănescu², Vlad Ștefănescu²

¹UMF „Carol Davila”, București; ²Clinica de Neurologie, Spitalul clinic „Colentina”, București

PO11. MicroARN-urile asociate bolilor musculare inflamatorii: biomarkeri de diagnostic și ținte terapeutice

Emilia Manole^{1,2}

¹Laboratorul Biologie Moleculară, INCD „Victor Babeș”, București;

²Centrul de Cercetare, Spitalul Clinic „Colentina”, București

PO12. Tehnologii inovatoare în managementul ulcerului cronic de gambă

Carolina Constantin¹, Andreea-Roxana Lupu¹, Monica Neagu^{1,2}

¹Laborator Imunobiologie, INCD „Victor Babeș”, București; ²Facultatea de Biologie, Universitatea din București

PO13. Modele de prezentare a antigenului la pacienții nou diagnosticați cu leucemie acută mieloblastică

Ion Antohe¹, Angela Dăscălescu¹, Mihaela Zlei², Cătălin Dănăilă¹, Petru Cianga³

¹Disciplina de Hematologie, UMF „Grigore T. Popa”, Iași; ²Departamentul de Imunofenotipare, Institutul Regional de Oncologie, Iași; ³Disciplina de Imunologie, UMF „Grigore T. Popa”, Iași

18:30 – 20:00 SESIUNE DE POSTERE

Moderatori: Prof. Dr. Monica Neagu, INCD „Victor Babeș”; *Facultatea de Biologie, Universitatea din București*

Dr. Carolina Constantin, INCD „Victor Babeș”, București

P1. Compartimentarea răspunsului celulelor NK în fazele incipiente ale endotoxemiei

Ioana Sonya Ciulean¹, Orhan Rașid², Jean-Marc Cavaillon²

¹Institutul Național de Cercetare Cantacuzino, Laboratorul Imunitate Celulară și Moleculară, București, România; ²Institut Pasteur, Département Infection et Épidémiologie, Unité Cytokines & Inflammation, Paris, Franța

P2. Implicațiile clinice ale tipării moleculare HLA în rândul pacienților adulți cu suspiciune de boală celiacă: caz clinic

Roxana Maxim¹, Anca Trifan^{1,2}, Alina Plesa^{1,2}, Irina Ciortescu^{1,2}, Petru Cianga^{1,3}, Carol Stanciu¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr.T.Popa”, Iași; ²Institutul de Gastroenterologie și Hepatologie, Iași; ³Laboratorul de Imunologie și Genetică, Iași

P3. Complexul cromului cu 5 – hidroxiflavonă remodelează picăturile lipidice prin descreșterea expresiei perilipinei

Ariana Hudită¹, Bianca Gălățeanu¹, Mirela Șerban¹, Sorina Dinescu¹, Valentina Uivarosî², Marieta Costache¹

¹Departamentul de Biochimie și Biologie Moleculară, Universitatea din București; ²Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București

P4. Diagnostic, prognostic și ținte terapeutice în tumorile neuroendocrine

Maria Dobre¹, Maria Victoria Comănescu¹, Florina Vasilescu^{1,2}

¹INCD „Victor Babeș”, Laborator Patologie Moleculară, București; ²SUUMC „Dr. Carol Davila”, București

P5. Noua tehnică de vizualizare a celulelor epidermice Langerhans

Alexandra Victoria Ion¹, Mihaela Adriana Ghiță², Iulia Solomon¹, Sabina Zurac³, Daniel Boda^{2,4}, **Constantin Căruntu**^{2,4}

¹Departmentul Dermatologie și Alergologie, Spitalul Universitar de Urgență „Elias”, București; ²Laboratorul de Cercetare în Dermatologie, UMF „Carol Davila”, București; ³UMF „Carol Davila”, Departmentul Anatomie Patologică, Spitalul Clinic „Colentina”, București; ⁴Departmentul de Dermatologie, Institutul Național de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice „Prof. N. Paulescu”, București

P6. Clusterul oncomiR-1 reglează homeostazia celulelor stem hematopoietice

Valeriu Bogdan Cismașiu¹, Laurențiu Anghelache¹, Andreea Oana Urs¹, Florina Gisela Găină¹, Mihaela Surcel^{1,2}, Cristina Mariana Niculițe¹, Bogdan Marinescu¹, Radu-Ionuț Huică^{1,4}, Ioana Mădălina Fenyo³

¹INCD „Victor Babeș”, București; ²Facultatea de Biologie, Universitatea din București; ³IBPC „Nicolae Simionescu”, București; ⁴UMF „Carol Davila”, București

P7. Caracteristici fenotipice ale celulelor NK la șoareci purtători de melanom

Gheorghita Isvoranu¹, Mihaela Surcel^{1,2}, Bogdan Marinescu¹, Laurențiu Anghelache¹, Radu-Ionuț Huică^{1,3}, Cătălin Gabriel Manole¹

¹INCD „Victor Babeș”, Laborator Biobază, București; ²Facultatea de Biologie, Universitatea din București; ³UMF „Carol Davila”, București

P8. Răspunsul macrofagelor la suprafețe hibride modificate

Mădălina Icriverzi^{1,2}, Livia Sima¹, Valentina Dincă³, Anișoara Cîmpean², Anca Roșeanu¹

¹Departamentul Interacții Ligand-Receptor, IBAR, București; ²Departamentul de Biochimie și Biologie Moleculară, Universitatea din București; ³Departamentul Prelucrarea fonică a materialelor avansate, INFLPR Măgurele

P9. Corelațiile histopatologie ale microscopiei confocale in vivo în lupusul eritematos discoid

Iulia Solomon¹, Mihaela Adriana Ghiță², Alexandra Victoria Ion¹, Sabina Zurac³, Daniel Boda^{2,4}, Constantin Căruntu^{2,4}

¹Departmentul Dermatologie și Alergologie, Spitalul Universitar de Urgență „Elias”, București; ²Laboratorul de Cercetare în Dermatologie, UMF „Carol Davila”, București; ³UMF „Carol Davila”, Departmentul Anatomie Patologică, Spitalul Clinic Colentina, București; ⁴Departmentul de Dermatologie, Institutul Național de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice „Prof. N. Paulescu”, București

P10. Modificări ale limfocitelor T și secreției de citokine în melanomul cutanat

Mihaela Surcel^{1,2}, Radu-Ionuț Huică^{1,3}, Adriana Narcisa Munteanu¹, Ioana Ruxandra Pîrvu¹, Dan Ciotaru¹, Cornel Ursaciuc¹, Monica Neagu^{1,2}

¹Secția Imunologie, INCD „Victor Babeș”, București; ²Facultatea de Biologie, Universitatea din București; ³UMF „Carol Davila”, București

P11. Efectele biologice ale compușilor de ruteniu (III) cu ciclodextrine asupra celulelor LOVO

Mirela Mihăilă¹, Camelia Hotnog¹, Marinela Bostan¹, Viviana Roman¹, Valentina Uivarosî², Lorelei Irina Brașoveanu¹

¹Centrul de Imunologie, Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau” București; ²Chimie Anorganică, Facultatea de Farmacie, UMF „Carol Davila” București

P12. Modularea răspunsului celulelor tumorale faringiene umane la chimioterapie prin utilizarea de produși naturali

Georgiana Gabriela Petrică-Matei^{1,2}, Viviana Roman¹, Mirela Mihăilă¹,
Camelia Hotnog¹, Lorelei Irina Brașoveanu¹, Marinela Bostan¹

¹Centrul de Imunologie, Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau” București; ²Departamentul de Citogenetică, “Personal genetics - Medical Genetics Center” București

P13. Abordarea farmacogenetică a terapiei de imunosupresie: metode de genotipare TPMT pentru un tratament eficient bazat pe utilizarea tiopurinelor

Maria Iacob¹, Adriana Oprea¹, Ileana Constantinescu², **Natalia Cucu**^{1,3}

¹Departamentul Genetică, Facultatea de Biologie, Universitatea din București; ²UMF „Carol Davila”, Spitalul Clinic Fundeni, Departmentul de Imunogenetică, București; ³Asociația de Epigenetică și Metabolomică, București

P14. Noi perspective pentru tratamentul adjuvant al cancerului de colon: biomolecule cu potențial clinic

Camelia Hotnog¹, Mirela Hirt¹, Marieta Panait², Marinela Bostan¹, Maria Iuliana Gruia², Lorelei Irina Brașoveanu¹

¹Centrul de Imunologie, Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau” București; ²Institutul de Oncologie „Alexandru Trestioreanu” București

20:00 – 22:00 WINE AND CHEESE (terasă)

= VINERI 7 OCTOMBRIE 2016 =

9:00 – 10:45 WORKSHOP – IMUNOLOGIE DE TRANSPLANT
Transplantul între beneficiu și încercarea rezolvării insuficiențelor de organ

Moderatori: **Prof. Dr. Ileana Constantinescu**, *UMF „Carol Davila”, București; Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București*
Prof. Dr. Petru Cianga, *UMF „Grigore T. Popa”, Iași*

W8. Imunologia transplantului de organ solid și celule stem hematopoietice periferice

Prof. Dr. Ileana Constantinescu^{1,2}

¹*UMF „Carol Davila” București;* ²*Institutul Clinic Fundeni, București*

W9. Are Registrul Român de donatori voluntari de celule stem hematopoietice periferice un impact asupra transplantului medular în România?

Ana Moise^{1,2}, Daniela Nedelcu², Mihaela Sora², Adela Toader², Larisa Ursu², Ileana Constantinescu^{1,2}

¹*UMF „Carol Davila” București;* ²*Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București*

W10. Medicația imunosupresoare încotro?

Daniela Nedelcu², Ana Moise^{1,2}, Adela Toader², Mihaela Sora², Larisa Ursu², Ileana Constantinescu^{1,2}

¹*UMF „Carol Davila” București;* ²*Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București*

W11. Tipizarea HLA de înaltă rezoluție rezolvă problema apariției rejetului acut post transplant de organ solid?

Larisa Ursu¹, Ana Moise^{1,2}, Mihaela Sora², Adela Toader², Ileana Constantinescu^{1,2}

¹*UMF „Carol Davila” București;* ²*Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București*

W12. Poate fi prevenită apariția neoplaziilor post transplant renal?

Ileana Constantinescu^{1,2}, Ana Moise^{1,2}, Larisa Ursu²

¹UMF „Carol Davila” București; ²Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București

10:45 – 11:00 PAUZĂ DE CAFEA

Sesiune de fotografii

11:00 – 12:30 CONFERINȚE PLENARE

Moderator: Prof. Dr. Marieta Costache, *Facultatea de Biologie, Universitatea din București*

CP8. Pharmacotherapy, cytokine profiles, and prognosis in women with diabetes mellitus and breast cancer

Z.A.P. Wintrob¹, J.P. Hammel², T. Khoury³, G.K. Nimako¹, Hsin-Wei Fu¹, Zahra S. Fayazi¹, D.P. Gaile⁴, A. Forrest⁵, **Prof. Dr. Alice C. Ceacareanu**^{1,6}

¹State University of New York at Buffalo, Dept. of Pharmacy Practice, NYS Center of Excellence in Bioinformatics and Life Sciences, 701 Ellicott Street, Buffalo, NY 14203; ²Cleveland Clinic, Dept. of Biostatistics and Epidemiology, 9500 Euclid Ave., Cleveland, OH 44195; ³Roswell Park Cancer Institute, Dept. of Pathology, Elm & Carlton Streets, Buffalo, NY 14263; ⁴State University of New York at Buffalo, Dept. of Biostatistics, 718 Kimball Tower, Buffalo, NY 14214; ⁵The UNC Eshelman School of Pharmacy, Division of Pharmacotherapy and Experimental Therapeutics, Campus Box 7569, Chapel Hill, NC 27599; ⁶Roswell Park Cancer Institute, Dept. of Pharmacy Services, Elm & Carlton Streets, Buffalo, NY 14263

CP9. Dezvoltarea vaccinului între concepte noi și vechi

Dr. Adrian Onu

INC „Cantacuzino”, București

12:30 – 12:45 DECERNAREA PREMIILOR CONFERINȚEI

12:45 – 13:00 ÎNCHIDEREA CONFERINȚEI

13:00 – 13:30 ADUNAREA GENERALĂ A MEMBRILOR SIR

REZUMATE

CONFERINȚE PLENARE

CP1. MEDIATORII MOLECULARI AI RĂSPUNSULUI IMUN ȘI ÎNCEPUTUL UTILIZĂRII LOR ÎN DIAGNOSTICUL CLINIC

Prof. Dr. Victor Cristea^{1,2}, Lucian Pop²

¹UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca;

²Centrul Medical „Sf. Iosif” Cluj-Napoca

În urmă cu mai bine de 35 de ani, descoperirea primelor molecule implicate în modularea răspunsului imun a adus unele clarificări în privința mecanismelor intime de semnalizare și cooperare celulară.

De-a lungul acestor ani s-au adăugat noi factori solubili, având roluri și efecte diferite.

Așa cum deseori s-a întâmplat în imunologie, atunci când explozia informațională nu a găsit timp suficient de decantare, înțelegere și sistematizare a recentelor achiziții (vezi moleculele HLA, CD, genetica Ig), astăzi, studiul acestor mediatori continuă concomitent în mai multe direcții, cu clarificări și confuzii în egală măsură.

Pe bună dreptate, cercetătorul care încearcă să defrișeze multitudinea de date care s-au acumulat se confruntă cu aceleași sentimente pe care le are un excursionist nevizat pătruns pe neașteptate într-o „grădină zoologică de factori, junglă de interacții, mlaștină de acronime sau deșert de sinonime”(Symons J.A., 1995).

În cele ce urmează vom expune pe scurt propriul punct de vedere cu privire la acești mediatori, într-o clasificare pe care ne-o asumăm și care are ca punct de plecare criteriul molecular, dincolo de cel clinic sau terapeutic.

CP2. CELULELE TUMORALE CIRCULANTE (II): MISIUNEA SECRETĂ A GANGLIONULUI SANTINELĂ**Dr. Cornel Ursaciuc***Secția Imunologie, INCD „Victor Babeș”, București*

Ganglionul santinelă (GS) reprezintă prima stație de metastazare pe cale limfatică a unei tumori. Conceptul actual de GS implică o abordare terapeutică în etape a unei tumori solide: reperarea GS prin metode de marcare a limfaticelor peritumorale, excizia tumorii împreună cu GS, analiza histopatologică a GS pentru identificarea metastazelor, excizia ganglionilor limfatici regionali (GR) în cazul în care GS este invadat. Chirurgia oncologică a devenit mult mai conservativă iar tratamentul are mai multe șanse de succes în cazurile în care GS este neinvadat sau prezintă doar micrometastaze,

GS este sediul răspunsului imun antitumoral împotriva celulelor tumorale circulante (CTC). Caracteristica atacului CTC împotriva celulelor imune din GS este inducerea imunopresiei. CTC secretă factori care inhibă capacitatea de răspuns a celulelor dendritice (DC) și limfocitelor T, stimulând în același timp creșterea ponderii limfocitelor T reglatoare cu rol supresor și răspunsului celular de tip Th2. Se produce astfel un fenomen de toleranță la antigenele tumorale (AT), ce permite supraviețuirea CTC, multiplicarea acestora și invazia GR. Este interesant de subliniat că răspunsul imun antitumoral în GR este mult mai energic decât în GS, ceea ce a emis ipoteza că acest răspuns ar reprezenta un proces independent.

Celulele T-CD4+, T-CD8+ și DC din GS au fost utilizate ca efectori ai terapiei adoptive antitumorale. Metoda implică expansionarea celulelor activate sau activarea celor în repaus în prezența AT specifice. Prin recombinare genică se pot obține clone specifice de limfocite T antitumorale cu receptor chimeric specific pentru AT.

În prezent are loc o îmbunătățire permanentă a metodologiei de investigație a prezenței CTC în GS. Metodele histopatologice și imunohistochimice încep să fie înlocuite cu citometrie în flux sau RT-qPCR, mult mai precise și mai puțin grevate de rezultate fals negative.

Diagnosticarea metastazelor din GS devine astfel un proces central al terapiei antitumorale, implicând chirurghi anatomopatologi, imunologi și oncologi.

CP3. ANTIGENE DIN STRUCTURA PRIMARĂ A TIROZINAZEI DIN MELANOM, N-GLICOZILATE ÎN REGIUNEA EPITOPULUI, BLOCHEAZĂ COMPLEXAREA EPITOPILOR MHC1-DEPENDENȚI

Prof. Dr. Ștefana M. Petrescu

Departmentul de Biologie Celulară și Moleculară, Institutul de Biochimie al Academiei Române, București

Tirozinaza reprezintă sursa majoră de antigene tumorale în melanom și care sunt recunoscute de limfocitele T CD8+ cu funcție citotoxică în timpul procesului de dezvoltare a tumorii.

Studiul prezentat se adresează mecanismelor fundamentale de procesare imună a tirozinazei și de prezentare a peptidelor limfocitelor T în absența N-glicanilor cu localizare distal sau în interiorul epitopului tirozinazei.

Utilizând clone de limfocite T CD8+ umane specifice pentru HLA-A2 restrictata la peptidul antigenic al tirozinazei - YMDGTMSQV – am arătat că există o recunoaștere specific realizată de celulele de melanom transfectate cu tirozinază și cu mutații N-glicozilați. Mutații unici, triplii și non-glicozilați cărora le lipsește regiunea proximală (N337Q) și epitopul localizat în regiunea situsului N-glicozilată (N371D) au generat mai multe peptide localizate la suprafața celulară comparativ cu mutații glicozilați cu afectarea situsurilor distale. Aceștia au dus în mod contant la activarea limfocitelor T CD8+.

Putem concluziona că N-glicanii localizați în interiorul și în vecinătatea epitopului împiedică capacitatea tirozinazei umane de a genera antigene HLA-A2 restrictate pentru recunoașterea realizată de limfocitele T CD8+ specifice.

Acest studiu aduce dovezi privind eficiența ridicată a tirozinazei căreia îi lipsește N-glicanul localizat în epitop, ca și pentru tirozinaza non-glicozilată în procesul de prezentare antigenică MHC clasă I dependentă.

Rezultatele reprezintă premise importante pentru dezvoltarea unor vaccinuri eficiente bazate pe tirozinaza din melanom.

CP4. PREZENTAREA MHC: EXISTĂ OARE REGULI?

Corina Cianga, **Prof. Dr. Petru Cianga**

Disciplina de Imunologie, UMF „Grigore T. Popa”, Iași

Scenariul clasic descrie felul în care antigenele endogene și cele exogene sunt procesate în compartimente celulare diferite și, de asemenea, sunt încărcate în cupele MHC I și MHC II în compartimente diferite, după care sunt transportate către suprafața celulară.

Totuși, celulele dendritice imature par să fie capabile să exprime molecule MHC II cu cupa goală, care sunt apoi încărcate cu antigene procesate extracelular. Mai mult, complexe MHC I și II/peptid sunt prezentate celulelor T CD8+, respectiv CD4+.

Există însă un fenomen denumit “cross-prezentare” prin care antigenele derivate din proteine pot traversa dintr-o celulă în alta și dintr-un compartiment celular în altul, ajungând să fie prezentate de către un MHC aparținând unei clase diferite, limfocitelor T corespunzătoare.

Mai mult decât atât, lipidele par să utilizeze elemente aparținând ambelor căi de procesare, pentru ca să fie apoi prezentate de către moleculele CD1.

Indiferent de calea de procesare, receptorii pentru antigen ai limfocitelor T recunosc antigene care sunt prezentate de către molecule MHC self, în cadrul unui sistem cunoscut ca “restricție MHC”.

Acest sistem de prezentare poate explica majoritatea interacțiunilor dintre limfocitele T și partenerii lor celulari, dar nu poate explica cel mai important mecanism care conduce la respingerea organelor solide transplantate, mecanism care implică recunoașterea antigenului asociat cu molecule MHC non-self.

CP5. MARKERI MOLECULARI ÎN IMUNOTERAPIA CANCERULUI

Prof. Dr. Monica Neagu^{1,2}, Andreea Lupu¹, Carolina Constantin¹

¹ INCD „Victor Babeș”, Laborator Imunobiologie, București

² Facultatea de Biologie, Universitatea din București

Imunoterapia în cancer cuprinde vaccinarea, transferul adoptiv al celulelor T anti-tumorale și inhibitorii de tip punct de control imun - toate aceste tipuri de terapii au fost testate în acest tip de maladie. Inhibitorii de tip punct de control imun (*immune checkpoint inhibitors*) utilizați în imunoterapie au atras interesul în tratamentul cancerului. În acest caz agenții terapeutici nu atacă direct tumora, ci activează sistemul imun al pacientului pentru a recunoaște și distruge celulele tumorale. Se vor prezenta studiile care utilizează tehnologia de inginerie imună pentru administrarea locală a anticorpilor direcționați către aceste ținte. Acest tip de imunoterapie a fost introdus în melanom, cancerul colorectal, cancerul pulmonar, pentru a enumera câteva din tipurile de cancere cu o mortalitate și incidență ridicată. Pentru ca în aceste tipuri de cancere să se aplice eficient imuno-terapia cei mai recentii markeri moleculari trebuie testați la pacienți. Astfel, așa cum este prezentat în cel mai recent ghid de Diagnostic și tratament în melanom (*Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline—Update 2016*) trebuie să se aibă în vedere câteva puncte esențiale în momentul în care se aplică imuno-terapia. Astfel, testarea mutațiilor prezente la nivel tumoral (cel puțin BRAF; NRAS, CKIT) este esențială pentru decizia terapeutică. Introducerea anticorpilor anti-PD-1 ca monoterapie sau în combinație cu anticorpii anti-CTLA-4 reprezintă în acest moment prima linie terapeutică în melanomul metastatic nerezecabil, și care se poate aplica și independent de statusul BRAF. Dacă inhibitorii specifici de BRAF sunt opțiunea terapeutică la pacienții cu mutația BRAF, acești inhibitori trebuie să se combine cu inhibitorii MEK. Inhibitorii C-KIT trebuie introduși terapeutic la pacienții care prezintă melanoame cu mutații c-KIT. Acest tip de cancer este un exemplu alături de celelalte pentru a cărui terapie trebuie să se investigheze un set de markeri moleculari specifici. Acești markeri moleculari pot re-orienta terapia și pot indica populațiile de pacienți în care această terapie va avea eficiență maximă. **Bibliografie selectivă:** Garbe et al, *Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline – Update 2016*; Seremet et al. *J Transl Med.* 14:232, 2016; Wang C et al, *Hum Vaccin Immunother.* 2016 Sep 26:1-4.

Finanțare realizată prin Grant PN-II -2013-4-1407

CP6. INFLUENȚA STRESULUI NEUROPSIHIC ASUPRA STATUSULUI IMUN**Prof. Dr. Veronica Lazăr***Departamentul de Microbiologie și Imunologie, Facultatea de Biologie, Universitatea din București*

O multitudine de studii indică faptul că stresul neuropsihic este un factor puternic care dereglează sistemul imunitar și răspunsul său normal la toată gama de substanțe străine, incluzând și toți agenții patogeni. De asemenea, este dovedită comunicarea între sistemul nervos central și sistemul imunitar care implică și sistemul endocrin, prin semnale bidirecționale între toate componentele acestei triade. Factorii de stres psihologic dereglează această rețea și conduc spre condiția de imunosupresie cu risc mare pentru sănătate, mai ales pentru infecții.

Scopul acestei prezentări este acela de a arăta care este legătura între sistemul nervos central și sistemul imunitar, mecanismul de acțiune al hormonilor de stres și puternicul lor efect de imunosupresie în condiții de stres cronic, un factor de risc major pentru sănătate, subliniind importanța deosebită a măsurilor anti-stres, la nivel individual sau profesional. În condiții normale, sistemul imunitar menține o stare de echilibru sau de sănătate (imunostazie), dar când organismul este supus unui stres prelungit, sistemul nu mai are aceeași capacitate de apărare. Organismul devine vulnerabil și manifestă nu numai simptome ale stresului neurologic, dar și dereglări de lungă durată ale sistemului imunitar și alte maladii. În fapt, se consideră la ora actuală ca aproape 70% dintre toate maladiile umane pot fi atribuite stresului sau sunt influențate de această condiție. Activarea sistemului nervos simpatic, a axelor simpatic – medulosuprarenală și hipotalamo-hipofizară-adrenală conduce către eliberarea de citokine. La nivel molecular, funcțiile imunitare sunt mediate de aceste molecule mesager, eliberate de o mare varietate de celule ale sistemului imunitar activate – leucocite sau alte celule și care acționează asupra altor celule țintă, cu efecte pro- și anti-inflamatorii. Hormonii de stres adrenergici alterează sinteza și eliberarea citokinelor și astfel de alterări ale sistemului imunitar îi influențează propria funcționare. Stresul afectează mai ales imunitatea mediată celular, cu un impact major în apararea specifică antivirală și antitumorală.

CP7. BOALA ALZHEIMER DIN PERSPECTIVA SEMNALIZARII REDOX – PROIECTUL REDBRAIN

Dr. Gina Manda¹, Ana-Maria Enciu^{1,2}, Antonio Cuadrado^{1,3,4}

¹INCD „Victor Babeș”, Laborator Radiobiologie, București, România;

²UMF „Carol Davila”, Departamentul Științe Morfologice, Catedra de Biologie Celulară și Moleculară, București, România;

³Universitatea Autonomă din Madrid (UAM), Madrid, Spania;

⁴CIBERNED, Ciber de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Neurodegenerativas, Madrid, Spania

Recent s-a produs o schimbare de paradigmă privind rolul speciilor reactive de oxigen (ROS) în fiziologia normală și patologică: ROS sunt critic implicate în homeostazia celulară la nivelul semnalizării intracelulare, iar perturbarea balanței redox stă la baza multor patologii, cum ar fi bolile cardiovasculare și cele neurodegenerative, cancerul, diabetul și obezitatea. Gruparea acestor boli cu simptomatologie diferită pe baza profilului molecular comun deschide noi perspective pentru descifrarea mecanismelor patologice și, implicit, pentru dezvoltarea unor noi strategii terapeutice țintite. Studii recente au evidențiat faptul că perturbările redox în boala Alzheimer (AD) preced modificările moleculare neurotoxice. Stresul oxidativ cronic în AD derivă pe de o parte din producția crescută de ROS (datorată disfuncționării mitocondriilor în neuroni, activității crescute a NADPH-oxidazelor în celulele gliale, ca și contribuției infiltratului de monocite și granulocite din creier), și din supresia răspunsului antioxidant endogen, pe de altă parte. Va fi detaliată relația biunivocă dintre stresul oxidativ, stresul inflamator și cel proteotoxic în AD, în relație cu impactul acestor stresori asupra deficitului cognitiv. Dezvoltarea terapiilor care ținesc stresul oxidativ prin modularea activității antioxidante endogene reprezintă o strategie terapeutică promițătoare în bolile redox, inclusiv în AD. Una dintre abordări ar putea fi activarea factorului de transcripție Nrf2 care este critic implicat în amorsarea mecanismelor citoprotectoare care participă în reglarea redox, inflamație și proteostazie. Va fi prezentat proiectul REDBRAIN care are ca scop dezvoltarea unui sistem avansat de investigație preclinică și clinică a modulatorilor factorului de transcripție Nrf2 și a biomarkerilor potențiali la nivelul leucocitelor periferice în AD. Abordarea se bazează pe amprenta moleculară a factorului Nrf2, în corelație cu procesele inflamatoare mediate de factorul nuclear-kB și cu polarizarea funcțională a monocitelor, ca precursori ai celulelor microgliale din creier. *Proiectul REDBRAIN (ID P37_732) este cofinanțat din Fondul European de Dezvoltare Regională prin Programul Operațional Competitivitate, Acțiunea 1.1.4.*

CP8. FARMACOTERAPIA, PROFILUL CITOKINIC ȘI PROGNOSTICUL ÎN CAZUL FEMEILOR CU DIABET ZAHARAT ȘI CANCER DE SÂN

Zachary AP Wintrob¹, Jeffrey P Hammel², Thaer Khoury³, George K Nimako¹, Hsin-Wei Fu¹, Zahra S Fayazi¹, Dan P Gaile⁴, Alan Forrest⁵, **Prof. Alice C. Ceacareanu**^{1,6}

¹*State University of New York at Buffalo, Dept. of Pharmacy Practice, NYS Center of Excellence in Bioinformatics and Life Sciences, 701 Ellicott Street, Buffalo, NY 14203;*

²*Cleveland Clinic, Dept. of Biostatistics and Epidemiology, 9500 Euclid Ave., Cleveland, OH 44195;*

³*Roswell Park Cancer Institute, Dept. of Pathology, Elm & Carlton Streets, Buffalo, NY 14263;*

⁴*State University of New York at Buffalo, Dept. of Biostatistics, 718 Kimball Tower, Buffalo, NY 14214;*

⁵*The UNC Eshelman School of Pharmacy, Division of Pharmacotherapy and Experimental Therapeutics, Campus Box 7569, Chapel Hill, NC 27599;*

⁶*Roswell Park Cancer Institute, Dept. of Pharmacy Services, Elm & Carlton Streets, Buffalo, NY 14263*

Introducere: Indicele de masă corporală (IMC) și dieta au fost independent asociate cu diabetul zaharat de tip II (DZ2) și cancerul de sân (CS). Datele actuale par să confirme că anumite căi de semnalizare aberante sunt implicate atât în riscul crescut pentru DZ2 cât și în cel pentru CS. Astfel, este de așteptat ca farmacoterapia care poate inversa sau modifica aceste semnalizări aberante în DZ2 să influențeze și prognosticul CS. Aceasta ipoteză este susținută de faptul că insulina injectabilă și agentii de stimulare ai insulinei sunt asociați cu un prognostic al CS mai rezervat în cazul femeilor cu DZ2, în timp ce alte medicamente, în special metformina, îmbunătățesc substanțial prognosticul CS. Cu toate acestea, există doar dovezi limitate care să susțină un mecanism particular; din cunoștințele noastre, acest studiu este primul care evaluează relația între profilul de biomarkeri, terapia DZ2 și prognosticul CS.

Metode: Acest studiu a fost aprobat de comisiile instituționale Roswell Park Cancer Institute (RPCI) și Universitatea din Buffalo. Toate femeile adulte diagnosticate la RPCI în perioada 1 ianuarie 2003-31 decembrie, 2009 au fost luate în considerare pentru a fi incluse în studiu (n = 2194). Înregistrările medicale au fost revizuite pentru a rezuma parametrii demografici și clinici, precum și istoricul tratamentului și rezultatele aferente. Ulterior, toți subiecții identificați ca având DZ2 ca diagnostic

asociat (n=97 cazuri) au fost studiați comparativ cu pacienți fără DZ2 (lot control, n=194) în funcție de: vârstă, IMC, etnie, status de menopauză, și stadiul tumorii. Pentru toți subiecții studiului au existat în baza de date și biobanca RPCI probe de plasmă obținute înainte de începerea tratamentului și intervenției chirurgicale. Un set de 33 markeri au fost analizați prin ELISA sau Luminex. Valorile cut-off ale biomarkerilor au fost identificate utilizând testul Kaplan-Meier și luând în considerare atât supraviețuirea generală cât și supraviețuirea fără boală. Gradele de asociere au fost evaluate prin testele Fisher, Kruskal-Wallis sau Wilcoxon Rank-Sum. Analize statistice multivariate au fost efectuate pentru a lua în calcul vârsta, stadiul tumorii, BMI, statusul receptorilor pentru estrogeni și comorbidităților asociate. Corelațiile între biomarkerii testați au fost evaluate prin metoda Pearson.

Rezultate: Utilizarea insulinei și stimulatorilor producției de insulină a fost asociat cu un fenotip ER (-) ($p=0,008$, respectiv $p=0,043$) și un prognostic CS semnificativ mai scăzut ($p=0,012$, respectiv $p=0,033$). Utilizarea insulinei a fost asociată cu niveluri ale peptidului C mai scăzute și niveluri mai ridicate de IL-6, TNF-a și CRP comparativ cu lotul control; CRP crescute și TNF- α au fost asociate cu prognostic mai slab al CS ($p=0,003$, $PMV=0,210$). Utilizatorii de insulină și de stimulatori ai producției de insulină au avut niveluri de leptină crescute față de grupul control ($p=0.052$ și $p=0.050$). Niveluri scăzute de adiponectină au fost observate la pacienții la care nu s-a administrat insulină ($p<0.001$, $MVP=0.006$). Concentrațiile peptidului C au fost mai mici la pacienții tratați cu insulină comparativ cu cei netratați cu insulină ($p<0.001$, $MVP<0.001$). Prelucrarea multivariată a dus la indentificarea unor diferențe în nivelurile peptidului C între utilizatorii de insulină și grupul control ($p=0.290$, $MVP=0.001$). În general, concentrațiile de peptid C mai mici de 0,75 ng/ml au fost puternic asociate cu o supraviețuire scăzută ($p=0,007$, $MVP=0,002$). Printre utilizatorii de insulină, nivelurile de peptid C au fost invers corelate cu IL-1 β și IL-1Ra numai după ajustarea totală ($p=0,012$, respectiv $p=0,030$). Corelația nu a fost observată în celelalte grupuri de tratament. Prin contrast, IL-1 β și nivelurile adiponectină au fost direct corelate în rândul utilizatorilor de insulină, atât înainte cât și după ajustare ($p=0,021$ respectiv $p=0,029$), dar nu și în alte grupuri.

Concluzie: Utilizarea de insulină a fost asociată cu niveluri crescute de leptină, CRP, TNF α și niveluri scăzute de peptid C comparativ cu grupul control, precum și cu un prognostic CS rezervat. Utilizarea stimulatorilor secreției de insulină a fost asociată cu un prognostic nefavorabil ca și cu niveluri scăzute de adiponectină și niveluri crescute de leptină și CRP.

CP9.DEZVOLTAREA VACCINULUI ÎNTRE CONCEPTE NOI ȘI VECHI**Dr. Adrian Onu***INC „Cantacuzino”, București*

Lunga istorie a vaccinării se bazează pe diferite tipuri de vaccinuri. Deși procedurile de imunizare sunt descrise odată dezvoltarea practicilor medicale, istoria medicală modernă a vaccinării a început în 1798 cu publicația ce descria experimentul lui Edward Jenner care a introdus celebrul concept de "vaccinare". Metoda lui a dus în cele din urmă la eradicarea variolei și a inițiat conceptul de vaccin bazat pe microorganism "viu atenuat" care a fost începutul unei dezvoltări medicale și tehnologice. Un alt moment în dezvoltarea de vaccin a fost vaccinul antirabic a lui Pasteur (1885), care a avut un mare impact în lupta împotriva bolilor transmisibile, și care a definit conceptul de imunizare cu microorganisme omorâte. Aceste două concepte principale au condus la dezvoltarea de vaccinuri la începutul secolului al 19-lea și odată cu dezvoltarea microbiologiei au permis lupta împotriva unor boli transmisibile precum antrax, holera, ciurma, febra tifoidă, tuberculoză, difterie, tetanos. Din punct de vedere tehnologic, ultimele două dintre ele au definit „vaccinuri anti toxine” bazate pe o proteină specifică și un mecanism de acțiune clar farmacologic. Vaccinurile moderne se bazează în principal pe aceste concepte farmacologice și beneficiilor oferite de dezvoltarea imunologiei, biologiei moleculare și biotehnologiei. Astfel, pe lângă vaccinurile viu atenuate, vaccinurile inactivate și vaccinuri anti toxină, alte concepte de vaccin, cum ar fi vaccinurile subunitare vaccinuri conjugate, vaccinuri ADN, vaccinuri bazate pe vectori recombinanți au fost dezvoltate de-a lungul anilor. Fiecare concept a fost redefinit, un exemplu bun fiind "vaccinuri subunitare recombinante", bazate pe tehnologia ADN-ului recombinant. De asemenea, disponibilitatea secvențelor de ADN, alturi de dezvoltarea spectaculoasă din imunologie permis proiectarea rațională a substanțelor antigenice și introducerea conceptului de "vaccinologie inversă". O altă modalitate de proiectare rațională, "calitate prin design", a adus beneficii tehnologiei de producție. Nu în ultimul rând, dezvoltarea adjuvanților - un concept vechi, dar bazat pe o tehnologie modernă, completează fericit dezvoltarea vaccinului. Institutul Național de Cercetare Cantacuzino a abordat mai multe dintre concepte moderne în cercetarea de vaccin, ce sunt descrise în această prezentare.

WORKSHOP-uri

W1. PROBIOTICE ȘI PARAPROBIOTICE – PROPRIETĂȚI IMUNOMODULATORII ȘI EFECTE BENEFICE ASUPRA STĂRII DE SĂNĂTATE

Lia Mara Dițu

Universitatea din București, Facultatea de Biologie, Departamentul de Microbiologie și Imunologie, București

Tractul gastrointestinal reprezintă un ecosistem complex bazat pe interrelațiile complexe dintre epiteliul gastrointestinal, celulele imunitare și microbiota rezidentă. Cele trei componente ale ecosistemului au co-evoluat, și se intercondiționează pentru a desfășura o activitate fiziologică. Fiecare componentă a ecosistemului gastrointestinal poate avea însă și o cale de dezvoltare predeterminată, chiar dacă este izolată de celelalte componente așa cum s-a evidențiat prin studiile pe animale *germfree*.

Scopul lucrării de față este prezentarea unor aspecte legate de influența probioticelor și a componentelor paraprobiotice asupra funcționalității sistemului imunitar. Probioticele sunt definite ca microorganisme vii care, administrate în cantitate adecvată, conferă beneficii asupra stării de sănătate a organismului gazdă. Pe lângă aceste beneficii asociate consumului de probiotice, capacitatea de modulare a activității sistemului imunitar a captat treptat atenția cercetătorilor. Câteva cercetări pe organisme animale și umane au furnizat dovezi fără echivoc conform cărora anumite tulpini bacteriene cu potențial probiotic sunt capabile să stimuleze și de asemenea, să regleze mecanisme ale răspunsului imun înăscut sau dobândit. Diferitele tulpini probiotice variază în privința capacității lor de a modula mecanismele sistemului imunitar, astfel încât eficiența fiecărei tulpini trebuie să fie demonstrată cu mare atenție, pe baza unor experimente rigurose stabilite. Studiile noastre preliminare sugerează faptul că microbiota intestinală și implicit tulpinile probiotice, produc molecule capabile să interfereze cu calea citokinică de semnalizare de la nivelul organismului gazdă, sugerând posibila lor implicare în modularea mecanismelor de apărare anti-infecțioasă, mediate de citokine capabile să activeze reacții imune specifice (IFN- γ) sau nespecifice (IL-1, IL-6), incluzând: atenuarea răspunsului inflamator prin creșterea nivelului de IL-6 care induce sinteza proteinelor de fază acută; activarea unui răspuns imun specific reflectat în creșterea nivelului IFN- γ ; limitarea leziunilor intestinale inflamatorii prin scăderea nivelului IL-1 α .

W2. DIAGNOSTICUL SEROLOGIC ÎN MALADIILE PARAZITARE: TOXOCAROZA, TRICHINELOZA, CISTICERCOZA ȘI ECHINOCOZOZA CHISTICĂ

Patricia Mihăilescu¹, Ionica Ceauș¹, Claudia Istrate¹, Carmen-Michaela Crețu^{1,2}

¹*Eco-Para-Diagnostic SRL, București;*

²*Universitatea de Medicina și Farmacie "Carol Davila", București*

Introducere: Încă din cele mai străvechi timpuri organismele parazite au existat și au fost menționate de nume celebre ale medicinei antice (Hipocrates). Cele mai importante și a căror prezență produce importante daune atât materiale cât și sociale sunt Nematodele și Cestodele. Deși primele sunt extrem de polimorfe și ocupă medii de viață din cele mai diverse, printre membrii lor de seamă se numără *Toxocara spp* și *Trichinella spiralis* ambele, odată intrate în contact cu organismul uman, producând afecțiuni grave (toxocaroză-larva migrans visceralis/ocularis, respectiv trichineloză). O altă clasă importantă de organisme parazite este clasa *Cestoda* (fam.*Taeniidae*) cu reprezentanți de seamă în *Taenia solium* și *Echinococcus granulosus* ce cauzează la contactul cu organismul uman două maladii extrem de grave: cisticercoza (complicație a infecției cu *Taenia solium*) și echinococoza chistică (hidatidoză).

Material si metode: am realizat un studiu retrospectiv în perioada 1.01.2013 - 31.07.2015, în care au fost incluși pacienții admiși în centrul medical Eco-Para-Diagnostic SRL din București pentru următoarele investigații: 1598 probe de ser testate pentru anticorpi specifici anti-*Toxocara canis*; 266 probe de ser testate pentru anticorpi anti-*Trichinella spiralis*; 171 probe de ser testate pentru anticorpi specifici anti *Taenia solium*; 1345 probe testate pentru anticorpi anti-*Echinococcus granulosus*. Pentru aceste testări au fost utilizate kit-uri comerciale de diagnostic, iar ca metode pentru screening ELISA și confirmare Western Blot.

Rezultate: *Toxocara* – 1598 probe de ser –1158 testate prin metoda ELISA, 440 prin Western Blot (WB). Dintre cele testate prin WB–155 (35,22%) au fost pozitive și 285 (64,78%) negative. Repartiția pe sexe: 50,90% au fost bărbați, iar 49,10% femei cu vârste cuprinse între 1-76 ani.

Trichinella spiralis – 266 probe de ser testate – 216 prin ELISA și 50 prin WB. Rezultatele testelor ELISA au înregistrat 41 (18,98%) probe pozitive și 175 (81,02%) negative. Din probele testate prin WB 17 (34%) au fost pozitive și 33 (66%) negative. În ceea ce privește repartiția pe sexe și grupe de vârstă: 56% bărbați, 44% femei cu vârste între 3-62 ani.

Taenia solium – 171 probe de ser testate – 98 prin metoda ELISA (2.04% pozitive, 97.96% negative) și 73 prin WB (4.10 % pozitive, 95.9% negative). 32,24% dintre pacienți au fost bărbați, 65.76% femei cu vârste cuprinse între 1-88 de ani.

Echinococcus granulosus – 1335 probe de ser testate – 916 prin ELISA și 419 prin WB. Din pacienții testați prin WB - 96 (22.9%) au fost pozitive, 323 (77.08%) negative. Din cei 94 pacienți (WB pozitivi) – 49 au fost ELISA pozitivi (52.13%), 19 ELISA negativi (20.22%), restul de 26 (27.65%) nu au fost testați folosind metoda ELISA. De asemenea au fost examinate și 27 de probe de material chistic pentru testarea viabilității protoscolecilor – 25 au fost pozitive și 2 negative. Probele au fost colectate intraoperator de la 25 pacienți (19 femei, 8 bărbați cu vârste cuprinse între 5-74 ani.

Concluzii: Metodele serologie de diagnostic al bolilor parazitare sunt deosebit de importante, în special metoda Western Blot (metoda de confirmare cu sensibilitate și specificitate crescute) care are un aport important mai ales în cazul probelor negative la testul ELISA, dar cu simptomatologie și imagistică caracteristice.

Pentru un diagnostic precis sunt necesare coroborarea mai multor metode de diagnostic: serologic (ELISA, WB), imagistic și toate cu o anamneză corectă.

W3. PARTICULARITĂȚILE RĂSPUNSULUI IMUN ÎN BOALA LYME

Ani Ioana Cotar, Daniela Bădescu

Laboratorul Infecții cu transmitere prin vectori, INC „Cantacuzino”, București

Boala Lyme este cea mai frecventă infecție transmisă de căpușe în emisfera nordică, fiind prezentă predominant în regiunile temperate din America de Nord, Europa și Asia. Este o afecțiune multisistemică, inflamatorie, determinată de răspunsul imun la genospeciile patogene pentru om ale complexului *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.), care în Europa sunt transmise prin mușcătura căpușelor *Ixodes ricinus*.

Borrelioza Lyme este o boală inflamatorie, care afectează multiple sisteme de organe: sistemele nervos și cardiovascular, articulațiile și mușchii, însă mecanismele patogenezei nu sunt complet elucidate.

Borrelia are capacitatea de a invada țesuturile gazdă, precum și de a scăpa de mecanismele de apărare imune ale gazdei pentru perioade lungi de timp în ciuda apariției anticorpilor în ser și în alte fluide ale organismului uman.

Borrelia utilizează câteva mecanisme pentru evaziunea răspunsurilor imune și pentru a determina infecții persistente: (1) inactivarea cascadei complementului, (2) variația antigenică și de fază și (3) invazia unor nișe protectoare. Infecția cu *B. burgdorferi* stimulează sinteza de anticorpi cu o funcție unică și înalt specifică.

În prezent diagnosticul de laborator al diferitelor stadii ale bolii Lyme se bazează pe evaluarea în dinamică a anticorpilor specifici de tip IgM și IgG, prin teste de tip ELISA și western blot efectuate în etape succesive.

W4. UTILITATEA MODELULUI EXPERIMENTAL *DROSOPHILA MELANOGASTER* PENTRU STUDIUL *IN VIVO* AL INTERRELAȚIILOR GAZDĂ-AGENT INFECȚIOS

Mihaela Raluca Mihalache (Radu)¹, Alina Neagu¹, Veronica Lazăr^{2,3}

¹*Departamentul de Botanică și Microbiologie, Facultatea de Biologie, Universitatea din București;*

²*Departamentul de Genetică, Facultatea Biologie, Universitatea din București;*

³*Institutul de Cercetare al Universității din București*

În conformitate cu datele din literatura internațională, modelul experimental *Drosophila melanogaster* este utilizat pentru analiza mecanismelor care stau la baza răspunsului imun.

Aceste mecanisme pot fi elucidate prin studiul infecțiilor experimentale induse cu diferite specii bacteriene de interes, precum *Pseudomonas aeruginosa* sau *Escherichia coli*.

Cele două metode de inducere a infecțiilor experimentale la *Drosophila melanogaster* sunt reprezentate de metoda înțepării (*pricking*) și de metoda ingestiei de celule bacteriene, permițând analiza ulterioară a unor gene țintă și extrapolarea rezultatelor la alte modele mamaliene, precum și la om.

Rezultatele obținute în cadrul laboratorului nostru au evidențiat că efectele determinate de infecția cu *P. aeruginosa* prin ingestie sunt mai puțin severe decât în cazul infecției prin *pricking* și au permis evidențierea unor diferențe semnificative ale nivelului de expresie al unor gene de interes.

W5. NOI PERSPECTIVE ÎN STABILIREA PANELULUI MULTICOLOR

Gabriela Elena Androsiac, *Application Specialist*

SC. Novaintermed, România

Citometria în flux multicoloră este un instrument puternic pentru caracterizarea a numeroase tipuri de celule folosind un portofoliu mare de anticorpi conjugați orientați împotriva markerilor de suprafață, intracelulari și secretați. Astfel, pentru o mai bună optimizare, unele aspecte importante trebuie luate în considerare atunci când se încearcă designul unui panel multicolor. Densitatea antigenului și co-expresia lui pe celulă, alegerea corectă a fluorocromilor pentru antigenele țintă și controalele experimentale, pot îmbunătăți rezoluția și pot minimiza efectele suprapunerii spectrale în populația de interes. Această prezentare va ghida cercetătorii printre regulile ce trebuie respectate pentru optimizarea alegerii panelurilor multicolore în citometria în flux.

W6. APLICAȚII ALE CITOMETRIEI ÎN FLUX PENTRU PRACTICA CLINICĂ ACTUALĂ

Bianca Gălățeanu¹, Ariana Hudiță¹, Mirela Șerban¹, Carolina Negrei², Codruța Vagu³, C. Șerban³, Anca Gheorghe³, Marieta Costache¹

¹*Departamentul de Biochimie și Biologie Moleculară, Universitatea din București;*

²*Facultatea de Farmacie, UMF „Carol Davila” București;*

³*Laboratorul de analize hematologice specializate pentru transplant medular, Institutul Clinic Fundeni, București*

Citometria în flux a evoluat de la o simplă tehnică de laborator la o unealtă de rutină în diagnosticul, prognosticul și monitorizarea malignităților hematologice, a statusului imun la pacienții oncologici, a celor cu deficiențe imune sau a celor care au suferit transplant alogenic de celule stem sau de organ. Prin citometria în flux se pot identifica cu acuratețe imunofenotipuri distincte ale malignităților în vederea selecției unei terapii potrivite și a predicției evoluției bolii. De exemplu, o serie de malignități ale limfocitelor B, CD20⁺ pot fi tratate cu rituximab (anticorpi anti-CD20), iar malignitățile subsetului CD52⁺ de limfocite T sau B pot fi tratate cu alemtuzumab (anticorpi anti-CD52). În plus, identificarea celulelor maligne reziduale după terapie este o practică frecventă în monitorizarea MRD.

Citometrul în flux este de asemenea platforma de laborator utilizată pentru monitorizarea statusului imun, inclusiv numărarea limfocitelor T CD4⁺ din sânge după infecția cu HIV, precum și în clasificarea și prognosticul deficiențelor imune cum ar fi: sindromul limfoproliferativ autoimun. Cuantificarea prin citometrie în flux a subseturilor celulare imune în cazul transplantului alogen de măduvă oferă informații predictive referitoare la supraviețuire posttransplant.

Citometria în flux poate fi de asemenea folosită în terapia celulară pentru numărarea celulelor progenitoare endoteliale CD34⁺, extrem de rare în sângele de cordon ombilical. Nu în ultimul rând, citometria în flux poate deveni o platforma flexibilă și versatilă în abordarea biopsiilor lichide la pacienții cu tumori epiteliale.

Toate aceste aplicații ale citometriei în flux au putut fi translatate în practica clinică datorită standardizării care s-a realizat prin creșterea reproductibilității prin abordări inovative în dezvoltarea reactivilor și instrumentelor de lucru.

W7. EVALUAREA MULTICOLORĂ A SUBPOPULAȚIILOR LIMFOCITARE B DIN SÂNGELE PERIFERIC

Mihaela Surcel^{1,2}, Radu-Ionuț Huică^{1,3}, Adriana Narcisa Munteanu¹, Ioana Ruxandra Pîrvu¹, Dan Ciotaru¹, **Cornel Ursaciuc¹**

¹*Secția Imunologie INCD „Victor Babeș”, București;*

²*Facultatea de Biologie, Universitatea din București;*

³*UMF „Carol Davila”, București*

Limfocitele B sunt implicate în răspunsul imun umoral, determinând secreția de anticorpi după contactul cu antigenul (Ag). Prin activare și transformare blastică, limfocitele B devin plasmocite secretante de imunoglobuline (Ig) identice ca specificitate cu Ig receptor pentru antigen de pe membrana limfocitului B activat.

În sângele periferic pot fi determinate mai multe categorii de celule B-CD45+CD19+CD20+ rezultate în urma dezvoltării sau contactului cu Ag: imature (tranzitorii) – CD10+sIg++, naive (care nu au intrat în contact cu Ag) – sIg+, de memorie (rezultate după contactul cu Ag și răspunsul imun umoral specific) – CD27+sIg+/-, plasmocite (în pasaj de la ganglionii limfatici spre măduva osoasă hematogenă) – CD38+++sIg-. Aceste categorii sunt situate în anumite intervale de valori, variabile cu vârsta și situația patologică. Există și unele subpopulații ce derivă din cele de mai sus (“B transfrontaliere”) și pot apărea temporar în sângele periferic în funcție de condițiile de desfășurare a răspunsului imun: limfocite B activate

(CD10+CD21+) și celule B reglatoare (CD24+CD38+). Identificarea subpopulațiilor a fost efectuată printr-o metodă cu 8 culori la citometrul FACSCanto II (BD) după marcarea celulelor cu anticorpi monoclonali fluocromați: antiCD45-BV510, anti-CD19-PerCP-Cy5.5, antiCD20-APC-H7, antiIgD-FITC, antiIgM-APC, antiCD10-PE-Cy7, antiCD27-BV421, antiCD38-PE.

Rezultatele au relevat variații între ponderea subpopulațiilor B la adulți și copii. Celulele B totale, naive și imature au fost în procent mai mare la copii, în timp ce limfocitele B de memorie și plasmocitele au o pondere mai crescută la adulți.

Evaluarea subpopulațiilor de limfocite B din sângele periferic este utilă cu precădere în dereglările celulelor B din imunodeficiențe (ID) secundare, sindroame infecțioase, boli autoimune, diabet tip II, sindrom grefă-contragază. În ID primare (umorale sau combinate) și în proliferările limfocitare B (leucemii, limfoame, sindrom mieloproliferativ) determinarea nu este recomandată în forma descrisă anterior, deoarece nu oferă indicații sugestive din cauza perturbării majore a distribuției, markerilor și categoriilor de limfocite B periferice.

Lucrare sprijinită de Autoritatea Națională pentru Cercetare Științifică Română prin proiectul PN 16.22.03-04.

W8. IMUNOLOGIA TRANSPLANTULUI DE ORGAN SOLID ȘI CELULE STEM HEMATOPOIETICE PERIFERICE

Ileana Constantinescu^{1,2}

¹UMF „Carol Davila”, București;

²Institutul Clinic Fundeni, București

Tratamentul optim pentru stadiul final al insuficienței de organ este transplantul care îmbunătățește evident atât calitatea vieții cât și supraviețuirea. Imunologia a furnizat raționamentul pentru dezvoltarea transplantului clinic. Baza științifică a transplantului înseamnă înțelegerea evenimentelor moleculare și celulare care duc la rejet sau acceptarea alogrefei. Potrivirea alelelor HLA și a complexului minor de histocompatibilitate între donator și receptor previne apariția episoadelor de rejet. Diferențele între alelele HLA stimulează rejetul. Tiparea polimorfismului alelelor MHC și semnificația acestora în recunoașterea imunologică este încercarea de zi cu zi a imunologilor. De asemeni, relevanța clinică a polimorfismelor HLA este în mod specific evaluată pentru fiecare tip de transplant. Experiența noastră bazată pe dovezi în transplantul de organ solid (rinichi, ficat și cord) în cadrul Institutului Clinic

Fundeni ilustrează că atât completa evaluare imunologică pre- transplant dar și atenta monitorizare după procedura de transplant, reprezintă cheia succesului. În cadrul conferinței sunt prezentate exemple clinice din cazuistica noastră. Tiparea moleculară de înaltă rezoluție utilizată în Institutul Clinic Fundeni permite obținerea unor rezultate HLA în detaliu astfel încât potrivirea să fie cât mai aproape de 100%. În transplantul de celule stem hematopoietice potrivirea HLA la nivelul de opt grade de rezoluție este foarte importantă și, practic dictează statusul clinic post transplant. În transplantul medular nu numai MHC este esențial a fi potrivit cât mai perfect dar și complexul minor de histocompatibilitate este important să fie potrivit. Boala grefă contra gazdă poate fi cauzată și de un număr limitat de nepotriviri ale alelelor minore HLA.

Imunologia transplantului este complexă și oferă o experiență unică zi de zi și aceasta este frumusețea acestei specialități!

W9. ARE REGISTRUL ROMÂN DE DONATORI VOLUNTARI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE PERIFERICE UN IMPACT ASUPRA TRANSPLANTULUI MEDULAR ÎN ROMÂNIA?

Ana Moise^{1,2}, Daniela Nedelcu², Mihaela Sora², Adela Toader², Larisa Ursu², Ileana Constantinescu^{1,2}

¹UMF „Carol Davila”, București;

²Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București

Când nu este posibilă găsirea unui donator potrivit HLA în cadrul familiei, în registrul național de donatori voluntari neînrușiți, poate fi găsit un donator potrivit pentru pacient. Registrul nostru român de donatori voluntari de celule stem hematopoietice periferice a îmbunătățit substanțial accesul spre transplantul medular pentru mulți pacienți diagnosticați cu o mare varietate de malignități hematologice.

Dezbaterea se concentrează pe problematica găsirii unui donator potrivit HLA în cadrul familiilor din România și de nevoia unei testări extensive în toate regiunile țării.

În experiența noastră am sesizat mai multe probleme: lipsa unei politici a tipării HLA și a unei strategii de testare la nivel național; lipsa unei evaluări complete a donatorului, lipsa urmăririi evoluției acestuia; în țara noastră nu există până în acest moment o bancă de cordon ombilical ceea ce limitează, totuși, procedurile de transplant medular.

W10. MEDICAȚIA IMUNOSUPRESOARE ÎNCOTRO?

Daniela Nedelcu², Ana Moise^{1,2}, Adela Toader², Mihaela Sora², Larisa Ursu², Ileana Constantinescu^{1,2}

¹UMF „Carol Davila”, București;

²Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București

Imunosupresia de lungă durată ajută la prevenirea pierderii alogrefei, dar poate fi frecvent asociată cu înrăutățirea condițiilor pre-existente sau cu complicații noi. Monitorizarea atentă a nivelului inhibitorilor de calcineurin este obligatorie pentru îmbunătățirea calității vieții și a ratei de supraviețuire post transplant. Inhibitorii de calcineurin rămân piatra de hotar pentru cele mai multe regiuni imunosupresoare. Tacrolimusul este agentul frecvent ales în centrul nostru de transplant din cadrul Institutului Clinic Fundeni. Mai multe studii au documentat avantajul tacrolimusului față de ciclosporina în prevenirea rejetului acut, în menținerea funcționării alogrefei și în reducerea reacțiilor adverse cardiovasculare (hipertensiune și hiperlipidemie). Alături de inhibitorii de calcineurin sunt frecvent utilizați corticosteroidii, sirolimusul, everolimusul, ATG, daclizumab, basiliximab, alemtuzumab. Noi imunosupresoare se află în studii clinice: betalcept, alefacept, CP690,550 (un inhibitor de JAK 3 kinaza), AEB071 (un inhibitor de protein kinaza C). Există patru probleme aflate în dezbatere: terapia de inducție (ATG, alemtuzumab); regimuri fără corticosteroidi; reducerea reacțiilor adverse; noi medicamente imunosupresoare. În cadrul dezbaterii este prezentată experiența și părerea noastră legată de imunosupresia în transplantul de organ solid și în transplantul medular.

W11. TIPIZAREA HLA DE ÎNALTĂ REZOLUȚIE REZOLVĂ PROBLEMA APARIȚIEI REJETULUI ACUT POST TRANSPLANT DE ORGAN SOLID?

Larisa Ursu¹, Ana Moise^{1,2}, Mihaela Sora², Adela Toader², Ileana Constantinescu^{1,2}

¹UMF „Carol Davila”, București;

²Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București

Potrivirea alelică HLA este crucială pentru transplantul de organ solid, dar sunt și alți factori importanți în egală măsură care duc la prevenirea rejetului acut. Criteriile de selecție ale receptorilor sunt esențiale. Managementul pacienților imunizați este aproape inexistent și acest fapt afectează evoluția

post transplant. Problema apariției anticorpilor anti-HLA de novo post transplant este de asemeni o provocare. Selecția medicamentelor imunosupresoare poate fi dificilă în anumite cazuri și ar trebui să fie mult mai personalizată în concordanță cu nevoile fiecărui pacient. Alte subiecte în dezbateri sunt: evitarea crosmatch-urilor pozitive, strategia de tipare HLA, strategii de screening pentru anticorpii anti-HLA. În experiența noastră, datele pe care le deținem până în prezent, demonstrează eficiența potrivirii alelice HLA în îmbunătățirea evoluției post transplant a pacienților. Totuși, nu toate polimorfismele alelice HLA sunt relevate clinic pentru un anumit tip de transplant. Astfel, potrivirea alelică HLA nu este singurul factor implicat în prevenirea apariției episoadelor de rejet acut după transplant.

W12. POATE FI PREVENITĂ APARIȚIA NEOPLAZIILOR POST TRANSPLANT RENAL?

Ileana Constantinescu^{1,2}, Ana Moise^{1,2}, Larisa Ursu²

¹UMF „Carol Davila”, București;

²Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București

Cancerul reprezintă o cauză majoră a morbidității și mortalității primitorilor transplantați renal. Media de apariție a cancerului la zece ani post transplant renal este de aproximativ 15%. Există câteva probleme care sunt menționate în această dezbateri: aspectele legate de cancerul pre-existent; transmiterea cancerului de la donator; tratamentul imunosupresor; determinanții genetici ai evoluției post transplant renal. La momentul actual se lucrează screening pentru markeri tumorali în vederea prevenirii cancerelor de novo dar și transmiterea cancerului de la donator. Terapia imunosupresoare este una dintre cele mai importante cauze ale apariției cancerului post transplant. Riscul tumoral este în mod clar legat de intensitatea imunosupresiei. Neoplaziile post transplant cresc ca posibilitate de apariție cu timpul. Infecțiile virale pot favoriza dezvoltarea tisulară neoplazică și pot fi implicate în diferite tipuri de cancer (cele mai multe boli limfoproliferative sunt limfoame cu celule B și sunt cauzate de EBV). Predispoziția genetică s-a dovedit a fi asociată cu o înaltă incidentă pentru cancerul de piele. Epigenetica și secvențierea întregului genom pot furniza date aprofundate ale influențelor genetice asupra evoluției transplantului renal. Supraviețuirea pe termen lung a alogrefelor renale nu s-a schimbat dealungul ultimei decade și avem în continuare multe aspecte de rezolvat pentru a fi posibilă prevenirea apariției cancerului post transplant.

PREZENTĂRI ORALE

PO1. MEDIATORII MOLECULARI AI RĂSPUNSULUI IMUN

Lucian Pop¹, **Victor Cristea**^{1,2}

¹*Centrul Medical „Sf. Iosif”, Cluj-Napoca;*

²*UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca*

Citokinele constituie un ansamblu heterogen de molecule (aproximativ 100 de tipuri), cu greutate moleculară între 15 și 30 kDa, de natură glicoproteică sau proteică, care sunt secretate de o celulă și se leagă de receptori membranari specifici, de mare afinitate, prezenți pe suprafața altei celule, fie chiar pe celula care le-a secretat. În cadrul răspunsului imun, ele sunt recunoscute ca mediatori ai imunității, inflamației, proliferării și diferențierii unor linii celulare.

Într-o serie de lucrări (părți ale unor teze de doctorat finalizate) începând din 1997 am încercat să vedem care este comportamentul principalelor citokine pro și antiinflamatorii în debutul și evoluția unor afecțiuni și dacă activitatea lor este diferită de loturile martor.

Au fost efectuate studii pe bolnavi cu hepatită cronică virală B sau C, ciroză hepatică (versus steatohepatită nonalcoolică), teren atopic și urticarie cronică, rinită alergică, boală parodontală, cancer de sân, poliartrită reumatoidă, pemfigus bulos, șoc septic, șoc anestezic. Sunt prezentate și discutate cele mai semnificative rezultate obținute în ideea că diagnosticul serologic se poate îmbogăți prin utilizarea acestor noi „markeri”.

PO2. O METODĂ ELECTROFORETICĂ NON-DENATURANTĂ PENTRU IDENTIFICAREA OLIGOMERILOR PROTEINEI PRECURSOARE A AMILOIDULUI ÎN CORTEXUL CEREBELOS DE ȘOARECE DE LABORATOR

Ana-Maria Enciu^{1,2}, Maria Dudău^{1,2}, Elena Codrici¹, Daniela Ionela Popescu¹, Simona Mihai¹, Laurențiu Anghelache^{1,3}, Radu Albuлесcu^{1,4}, Cristiana Tănase^{1,5}

¹INCD „Victor Babeș”, București;

²UMF „Carol Davila”, București;

³USAMV București;

⁴ICCF București;

⁵Universitatea „Titu Maiorescu”, București

Introducere: Proteina precursoră a amiloidului (APP) este componentul central al cascadei amiloidului – veriga patogenă principală a bolii Alzheimer. Rolul ei fiziologic nu este foarte bine cunoscut până la ora actuală, accentul în cercetarea în domeniu fiind pus pe metabolizarea lui patologică. Relativ recent au fost evidențiați dimeri în culturi celulare transfectate cu APP. Nu există până la ora actuală date referitoare la existența acestor dimeri în țesuturi.

Scop: Identificarea dimerilor sau oligomerilor de APP în țesut nervos provenit din cortex cerebelos de șoarece de laborator normal, fără o patologie cunoscută de sistem nervos central.

Material și metode: Material biologic: cortex cerebelos provenit de la șoareci masculi C57Bl6, cu vârsta cuprinsă între 3 și 9 luni. Metode: ultracentrifugare și separare de membrane celulare, extracție de proteine, electroforeză non-denaturantă, urmată de transfer și imunoblotare.

Rezultate: Folosind protocoale standardizate de electroforeză SDS PAGE non-reducătoare (care pastrează punțile disulfidice) nu am putut evidenția prezența dimerilor raportați în literatură ca apărând în sistemele de lucru *in vitro*. În urma optimizărilor am obținut un protocol de izolare, extracție de proteine, electroforeză, transfer și imunoblotare potrivit studiului complexelor moleculare care conțin APP. În materialul biologic studiat am putut pune în evidență un astfel de complex macromolecular, de aproximativ 600 kDa, mult peste valoarea unui dimer, a cărui greutate moleculară preconizată este în jur de 200 de kDa.

Concluzii: Folosind un protocol adaptat de electroforeză non-denaturantă, am pus în evidență un complex macromolecular pe bază de APP. Urmează să identificăm compoziția proteică a acestui complex, pentru a vedea dacă este vorba de oligomeri de APP sau de un heterocomplex proteic. Un accent

deosebit se va pune pe investigarea existenței proteinelor specifice anumitor microdomenii membranare (de ex. Caveolina-1) în componența acestui complex.

Acknowledgment: *This work was supported by a grant of the Romanian National Authority for Scientific Research and Innovation CNCS-UEFISCDI, project number PN-II-RU-TE-2014-4-1534 and PN 16.22.04.01.*

PO3. GENOTIPUL KIR2DL4 NEGATIV – O CARACTERISTICĂ FOARTE RARĂ

Daniela Constantinescu^{1,2}, Corina Cianga^{1,2}, Camelia Mihăilă², Petru Cianga^{1,2}

¹*Disciplina Imunologie, UMF „Grigore T. Popa” Iași;*

²*Laboratorul de Imunologie, Spitalul „Sf. Spiridon”, Iași*

Introducere: Celulele NK și unele limfocite T exprimă receptori Ig-like (KIR - killer Ig-like receptors). Unii dintre acești receptori au roluri activatorii, alții sunt receptori inhibitori. Numărul de domenii Ig-like și lungimea cozilor intracitoplasmatică contribuie la denumirea acestor receptori. Până în prezent sunt cunoscute la om 16 gene KIR, precum și un număr de variante alelice ale acestora. KIR2DL4, KIR3DL2, KIR3DL3 și KIR3DP1 sunt considerate așa numite “gene cadru” (framework genes), fiind prezente practic la nivelul tuturor indivizilor.

Materiale și metode: Genotipurile KIR a o sută de indivizi neînrușiți au fost caracterizate folosind kituri de tip SSP (Sequence Specific Primers) de la patru producători diferiți: BAG, Olerup, InnoTrain și Invitrogen. Toți acești subiecți au fost donatori sănătoși, provenind din diferite județe ale Moldovei, în special Bacău și Iași, care s-au înscris în Registrul Național al Donatorilor de Celule Stem.

Rezultate: Genotipurile KIR pe care am putut să le caracterizăm ne-au permis să calculăm și mai departe să ajustăm frecvențele acestor gene, raportate până în prezent în populația României. Mai mult, am putut evidenția un genotip particular: 2DL2; 2DL3; 2DL5B; 2DS1; 2DS2; 2DS3; 3DL2; 3DL3; 2DP1; 3DP1, care, în mod remarcabil, nu prezintă 2DL4. Acest rezultat a fost confirmat folosind kituri de la 3 producători diferiți.

Concluzii: Baza de date www.allelefrequencies.net raportează doar 10 genotipuri KIR2DL4-negative, ceea ce demonstrează o foarte puternică selecție pozitivă care favorizează genele KIR cadru. Individul pe care am putut astfel să îl caracterizăm este unul dintre cei foarte puțini raportați în întreaga lume. În plus, datele generate de acest studiu ne-au furnizat o imagine mai de acuratețe asupra frecvenței genelor și genotipurilor KIR din România.

PO4. SOD NATURAL, PRODUS AL INSTITUTULUI “CANTACUZINO”: DE LA TRADIȚIE LA INOVARE

Andreea-Roxana Lupu^{1,2}, Lidia Cremer¹, Adrian Onu¹, Cristina Cercel³

¹*Grup Imunomodulare, INC „Cantacuzino” București;*

²*Laborator Imunobiologie, INCD „Victor Babeș” București;*

³*Facultatea de Biologie, Universitatea din București*

Extractul total de orz verde, SOD Natural, a fost brevetat de Institutul Cantacuzino în anii '80 ca supliment alimentar cu activitate antioxidantă (de tip SOD și de tip peroxidază).

În vederea identificării și evaluării proprietăților epuratoare ale produsului nostru, am testat capacitatea antioxidantă a acestuia față de radicalii peroxil și DPPH (cu ajutorul metodelor ORAC – Oxygen Radical Absorbance Capacity și DPPH). De asemenea, am demonstrat că metodele utilizate au fost adecvate unui protocol de control al calității complex și riguros (incluzând intervale de toleranță).

Datele obținute oferă informații despre calitatea materiei prime, influența etapelor tehnologice asupra capacității antioxidante și variabilitatea inter-lot. Au fost executate studii de stabilitate pentru identificarea condițiilor optime de amabalare și stocare.

Rezultatele noastre, în corelație cu datele obținute anterior, contribuie la studii viitoare în scopul demonstrării biodisponibilității compușilor antioxidanți din compoziția produsului SOD Natural (interacție extract – microbiota intestinală, absorbție și metabolizare), precum și a altor compuși cu efect benefic (vitamine, oligoelemente).

Capacitatea sa antioxidantă (atât de tip enzimatic cât și epuratoare) precum și alte efecte potențial benefice recomandă extractul total SOD Natural drept un supliment alimentar de înalta calitate, un energizant eficient și un potențial agent antiinflamator.

Extractele din orz verde (ex. SOD Natural), utilizate în mod tradițional în scopul menținerii și îmbunătățirii stării de sănătate, ar putea fi ingredientul principal pentru noi produse cu efecte complexe (de exemplu activități antioxidante și hepatoprotectoare).

PO5. TEHNOLOGIA SINGLE-CELL – PRINCIPIU ȘI APLICAȚII. IMPORTANȚA APLICAȚIILOR PENTRU IMUNOLOGIE

Sorina Dinescu, Marieta Costache

Departamentul de Biochimie și Biologie Moleculară, Universitatea din București

Analiza prin tehnologia *single-cell* a fost supranumită “noua frontieră în - omică” [Wang *et al.*, 2010]. Caracterizarea precisă a probelor cu heterogenitate mare și efectele acesteia în fenomene complexe de tipul diferențierii celulelor stem sau a procesului tumorigen poate fi realizată prin analiza celulelor individuale. Analiza transcriptomului prin tehnologia *single-cell* poate explora cu succes heterogenitatea unei probe și poate duce la izolarea și caracterizarea de noi populații celulare bine individualizate. Tehnologia constă în separarea celulelor dintr-o suspensie celulară în sistem microfluidic după ce selecția acestora a fost realizată prin microspirație, citometrie în flux sau microdisecție laser. Odată separate, celulele vor fi lizate automat, iar conținutul fiecărei celule va fi eliberat într-o cameră de analiză individuală. Tehnologia *single-cell* constă într-o abordare inovatoare prin care se pot analiza simultan ADN, ARN (ARN mesager, ARN micro, ARN non-codante) sau proteine din aceeași celulă individuală. În mod particular pentru analiza expresiei genice prin tehnologia *single-cell*, aplicația finală de analiză este RT-qPCR. Sistemul imunitar este o rețea extrem de complexă de celule, care interrelaționează. Monitorizarea răspunsului imun evaluează tipurile și funcțiile celulelor imune implicate în generarea răspunsului imun (activarea și diferențierea diferitelor subseturi celulare de tip macrofage, celule T, celule B, etc). Printre aplicațiile legate de imunologie ale tehnologiei *single-cell* se numără: (1) separarea populațiilor de celule, (2) identificarea variațiilor fenotipice și funcționale între aceste populații de celule; (3) definirea interacțiilor specifice celulă-celulă; (4) analiza multidirecțională și generarea de informație cantitativă (expresie genică). Pentru studii de imunologie funcțională, utilizarea tehnologiei *single-cell* poate duce la generarea de modele de rețele statistice care pot da informații despre mecanismele moleculare care controlează răspunsul imun [Yalcin *et al.*, 2015]. De asemenea, studiile *single-cell* pot elucidă transcriptomul și genomul celulelor T antigen-specifice. Tehnologia *single-cell* ar putea contribui la definirea semnăturilor ale răspunsului imun la patogeni cu o « rezoluție » moleculară și la identificarea unor terapii moleculare adecvate. [1] Wang D., Bodovitz S., Trends Biotechnol. 28 (2010) 281 –290. [2] Yalcin A., Yamanaka Y.J., Love J. C., Single-Cell Analysis, Methods in Molecular Biology 853 (2012) 211-230.

PO6. ANALIZA POPULAȚIILOR LIMFOCITARE LA ȘOARECI PURTĂTORI DE TUMORĂ

Gheorghita Isvoranu¹, Bogdan Marinescu¹, Laurențiu Anghelache¹, Mihaela Surcel^{1,2}, Cornel Ursaciuc¹, Cătălin Gabriel Manole¹, Gina Manda¹

¹INCD „Victor Babeș”, București;

²Facultatea de Biologie, Universitatea din București

Introducere: Strategiile terapeutice în cancer se bazează nu numai pe terapii citotoxice țintite, cât și pe resursele proprii ale organismului prin modularea răspunsului imun anti-tumoral.

Materiale și metode: În studiu au fost utilizați șoareci C57BL/6 în vârstă de 8-10 săptămâni. Modelele tumorale studiate au fost melanomul B16F10 și carcinomul cutanat. În ziua 21 de la inocularea celulelor tumorale populațiile limfocitare (CD3, CD4, CD8, CD19, NK1.1) au fost evaluate prin citometrie în flux.

Rezultate: Evaluarea populațiilor limfocitare atât în sângele periferic, cât și în splină la șoarecii purtători de tumoră a evidențiat alterarea distribuție acestora în comparație cu șoarecii sănătoși. La șoarecii purtători de carcinom, în sângele periferic, s-a observat scăderea semnificativă a procentului de limfocite T (CD4+ și CD8+) și de celule NK, însoțită de creșterea semnificativă a procentului de limfocite B. La șoarecii purtători de melanom s-a observat o scădere semnificativă doar în cazul procentului de celule NK și limfocite TCD4+ periferice.

În splină, la ambele tipuri de tumori s-a observat scăderea semnificativă a procentului de celule NK și limfocite B și o creștere semnificativă statistic a procentului de limfocite TCD4+. În cazul limfocitelor TCD8+ s-a observat o scădere procentuală semnificativă statistic doar în cazul șoarecilor purtători de carcinom.

Concluzii: Distribuția populațiilor limfocitare este diferită în sângele periferic și în splină la animalele purtătoare de tumoră. Tumorile induc scăderea procentului de limfocite T și celule NK în periferie, dar determină creșterea procentului de limfocite TCD4+ în splină. Este posibil ca aceasta să se datoreze sechestrării limfocitelor TCD4+ în organele limfoide secundare. În plus, s-a evidențiat un mecanism compensatoriu între limfocitele TCD4+ și limfocitele B, cel puțin la nivel numeric.

Lucrare sprijinită parțial de Autoritatea Națională pentru Cercetare Științifică Română prin proiectul PN 16.22.04.04.

PO7. CONFIRMAREA RETICULOCALBINEI 1 ȘI 3 DREPT BIOMARKERI PROTEOMICI AI EXPRESIEI CLINICE ÎN SCLERODERMIE

Paul Bălănescu^{1,2}, Anca Bălănescu^{1,3}, Eugenia Bălănescu², Cristian Băicuș^{1,2}, Gheorghe Andrei Dan^{1,4}

¹UMF „Carol Davila”, București;

²Lab. Imunologie, Sp. Clinic „Colentina”, București;

³INSMC „Alessandrescu-Rusescu”, București;

⁴Dept. Medicină Internă, Sp. Clinic „Colentina”, București

Introducere: Studii de proteomică fundamentală realizate pe diferite produse patologice ale pacienților cu sclerodermie au identificat un număr crescut de biomarkeri proteomici candidați pentru expresia clinică a acestei boli autoimune polimorfe. Dintre aceștia se remarcă familia reticulocalbinelor, proteine chaperoni asociate aparatului de sinteză proteică al fibroblastului.

Obiectivul studiului a fost de a confirma pe un lot independent de pacienți cu sclerodermie reticulocalbina 1 și 3 drept biomarkeri pentru sclerodermie.

Materiale și metode: Au fost recrutați 40 de pacienți cu sclerodermie și 20 de martori sănătoși. Aceștia le-au fost dozate nivelurile serice ale reticulocalbinei 1 și 3 folosind truse comerciale ELISA.

Rezultate: Reticulocalbina 1 și 3 au fost identificate în serul pacienților și al martorilor sănătoși. Mai mult, nivelurile reticulocalbinei 1 și 3 au fost strâns corelate. Deși nu s-au găsit diferențe statistice semnificative în expresia reticulocalbinelor între martorii sănătoși și pacienții cu sclerodermie, în cadrul lotului cu sclerodermie se distinge un subgrup de pacienți (6 pacienți, 15%) cu niveluri crescute ale expresiei reticulocalbinelor care împărtășesc un “pattern” similar al bolii: prevalența mai mare a ulcerelor digitale, a calcinozei, a telangiectaziilor, a hipomotilității esofagiene și a formei difuze a bolii.

Concluzii: Reticuloalbinale au fost confirmate că biomarkeri pentru sclerodermie. Acestea par însă să fie mai degrabă biomarkeri pentru stratificarea bolii.

PO8. INFLAMAȚIA ȘI CANCERUL, STĂRI FIZIOPATOLOGICE CU MECANISME INTRICATE ÎN CARE RĂSPUNSUL IMUN ESTE CENTRAL. EFECTUL BENEFIC AL GEMOTERAPIEI

Didi Surcel¹, M. Surcel², S. Toader², M. Butan³, Simona Nițu⁴, Carmen Ponoran⁴

¹*Blue Life Medical Center, Cluj-Napoca;*

²*UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca;*

³*Center of the Public Health, Cluj-Napoca;*

⁴*Plant Extract, Cluj-Napoca*

Date recente scot la iveală faptul că între cele două stări fiziopatologice - inflamația și bolile cronice precum, cancerul - există o relație simbiotică, care presupune mecanisme de producere intricate, precum: stresul oxidativ, hipoxia, expresia factorilor de transcriere / în special factorul nuclear B(NF-kB)/, prezența a numeroși factori precum: chemokine, citokine, factori de creștere, prostaglandine, factori angiogenici, etc.

Dincolo de predispoziția genetică, modificările epigenetice, acumulate în organism de-a lungul întregii vieți se implică major în efortul organismului pentru asigurarea homeostaziei. La persoanele cu procese inflamatorii, sistemul imunitar este dereglat, iar răspunsul inflamator devenind persistent, implică multe tipuri de celule imune și non-imune. Inflamația bazală, poate fi indusă de mai mulți factori, precum: a) reactivarea infecțiilor virale latente; b) scăderea exprimării receptorilor Toll-like cu reducerea capacității de recunoaștere a patogenilor; d) scăderea capacității de migrare a celulelor imune; f) creșterea stresului oxidativ g) declinul imunității adaptative; h) deficiențe în producția de citokine, factori de creștere, cu trecerea de la profilul de citokine Th1 la Th2 și mai ales i) alterarea interacțiunii între celula stem mesenchimală și sistemul imun. Expunerea îndelungată, profesională la azbest, asociată în mod constant cu modificări morfo-funcționale la nivel pulmonar, vine cu argumente în acest sens. Scopul acestei lucrări este de a demonstra efectul protector al produselor gemoterapice "Buxus" și „Thuia” asupra răspunsului imun și oxidativ, alterat de expunerea cronică la azbest. Experimentul in vivo a fost efectuat pe 100 de șobolani, linia Wistar, împărțiți în următoarele loturi: 1. lotul Martor (C); 2. Lotul Buxus + Thuia (B + T); 3. Lotul Azbest (As); 4. Lotul As+B +T . Azbestul a fost administrat prin instilare intratraheală. Produsele gemoterapice (B + T) au fost administrate pe cale orală. O jumătate din fiecare grup a fost sacrificat după 30 de zile, iar cealaltă parte după 180 de zile. Lavajul bronhoalveolar a fost efectuat pentru obținerea de macrofage alveolare (Ma). Pentru investigarea răspunsului imun s-a efectuat prepararea

limfocitelor splenice (Ls), co-cultivate cu Ma. Au fost efectuați următorii parametri: 1. Testul de încorporare a 3HTdR; 2. IL-1-test; 3. TNF-test; 4. Testul de Chemiluminiscence pentru speciile de oxigen liberi; 5. Testul de fagocitoză. Administrarea azbestului a fost asociată cu alterarea răspunsului imun și oxidativ, iar modificările histopatologice la 180 zile, respectiv prezența de celule atipice indică dezvoltarea procesului neoplazic pulmonar. Reversibilitate parțială a parametrilor din grupul B + T + As sugerează un efect protector al gemoterapicelor administrate.

În concluzie, reacțiile inflamatorii și imunologice joacă un rol important în dezvoltarea cancerului. Pentru asigurarea unui tratament eficient, trebuie interferate mai multe cai fiziopatologice intricate în dezvoltarea procesului patologic. Pentru prevenirea și tratamentul precoce a prejudiciului adus de azbest, la persoanele cu risc înalt, se impune un tratament complex, alternativ, care să includă gemoterapia și un regim alimentar adecvat.

PO9. SPECTRUL BOLILOR DEPENDENTE DE IgG4

Manole Cojocaru^{1,2}, Inimioara Mihaela Cojocaru^{3,4}, Bogdan Chicoș²

¹*Facultatea de Medicină, Universitatea „Titu Maiorescu”, București;*

²*Centrul Clinic de Boli Reumatismale „Dr. Ion Stoia”, București;*

³*UMF „Carol Davila”, București;*

⁴*Clinica de Neurologie, Spitalul Clinic Colentina, București*

Bolile dependente de IgG4 (BD-IgG4) sunt afecțiuni fibro-inflamatorii sistemice rare. Evaluarea pentru BD-IgG4 trebuie să cuprindă istoricul amănunțit al bolii, examenul clinic, investigații selective de laborator, alături de studii imagistice adecvate. Diverse organe sunt implicate în BD-IgG4. Confirmarea diagnosticului prin biopsie este importantă pentru excluderea malignității și altor afecțiuni ce se aseamănă cu BD-IgG4. Nivelul seric al IgG4 este crescut în general peste limita superioară a normalului (>135 mg/dl) și tinde să crească paralel cu numărul de organe implicate și să scadă după tratamentul cu corticosteroizi. Markerul BD-IgG4 este infiltrarea limfoplasmocitară a țesutului cu celule IgG4-pozitive și limfocite mici, care se asociază cu fibroză, flebită obliterantă, majoritatea pacienților prezentând niveluri crescute de IgG4 în ser. IgG4 nu se leagă de complement și de aceea nu generează inflamație semnificativă. IgG4 se poate lega de receptorul Fcγ I (CD64), ce se află pe monocite, macrofage și neutrofile. Producerea IgG4 este controlată de celulele Th2 (IL-4 și IL-13) ce mediază răspunsurile alergice și producerea IgE. Există observații sugestive pentru afecțiune autoimună și afecțiune alergică. Contribuția autoanticorpilor la BD-IgG4 rămâne neclară. BD-IgG4 prezintă

caracteristicile unei boli alergice: nivel crescut al citokinelor Th2 (proteine mesagere celulare) în țesuturi, nivel IgE crescut, număr de limfocite T-reg crescut în sânge și număr crescut de eozinofile la 40% dintre pacienți. IL-10 și TGF- β sunt cunoscute că susțin producerea IgG4 și prezintă niveluri crescute în BD-IgG4. În BD-IgG4 au fost găsite niveluri tisulare crescute ale citokinelor Th2 (IL-4, IL-5 și IL-13). BD-IgG4 se caracterizează prin producerea atât sistemică cât și localizată de IgG4. Nu este clar dacă acești anticorpi acționează ca anticorpi patogenici sau reprezintă un fenomen asociat. Glucocorticoizii, azathioprina, micofenolat mofetil, methotrexat și rituximab reprezintă opțiunile terapeutice.

PO10. PAHIMENINGITĂ HIPERTROFICĂ INTRACRANIANĂ DEPENDENTĂ DE IgG4, RELEVATĂ DE CEFALEE ZILNICĂ CRONICĂ

Inimioara Mihaela Cojocaru^{1,2}, Daniela Ștefănescu², Vlad Ștefănescu²

¹UMF „Carol Davila”, București;

²Clinica de Neurologie, Spitalul clinic „Colentina”, București

Pahimeningita hipertrofică intracraniană dependentă de IgG4 (PHID-IgG4) este o afecțiune rară, cronică, fibrozantă, inflamatorie, ce determină îngroșarea durei mater cerebrale. O pacientă de 56 ani a prezentat cefalee difuză debutată cu trei luni înaintea internării. Cefaleea era zilnică, constantă, bilaterală, afectând regiunile fronto-temporale, neinfluențată de postură. Examenul neurologic a evidențiat ROT vii bilateral. MRI cerebral a relevat îngroșare și nodozități ale durei mater a emisferelor cerebrale incluzând falxul și tentoriumul (hiposemnal T1w și T2w) cu priză a substanței de contrast (T1w) și ocluzie a sinusului transvers stâng. Examenul LCR a evidențiat limfocitoză moderată. Screening-ul pentru boli infecțioase a fost negativ. Screening-ul pentru boli vasculare de collagen și vasculite a fost negativ. Rezultatele testelor de coagulare au fost negative. Nivelul seric al enzimei de conversie a angiotensinogenului (ACE) a fost normal. Screening-ul pentru neoplazii sau pentru boli limfoproliferative a fost negativ. S-a început tratamentul cu anticoagulante și simptomatice. Cefaleea accentuându-se, s-a efectuat un al doilea MRI după două luni; acesta a evidențiat accentuarea îngroșării. Pacienta a prezentat nivel seric crescut de IgG4. Examinarea histologică a biopsiei durei mater a relevat inflamație limfoplasmocitară, cu fibroză cu pattern stratificat difuz și macrofage infiltrate. Prelucrarea imunohistochimică a relevat prezența plasmocitelor IgG4 pozitive și hiperplazie meningotelială ușoară. Diagnosticul final a fost: Pahimeningită hipertrofică intracraniană

dependentă de IgG4 cu hiperplazie meningotelială ușoară. Tromboză a sinusului transvers stâng. Corticoterapia în doze mari a determinat ameliorare clinico-imagistică. Biopsia durei mater cu prelucrare imunohistochimică a confirmat diagnosticul. PHID-IgG4 nu trebuie uitată ca posibilă cauză a cefaleei zilnice cronice.

PO11. MICROARN-URILE ASOCIATE BOLILOR MUSCULARE INFLAMATORII: BIOMARKERI DE DIAGNOSTIC ȘI ȚINTE TERAPEUTICE

Emilia Manole^{1,2}

¹*Laborator Biologie Moleculară, INCD „Victor Babeș”, București;*

²*Centrul de Cercetare, Spitalul Clinic „Colentina”, București*

MicroARN-urile joacă un rol tot mai mult studiat în ultimii ani în miogeneză și autoimunitate. Îmbunătățirea înțelegerii funcției microARN-urilor și a decelării țintelor acestora ar putea duce la elucidarea patogenezei miopatiilor inflamatorii idiopatice (MII). Există diferențe clare între profilul microARN-urilor la pacienții cu MII față de martorii sănătoși. Este tot mai evident că microARN-urile pot fi utilizate ca biomarkeri în diagnostic, sau ca ținte pentru intervenții terapeutice.

Studiul microARN-urilor se poate face prin qRT-PCR și prin microarray, pe probe provenite din țesut muscular (biopsii musculare de la pacienți cu diferite tipuri de MII), sânge (microARN-urile circulante), sau chiar din fire de păr. Din multitudinea de microARN-uri modificate în patologia musculară inflamatorie, sunt alese cele semnificativ modificate la pacienți față de probele martor, fie că sunt supraexprimate sau subexprimate față de normal.

S-a observat ca microARN-urile-1, -133a și -133b, -206, -208, -208b, -486, -499, -146b, -221, -155, -214, -222 au niveluri modificate la pacienții adulți, în asociere cu răspunsul autoimun, dar și cu o serie de factori reglatori specifici musculari (pentru miogeneză, regenerare). La copiii cu dermatomiozită juvenilă netratată există în mod special o scădere semnificativă a microARN-urilor-10a și -10b, care au ca țintă genele reglatoare ale citokinelor proinflamatorii.

În concluzie, microARN-urile pot fi folosite în anumite condiții ca markeri de diagnostic, putând constitui în viitor ținte terapeutice care să permită un tratament personalizat pentru pacienții cu MII.

PO12. TEHNOLOGII INOVATOARE ÎN MANAGEMENTUL ULCERULUI CRONIC DE GAMBĂ

Carolina Constantin¹, Andreea-Roxana Lupu¹, Monica Neagu^{1,2}

¹*Laborator Imunobiologie, INCD „Victor Babeș”, București;*

²*Facultatea de Biologie, Universitatea din București*

Încă de la descoperirile lui Gregor Mendel privind ereditatea, lumea științifică a fost în căutarea și descifrarea acelor caracteristici moleculare care definesc unicitatea fiecărui individ, iar în ultimele decade s-au parcurs pași rapizi în identificarea acestor baze moleculare. Odată cu descifrarea genomului uman, descoperirile s-au succedat alert ajungându-se în prezent la era medicinei personalizate ca cea mai nouă interfață de îmbunătățire a diagnosticului, prognosticului și managementului pacientului.

Pentru dermatologie și dermatopatologie tehnologiile moleculare redefinesc managementul clinic al bolilor de piele, facilitând de asemenea selectarea celor mai bune ținte terapeutice pentru boli infecțioase ale pielii, dermatoze inflamatorii, neoplazii cutanate sau regenerarea rănilor. Procesul de regenerare a unei leziunii este vital pentru integritatea organismului, iar pe plan mondial numărul crescător de pacienți suferinzi de răni cronice impune dezvoltarea de noi strategii și metode de monitorizare a evoluției și vindecării leziunilor cutanate. Aceste strategii pot fi privite simultan din două perspective aparent diferite dar perfect complementare.

Medicina regenerativă a leziunii implică pe de o parte demersuri clinice, iar pe de altă parte intervin tehnologiile moleculare de identificare și cuantificare a biomoleculilor și a altor elemente moleculare cu rol cheie în cercetarea mecanismelor rănilor cronice.

Sursa inițială a cuantificării absolute de analiți de interes a fost furnizată de tehnica ELISA iar ulterior arsenalul de tehnici a fost îmbogățit cu tehnici de imunohistochimie, array tisular, array de proteine și mai recent de platformele de array celular care îmbină principiul protein microarray cu microscopia confocală *in vivo*. Aceste tehnologii permit evaluarea riguroasă a procesului de regenerare ce implica din punct de vedere metodologic utilizarea unor biomateriale inovatoare, terapii celulare sau terapii moleculare complexe.

Apare tot mai evident faptul că tehnologiile inovatoare, moleculare, sunt instrumente flexibile și nelimitate ca scop și utilitate în dermatopatologie.

Finanțare prin proiect PN-II-PT-PCCA-2013-4-1386.

PO13. MODELE DE PREZENTARE A ANTIGENULUI LA PACIENȚII NOU DIAGNOSTICAȚI CU LEUCEMIE ACUTĂ MIELOBLASTICĂ

Ion Antohe¹, Angela Dăscălescu¹, Mihaela Zlei², Cătălin Dănăilă¹, Petru Cianga³

¹*Disciplina de Hematologie, UMF „Grigore T. Popa”, Iași;*

²*Departamentul de Imunofenotipare, Institutul Regional de Oncologie, Iași;*

³*Disciplina de Imunologie, UMF „Grigore T. Popa”, Iași*

Introducere: În pofida stratificării pe grupe de risc și a noilor modalități terapeutice, aproximativ jumătate din pacienții diagnosticați cu leucemie acută mieloblastică (LAM) vor recădea în primii doi ani de la diagnostic. Evaluarea meticuloasă imunofenotipică, moleculară și citogenetică, precum și monitorizarea riguroasă a bolii minime reziduale sunt necesare pentru a identifica o subpopulație de pacienți cu risc înalt, eligibili pentru allogrefa de celule stem hematopoietice în prima remisiune. Cu toate acestea, noi factori prognostici sunt necesari pentru a optimiza stratificarea prognostică și a personaliza strategiile terapeutice. Integritatea funcțională a sistemului MHC II de prezentare a antigenului și expresia de molecule co-stimulatorii din familia B7 pe mieloblaștii tumorali au fost corelate cu un prognostic favorabil în LAM. Stratificarea prognostică actuală a LAM nu ia însă în calcul factori legați de sistemul imun al pacientului.

Materiale și metode: Am examinat probe de sânge periferic și măduvă osoasă de la 4 pacienți nou diagnosticați cu LAM. A fost investigată prin citometrie de flux expresia CLIP, CD74, HLA-DM și a moleculelor din familia B7 (CD80, CD86, CD273, CD274, CD275, CD276, B7-H4) pe mieloblaștii leucemici. Limfocitele T CD4 pozitive din măduva osoasă au fost examinate pentru expresia receptorilor inhibitori sau stimulatori pentru moleculele B7 (CD152, CD278, CD279).

Rezultate: În lucrarea de față, prezentăm un nou algoritm de investigare a calității de celulă prezentatoare de antigen a mieloblastului tumoral și a expresiei de molecule co-stimulatorii sau co-inhibitorii la pacienții cu LAM nou diagnosticați. Datele preliminare ne permit să speculăm că un mecanism funcțional de prezentare a antigenului și expresia de molecule co-stimulatorii pe suprafața celulelor leucemice ar putea facilita supravegherea imună.

Concluzii: O înțelegere aprofundată și individualizată a disfuncției imune din LAM este crucială în definirea contribuției noilor terapii (anticorpi monoclonali, limfocite T cu receptori chimerici pentru antigen, activatori bi-specifici ai limfocitelor T, agenți modulatori de micromediu) la strategiile de tratament de linia I în LAM.

POSTERE

P1. COMPARTIMENTAREA RĂSPUNSULUI CELULELOR NK ÎN FAZELE INCIPIENTE ALE ENDOTOXEMIEI

Ioana Sonya Ciulean¹, Orhan Rașid², Jean-Marc Cavaillon²

¹*Institutul Național de Cercetare Cantacuzino, Laboratorul Imunitate Celulară și Moleculară, București, România;*

²*Institut Pasteur, Département Infection et Épidémiologie, Unité Cytokines & Inflammation, Paris, Franța*

Introducere. Celulele natural killer (NK) joacă un rol cheie în cascada inflamatorie ce conduce la instalarea sindromului de răspuns inflamator sistemic (SIRS). În ciuda acestui fapt, se cunosc puține date despre caracteristicile organ-specifice ale celulelor NK activate în timpul unor afecțiuni precum SIRS. Scopul prezentei lucrări este să investigheze comportamentul celulelor NK în alte compartimente decât cele din care au fost izolate, după administrarea de lipopolizarid (LPS).

Materiale și metode. Pentru realizarea transferului adoptiv de celule NK au fost utilizați șoareci congenici CD45.2 și CD45.1. Splina și plămânii au fost recoltați de la șoareci donori CD45.2, celulele NK au fost îmbogățite prin selecție negativă și transferate în receptori CD45.1 prin administrare intravenoasă (IV) sau intraperitoneală (IP). Endotoxemia a fost indusă prin administrarea IP a 10 mg/kg de LPS. La 3 și 6 ore post LPS, a fost determinat prin citometrie în flux nivelul de expresie al receptorului de activare CD69 și IFN γ intracelular al NK-urilor splenice, pulmonare și peritoneale.

Rezultate. În stadiile incipiente ale endotoxemiei, celulele NK transferate IV nu au ajuns la nivel peritoneal, iar în prin administrare IP acestea au rămas captive la nivelul cavității peritoneale. În primele 3 ore post LPS, NK splenice și pulmonare transferate IP sunt mai puțin activate decât celule NK locale, aceste diferențe dispărând la 6 ore post LPS. La nivel splenic și pulmonar, celulele transferate se comportă precum NK-urile locale cu aceeași origine. La 6 ore post LPS, NK-urile transferate, indiferent de originea lor, ajung la același nivel de activare precum celulele NK rezidente.

Concluzii. Rezultatele noastre sugerează faptul că activitatea celulelor NK rezidente se află sub controlul factorilor de micromediu compartiment-specifi, care par să moduleze și receptivitatea NK-urilor nou recrutate.

Mulțumiri. Ciulean Ioana Sonya a fost susținută de bursa EFIS-IL Short Term Fellowship.

P2. IMPLICAȚIILE CLINICE ALE TIPĂRII MOLECULARE HLA ÎN RÂNDUL PACIENȚILOR ADULȚI CU SUSPICIUNE DE BOALĂ CELIACĂ: CAZ CLINIC

Roxana Maxim¹, Anca Trifan¹², Alina Plesa¹², Irina Ciortescu¹², Petru Cianga¹³, Carol Stanciu¹

¹*Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr.T.Popa”, Iași, România;*

²*Institutul de Gastroenterologie și Hepatologie, Iași, România;*

³*Laboratorul de Imunologie și Genetică, Iași, România*

Introducere: Boala celiacă (BC) reprezintă enteropatia cronică caracterizată prin atrofia vilozităților intestinale ce apare la indivizii cu susceptibilitate genetică dobândită în urma consumului de gluten. BC se manifestă printr-un spectru larg al manifestărilor clinice, pornind de la forma clasică asociind simptome gastrointestinale până la forma atipică cu manifestări nespecifice. Diagnosticul este afirmat în cazul pacienților la care se identifică titru crescut al anticorpilor specifici și modificări histologice sugestive în condițiile unei alimentații normale. Tiparea moleculară HLA-DQ2/DQ8 este privită actualmente ca un instrument modern în managementul pacienților cu BC prin valoarea predictivă negativă (~100%) întrucât boala este improbabilă în absența alelelor DQ predispozante.

Prezentare de caz: Pacientă în vârstă de 45 de ani se prezintă pentru scaune diareice apoase nocturne, în medie 3-5scaune/zi, scădere ponderală și dureri abdominale cu debut și evoluție insidioasă pe parcursul a câtorva luni anterior prezentării. Analizele hematologice au obiectivat anemie feriprivă moderată. Examenul coproparazitologic și coproculturile au exclus componenta infecțioasă, iar parametrii funcției tiroidiene au fost în limite normale. Colonoscopia și computer tomografia nu au identificat o leziune organică. Endoscopia digestivă superioară a obiectivat congestia duodenală, cu prelevarea biopsiilor pentru confirmarea infecției cu *Helicobacter pylori* (H.pylori) și suspiciunea de BC. Examenul anatomopatologic identifică atrofia parțială a vilozităților intestinale (Marsh 3a), cu absența coloniilor H.pylori. Nivelul total al IgA, al anticorpilor anti-transglutaminază (tTG) și anti-gliadină nativă (AGA) au fost evaluați. O valoare discret pozitivă s-a obținut pentru AGA IgA, respectiv un titru de 29 U/ml (pozitiv>18U/ml). S-a efectuat testarea genetică cu identificarea alelelor HLA-DQA1*01, *0101 și HLA-DQB1*05, *06 excluzându-se astfel BC.

Discuții: Deși pacienta s-a prezentat cu tablou clinic sugestiv pentru un sindrom de malabsorbție asociind atrofia parțială a vilozităților și creștere ușoară a titrului AGA, BC a fost practic exclusă prin testarea genetică a alelelor DQ ce arată predispoziția genetică.

P3. COMPLEXUL CROMULUI CU 5-HIDROXIFLAVONĂ REMODELEAZĂ PICĂTURILE LIPIDICE PRIN DESCREȘTEREA EXPRESIEI PERILIPINEI

Ariana Hudită¹, Bianca Gălățeanu¹, Mirela Șerban¹, Sorina Dinescu¹,
Valentina Uivarosi², Marieta Costache¹

¹*Departamentul de Biochimie și Biologie Moleculară, Universitatea din București;*

²*Facultatea de Farmacie, UMF „Carol Davila”, București*

Dezvoltarea unor noi strategii eficiente pentru tratamentul obezității a devenit o prioritate la nivel global datorită epidemiei obezității, precum și a rolului principal pe care aceasta o joacă în dezvoltarea rezistenței la insulină, sindromului metabolic și diabetului de tip II. Deoarece adipogeneza în exces este o cauză majoră ce stă la baza apariției obezității, țintirea acestui proces cheie reprezintă o strategie terapeutică modernă pentru managementul obezității. Proteinele asociate picăturilor lipidice stau la baza reglării procesului de lipoliză, perilipina fiind cel mai important marker al adipocitului matur. Așadar, dezvoltarea unor noi compuși capabili să inhibe adipogeneza pot conduce la prevenirea și chiar tratarea obezității, precum și a afecțiunilor corelate cu aceasta. Flavonoidele sunt o clasă de compuși naturali care prezintă un potențial semnificativ în ameliorarea anormalităților metabolice prin rolul lor pozitiv asupra homeostaziei glucozei și secreției de insulină. Asocierea acestora cu oligoelemente poate potența efectele biologice ale flavonoidelor printr-un mecanism sinergic bazat pe capacitatea unor oligoelemente de a crește eficacitatea insulinei. În acest context, scopul acestui studiu a fost de a investiga potențialul antiadipogenic *in vitro* al unui complex original al cromului cu 5 – hidroxiflavonă asupra celulelor stem derivate din țesut adipos (hASCs) angajate în adipogeneză prin screeningul expresiei perilipinei.

Potențialul antiadipogenic al complexului cromului cu 5 – hidroxiflavonă asupra hASCs a fost evaluat timp de 3 săptămâni de administrare a acestuia într-un mediu adipogenic. Expresia perilipinei a fost evaluată atât cantitativ (citometrie în flux), cât și calitativ (microscopie de fluorescență). Histogramele obținute prin citometrie în flux au arătat că expresia perilipinei descrește semnificativ în prezența complexului cromului cu primuletină. Rezultatele obținute au fost confirmate prin marcarea imunofluorescentă a perilipinei după expunerea la complexul nou sintetizat. În concluzie, complexul cromului cu 5 – hidroxiflavonă poate fi implicat în studii *in vivo* pe modele animale.

P4. DIAGNOSTIC, PROGNOSTIC ȘI ȚINTE TERAPEUTICE ÎN TUMORILE NEUROENDOCRINE

Maria Dobre¹, Maria Victoria Comănescu¹, Florina Vasilescu^{1,2}

¹INCD „Victor Babeș”, Laborator Patologie Moleculară, București;

²SUUMC „Dr. Carol Davila”, București

Introducere. Tumorile neuroendocrine (NET) sunt neoplasme care provin în principal din tractul gastro-intestinal, pancreas și arborele bronșic. Diagnosticul histopatologic, imunohistochimic și clasificarea NET au rol în stabilirea conduitei terapeutice a acestor tumori. Pentru selectarea riguroasă a cazurilor cu probabilitate mai mare de răspuns terapeutic este necesară identificarea unor metode performante de diagnostic. Utilizarea RT-PCR reprezintă o metodă cantitativă de mai mare precizie ce poate înlocui testarea imunohistochimică uzuală.

Materiale si metode. Au fost luate în studiu fragmente tumorale și peritumorale fixate în formol și incluse în parafină, de la 26 pacienți diagnosticați histopatologic și imunohistochimic cu NET având localizare diferită (pulmonară, gastro-intestinală și pancreatică). Evaluarea expresiei genice s-a realizat prin PCR array și s-a identificat expresia relativă a 18 gene de interes comparând țesutul tumoral cu cel peritumoral, normalizarea realizându-se prin intermediul a 2 gene de referință.

Rezultate. În cazul NET cu localizare pulmonară, s-a constatat că genele *VEGF*, *SSTR1*, *MGMT* sunt puternic supraexprimate, *GAST*, *SYP*, *MTOR*, *CCND1* sunt moderat supraexprimate, iar *INS*, *CHGA*, *MKI67*, *SSTR5*, *SLIT2* sunt slab supraexprimate. Genele *CHGA*, *SSTR1* sunt moderat supraexprimate, *GRPR*, *MTOR*, *SSTR5*, *SSTR3* sunt ușor supraexprimate, *SSTR2*, *MKI67* sunt subexprimate în cazul NET cu localizare gastro-intestinală. Tumorile de pancreas au prezentat *GAST*, *VEGF*, *TYMS* moderat supraexprimate, *SSTR3*, *SSTR1* ușor supraexprimate, iar *MGMT*, *SLIT2* subexprimate. Existența supraexpresiei receptorilor pentru somatostatină (*SSTR*) reprezintă un marker predictiv pentru terapia cu analogi de somatostatină, iar expresia receptorilor pentru somatostatină, în special *SSTR1*, se corelează pozitiv cu rata de supraviețuire a pacienților.

Concluzii. Identificarea profilului genic poate reprezenta un instrument sensibil de diagnostic și terapie în NET. Asocierea supraexpresiei *SSTR* cu existența unei rate de supraviețuire mai bună a pacienților oferă posibilitatea utilizării acestora ca markeri de prognostic în NET.

Această lucrare a fost finanțată din contractul PN-II-PT-PCCA 91/2012 – RENET.

P5. NOUA TEHNICĂ DE VIZUALIZARE A CELULELOR EPIDERMICE LANGERHANS

Alexandra Victoria Ion¹, Mihaela Adriana Ghiță², Iulia Solomon¹, Sabina Zurac³, Daniel Boda^{2,4}, **Constantin Căruntu**^{2,4}

¹*Spitalul Universitar de Urgență Elias, Departmentul de Dermatologie și Alergologie, București;*

²*UMF „Carol Davila”, Laboratorul de Cercetare în Dermatologie, București;*

³*UMF „Carol Davila”, Spitalul Universitar Colentina, Departmentul Anatomie Patologică, București;*

⁴*Institutul Național de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice „Prof. N. Paulescu”, Departmentul de Dermatologie, București*

Celulele Langerhans reprezintă un subtip al celulelor dendritice ale pielii localizate în epiderm, care au rol important în patogeneză multor boli inflamatorii ale pielii, fiind de asemenea implicate în menținerea toleranței periferice împotriva antigenelor exprimate în piele.

Din momentul descoperirii lor de către Paul Langerhans, numeroase studii au avut scopul de a analiza morfologia și distribuția acestui tip de celule în diferite condiții ale pielii folosind tehnici precum histologia, microscopia electronică, sau metodele imunohistochimice.

Unul dintre cele mai anticipate dezavantaje al acestor proceduri este reprezentat de denaturarea țesutului. Prin urmare, într-o încercare de a îmbunătăți diagnosticul clinic, microscopia confocală a fost propusă ca o tehnică *in vivo* de imagistică a pielii care permite vizualizarea dermului superficial și a epidermului cu rezoluție înaltă, similară histologiei clasice. În acest studiu am examinat *in vivo* leziuni de carcinom bazocelular, utilizând un microscop confocal laser de reflectanță, și ulterior am comparat aspectele evidențiate cu rezultatele examenului histopatologic.

În plus, am efectuat marcări imunohistochimice pentru proteinele S100, CD1a și Langerin pentru aceleași leziuni cutanate examinate anterior. Microscopia confocală s-a dovedit a fi o metodă promițătoare de vizualizare a celulelor Langerhans în diferite stări patologice, fiind necesare studii suplimentare în scopul de a îmbunătăți această tehnică.

P6. CLUSTERUL ONCOMIR-1 REGLEAZĂ HOMEOSTAZIA CELULELOR STEM HEMATOPOIETICE

Valeriu Bogdan Cismașiu¹, Laurențiu Anghelache¹, Andreea Oana Urs¹, Florina Gisela Găină¹, Mihaela Surcel^{1,2}, Cristina Mariana Niculițe¹, Bogdan Marinescu¹, Radu-Ionuț Huică^{1,4}, Ioana Mădălina Fenyo³

¹INCD „Victor Babeș”, București;

²Facultatea de Biologie, Universitatea din București;

³IBPC „Nicolae Simionescu”, București

⁴UMF „Carol Davila”, București

Clusterul policistronic de microARN-uri oncomiR-1 produce un singur transcript primar de 800 baze (pri-miRNA), din care ulterior se generează șase miR mature: miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b, și miR-92a . În funcție de secvență, miR-urile sunt în patru familii diferite, și anume 17-miR/miR-20a (AAAGUG), miR-18a (AAGGUG), miR-19a/b (GUGCAA) și miR-92a (AUUGCA). Clusterul inhibă expresia genelor țintă prin interacția miR-urilor cu regiunea necodificatoare 3' (UTRs) a ARN-ului mesager. Proprietățile biologice ale cluster-ului sunt rezultatul acțiunilor concertate ale fiecărui membru.

Clusterul este exprimat în HSCs, iar nivelurile miR-urilor cresc în timpul diferențierii mieloidă către precursorii comuni ai granulocitelor și monocitelor. Deși multe studii au demonstrat contribuția importantă a oncomiR-1 în leucemie și hematopoieză, nu există date publicate cu privire la rolul oncomiR-1 în celule stem hematopoietice (HSC).

Pentru a studia rolul clusterului în homeostazia HSC, am eliminat oncomiR-1 din celule prin încrucișarea șoarecelui purtător al transgenei Mx1-Cre cu o linie de șoareci în care gena clusterului are inserate secvențe "flox". Mx1 este foarte activ în HSC și am demonstrat că miRurile sunt complet eliminate după inducerea expresiei Cre.

Noi am testat proprietățile stem, cum sunt auto-reînnoirea, pluripotența și diferențierea, atât în starea de echilibru fiziologic cât și în reconstituirea hematopoietică post-transplant. Fenotipul șoarecilor KO arată că funcțiile HSC sunt modificate când oncomiR-1 este eliminat.

Această lucrare a fost realizată în cadrul proiectului finanțat de Ministerul Educației Naționale, CNCS – UEFISCDI, nr. PN-II-ID-PCE-2012-4-0395.

P7. CARACTERISTICI FENOTIPICE ALE CELULELOR NK LA ȘOARECI PURTĂTORI DE MELANOM

Gheorghita Isvoranu¹, Mihaela Surcel^{1,2}, Bogdan Marinescu¹, Laurențiu Anghelache¹, Radu-Ionuț Huică^{1,3}, Cătălin Gabriel Manole¹

¹INCD „Victor Babeș”, Laborator Biobază, București;

²Facultatea de Biologie, Universitatea din București;

³UMF „Carol Davila”, București

Introducere: Datele recente privitoare la activarea celulelor NK la pacienții cu cancer indică faptul ca mai mulți parametri importanți, cum ar fi capacitatea tumorii de a modula funcțiile și fenotipul celulelor NK, merită să fie luați în considerație ca ținte ale terapiei bazate pe celule NK. În acest studiu, am arătat în model tumoral la șoarece că celulele NK din splină sunt reduse procentual și au caracteristici fenotipice diferite față de celulele NK de la șoarecii sănătoși.

Materiale și metode: Am utilizat șoareci C57BL/6, în vârstă de 8-10 săptămâni. Melanomul a fost indus prin inoculare subcutană a celulelor B16F10. Valorile normale au fost stabilite la șoarecii sănătoși, de aceeași vârstă. După 21 de zile, splinele au fost recoltate și utilizate pentru evaluarea fenotipică a celulelor NK prin citometrie în flux. Celulele marcate au fost analizate la citometrul FACSCanto II cu ajutorul software-ului DIVA.

Rezultate: Datele experimentale au arătat o reducere semnificativă a procentului de celule NK la șoarecii cu melanom în comparație cu animalele sănătoase. De asemenea, am găsit o reducere a subseturilor de celule NK mature, o creștere a celulelor NK gp49R+ și o scădere a celulelor NK CD122+ la șoarecii cu melanom. Analiza subseturilor de celule NK, diferențiate prin expresia unei combinații CD27 și CD11b, indică o diferență semnificativă în distribuția subseturilor de celule NK, subsetul matur fiind dominant la șoarecii sănătoși. Creșterea expresiei gp49R pe celulele NK (receptor inhibitor) poate facilita evadarea tumorii față de sistemul imun. Blocarea receptorilor inhibitori poate fi o strategie eficientă pentru eliminarea celulelor canceroase. Lipsa sau reducerea expresiei moleculei CD122, subunitatea receptoare care conferă capacitatea de răspuns la IL-15, este posibil să provoace moartea celulelor NK.

Concluzii: Studiul nostru oferă perspective noi asupra cunoașterii fenotipului celulelor NK în tumori și noi abordări în imunoterapia cancerului.

Lucrare sprijinită de Autoritatea Națională pentru Cercetare Științifică Română prin proiectul PN 16.22.04-04.

P8. RĂSPUNSUL MACROFAGELOR LA SUPRAFETE HIBRIDE MODIFICATE

Mădălina Icriverzi^{1,2}, Livia Sima¹, Valentina Dincă³, Anișoara Cîmpean², Anca Roșeanu¹

¹IBAR, Departamentul Interacții Ligand-Receptor, București;

²UB, Departament de Biochimie și Biologie Moleculară, București;

³INFLPR, Departamentul Prelucrarea fonică a materialelor avansate, Măgurele

Introducere: Un răspuns inflamator prelungit al macrofagelor poate conduce la eliminarea sau pierderea funcției implantului, de aceea suprafața materialelor trebuie modificată pentru a permite o integrare corespunzătoare. Scopul acestui studiu este de a examina efectul determinat de modificarea suprafețelor acoperite cu componente imunomodulatoare (lactoferina-Lf și hidroxiapatita-HA) și cu un copolymer (Co) biocompatibil (polietilen glycol-policaprolactona) asupra comportamentului celular și eliberării de citokine de către celulele monocitare leucemice THP-1.

Material și metode: Celulele THP-1 cultivate pe suprafețele modificate au fost diferențiate la macrofage și tratate sau nu cu lipopolizaharid (LPS). Acest model celular permite analiza *in vitro* a evenimentelor inițiale ale procesului inflamator oferind informații asupra mecanismelor implicate în inflamația asociată cu biomaterialele. Celulele au fost caracterizate pentru viabilitate, iar prin microscopie de fluorescență pentru adeziune și morfologie. Eliberarea factorului de necroză tumorală TNF- α a fost monitorizată în prezența sau absența endotoxinei bacteriene utilizând o metoda ELISA. Imaginile de imunofluorescență ale proteinelor actină și vinculină marcate la nivelul celulelor THP-1 aderate la suprafețele hibride modificate Co-HA-Lf relevă o morfologie alungită ce ar putea fi asociată cu o stare de activare a macrofagelor. Tratamentul cu LPS a determinat o reducere a numărului de celule metabolic active pe suprafața Co-HA-Lf modificată comparativ cu suprafețele nemodificate. Un nivel scăzut al secreției de citokină proinflamatoare TNF- α a fost obținut prin tratamentul cu LPS al celulelor aderate pe suprafața hibridă. Nu s-a detectat secreție de citokină în cazul celulelor nestimulate cu LPS.

Rezultatele obținute sugerează faptul că acoperirea hibridă are un potențial de a minimiza răspunsul inflamator al gazdei în cazul implantării prin modularea recrutării, viabilității, morfologiei și al răspunsului inflamator al macrofagelor.

Mulțumiri: Cercetările au fost finanțate prin programul derulat de MECS, CNCS-UEFISCDI din proiectul PN-II-PT-PCCA 239/2014 și proiectul I/2015-2016 al Academiei Române.

P9. CORELAȚILE HISTOPATOLOGIE ALE MICROSCOPIEI CONFOCALE *IN VIVO* ÎN LUPUSUL ERITEMATOS DISCOID

Julia Solomon¹, Mihaela Adriana Ghiță², Alexandra Victoria Ion¹, Sabina Zurac³, Daniel Boda^{2,4}, Constantin Cărunțu^{2,4}

¹*Spitalul Universitar de Urgență Elias, Departmentul de Dermatologie și Alergologie, București;*

²*UMF „Carol Davila”, Laboratorul de Cercetare în Dermatologie, București;*

³*UMF „Carol Davila”, Spitalul Universitar Colentina, Departmentul Anatomie Patologică, București;*

⁴*Institutul Național de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice „Prof. N. Paulescu”, Departmentul de Dermatologie, București*

Introducere și Obiective: Lupusul eritematos discoid (DLE) este o boală inflamatorie cronică a pielii caracterizată clinic prin placi eritroscuamoase, ușor infiltrate, bine delimitate, ce apar cu predilecție în zonele expuse la soare. Cu toate că diagnosticul clinic se bazează pe leziunile tipice, datorită asemănărilor clinice, DLE poate fi confundat cu alte boli de piele eritematoscuamoase. Astfel, diagnosticul clinic al DLE ar trebui să fie adesea susținut de examenul histopatologic.

Pentru a completa diagnosticul DLE, a fost propusă microscopia confocală laser *in vivo* (CLSM), ca tehnică imagistică non-invazivă care permite evaluarea leziunilor cutanate cu rezoluție microscopică, asemănătoare histopatologiei convenționale.

Materiale și metode: În acest studiu am folosit un microscop confocal laser cu lungime de undă de 785 nm, pentru a examina *in vivo* leziunile până la nivelul dermului superficial. În plus, pentru examenul histopatologic s-a prelevat o biopsie tip punch de 3mm din leziunile eritematoscuamoase examinate anterior.

Rezultate: Corelând aspectele evidențiate prin CLSM cu cele histopatologice ale aceluși leziuni de DLE, am pus în evidență criterii precum dermatita de interfață, atrofia epidermică, infiltratul inflamator perivascular și periadnexal în ambele metode de investigare. Un dezavantaj major al tehnicii CLSM a fost profunzimea vizualizării, în special în diagnosticul DLE care implică dermul mai profund.

Concluzii: În urma studiului nostru, s-a evidențiat importanța CLSM în diagnosticul DLE, aceasta fiind o metodă promițătoare non-invazivă de examinare dermatologică, care necesită însă o mai bună standardizare și aplicare în practica clinică.

P10. MODIFICĂRI ALE LIMFOCITELOR T ȘI SECREȚIEI DE CITOKINE ÎN MELANOMUL CUTANAT

Mihaela Surcel^{1,2}, Radu-Ionuț Huică^{1,3}, Adriana Narcisa Munteanu¹, Ioana Ruxandra Pîrnu¹, Dan Ciotaru¹, Cornel Ursaciuc¹, Monica Neagu^{1,2}

¹*Secția Imunologie, INCD „Victor Babeș”, București;*

²*Facultatea de Biologie, Universitatea din București;*

³*UMF „Carol Davila”, București*

Introducere. Melanomul cutanat (MC) este o tumoră malignă melanocitară și constituie neoplazia cea mai severă a pielii. Deși reprezintă doar 4% din totalul cancerelor cutanate, este responsabil de 80% din decese, melanomul fiind unul dintre cele mai metastazante neoplasme. MC afectează în general populația relativ tânără, vârsta medie de diagnosticare fiind 50 ani. Peste 90% din cazurile de melanom pot fi tratate cu succes dacă sunt descoperite și tratate încă din primele stadii, fapt care justifică interesul pentru identificarea și descrierea markerilor de prognostic și evoluție

Material și metode. Au fost cuantificate populațiile limfocitare și subpopulațiile de limfocite T din sângele periferic: T totale (CD3⁺), B (CD3⁻CD19⁺), NK (CD3⁻CD16⁺ și/sau CD56⁺), T helper (CD3⁺CD4⁺), T supresoare/citotoxice (CD3⁺CD8⁺) și T-reg (CD4⁺/CD25⁺/FOXP3⁺), pentru un lot de pacienți cu MC. De asemenea, au fost determinate procentele de limfocite secretante de IL-2, IFN- γ și TNF- α . Probele au fost analizate prin citometrie în flux (*BD FACSCanto II*, software *BD FACSCanto* și *BD FACSDiva 6.1*), iar valorile parametrilor determinați au fost raportate la cele obținute pe un lot de subiecți normali.

Rezultate. Principalele modificări înregistrate au fost scăderea procentului și a numărului absolut al limfocitelor T-CD8⁺ la 83%, respectiv la 61% din pacienții testați. Raportul T-CD4⁺/T-CD8⁺ a fost crescut la 60% din cazuri, aceasta datorându-se în principal scăderii procentului de limfocite T-CD8⁺. Valorile T-reg au fost crescute la 53% din cazuri; 63% din pacienții cu T-reg crescute au prezentat scăderi ale procentului de limfocite T-CD8⁺. Pentru citokinele intracelulare, rezultatele sunt exprimate sub forma proporției de limfocite care le sintetizează din totalul limfocitelor. Se remarcă modificări semnificative ale proporției de limfocite implicate în sinteza IFN- γ (17 \pm 7% la cazuri, față de 9 \pm 3% la martori, p<0,02) și TNF- α (33 \pm 9% la cazuri, față de 22 \pm 11% la martori, p<0,05).

Concluzii. Profilul celular în MC sugerează o tendință de disociere a eficienței răspunsului imun antitumoral. În primul rând scăderea T-citotoxice și creșterea T-reg diminuează activitatea citotoxică. Pe de altă parte, creșterea procentajelor de celule secretoare de citokine proinflamatorii

(IFN- γ și TNF- α) poate fi relativă, fiind consecința creșterii ponderii celulelor T-helper și indicând tendința de virare a acțiunii antitumorale de la citotoxicitate la inflamație.

Rezultatele fac parte din teza de doctorat cu titlul „Explorarea imunologică a sindromului inflamator în patologia cutanată autoimună și tumorală malignă (psoriazis, melanom cutanat)”, a drd. Mihaela Surcel.

P11. EFECTELE BIOLOGICE ALE COMPUȘILOR DE RUTENIU (III) CU CICLODEXTRINE ASUPRA CELULELOR LOVO

Mirela Mihăilă¹, Camelia Hotnog¹, Marinela Bostan¹, Viviana Roman¹, Valentina Uivaroiș², Lorelei Irina Brașoveanu¹

¹*Centrul de Imunologie, Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau” București;*

²*Chimie Anorganică, Facultatea de Farmacie, UMF „Carol Davila” București*

Prezentul studiu reprezintă o abordare interdisciplinară complexă care are ca scop dezvoltarea unor modele de noi produși farmaceutici, cu acțiune antitumorală semnificativă și efecte secundare minime. Utilizarea clinică a cisplatinului (CisPt) poate fi limitată de rezistența tumorilor la citostatice și efectele adverse, prin urmare alți compuși cu ioni metalici care posedă activitate anti-tumorală și anti-metastatică, precum compușii cu Ruteniu (III) (Ru-nf, Ru-oflo, Ru-levo), ar putea fi considerați ca medicamente alternative. Cercetările au fost extinse pentru compușii de Ru (III) și ciclodextrine (HpbetaCD) în scopul îmbunătățirii farmacocineticii lor. Pentru a evalua *in vitro* citotoxicitatea compușilor nou sintetizați, în scopul de a monitoriza continuu viabilitatea celulelor de adenocarcinom de colon uman LoVo, s-a utilizat analiza celulară în timp real (RTCA) utilizând sistemul xCelligence, comparativ cu evaluarea citotoxicității prin tehnica colorimetrică cu MTS. Metoda a permis stabilirea timpilor și concentrațiilor optime pentru efectuarea testelor tip “endpoint”, cum ar fi citometria în flux. Efectul biologic al tratamentelor cu compușii de Ru cu ciclodextrine asupra celulelor LoVo s-a evaluat prin măsurarea apoptozei prin tehnica dublei marcări cu Annexin V/FITC și iodură de propidium (PI), urmată de analiza prin citometrie în flux, folosind aparatul FACS CantoII (Becton Dickinson). Astfel, tratamentele cu Ru-levo, Ru-nf, Ru-oflo + HPbetaCD au indus apoptoza în 26,6%, 23,4% și respectiv 24,6% dintre celulele LoVo, comparabil ca efect cu apoptoza indusă de Cis-Pt (23,3%). Rezultatele au arătat că asocierea Ru-nf și Ru-oflo cu HpbetaCD a determinat o creștere semnificativă a apoptozei față de tratamentele singulare (15%, respectiv 9%

evenimente apoptotice). Deoarece chimioterapia tumorilor solide este încă limitată de lipsa selectivității medicamentelor anti-canceroase și recurența tumorilor rezistente la tratament, asocierea dintre citostatice și noi compuși farmaceutici ar putea avea un efect benefic asupra creșterii efectului anti-tumoral.

P12. MODULAREA RĂSPUNSULUI CELULELOR TUMORALE FARINGIENE UMANE LA CHIMIOTERAPIE PRIN UTILIZAREA DE PRODUȘI NATURALI

Georgiana Gabriela Petrică-Matei^{1,2}, Viviana Roman¹, Mirela Mihăilă¹, Camelia Hotnog¹, Lorelei Irina Brașoveanu¹, Marinela Bostan¹

¹*Centrul de Imunologie, Institutul de Virusologie „Stefan S. Nicolau” București;*

²*Departamentul de Citogenetică, “Personal genetics - Medical Genetics Center” București*

Leziunile maligne care apar la nivelul faringelui sunt inițial asimptomatice, dar agresive și în mod frecvent migrează și invadează organe îndepărtate, ceea ce le face dificil de tratat. Tratamentul actual pentru cancerul de faringe presupune folosirea unui agent chimioterapeutic - *cisplatina*, care induce însă unele efecte toxice la nivel renal și al măduvei osoase. Acest lucru ne-a determinat să investigăm *in vitro* efectele induse de *Ganoderma Lucidum* (GL), o ciupercă utilizată în medicina orientală (care conține numeroși compuși biologic activi cum ar fi polizaharidele, triterpenele și proteinele imunomodulatoare) asupra proliferării celulare și procesului apoptotic în linia celulară standardizată FaDu (stabilizată dintr-un carcinom uman de faringe), tratată sau nu cu cisplatină. Celulele au fost tratate cu diferite concentrații de GL, în prezența sau absența de cisplatină, iar cu ajutorul testului non-radioactiv de proliferare celulară (CellTiter 96 Non-Radioactive Cell Proliferation assays) s-a determinat efectul tratamentului asupra proliferării celulelor FaDu. Progresia ciclului celular prin fazele sale, procesul de apoptoză și expresia unor markeri moleculari (p21 sau Bax) în celulele de carcinom faringian uman au fost evaluate folosind tehnici de citometrie în flux. Rezultatele obținute au arătat că extractul de GL a avut un puternic efect de inhibare a proliferării celulare în linia celulară FaDu. Analiza ciclului celular a arătat că inhibarea efectului de creștere celulară a fost asociat cu blocarea ciclului celular în faza G2/M și creșterea nivelului de exprimare a proteinei p21. În plus, în celulele tumorale FaDu GL a indus apoptoză și o creștere a expresiei proteinei pro-apoptotice Bax. Mai mult, tratamentul cu GL amplifică semnificativ apoptoza indusă de cisplatină în

celulele FaDu. Toate aceste observatii sugerează faptul că GL exercită efecte anti-tumorale asupra celulelor tumorale FaDu și crește sensibilitatea lor la cisplatină. În concluzie, efectele induse de GL asupra celulelor tumorale sunt datorate activării unor diferite mecanisme celulare și moleculare, și sugerează utilizarea acestui compus ca adjuvant în chimioterapia clasică a cancerului de faringe.

P13. ABORDAREA FARMACOGENETICĂ A TERAPIEI DE IMUNOSUPRESIE: METODE DE GENOTIPARE TPMT PENTRU UN TRATAMENT EFICIENT BAZAT PE UTILIZAREA TIOPURINELOR

Maria Iacob¹, Adriana Oprea¹, Ileana Constantinescu², Natalia Cucu^{1,3}

¹*Departamentul Genetică, Facultatea de Biologie, Universitatea din București;*

²*UMF „Carol Davila”, Spitalul Clinic Fundeni, Departmentul de Imunogenetică, București;*

³*Asociația de Epigenetică și Metabolomică, București*

Modul în care o persoană răspunde la medicație depinde de un complex de factori precum doza, biodisponibilitate, metabolizarea și eliminarea compusului activ farmaceutic și a metaboliților dezactivați. Analozi ai purinelor prin substituție, tiopurinele sunt utilizate în tratamentul unor tipuri de leucemie, al unor boli inflamatoare și în managementul respingerii organelor în transplant. Ele sunt activate și metabolizate de către enzimele critice, iar activitatea acestora este indicativă privind eficiența și siguranța utilizării tiopurinelor ca medicamente. Este demonstrat științific faptul că defectele genetice într-una din formele genetice codificatoare de astfel de enzime pot să conducă la un răspuns alterat în tratamentul bazat pe purine. Studiul acestor alterări în metabolismul medicamentelor este obiectul domeniului farmacogeneticii. Tiopurin-S metiltransferaza (TPMT, EC 1.1.67) reprezintă o enzimă critică implicată în metabolismul medicamentelor bazate pe tiopurine (precum tacrolimus). Factorii genetici, un anumit genotip al genei *TPMT*, influențează modul în care tiopurinele sunt metabolizate într-un organism: metaboliții se pot acumula sau converti în compuși mai puțin eficienți sau chiar toxici. S-a dovedit faptul că polimorfismul în gena codantă pentru TPMT, care conduce la activitatea enzimatică scăzută este asociat cu reacțiile adverse ale medicamentului, în cazul în care persoanei afectate i se recomandă o doză obișnuită de tiopurină. Monitorizarea biochimică a enzimei în decursul metabolizării tiopurinelor fiind dificilă, genotiparea *TPMT* este actualmente considerată a

fi cea mai informativă abordare în estimarea eficienței tratamentului. Lucrarea a implicat abordarea a două metode moderne de biologie moleculară pentru genotiparea TPMT și identificarea haplotipurilor într-un grup de 6 persoane sănătoase: NGS, secvențierea de ultimă generație, prin sistemul Ion Torrent ThermoFischer și HRMA, High Resolution Melting Analysis, în sistemul Arkray i-densy. Este estimată eficiența acestora ca instrumente de diagnostic, iar rezultatele sunt comentate în termenii semnificației genotipurilor critice *TPMT**2 și *3 în recomandările dozelor de tiopirină.

P14. NOI PERSPECTIVE PENTRU TRATAMENTUL ADJUVANT AL CANCERULUI DE COLON: BIOMOLECULE CU POTENȚIAL CLINIC

Camelia Hotnog¹, Mirela Hirt¹, Marieta Panait², Marinela Bostan¹, Maria Iuliana Gruia², Lorelei Irina Brașoveanu¹

¹*Centrul de Imunologie, Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau” București;*

²*Institutul de Oncologie „Alexandru Trestioreanu” București*

Proliferarea celulară este reglată riguros de către multipli factori de mediu, adeziunea la matrixul extracelular (ECM) sau adeziunea celulă-celulă și de către factori solubili cum ar fi citokinele. Adeziunea celulară reprezintă o componentă majoră a proceselor de migrare și recunoaștere celulară implicate în proliferare, diferențiere, apoptoză și răspunsul imun și inflamator. Formarea tumorilor și invazia acestora sunt strâns asociate cu scăderea dependenței lor față de adeziunea celulară. Biomarkeri cum ar fi mucinele, Ep-CAM, E-caderina și VEGF sunt considerați ca fiind potențiale ținte terapeutice deoarece au un rol important nu numai în desprinderea celulelor din tumorile primare și invazie, dar și în angiogeneză. Astfel, studiul nostru a avut ca scop analiza modulării expresiei proteice a unor biomolecule asociate cu linii celulare tumorale de colon cu rate diferite de proliferare (LoVo și SW1116), de către medicamente citotoxice (5-fluorouracil) și/sau compuși naturali (resveratrol, curcumină). Concentrațiile de lucru au fost stabilite în urma analizei prin tehnica RTCA, utilizând sistemul xCELLigence. Nivelele de expresie ale moleculelor ICAM-1, VCAM-1, E-caderină, VEGF și endoglină au fost evaluate în urma incubării secvențiale cu anticorpi specifici monoclonali și anticorpi secundari policlonali marcați cu FITC, urmată de analiza prin citometrie în flux. În plus, efectele biologice ale compușilor utilizați au fost evaluate prin citometrie în flux, pentru a determina nivelul speciilor reactive de oxigen

(ROS) și modularea procesului apoptotic în prezența sau absența tratamentului anti-VEGF cu Avastin. Rezultatele obținute au arătat o expresie diferențiată a TAA asociate celulelor tumorale de colon, sugerând implicarea lor în reglarea interacțiilor între celulele tumorale și sistemul imun. Imunoterapia adjuvantă mediată de mAB poate constitui o metodă eficientă pentru a preveni sau a reduce invazia tumorală. Rezultatele obținute vor fi utilizate pentru elaborarea unor noi strategii imunoterapeutice antitumorale bazate pe anticorpi monoclonali anti-TAA, cu scopul de a diminua tumora primară și de a controla metastazarea.

ABSTRACTS

CONFERENCES

CP1. MOLECULAR MEDIATORS OF THE IMMUNE RESPONSE AND THE START OF THEIR USE IN THE CLINICAL DIAGNOSIS

Prof. Dr. Victor Cristea^{1,2}, Lucian Pop²

¹*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Romania;*

²*Medical Center “Sf. Iosif” Cluj-Napoca, Romania*

The discovery, more than 35 years ago, of the first molecules involved in modulating the immune response, brought some clarification on the intimate mechanisms of cell signaling and cooperation. Throughout those years new soluble factors have been discovered having different roles and effects.

As often had happened in immunology, when the information explosion had not found enough time for the recent acquisitions to settle, to be understood and systematized (see HLA, CD, genetics of Ig), the study of those mediators continue today simultaneously in several directions with clarifications and confusion in equal measure.

Justly, the researcher who tries to grub up the multitude of data that had accumulated, experiences the same feelings as an unsuspecting hiker that suddenly enters into a "zoo of factors, jungle of interactions, swamp of acronyms or desert of synonyms"(J.A. Symons, 1995).

In the following we will briefly expose our own view on these mediators, a classification that we assume and that has as its starting point the molecular criterion beyond the clinical or the therapeutic.

CP2. CIRCULATING TUMOR CELLS (II): SENTINEL LYMPH NODE SECRET MISSION**Dr. Cornel Ursaciuc***Department of Immunology, "Victor Babeş" National Institute, Bucharest, Romania*

The sentinel node (SN) is the first station where a malignant tumor metastasize. The current concept of SN involves a therapeutic approach of solid tumors in several stages: locating SN by means of marking the peritumoral lymphatics, excision of the tumor together with SN, histopathological analysis of SN to identify metastases, excision of the regional lymph nodes (RL) when SN is invaded. Oncology becomes more conservative and the treatment has a better chance of success in cases where SN is not invaded or has only micrometastases,

SN is the seat of antitumor immune response against circulating tumor cells (CTC). Characteristic of CTC attack on immune cells in the SN is inducing immunosuppression. CTC secrete factors that inhibit responsiveness to dendritic cells (DC) and T cells, while stimulating regulatory T-lymphocytes with suppressor role and Th2 cell response.

CTC induce a phenomenon of tolerance to tumor antigens (TA), which allows CTC survival, their multiplication and RL invasion. It is interesting to note that the anti-tumor immune response in RL is more active than the SN response, which hypothesized that the RL answer would be an independent process.

SN cells (T-CD4+, T-CD8+, DC) were used as effectors of adoptive antitumour therapy. The method involves activated cell expansion or activation of resting cells in the presence of specific TA. By gene recombination one can get specific clones of antitumour T lymphocytes with anti-tumor specific chimeric receptor.

At present there is a continuous improvement of methodology for investigating the presence of CTC in SN. Histopathological and immunohistochemical methods are starting to be replaced by flow cytometry and RT-qPCR, more accurate and less encumbered by false negative results. SN metastasis diagnosis becomes a focus of anti-tumor therapy trials, involving surgeons, pathologists, immunologists and oncologists.

CP3. IMPAIRMENT OF MHC-I EPITOPE GENERATION BY EPITOPE LOCATED N-GLYCANS IN THE MELANOMA ANTIGEN TYROSINASE

Prof. Dr. Ștefana M. Petrescu

Department of Molecular Cell Biology, Institute of Biochemistry of the Romanian Academy, Romania

Tyrosinase is the source of a major melanoma tumor antigen that is recognized by human cytolytic CD8+ T lymphocytes in patients with a growing melanoma tumor.

This study addresses the basic mechanisms of tyrosinase processing and presentation to T cells in the absence of N-glycans located distal or within a tyrosinase epitope. Using human CD8+ T cell clones specific for the HLA-A2 restricted tyrosinase antigen peptide YMDGTMSQV we show efficient recognition of melanoma cells transfected with tyrosinase and its N-glycosylation mutants.

However, the single, triple and non-glycosylated mutants lacking the proximal (N337Q) and epitope located N-glycosylation site (N371D) generated more abundant peptide present at the cell surface compared to glycosylation mutants affecting distal sites. They also consistently led to higher CD8+ T cell activation.

We conclude that N-glycans located within and in the vicinity of the epitope impair the ability of human tyrosinase to provide HLA-A2 restricted antigens for recognition by specific CD8+ T cells.

This report provides evidence of the high efficiency of tyrosinases lacking the epitope located N-glycan, as well as non-glycosylated tyrosinase in the MHC class I presentation. These may be valuable clues in enhancing the efficiency of tyrosinase based cancer vaccines.

CP4. MHC PRESENTATION: ARE THERE INDEED ANY RULES?

Corina Cianga, **Prof. Dr. Petru Cianga**

Immunology Department, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iași, Romania

The classical scenario describes how endogenous and exogenous antigens are processed in different compartments and are also loaded in the MHC I and MHC II grooves in two distinct compartments, and then transported to the cell surface.

Yet, immature dendritic cells seem able to express empty MHC II molecules, which are then loaded with antigens processed extracellularly. Furthermore, the MHC I and II/peptide complexes are presented to CD8+, respectively CD4+ T cells.

However, due to a phenomenon named cross-presentation, the antigens derived from proteins can cross from one cell to another, and from a loading compartment to another, hence being presented by an MHC belonging to a different class to the correspondent T cell.

Furthermore, lipids seem to use elements belonging to both pathways in order to end up presented by CD1 molecules.

One way or another, the T cell receptors recognize antigens that are presented by self MHC molecules, in a system known as MHC restriction.

This type of presentation is able to explain most of the interactions between T lymphocytes and their cellular counterparts, but it is unable to explain the most important mechanism leading to solid graft rejections, that involves the recognition of an antigen associated with a non-self MHC.

CP5. MOLECULAR MARKERS IN CANCER IMMUNE-THERAPY

Prof. Dr. Monica Neagu^{1,2}, Andreea Lupu¹, Carolina Constantin¹

¹*INCD „Victor Babeș”, Immunobiology Laboratory, Bucharest, Romania;*

²*Biology Faculty, University of Bucharest, Romania*

Most cancer immunotherapy approaches such as vaccination, adoptive transfer of anti-tumoral T cells and immune checkpoint inhibition were pioneered in this disease. Immune checkpoint inhibitors based cancer immunotherapy has recently attracted considerable interest in the field of cancer therapy. The relevant immunotherapeutic agents do not directly attack the tumor, but boost the body's immune system to recognize and kill cancer cells. Recent efforts utilizing immuno-engineering for local delivery of these immune checkpoint antibodies are presented. This type of immunotherapy was embraced in melanoma, colorectal cancer, lung cancer, the most devastating types of cancers in terms of mortality and incidence. All these type of cancers in order to have an efficient immune therapy need to be tackled with the recent molecular markers. Thus as the *Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline – Update 2016* has shown for melanoma there are several points that should be considered when applying approved immune-therapy in melanoma. Thus, mutation testing of tumour tissue (at least BRAF; NRAS, CKIT) is a prerequisite for treatment decisions. PD-1 checkpoint blockade either as monotherapy or in combination with CTLA-4 blockade should be considered as a good option for first-line treatment for all patients with unresectable metastatic melanoma, independently from BRAF status. When BRAF-inhibitors are considered for BRAF mutated patients, they must be given in combination with MEK inhibitors. C-KIT inhibitors should be give to patients that have c-KIT mutant melanomas. This type of cancer being one example amongs others that need to be approached in applying immune therapy by using panel of specific molecular markers.

These molecular markers can re-orient therapy and can pin-point the best patient population for an efficient therapy approach.

Selected references: Garbe et al, *Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline – Update 2016*; Seremet et al. *J Transl Med.* 14:232, 2016; Wang C et al, *Hum Vaccin Immunother.* 2016 Sep 26:1-4.

Acknowledgement. *Grant PN-II -2013-4-1407*

CP6. INFLUENCE OF NEUROPSYCHOLOGICAL STRESS ON IMMUNITY STATUS

Prof. Dr. Veronica Lazăr

University of Bucharest, Faculty of Biology – Microbiology & Immunology Lab., Romania

A lot of studies are showing that neuropsychological stress is a powerful factor which can downregulate the immune system and its normal response to all foreign substances, including pathogens. It is also established that communication between the central nervous system and the immune system involves the endocrine system too and bidirectional signals between all parts of this triad. Psychological stressors dysregulate this network, this condition leading to immunosuppression and a high risk especially for infectious diseases.

The aim of this presentation is to show the connection between the central nervous system and immune system, the mechanism of action of the stress hormones and their powerful immunosuppression effect under chronic stress condition with a major risk for health, underlining the great importance of the anti-stress measures, at individual or professional level.

Under normal conditions, our immune system maintains a balanced state of health (immunostasis), but when the organism is exposed to prolonged stress, the system breaks down. Our body become vulnerable and manifest not only neurological stress symptoms, but also long-term immune system disorders and other illnesses. In fact, it is considered that nearly 70% of all diseases can be attributed to or influenced by chronic stress.

The stress-induced activation of the sympathetic nervous system and the sympathetic-adrenal medullary and hypothalamic-pituitary adrenal axes lead to the release of cytokines. At a molecular level, the immune functions are mediated by these messenger molecules, released from a variety of activated cells of the immune system - leukocytes or other cells and acting on other target cells, with inflammatory or anti-inflammatory effect. Adrenergic stress hormones alter the synthesis and release of cytokines and such alterations in the immune system are influencing its functions. The experience of stress affects especially the cellular immunity, an important specific defense mechanism controlling viral infections and even cancer disease.

CP7. ALZHEIMER'S DISEASE FROM THE REDOX SIGNALING PERSPECTIVE – THE REDBRAIN PROJECT

Dr. Gina Manda¹, Ana-Maria Enciu^{1,2}, Antonio Cuadrado^{1,3,4}

¹INCD “Victor Babes”, Radiobiology Laboratory, Bucharest, Romania;

²UMF “Carol Davila”, Bucharest, Romania;

³UAM, Autonomous University of Madrid, Madrid, Spain;

⁴CIBERNED, Ciber de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Neurodegenerativas, Madrid, Spain

A paradigm shift has occurred recently regarding the role of reactive oxygen species (ROS) in health and disease: ROS sustain cellular homeostasis by regulating cell signaling through redox-mediated mechanisms, and alteration of the tightly controlled redox balance underlies cardiovascular and neurodegenerative diseases, cancer, diabetes and obesity. Clustering of these apparently unrelated diseases according to their common molecular profile (“network medicine” approach) opens new perspectives for unraveling pathologic mechanisms, and for developing new targeted therapeutic strategies. Recent studies evidenced that redox disturbances in Alzheimer’s disease (AD) precede by many years molecular neurotoxic changes that produce cognitive impairment. Chronic oxidative stress in AD derives from increased ROS production (dysfunctional mitochondria in neurons, enhanced NADPH-oxidase activity in glial cells, ROS-producing monocytes and granulocytes that infiltrate the AD brain), but also from a suppressed endogenous antioxidant response. The reciprocal relation between oxidative, inflammatory and proteotoxic stresses, and their synergic impact on brain integrity in various stages of cognitive impairment will be detailed. Therapies that specifically target oxidative stress through modulation of the endogenous antioxidant system are a promising therapeutic strategy in redox diseases, including in AD. A potential approach might be the pharmacologic activation of the transcription factor Nrf2 which is critically involved in triggering a plethora of endogenous cytoprotective mechanisms that participate in redox control, inflammation and proteostasis. We will present REDBRAIN, a project that attempts to address these issues in AD. REDBRAIN will design an advanced investigational system for preclinical and clinical testing of Nrf2 modulators and biomarkers of AD. The rationale is based on the analysis of peripheral markers of the molecular signatures of Nrf2 and nuclear factor- κ B in blood leukocytes, and the functional polarization of monocytes, as precursors of microglial cells.

The REDBRAIN project (ID P37_732) is co-financed by the European Fund for Regional Development through the Operational Program Competitiveness.

CP8. PHARMACOTHERAPY, CYTOKINE PROFILES, AND PROGNOSIS IN WOMEN WITH DIABETES MELLITUS AND BREAST CANCER

Zachary AP Wintrob¹, Jeffrey P Hammel², Thaer Khoury³, George K Nimako¹, Hsin-Wei Fu¹, Zahra S Fayazi¹, Dan P Gaile⁴, Alan Forrest⁵, **Prof. Alice C. Ceacareanu**^{1,6}

¹*State University of New York at Buffalo, Dept. of Pharmacy Practice, NYS Center of Excellence in Bioinformatics and Life Sciences, 701 Ellicott Street, Buffalo, NY 14203;*

²*Cleveland Clinic, Dept. of Biostatistics and Epidemiology, 9500 Euclid Ave., Cleveland, OH 44195;*

³*Roswell Park Cancer Institute, Dept. of Pathology, Elm & Carlton Streets, Buffalo, NY 14263;*

⁴*State University of New York at Buffalo, Dept. of Biostatistics, 718 Kimball Tower, Buffalo, NY 14214;*

⁵*The UNC Eshelman School of Pharmacy, Division of Pharmacotherapy and Experimental Therapeutics, Campus Box 7569, Chapel Hill, NC 27599;*

⁶*Roswell Park Cancer Institute, Dept. of Pharmacy Services, Elm & Carlton Streets, Buffalo, NY 14263*

Introduction: Body mass index (BMI) and diet have independently been linked to type-2 diabetes mellitus (T2DM) and breast cancer (BC). Current evidence seems to confirm that common signaling aberrations are implicated in both the increased risk of T2DM and BC. Thus, it is expected that T2DM pharmacotherapy which can reverse or modify these signaling aberrations will subsequently affect BC prognosis.

This hypothesis is further supported by evidence that injectable insulin and insulin stimulating agents are associated with poorer BC outcomes among women with T2DM while other drugs, most notably metformin, have had substantially improved outcomes. Nonetheless, there is limited evidence supporting a particular mechanism and to our knowledge this study was the first to evaluate the interrelationship between biomarker profiles, T2DM therapy, and BC outcomes.

Methods: This study was approved by the institutional review boards of Roswell Park Cancer Institute (RPCI) and University at Buffalo. All adult women diagnosed at RPCI between January 1, 2003 and December 31, 2009 were considered for inclusion (n=2194).

Medical records were reviewed to abstract demographic and clinical parameters as well cancer treatment history and the related outcomes. Subsequently, all subjects that were identified to have T2DM at diagnosis

(cases, n=97) were matched to two without T2DM (controls, n=194) based on: age, BMI, ethnicity, menopausal status, and tumor stage. All study subjects were required to have treatment and surgery naïve plasma samples in the RPCI databank and biorepository.

A panel of 33 biomarkers were assessed by either ELISA or Luminex. Outcome optimized biomarker thresholds were identified by Kaplan-Meier with respect to both overall survival (OS) and disease-free survival (DFS).

Associations were assessed by Fisher's exact test, Kruskal-Wallis or Wilcoxon Rank-Sum test, were appropriate. Multivariate statistical analyses were performed to account for age, tumor stage, BMI, estrogen receptor (ER) status, and cumulative comorbidity. Biomarker correlations were assessed by the Pearson method.

Results: Utilization of insulin and insulin secretagogues was associated with ER (-) phenotype ($p=0.008$ and $p=0.043$, respectively) and significantly poorer BC outcomes ($p=0.012$ and $p=0.033$, respectively). Insulin use was associated with lower C-peptide levels and higher IL-6, TNF- α and CRP levels, elevated CRP and TNF- α were associated with poorer BC outcomes ($p=0.003$, MVP=0.210). Insulin and insulin secretagogue users had higher leptin levels than controls ($p=0.052$ and $p=0.050$). Lower adiponectin levels were observed among non-insulin ($p<0.001$, MVP=0.006). C-peptide levels were lower among insulin users as compared to insulin non-users ($p<0.001$, MVP<0.001). Multivariate adjustment identified differences in C-peptide levels between insulin users and controls ($p=0.290$, MVP=0.001). Overall, C-peptide levels lower than 0.75 ng/ml were strongly associated with poorer survival ($p=0.007$, MVP=0.002). Among insulin users, C-peptide levels were inversely correlated with IL-1 β and IL-1Ra levels only after full adjustment ($p=0.012$ and $p=0.030$, respectively). The correlation was not observed in the other treatment groups. By contrast, IL-1 β and adiponectin levels were directly correlated among insulin users, both before and after adjustment ($p=0.021$ and $p=0.029$, respectively), but not in other groups.

Conclusion: Insulin use was associated with both elevated leptin, CRP, TNF α , and lower C-peptide as well as poor BC outcomes. Insulin secretagogue use was associated with poorer prognosis as well as lower adiponectin levels and higher levels of leptin and CRP.

CP9. VACCINE DEVELOPMENT BETWEEN NEW AND OLD CONCEPTS

Dr. Adrian Onu

INC „Cantacuzino”, Bucharest, Romania

The long history of vaccination is based on different types of vaccines. Although the immunization procedures are described from early development of medical practices, the modern medical history of vaccination started in 1798 with the publication of Edward Jenner experiment which introduced the famous concept of “vaccination”. His method finally resulted in the eradication of smallpox and defined the initiation of the concept of “live attenuated” microorganism which has underwent medical and technological development since then.

Another definite moment in the vaccine development was the Pasteur’s rabies vaccine (1885) which had a big impact in human disease fighting which defined the concept of immunization with “killed microorganisms”. This two main concepts led the development of vaccines in the beging of 19-th century based on development of microbiology in the fight against anthrax, cholera, plague, typhoid, tuberculosis, diphtheria, tetanus. From a technologically point of view, the last two of them defined the “toxoid vaccines” based on a specific protein and a clear pharmacological “mechanism of action”.

Modern vaccines are essentially based on this pharmacological concepts and on benefits provided by the development of immunology, molecular biology and biotechnology. Thus beside live attenuated vaccines, inactivated vaccines and toxoid vaccines, other vaccine concepts such as subunit vaccines conjugate vaccines, DNA vaccines, recombinant vector vaccines has been developed over the years. Each concept was redefined, a good example being the “recombinant subunit vaccines”, based on DNA recombinant technology. Also the availability of DNA sequences, along with big achievement in immunology allowed rational design of antigen and introduction of the concept of “reverse vaccinology”. Other face of rational design, “quality by design”, brought benefits in the production technology. Last but not least, the development of adjuvant - an old concept but a modern technology, complements vaccine development. Cantacuzino National Institute of Research approached several of the modern concepts in vaccine research that are described in this presentation.

WORKSHOPS

W1. PROBIOTICS AND PARAPROBIOTICS – IMMUNOMODULATORY EFFECTS AND HEALTH BENEFITS

Lia Mara Dițu

University of Bucharest, Faculty of Biology – Microbiology & Immunology Lab., Romania

The gastrointestinal tract is a complex ecosystem based on the interactions between the epithelium, immune cells and resident microbiota. The three components of the ecosystem have co-evolved, and are interrelated in their physiological activity. Each member of the gastrointestinal ecosystem can have a predetermined development, even in the absence of other components as revealed by studies on germ-free animals.

The purpose of this paper is to present some aspects related to the influence of probiotic and paraprobiotic components on the normal functionality of the immune system. Probiotics are defined as live microorganisms that, when administered in adequate amount, confer a health benefit on the host. Amongst the many benefits associated with the consumption of probiotics, modulation of the immune system has received the most attention. Several animal and human studies have provided unequivocal evidence that specific strains of probiotics are able to stimulate as well as regulate several aspects of natural and acquired immune responses. Different probiotic strains vary in their ability to modulate the immune system and therefore efficacy of each strain needs to be carefully demonstrated through rigorously designed experiments. Our preliminary study suggests that gut microbiota, implicit probiotic bacteria, produce molecules that interfere with cytokine signaling pathways of the host organism, suggesting their involvement in the modulation of the host anti-infectious defense ability, mediated by cytokines able to activate the nonspecific (IL-1, IL-6) or specific (IFN γ) immune reactions, including: attenuation of the inflammatory response by increasing IL-6 (which induces acute phase protein synthesis); activation of a specific cellular immune response reflected in increasing levels of IFN γ ; limiting the inflammatory bowel lesions by lowering the IL-1 α level.

W2. SEROLOGICAL DIAGNOSIS IN PARASITIC DISEASES: TOXOCAROSIS, TRICHINELLOSIS, CYSTICERCOSIS AND CYSTIC ECHINOCOCCOSIS

Patricia Mihăilescu¹, Ionica Ceauș¹, Claudia Istrate¹, Carmen-Michaela Crețu^{1,2}

¹*Eco-Para-Diagnostic SRL, Bucharest, Romania;*

²*University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", Bucharest, Romania*

Introduction: Parasitic organisms were known since the most ancient times and mentioned by famous medical doctors like Hippocrates. Out of them, the most important in terms of significant material and social damages are nematodes and cestodes. The first ones are highly polymorphic and infest various living environments. *Toxocara* spp. and *Trichinella spiralis*, once entered in contact with the human organism, are causing serious pathologic conditions (e.g., toxocarosis - larva migrans visceralis / ocularis and trichinelosis). Another important class is Cestoda (fam. Taeniidae) with the very important representatives *Taenia solium* and *Echinococcus granulosus* which cause the two very serious human diseases: cysticercosis (complication of *Taenia solium* infection) and cystic echinococcosis (hidatidosis).

Material and Methods: We performed a retrospective study in the period 01.01.2013 - 07.31.2015, in which there were included patients admitted to the medical center Eco-Para-Diagnostics SRL in Bucharest for the following investigations: 1598 serum samples tested for specific antibodies against *Toxocara canis*; 266 for *Trichinella spiralis*; 171 for *Taenia solium*; 1345 for *Echinococcus granulosus* specific antibodies. For these tests there were used commercial diagnostic kits and screening methods as ELISA and Western Blot confirmation.

Results: For *Toxocara*, out of the 1598 serum samples 1158 were tested by ELISA, and 440 confirmed by Western Blot (WB). Of those tested by WB, 155 (35.22%) were positive and 285 (64.78%) negative. Sex distribution was 50.90% men and 49.10% women aged between 1-76 years. For *Trichinella spiralis*, out of the 266 serum samples 216 by ELISA and 50 by WB. ELISA revealed 41 (18.98%) positive samples and 175 (81.02%) negative. From the samples tested by WB, 17 (34%) were positive and 33 (66%) negative. Regarding the distribution of genders and age groups: 56% were men, 44% women, aged between 3-62 years. In case of *Taenia solium*, from the 98 serum samples tested by ELISA 2.04% were positive and the rest of 97.96% negative. From the 73 WB samples 4.10% were positive and 95.9% negative. 32.24% of patients were male, 65.76% women, the patients

being aged between 1-88 years. Concerning *Echinococcus granulosus*, from 1335 serum samples 916 were tested by ELISA and 419 by WB. Of the WB tested patients 96 (22.9%) were positive and 323 (77.08%) negative. Of the 94 patients (positive in WB), 49 were ELISA positive (52.13%), 19 (20.22%), ELISA negative and the remaining 26 (27.65%) were not tested. Also there were examined 27 cystic material samples for testing protoscolex viability, 25 being positive and two negative. Samples were collected during surgery from 25 patients (19 women, eight men, aged between 5-74 years).

Conclusions: The serology methods for the diagnosis of parasitic diseases are particularly important, especially the Western Blot method (confirmation method with increased sensitivity and specificity) which is important especially for confirming the true negative results obtained by ELISA, obtained for patients with characteristic imaging diagnosis and clinical symptoms. For an accurate diagnosis there is needed a corroboration among several methods of diagnosis, i.e.: serological (ELISA, WB), imaging diagnosis and patient history.

W3. THE PARTICULARITIES OF THE IMMUNE RESPONSE IN LYME DISEASE

Ani Ioana Cotar, Daniela Bădescu

Cantacuzino National Institute of Research, Laboratory for vector-borne infections, Bucharest, Romania

Lyme disease is the most common infection transmitted by ticks in the northern hemisphere and is predominantly in temperate regions of North America, Europe and Asia. It is a multisystem disease, inflammatory, determined by the immune response to pathogenic genospecies for humans of the complex *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s. l.), which in Europe are transmitted by the bite of *Ixodes ricinus* ticks.

Lyme borreliosis is an inflammatory disease that affects multiple organ systems: nervous and cardiovascular systems, joints and muscles, but the pathogenesis mechanisms are not completely understood.

Borrelia has the ability to invade local tissues and to escape from the host immune defense mechanisms for a long period of time despite the development of antibodies in serum and other body fluids. *Borrelia* uses several mechanisms for evasion of immune responses and cause persistent infections: (1) inactivation of the complement cascade, (2) phase and antigenic variation and (3) the invasion of protective immunological niches. The infection with *B. burgdorferi* stimulates the synthesis of antibodies with a unique and highly specific function.

Currently the laboratory diagnosis of various stages of Lyme disease is based on dynamic evaluation of specific antibodies IgM and IgG by ELISA and Western blot assays carried out in successive phases.

W4. UTILITY OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* EXPERIMENTAL MODEL FOR THE *IN VIVO* STUDY OF HOST-INFECTIOUS AGENTS INTERRELATIONS

Mihaela Raluca Mihalache (Radu)¹, Alina Neagu¹, Veronica Lazăr^{2,3}

¹*University of Bucharest, Faculty of Biology, Department of Botany and Microbiology, Bucharest, Romania;*

²*University of Bucharest, Faculty of Biology, Department of Genetics, Bucharest, Romania;*

³*Research Institute of the University of Bucharest - ICUB, University of Bucharest, Bucharest, Romania*

According to international scientific literature data, *Drosophila melanogaster* experimental model is used to analyze the underlying mechanisms of the immune response. These mechanisms can be elucidated by the study of experimental infections induced by various bacterial species of interest such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. The two methods of inducing experimental infections in *Drosophila melanogaster* are the pricking and the method of ingestion of bacterial cells, enabling the further analysis of the target genes and extrapolating the results to other mammalian models, including humans. The results obtained in our laboratory have shown that the effects caused by *P. aeruginosa* infection given by ingestion are less severe than those caused by the infection consecutive to pricking and revealed significant differences in the expression level of some genes of interest.

W5. NEW INSIGHTS FOR MULTICOLOR PANEL DESIGN

Gabriela Elena Androsiac, *Application Specialist*

SC. Novaintermed, Romania

Multicolor flow cytometry is a powerful tool for the characterization of various cell types using a large portfolio of conjugated antibodies directed against surface, intracellular and secreted markers. Thus, for a better optimization, some important aspects should be taken into account, while trying to design a multicolor panel. Antigen density and its co-expression on

a cell, the correct assignment of fluorochromes to target antigens and the experimental controls are able to improve resolution and to minimize the spillover effects into the population of interest.

The following presentation will guide the researchers through the rules that should be respected for the optimized selection of multicolor flow cytometry panels.

W6. FLOW CYTOMETRY APPLICATIONS FOR CURRENT CLINICAL PRACTICE

Bianca Gălăteanu¹, Ariana Hudiță¹, Mirela Șerban¹, Carolina Negrei², Codruța Vagu³, C. Șerban³, Anca Gheorghe³, Marieta Costache¹

¹*Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Bucharest, Bucharest, Romania;*

²*Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy “Carol Davila”, Bucharest, Romania;*

³*Fundeni Clinical Institute, Laboratory of Hematological Analysis Specialized for Medullar Transplant, Bucharest, Romania*

Flow cytometry has evolved from a laboratory technique to a routine tool used in the diagnosis, prognosis and monitoring of hematological malignancies, immune status in patients with cancer, immune deficiency, and allogeneic stem cell and organ transplants.

Flow cytometry analysis can identify with high accuracy the distinctive immunophenotype of malignancies to select specific therapies and to predict disease evolution. For example, various CD20⁺ B cell malignancies are now treated with rituximab (anti-CD20 antibodies) and a subset of CD52-expressing T cell and B cell malignancies may be treated with alemtuzumab (anti-CD52 antibodies). Additionally, the screening of residual malignant cells after oncological therapy is a current practice in MRD monitoring.

The flow cytometer also serves as clinical laboratory platform for assessing the immune status including determination of CD4⁺ T cell blood counts after HIV infection as well as classification and prognostication of various primary immune deficiencies, such as autoimmune lymphoproliferative syndrome or severe combined immune deficiency. Flow cytometric quantification of specific immune cell subsets in an allogeneic stem cell graft and of immune reconstitution following allogeneic bone marrow transplantation serves as predictors of survival posttransplant.

Flow cytometry can also be used for cell therapy approaches to quantify the extremely rare CD34⁺ endothelial progenitors in cord blood. Lastly but not

the least, flow cytometry might offer a flexible platform for liquid biopsy approach in patients with epithelial cancers.

All of these translational applications of flow cytometry in the clinical practice became reality due to the innovative approaches in the reagents development that assured standardization and reproducibility.

W7. MULTICOLOR ASSESSMENT OF B LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS IN PERIPHERAL BLOOD

Mihaela Surcel^{1,2}, Radu-Ionuț Huică^{1,3}, Adriana Narcisa Munteanu¹, Ioana Ruxandra Pîrvu¹, Dan Ciotaru¹, **Cornel Ursaciuc**¹

¹*Dept. Immunology, "Victor Babeș" National Institute, Bucharest, Romania;*

²*Facultatea Faculty of Biology, University of Bucharest, Romania;*

³*UMF "Carol Davila", Bucharest, Romania*

B lymphocytes are involved in the humoral immune response, causing the antibody secretion after contact with antigen (Ag). Activation and blast transformation of B lymphocytes results in antibody secreting plasma cells. The secreted immunoglobulin (Ig) are identical as specificity with Ag-specific Ig receptor on activated B-cell membrane.

It can be determined in peripheral blood more categories of B cells CD45+CD19+CD20+ following the developments or contact Ag: iImmature (transitional) - CD10+sIg++, naive (which did not primed with Ag) – sIg+, memory (results after contact with Ag and specific humoral immune response) - CD27+sIg+/-, plasma cells (in the course of passage from the lymph nodes to bone marrow) - CD38+++sIg-. These categories have certain ranges of values, varying with age and disease situation. There are some subpopulations derived from the above ("border B") and may occur temporarily in peripheral blood according to the conditions of the immune response: activated B lymphocytes (CD10+CD21+) and regulatory B cells (CD24+CD38+). Subpopulation identification was carried out by a 8-color method at FACSCanto II cytometer (BD) after processing cells with labeled monoclonal antibodies: antiCD45-BV510, anti-CD19-PerCP-Cy5.5, antiCD20-APC-H7, antiIgD-FITC, antiIgM-APC, antiCD10-PE-Cy7, antiCD27-BV421, antiCD38-PE.

The results showed variations between B subpopulations shared in adults and children. Total naive and immature B cells percentages were higher in children, while plasma cells and memory B lymphocytes were higher in adults.

Evaluation of B lymphocyte subpopulation of peripheral blood is useful mainly in B cell secondary immunodeficiency disorders (ID), infectious syndromes, autoimmune diseases, type II diabetes melitus, graft-versus-host syndrome. The primary ID (humoral or combined) and B lymphocyte proliferation (leukemias, lymphomas, myeloproliferative syndrome) are not recommended for determination as described above, since it does not provide suggestive indications because of major disturbance in distribution, markers and categories of peripheral B lymphocytes.

Work supported by grant of the Romanian National Authority for Scientific Research PN 16.22.03.04.

W8. TRANSPLANT IMMUNOLOGY IN SOLID ORGAN TRANSPLANTATION AND HEMATOPOIETIC STEM CELLS TRANSPLANTATION

Ileana Constantinescu^{1,2}

¹*Carol Davila Medical and Pharmacy University, Bucharest, Romania;*

²*Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania*

The optimal treatment of end-stage organ failure is transplantation, since it enhances both quality of life and survival. Immunology has provided a rationale for the development of clinical transplantation. The scientific basis of transplantation means the understanding of the molecular and cellular events which lead to graft rejection or acceptance. Matching HLA alleles and minor histocompatibility complex between donors and recipients prevents rejection episodes. Differences between HLA alleles stimulate rejection.

Typing MHC alleles polymorphisms and revealing their role in immune recognition is the every day challenge of transplant immunologists. Also the clinical relevance of HLA polymorphisms is specifically assessed for each type of transplantation.

Our evidence-based experience in solid organ transplantation (kidney, liver and heart) at Fundeni Clinical Institute shows that both complete immunological assessment of the recipient prior transplantation and careful follow up are the keys to successful outcome of the transplanted patient. Clinical examples of evidence-based case reports are given within this lecture. Molecular high resolution tissue typing used in Fundeni Clinical Institute allows detailed and comprehensive HLA results so that the best matched donor is always chosen.

In hematopoietic stem cells transplantation HLA matching at eight digits is very important and actually dictates the clinical status post transplantation.

In bone marrow transplantation, not only MHC is essential to be perfect matched but also the minor histocompatibility complex is important to be matched. Graft versus host disease could be caused only by a limited number of mismatched minor HLA alleles. Transplant immunology is complex and challenging but this is the beauty of it!

W9. WHAT IS THE IMPACT ON BONE MARROW TRANSPLANTATION OF THE ROMANIAN VOLUNTEER DONOR REGISTER FOR PERIPHERAL HEMATOPOIETIC STEM CELLS?

Ana Moise^{1,2}, Daniela Nedelcu², Mihaela Sora², Adela Toader², Larisa Ursu², Ileana Constantinescu^{1,2}

¹*Carol Davila Medical and Pharmacy, Bucharest, Romania;*

²*Centre for Immunogenetics and Virology, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania*

When an HLA-matched donor is not available within the family in the national register of volunteer unrelated donors could be found a matched donor for the patient. Our Romanian volunteer donor register for peripheral hematopoietic stem cells have improved significantly the access to bone marrow transplantation for many patients diagnosed with a wide range of haematological malignancies.

Our debate concentrate on the challenge of finding a suitable HLA matched donor within Romanian families and the need of more extensive testing in all the regions of our country. We have notified some problems based on our experience: the lack of policies concern HLA typing and testing strategies; the lack of donor assessment, follow up and outcome; in our country there are no cord blood banks developed yet.

W10. IMMUNOSUPPRESSIVE DRUGS: WHICH WAY TO GO?

Daniela Nedelcu², Ana Moise^{1,2}, Adela Toader², Mihaela Sora², Larisa Ursu², Ileana Constantinescu^{1,2}

¹*Carol Davila Medical and Pharmacy, Bucharest, Romania;*

²*Centre for Immunogenetics and Virology, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania*

Long-term immunosuppression helps to prevent graft loss but it can often be associated with worsening of pre-existing conditions or new complications. Close monitoring of calcineurin inhibitors levels is mandatory for improving

quality of life and post transplant survival rate. Calcineurin inhibitors remain the corner stone of most immunosuppressant regimens. Tacrolimus is the agent of choice in our transplant centre at Fundeni Clinical Institute. Several studies have documented its advantage over cyclosporine in preventing acute rejection, promoting allograft function and reducing cardiovascular factors (hypertension and hyperlipidemia). Along with the calcineurin inhibitors it is common the use of corticosteroids, sirolimus, everolimus, antithymocyte globulin, daclizumab, basiliximab, alemtuzumab. Some new immunosuppressive drugs are under clinical trials: betalcept, alefacept, CP690, 550 (a JAK 3 kinase inhibitor), AEB071 (a protein kinase C inhibitor).

There are four issues of debates: induction therapy (ATG, alemtuzumab); corticosteroid free regimens; minimizing adverse reactions; new immunosuppressive drugs.

We present our experience and our opinion related to immunosuppression both in solid organ transplantation and in bone marrow transplantation.

W11. HIGH RESOLUTION HLA TYPING IS ABLE TO RESOLVE ACUTE REJECTION EPISODES POST SOLID ORGAN TRANSPLANTATION?

Larisa Ursu¹, Ana Moise^{1,2}, Mihaela Sora², Adela Toader², Ileana Constantinescu^{1,2}

¹*Carol Davila Medical and Pharmacy, Bucharest, Romania;*

²*Centre for Immunogenetics and Virology, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania*

HLA alleles' matching is crucial for solid organ transplantation but there are also other essential factors equally important for the prevention of acute rejection. Recipient selection criteria are essential. The management of immunized recipient is completely lacking and this aspect affects the outcome post transplantation. The problem of de novo anti HLA antibodies is also a challenge.

Selection of immunosuppressive drug regimens could be problematic in some cases and should be more personalized according to the needs of each patient.

Other issues in debate are: avoidance of positive crossmatches, HLA typing strategies, screening strategies for anti –HLA antibodies.

In our experience, evidence based reviews have revealed the effectiveness of HLA matching in improving outcomes. But HLA polymorphisms are not always clinically relevant for a specific type of transplantation.

Therefore HLA matching is not the only factor in preventing acute rejection episodes post transplantation.

W12. ARE WE ABLE TO PREVENT NEOPLASIAS POST KIDNEY TRANSPLANTATION?

Ileana Constantinescu^{1,2}, Ana Moise^{1,2}, Larisa Ursu²

¹*Carol Davila Medical and Pharmacy, Bucharest, Romania;*

²*Centre for Immunogenetics and Virology, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania*

Cancer represents a major cause of morbidity and mortality for renal transplant recipients. The average of cancer onset at ten years post renal transplantation is about 15 %.

There are several issues mentioned in this debate: the aspects related to pre-existing cancers; transmission of cancer from donors; de novo cancers; immunosuppressive therapy; genetic determinants of renal transplantation outcome.

At the moment we do tumour marker screening in order to prevent de novo cancers but also the transmission of cancer from donors.

Immunosuppressive therapy is one of the most important causative factors. The risk of tumour is clearly related to the intensity of immunosuppression. Post transplant neoplasias increase with time. Viral infections can favour neoplastic tissue development and can be involved in a number of different types of cancers (most lymph proliferative disorders are B cells lymphoma and are caused by EBV).

Genetic predispositions have been found to be associated with a higher incidence of skin cancer.

Epigenetic and whole genome sequencing could provide a more in-depth knowledge of the genetic influences on renal transplant outcome.

Long term renal allograft survival has not changed over the last decade and there is still a lot of scientific work to do in order to prevent cancer onset post transplantation.

ORAL PRESENTATIONS

PO1. MOLECULAR MEDIATORS OF THE IMMUNE RESPONSE

Lucian Pop¹, **Victor Cristea**^{1,2}

¹"Sf. Iosif" Medical Center, Cluj-Napoca, Romania;

²"Iuliu Hațieganu" University of Medicine, Cluj-Napoca, Romania

Cytokines are a group of heterogeneous molecules (about 100 types), with molecular weight between 15 and 30 kDa, of glycoprotein or protein nature, which are secreted by a cell and binds to specific, high-affinity, membrane receptors, displayed on the surface of other cells or even on the cell that has secreted them. Within the immune response, cytokines are recognized as mediators of immunity, inflammation, proliferation and differentiation of cell lines.

In a series of scientific papers (parts of completed PhD theses) we have tried, since 1997, to see what is the behavior of the main pro and anti-inflammatory cytokines in the onset and progress of diseases and if their activity is different in the control groups.

Studies have been conducted on patients with chronic hepatitis B or C, cirrhosis (versus non alcoholic steatohepatitis), atopy and chronic urticaria, allergic rhinitis, periodontal disease, breast cancer, rheumatoid arthritis, bullous pemphigoid, septic shock, anesthetic shock. The most significant results are presented and discussed in order to enrich the disease diagnosis through the use of these new "markers".

PO2. A NON DENATURING ELECTROPHORETIC METHOD FOR IDENTIFICATION OF OLIGOMERIC FORMS OF AMYLOID PRECURSOR PROTEIN IN THE CEREBELLAR CORTEX OF LABORATORY MICE

Ana-Maria Enciu^{1,2}, Maria Dudău^{1,2}, Elena Codrici¹, Daniela Ionela Popescu¹, Simona Mihai¹, Laurențiu Anghelache^{1,3}, Radu Albuлесcu^{1,4}, Cristiana Tănase^{1,5}

¹*INCD "Victor Babeș", Bucharest, Romania;*

²*UMF "Carol Davila", Bucharest, Romania;*

³*USAMV Bucharest, Romania;*

⁴*ICCF Bucharest, Romania;*

⁵*"Titu Maiorescu" University, Bucharest, Romania*

Introduction: amyloid precursor protein (APP) is the central component of the amyloid cascade - the main pathogenic link of Alzheimer's disease. Its physiological role is not well known, since research efforts are mainly concentrated on the pathologic enzymatic cleavage of the protein. Recently, presence of dimers was highlighted in cell cultures transfected with APP. To date, there is no data on the existence of these dimers in tissues.

Aim: Identification of APP dimers or oligomers in cerebellar cortex of normal laboratory mice, without known central nervous system pathology.

Material and Methods: Biological material: cerebellum cortex, from C57BL6 male mice, age between 3 and 9 months. Methods: ultracentrifugation and separation of cell membranes, protein extraction, non-denaturing electrophoresis followed by transfer and immunoblotting.

Results: Using standardized protocols for non-reducing SDS PAGE electrophoresis (which preserves disulphide bonds) we could not reveal the presence of dimers reported in the literature to occur in *in vitro* systems. However, we were able to obtain a protocol optimized for isolation, extraction, electrophoresis and immunoblotting of molecular complexes containing APP. When used on cerebellar cortex, this working protocol identified a macromolecular complex, of about 600 kDa, 3 times higher than the expected dimer size.

Conclusions: Using an adapted protocol of non-denaturing electrophoresis, we have identified an APP based macromolecular complex. The next steps are to identify the composition of this protein complex, to see whether it is formed of APP oligomers or it is a heterocomplex. Special emphasis will be put on investigating the existence of specific membrane coating proteins, such as caveolin-1 in the composition of this complex.

Acknowledgment: *This work was supported by a grant of the Romanian National Authority for Scientific Research and Innovation CNCS-UEFISCDI, project number PN-II-RU-TE-2014-4-1534 and PN 16.22.04.01.*

PO3. KIR2DL4 NEGATIVE GENOTYPE – A VERY RARE FEATURE

Daniela Constantinescu^{1,2}, Corina Cianga^{1,2}, Camelia Mihăilă², Petru Cianga^{1,2}

¹*Immunology Department, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa” Iași, Romania;*

²*Laboratory of Immunology and Genetics, St. Spiridon Hospital, Iași, Romania*

Introduction: The NK cells and some T lymphocytes express killer Ig-like receptors (KIR). Some of these receptors play activatory roles, others are inhibitory receptors. The number of Ig-like domains and the size of their cytoplasmic tails contribute to the receptor’s denomination. 16 human KIR genes are known so far, as well as a number of allelic variants. KIR2DL4, KIR3DL2, KIR3DL3 and KIR3DP1 are considered the so called “framework genes” as they are present practically in all individuals.

Materials and Methods: A hundred non-related individuals were characterized for their KIR genotypes using Sequence Specific Primers (SSP) from four different manufacturers: BAG, Olerup, InnoTrain and Invitrogen. All these subjects were healthy volunteers from various counties of Moldova (mostly Bacau and Iasi), who registered as donors for the Romanian Stem Cell National Registry.

Results: The KIR genotypes that we were able to characterize allowed us to calculate and further adjust the frequencies of these genes in the Romanian population. Furthermore, a particular genotype could be evidenced: 2DL2; 2DL3; 2DL5B; 2DS1; 2DS2; 2DS3; 3DL2; 3DL3; 2DP1; 3DP1, which, remarkably, lacks 2DL4. This result was confirmed with kits from three distinct manufacturers.

Conclusions: The www.allelefreqencies.net database reports only ten KIR2DL4-negative genotypes, which demonstrates a very strong positive selection favoring the KIR framework genes. The individual we were able to characterize is thus one of the very few reported worldwide. Furthermore, the data generated by this study provided a more accurate image upon KIR genes and genotypes frequencies in Romania.

PO4. NATURAL SOD PRODUCED BY CANTACUZINO INSTITUTE: FROM TRADITION TO INNOVATION

Andreea-Roxana Lupu^{1,2}, Lidia Cremer¹, Adrian Onu¹, Cristina Cercel³

¹*INC Cantacuzino, Immunomodulation Group, Bucharest, Romania;*

²*INCD “Victor Babes”, Immunobiology Laboratory, Bucharest, Romania;*

³*University of Bucharest, Faculty of Biology, Bucharest, Romania*

The green barley total extract Natural SOD was patented by Cantacuzino Institute during ‘80s as a food supplement with antioxidant (SOD-like and Peroxidase-like) activity.

Aiming to identify and assess the scavenging properties of our product, we tested the antioxidant capacity against peroxy and DPPH radicals (ORAC and DPPH methods).

We also demonstrated that the methods we used were suitable for a more complex and more rigorous quality control protocol (including acceptance ranges).

The obtained data offer information about the quality of the raw material, the influence of technological steps on antioxidant capacity and the variability between different batches. Stability studies were performed in order to establish the optimal conditions for packaging and storage.

Our results, in correlation with previous data, contribute to further studies aiming to demonstrate the bioavailability of antioxidant compounds in Natural SOD product (extract – gut microbiota interaction, absorption and metabolization pathways) as well as other beneficial compounds (vitamins, oligoelements).

Its complex antioxidant capacity (both enzymatic-like and scavenger) and other potential beneficial effects recommend the total extract Natural SOD as a high-quality antioxidant supplement, an efficient energizer and a potential anti-inflammatory agent.

Green barley extracts (e.g. Natural SOD), traditionally used to maintain and improve the healthy state, could be the main ingredient of new products with complex effects (such as antioxidant and hepatoprotective activities).

PO5. SINGLE-CELL TECHNOLOGY - PRINCIPLE AND APPLICATIONS. IMPORTANCE AND CONTRIBUTION FOR IMMUNOLOGY

Sorina Dinescu, Marieta Costache

Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Bucharest, Romania

Single-cell analysis has been called “the new frontier in Omics” [Wang et al., 2010]. Accurate characterization of samples with high cellular heterogeneity and its effect in complex phenomena such as stem cell differentiation and cancer development may only be achieved by analyzing single cells. Large-scale whole transcriptome studies can be performed to survey heterogeneity and discover novel cell populations. The technology relies on the separation of cells from a cellular suspension in a microfluidic system after they were selected either by microaspiration, flow cytometry or laser capture microdissection. Separated cells are further automatically lysed and the content of each single-cell is released for analysis in an individual reaction chamber. Single-cell technology consists of a unique approach that allows the analysis of DNA, RNAs (mRNA, miRNA, ncRNA) or proteins in the same single cell. Particularly for single-cell gene expression profiling, end-point application is RT-qPCR.

The immune system is an extremely complex network of cells with vast number of interactions among them. Immune monitoring evaluates the types and functions of the immune cells involved in the evolution of an immune response (activation and differentiation of different cells subsets, including macrophages, T cells, B cells, etc). To address the challenges for single-cell analysis in immune monitoring, single-cell modern technology is needed to (1) facilitate the isolation of single cells, (2) identify phenotypical and functional variations, (3) define cell-cell specific interactions, (4) enable multidimensional analysis and quantitative extraction of information. For functional systems immunology, single-cell measurements would help define statistical network models that may improve the knowledge of specific mechanisms that govern the human response to disease [Yalcin et al., 2015]. Additionally, the transcriptomics and genomics of antigen-specific T cells can be more definitively elucidated. Single-cell technology should provide new resolution for defining signatures of immune responses to pathogens and therapeutic interventions.

[1] Wang D., Bodovitz S., Trends Biotechnol. 28 (2010) 281–290.

[2] Yalcin A., Yamanaka Y.J., Love J. C., Single-Cell Analysis, Methods in Molecular Biology 853 (2012) 211-230.

PO6. ANALYSIS OF LYMPHOCYTE POPULATIONS FROM TUMOR-BEARING MICE

Gheorghita Isvoranu¹, Bogdan Marinescu¹, Laurențiu Anghelache¹, Mihaela Surcel^{1,2}, Cornel Ursaciuc¹, Cătălin Gabriel Manole¹, Gina Manda¹

¹*"Victor Babeș" National Institute of Pathology, Animal Husbandry, Bucharest, Romania;*

²*University of Bucharest, Faculty of Biology, Bucharest, Romania*

Introduction: Cancer therapeutic strategies are based on the targeted cytotoxic therapies as well as the own resources of the organism by modulating anti-tumor immune response.

Materials and methods: We used 8-10 weeks old wild type C57BL/6 mice. We employed animal models of B16F10 mouse melanoma and also cutaneous carcinoma. Mice were monitored every week to evaluate tumor growth. On day 21, after tumor cell inoculation, populations and sub-populations of lymphocytes (CD3, CD4, CD8, CD19, NK1.1) were evaluated by flow cytometry.

Results: Evaluation of peripheral blood lymphocyte populations such as the spleen and tumor-bearing mice showed alteration of their distribution in comparison to healthy mice. A significant decrease in the percentage of T lymphocytes (CD4+ and CD8+) and NK cells was observed in peripheral blood of carcinoma-bearing mice. These changes were accompanied by a significant increase in the percentage of B cells. On the other hand, in melanoma-bearing mice, we found only a significant decrease in the percentage of NK cells and TCD4+ lymphocytes.

In the spleen, in the cases of both tumor types, was observed a significant decrease of NK cells and B lymphocytes percentage. Moreover, a statistically significant increasing of the percentage of TCD4+ lymphocytes was documented. For TCD8+ lymphocytes, we found only a statistically significant percentage reduction in carcinoma-bearing mice.

Conclusions: Lymphocyte populations are differently distributed in peripheral blood and spleen of tumor-bearing mice. Tumors induce the decrease in the percentage of T lymphocytes and NK cells in the peripheral blood, but induce the increasing in the percentage of TCD4+ lymphocytes in the spleen. These are possible due to TCD4+ lymphocytes sequestration in secondary lymphoid organs.

Moreover, at least numerically, a compensatory mechanism between TCD4+ and B lymphocytes, has been revealed.

Work partially supported by grant of the Romanian National Authority for Scientific Research PN 16.22.04.04.

PO7. CONFIRMATION OF RETICULOCALBIN 1 AND 3 AS PROTEOMIC BIOMARKERS FOR SYSTEMIC SCLEROSIS

Paul Bălănescu^{1,2}, Anca Bălănescu^{1,3}, Eugenia Bălănescu², Cristian Băicuș^{1,2}, Gheorghe Andrei Dan^{1,4}

¹UMF "Carol Davila", Bucharest, Romania;

²Immunology Laboratory, "Colentina" Clinical Hospital, Bucharest, Romania;

³INSMC "Alessandrescu-Rusescu", Bucharest, Romania;

⁴Internal Medicine Department, "Colentina" Clinical Hospital, Bucharest, Romania

Introduction: Proteomics studies from different fluids of patients with systemic sclerosis identified an increased number of candidate proteomic biomarker for this disease. Among these, reticulocalbin family members were identified. They are chaperons associated with the protein synthesis apparatus of the fibroblast. The aim of the study was to confirm upon an independent cohort of systemic sclerosis patients reticulocalbin 1 and 3 as biomarkers for systemic sclerosis.

Material and methods: 40 patients with systemic sclerosis were recruited. Alongside 20 healthy controls. Serum levels of reticulocalbin 1 and 3 were analyzed using commercial ELISA kits.

Results: Reticulocalbin 1 and 3 were identified in serum of both healthy controls and systemic sclerosis patients. Moreover, serum levels of reticulocalbin 1 and 3 were correlated. Although there were not a statistically significant difference between serum levels of reticulocalbins between healthy controls and systemic sclerosis patients there was a subgroup of 6 patients that had higher serum reticulocalbin levels. They share a similar pattern, having higher prevalence of digital ulcers, telangiectasias, calcinosis cutis, esophageal hypomotility and diffuse subset of disease.

Conclusions: Reticulocalbins were confirmed as biomarkers for systemic sclerosis. They seem to be useful especially for patient stratification rather than for the diagnosis of systemic sclerosis.

PO8. INFLAMMATION AND CANCER, PATHOPHYSIOLOGICAL STATES WITH INTRICATE MECHANISMS , IN WHICH THE IMMUNE RESPONSE IS CENTRAL. BENEFICIAL EFFECT OF GEMMOTHERAPY

Didi Surcel¹, M. Surcel², S. Toader², M. Butan³, Simona Nițu⁴, Carmen Ponoran⁴

¹*Blue Life Medical Center, Cluj-Napoca, Romania;*

²*„Iuliu Hațieganu” University of Medicine, Cluj-Napoca, Romania;*

³*Center of the Public Health, Cluj-Napoca, Romania;*

⁴*Plant Extract, Cluj-Napoca, Romania*

Recent data reveal the fact that between the two states pathophysiological - inflammation and chronic diseases such as cancer - there is a symbiotic relationship, which involves mechanisms for confounding, such as oxidative stress, hypoxia, expression of transcription factors / in particular nuclear factor B (NF-kB) /, the presence of numerous factors such as chemokines, cytokines, growth factors, prostaglandins, angiogenic factors, etc. Apart from genetic predisposition, epigenetic changes accumulated in the body throughout life involve major effort to ensure the body's homeostasis.

In individuals with inflammatory, immune system it is disturbed and becomes persistent inflammatory response, involving many types of immune and non-immune cells. Basal inflammation can be induced by several factors, such as: a) the reactivation of latent viral infections; b) Toll-like receptor expression decreased with reduced capacity for recognition of pathogens (PRRS); d) decreased ability of immune cells migration; f) increased oxidative stress g) adaptive immunity decline; h) deficiencies in the production of cytokines, growth factors, with the shift from Th1 to Th2 cytokine profile and especially i) altering of the interaction between mesenchymal stem cell and the immune system. Prolonged, professional to asbestos, constantly associated with functional morph-functional changes in the lung, comes with arguments in this regard. The purpose of this paper is to demonstrate the protective effect of the gemmotherapy remedies Buxus and Thuia on the immune and oxidative response, altered by chronic exposure to asbestos. In vivo experiment was performed on 100 rats, Wistar line, divided into the following groups: 1) Control-group (C); 2) Buxus + Thuia –group (B + T); 3) Asbestos group (As); 4) As+B+T- group. Asbestos was administered by intratracheal instillation. B + T were administered orally. A half of each group was sacrificed after 30 days and the other part after 180 days. Bronchoalveolar lavage was performed to achieve alveolar macrophages (Ma). To investigate the immune response, it was carried out

the preparation of spleen lymphocytes (Ls) and their cocultivation with Ma. The following parameters were evaluated: 1. Incorporating 3HTdR- test; 2. IL-1-test; 3. TNF-test; 4. Chemiluminiscence test for free oxygen species; 5. Phagocytosis assay. Administration of the As was associated with altered immune and oxidative response and after 180 days, were pointed out histo - pathological changes, respectively, atypical cells, that indicate development of a lung cancerous process. Partial reversibility of the parameters in the B + T + As - group suggest a protective effect of the gemmotherapy remedies. In conclusion, inflammatory and immunological reactions play an important role in cancer development. An effective treatment must interfere several of the patho-physiological pathways, that go into the development of pathological process. Prevention and early treatment of asbestos-induced injury in people at high risk, consist in a complex and alternatively treatment, that have to include gemmotherapy and a proper diet.

PO9. THE SPECTRUM OF IgG4-RELATED DISEASES

Manole Cojocaru^{1,2}, Inimioara Mihaela Cojocaru^{3,4}, Bogdan Chicoș²

¹"Titu Maiorescu" University, Faculty of Medicine, Bucharest, Romania;

²"Dr. Ion Stoia" Clinical Center for Rheumatic Diseases, Bucharest, Romania;

³"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania;

⁴Department of Neurology, "Colentina" Clinical Hospital, Bucharest, Romania

IgG4-related disease (IgG4-RD) is a rare systemic fibro-inflammatory disorder. The evaluation for IgG4-RD should include a comprehensive clinical history, physical examination, and selected laboratory investigation, along with appropriate imagistic studies. A wide variety of organs can be involved in IgG4-RD. Confirmation of the diagnosis by biopsy is important for the exclusion of malignancy and other disorders that may mimic IgG4-RD. The serum IgG4 level is generally elevated above the upper limit of normal (>135 mg/dL) and tends to increase with the number of organs involved and to decrease after treatment with glucocorticoids. The hallmarks of IgG4-RD are lymphoplasmacytic tissue infiltration of mainly IgG4-positive plasma cells and small lymphocytes, which may be accompanied by fibrosis, obliterative phlebitis, and, in the majority of patients, elevated serum levels of IgG4. IgG4 does not bind complement and therefore does not generate a significant inflammation. IgG4 can bind to Fcγ receptor I (CD64), which presents on monocytes, macrophages and

neutrophils. IgG4 production is controlled by T helper 2 cells (interleukins 4 and 13) that mediate allergic responses and IgE production. Findings consistent with both an autoimmune disorder and an allergic disorder are present. The contribution of autoantibodies to IgG4-RD remains unclear. IgG4-RD has features of an allergic disorder: abnormal high Th2 cytokines (cell messenger proteins) in tissues, raised IgE and increased T-reg lymphocytes in blood and raised eosinophil count in 40% of patients. IL-10 and TGF- β are known to support IgG4 production and are at elevated levels in IgG4-RD. Increased tissue levels of Th2-cytokines (IL-4, IL-5 and IL-13) were found in IgG4-RD. IgG4-RD is characterized by both systemic and localized IgG4 production. It is unclear, whether these antibodies are acting as pathogenic antibodies or are just a bystander phenomenon. Glucocorticoids, azathioprine, micophenolate mofetil, methotrexate and rituximab are therapeutical options.

PO10. IgG4-RELATED INTRACRANIAL HYPERTROPHIC PACHYMENINGITIS REVEALED BY CHRONIC DAILY HEADACHE

Inimioara Mihaela Cojocaru^{1,2}, Daniela Ștefănescu², Vlad Ștefănescu²

¹"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania;

²Department of Neurology, "Colentina" Clinical Hospital, Bucharest, Romania

IgG4-related intracranial hypertrophic pachymeningitis (IgG4-RIHP) is an uncommon chronic, fibrosing, inflammatory disorder that causes thickening of the dura mater of the brain. A 56-year old women experienced diffuse headache started three months before admittance. The headache was daily, constant, bilaterally, affecting the fronto-temporal regions, it was not influenced by posture. On neurologic examination she presented deep-tendon reflexes brisk bilaterally. The cerebral MRI revealed dural thickening and nodularity of cerebral hemispheres including the falx and tentorium (T1w and T2w hyposignal) with contrast enhancement (T1w) and left transverse sinus occlusion. CSF examination had shown mild lymphocytosis. Extensive infectious work-up was negative. Work-up for collagen vascular diseases and vasculitides was negative. The results of coagulation testing were negative. Serum angiotensin converting enzyme (ACE) level was normal. The screening for neoplasia or for lymphoproliferative disorder was negative. A treatment with anticoagulants and symptomatics was started. Because headache was increasing, a second

MRI was performed two months later; it had shown worsened thickening. The patient presented high serum IgG4 level. The histologic examination of dura mater biopsy had revealed lymphoplasmacytic inflammation, with fibrosis with a diffusely storiform pattern, and infiltrating macrophages. The immunohistochemical staining revealed the presence of IgG4 positive plasma cells and mild meningotheial hyperplasia. The final diagnosis was: IgG4-related intracranial hypertrophic pachymeningitis with mild meningotheial hyperplasia Left transverse sinus thrombosis. High dose corticotherapy was begun with clinic and imagistic improvement. The biopsy of dura mater with IgG4 immunostaining confirmed the diagnosis. IgG4-RIHP does not be forgotten as possible cause of chronic daily headache.

PO11. MICRO-RNAs ASSOCIATED WITH INFLAMMATORY MYOPATHIES: DIAGNOSTIC BIOMARKERS AND THERAPEUTIC TARGETS

Emilia Manole^{1,2}

¹*INCD "Victor Babeș", Molecular Biology Department, Bucharest, Romania;*

²*Colentina University Hospital, Research Center, Bucharest, Romania*

MicroRNAs play a role more and more studied in myogenesis and autoimmunity in recent years. Improving the understanding of microRNAs function, and their target discovery could lead to elucidation of the pathogenesis of idiopathic inflammatory myopathies (IIM). There are clear differences in the microRNAs profile in patients with IIM compared to healthy controls. It is increasingly obvious that microRNAs can be used as biomarkers in diagnostics, or as targets for therapeutic intervention.

The microRNAs study can be performed by qRT-PCR methodology or microarray on samples from muscle tissue (muscle biopsies from patients with different types of IIM), blood (circulating microRNAs), or even hair shafts. From the multitude of microRNAs modified in inflammatory muscle pathology, those significantly altered in patients compared to control samples are selected, either overexpressed or downregulated. It was observed that microRNA-1, -133a, -133b, -206, -208, -208b, -486, -499, -146b, -221, -155, -214, -222 have modified levels in IIM adult patients, associated with the autoimmune response, but also with certain muscle-specific regulatory factors (in myogenesis, regeneration). In children with untreated juvenile dermatomyositis there is a significant decrease in

microRNA-10a and -10b, which target regulatory genes of proinflammatory cytokines.

In conclusion, microRNAs may be used under certain conditions as a diagnostic markers, and could represent future therapeutic targets to enable personalized treatment for patients with IIM.

PO12. INNOVATIVE TECHNOLOGIES IN CHRONIC LEG ULCER WOUNDS MANAGEMENT

Carolina Constantin¹, Andreea-Roxana Lupu¹, Monica Neagu^{1,2}

¹*“Victor Babeş” National Institute, Immunobiology Laboratory, Bucharest, Romania;*

²*Faculty of Biology, University of Bucharest, Romania*

Since Gregor Mendel’s discoveries regarding heredity, there was a tremendous searching for deciphering those molecular characteristics defining each individual. Nowadays, rapid progresses lead to personalized medicine as a newest interface for improving diagnosis, prognosis, and patient management. In dermatology and dermatopathology domains, molecular technologies help in redefining clinic management of skin wounds; therefore best therapeutic targets could be selected in cutaneous neoplasias, infections, inflammatory skin conditions or wound healing. The process of wound regeneration is vital for whole organism, and the increasing of patients suffering of chronic wounds triggers worldwide the development of new strategies and tools for monitoring various cutaneous conditions. The regenerative approach involve both clinical (bedside) and preclinical assessments (bench) where molecular technologies hit both identification and quantification of key biomolecules underlying chronic wounds intimate mechanisms. The primary source in providing valuable data regarding different analytes of interest was ELISA method, further the techniques assortment was enlarged by immunohistochemistry, tissue array, protein array and more recently cellular arrays that combine protein microarray with *in vivo* confocal microscopy. All these tools allow a rigorous evaluation of wound condition alongside with innovative biomaterials, cellular therapies and molecular therapies that achieve the regenerative process completion. It is increasingly obvious that innovative technologies are flexible tools in dermatology and dermatopathology assessments.

Financed by project PN-II-PT-PCCA-2013-4-1386.

PO13. ANTIGEN PRESENTATION PATTERNS IN NEWLY DIAGNOSED ACUTE MYELOID LEUKEMIA PATIENTS

Ion Antohe¹, Angela Dăscălescu¹, Mihaela Zlei², Cătălin Dănăilă¹, Petru Cianga³

¹*Haematology Department, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iași, Romania;*

²*Immunophenotyping Department, Regional Oncology Institute, Iași, Romania;*

³*Immunology Department, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iași, Romania*

Introduction: Despite thorough risk stratification and the addition of novel therapeutic modalities, roughly half of the patients diagnosed with acute myeloblastic leukemia (AML) relapse in the first two years following diagnosis.

Meticulous evaluation of immunophenotypic, molecular and cytogenetic features and rigorous minimal residual disease (MRD) monitoring are required to identify a subclass of high risk patients eligible for allogeneic stem cell transplantation after first remission. Nonetheless, novel prognostic factors are much needed for a more accurate risk stratification and personalization of therapeutic strategies.

The functional integrity of the MHC II antigen presenting machinery and the expression of B7 co-stimulatory molecules on leukemic myeloblasts have been correlated with favorable outcomes in AML patients. However, immune-related prognostic factors are not currently taken into account when managing AML.

Materials and methods: We have examined peripheral blood and bone marrow samples from 4 patients with newly diagnosed AML. Leukemic myeloblasts were investigated by flow cytometry for the expression of CLIP, CD74, HLA-DM and B7 family molecules (CD80, CD86, CD273, CD274, CD275, CD276, B7-H4). CD4 positive bone marrow T cells were examined for the expression of stimulatory or inhibitory receptors of the B7 molecules (CD152, CD278, CD279).

Results: We here present a new algorithm of investigation directed towards the antigen presenting capacity of leukemic myeloblasts and their co-stimulatory or co-inhibitory properties in newly diagnosed AML patients. Based on our preliminary data, we speculate that a functional antigen presenting machinery and the expression of co-stimulatory molecules on leukemic cells might facilitate immune surveillance.

Conclusions: An individualized and improved understanding of the immune evasion strategies of AML blasts will be crucial in defining the role of novel therapies (monoclonal antibodies, chimeric antigen receptor T cells, bi-specific T cell engagers, microenvironment modulation) in the first-line treatment of AML.

POSTERS

P1. COMPARTMENTALIZATION OF NK CELL RESPONSES DURING EARLY STAGES OF ENDOTOXEMIA

Ioana Sonya Ciulean¹, Orhan Raşid², Jean-Marc Cavaillon²

¹*Cantacuzino NIR, Cellular and Molecular Immunity, Bucharest, Romania;*

²*Institut Pasteur, Département Infection et Epidémiologie, Unité Cytokines & Inflammation, Paris, France*

Introduction. Natural killer cells (NK) have been shown to play key role in the inflammatory cascade leading to systemic inflammatory response syndrome (SIRS). However, little is known about organ-specific features of NK cells activation during conditions like SIRS. The aim of this study was to investigate how NK cells isolated from different compartments behave in other environments, after lipopolysaccharide (LPS) exposure.

Materials and methods. Adoptive transfer models were performed using CD45.2 and CD45.1 congenic mice. Lungs and spleens were harvested from CD45.2 donor mice, NK cells were enriched by negative selection and transferred by intra-venous (IV) or intra-peritoneal (IP) injection into recipient CD45.1 mice. Endotoxemia was induced by IP injection of 10 mg/kg LPS. Surface CD69 and intracellular IFN γ expression in lung, spleen and peritoneal NK cells was determined by flow cytometry at 3 and 6 hours (h) post LPS.

Results. In the early stages of endotoxemia, IV transferred NKs did not reach the peritoneum, while by IP injection cells seemed to be trapped in the peritoneal cavity. Compared to local peritoneal NKs, transferred spleen and lung NKs are hyporesponsive in the first 3 h, but these differences disappear by 6 h post LPS. Similar observations were made in recipient spleens and lungs at 3h post LPS administration, with transferred cells behaving like their organs of origin in the new environment, but reaching the same level of activation by 6 h post LPS, regardless of their origin.

Conclusion. Our results suggest that compartment-specific microenvironmental factors influence resident NK cell responses and possibly modulate responsiveness of newly recruited NK cells.

Acknowledgments. *Ioana Sonya Ciulean's work at Institut Pasteur was supported by the EFIS-IL Short Term Fellowship.*

P2. CLINICAL IMPLICATIONS OF MOLECULAR HLA TYPING AMONG SUSPECTED ADULT CELIAC DISEASE PATIENTS: CASE REPORT

Roxana Maxim¹, Anca Trifan¹², Alina Plesa¹², Irina Ciortescu ¹², Petru Cianga¹³, Carol Stanciu¹

¹*University of Medicine and Pharmacy "Grigore T. Popa", Iași, Romania;*

²*Institute of Gastroenterology and Hepatology, Iași, Romania;*

³*Department of Clinical Immunology and Genetics, Iași, Romania*

Introduction: Celiac disease (CD) is a chronic intestinal inflammation resulting in villous atrophy occurring in genetically predisposed individuals in response to the dietary ingestion of gluten. A wide spectrum of clinical phenotypes is present, ranging from classical gastrointestinal manifestations to only atypical signs. The diagnosis of CD is readily established in those who, while consuming a gluten-containing diet, have positive serology and a duodenal biopsy with obvious celiac histology. HLA DQ2/DQ8 tests are increasingly considered as a solid support in the diagnostic algorithm of CD mainly for its negative predictive value (~100%) since CD is highly unlikely when DQ predisposing alleles are absent.

Case presentation: We report the case of a 45-year old female patient who was admitted to our clinic for abdominal pain, watery diarrhea (3-5 bowel movements/day, including nocturnal stools) and weight loss, symptoms of insidious onset several months prior admission. Laboratory investigations showed iron deficiency anemia. Fecal studies were negative for bacteria and parasitic infections and thyroid function tests were in the normal range. Abdominal ultrasound, colonoscopy and scans showed no abnormalities and an esophagogastroduodenoscopy was performed. Congestion of duodenal folds was identified with partially flattened villi (Marsh 3a) without presence of *Helicobacter pylori* infection. Total immunoglobulin A, anti-tissue transglutaminase (tTG) and anti-gliadine (AGA) IgA antibodies levels were measured. A positive result was obtained with mild elevation of AGA IgA titer of 29 U/ml (positive values >18U/ml). HLA DQ2 and DQ8 genotyping was performed and HLA-DQA1*01, *01: 01 and HLA-DQB1*05, *06 were detected in this patient making the diagnosis of CD improbable.

Discussions: Although the patient presented with signs and symptoms of malabsorption, partial villous atrophy and mild elevation of AGA antibody titer, CD is highly unlikely when DQ predisposing alleles are absent. In this case, the genetic testing showed discriminatory value by virtually excluding a CD diagnosis.

P3. CHROMIUM COMPLEX WITH 5 – HYDROXYFLAVONE REMODELS LIPID DROPLETS BY DECREASING THE PERILIPIN EXPRESSION

Ariana Hudită¹, Bianca Gălățeanu¹, Mirela Șerban¹, Sorina Dinescu¹,
Valentina Uivaroși², Marieta Costache¹

¹*Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Bucharest, Bucharest, Romania;*

²*Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy “Carol Davila”, Bucharest, Romania*

The development of new effective strategies for obesity treatment has become a global priority due to the obesity epidemic and its main role in developing insulin resistance, metabolic syndrome and type II diabetes. As excessive adipogenesis is one major cause underlying the development of obesity, targeting this key process is a modern therapeutic strategy for the obesity management. Lipid droplet associated proteins lie at the core of lipolysis regulation, perilipin being the most important marker of mature adipocytes. Therefore, designing novel compounds that can inhibit adipogenesis may lead in preventing and potentially treating obesity and its related diseases. Flavonoids are natural compounds that present a significant potential in improving metabolic abnormalities through their positive role in glucose homeostasis and insulin secretion. Their association with trace elements can increase the biological effects of flavonoids through a synergistic mechanism based on the capacity of various trace elements to increase the efficiency of insulin. In this context, the aim of our study was to investigate the *in vitro* anti – adipogenic potential of an original chromium complex with 5 – hydroxyflavone upon adipogenic committed adipose – derived stem cells (hASCs) by screening perilipin expression.

The anti – adipogenic potential of the chromium complex with 5 – hydroxyflavone was assessed on hASCs, during 3 weeks of its administration in an adipogenic medium. Perilipin expression was evaluated both through quantitative (flow cytometry) and qualitative (fluorescence microscopy) methods at 7, 14 and 21 days after adipogenic induction. Flow cytometry histograms revealed that the perilipin expression is significantly decreased in the presence of the chromium complex with primuletin. The obtained results were confirmed by the immunofluorescent labeling of perilipin after exposure to the novel synthesized complex. Consequently, the chromium complex with 5 – hydroxyflavone can be further employed in *in vivo* studies on animal models.

P4. DIAGNOSTIC, PROGNOSTIC AND THERAPEUTIC TARGETS IN NEUROENDOCRINE TUMORS

Maria Dobre¹, Maria Victoria Comănescu¹, Florina Vasilescu^{1,2}

¹“Victor Babeș” National Institute of Pathology, Bucharest, Romania;

²“Dr. Carol Davila” Central University Emergency Military Hospital, Bucharest, Romania

Introduction. Neuroendocrine tumors (NETs) are neoplasms arising mainly from the gastrointestinal tract, pancreas and bronchial tree. Histopathological and immunohistochemical diagnosis and classification of NETs play a role in establishing the therapeutic management of these tumors. Effective methods of diagnosis are needed for the rigorous selection of cases with greater likelihood of therapeutical response. RT-PCR is a more accurate quantitative method which can replace the routine immunohistochemical testing.

Materials and methods. We studied tumoral and peritumoral fragments fixed in formalin and embedded in paraffin from 26 patients diagnosed with NET (pulmonary, gastrointestinal and pancreatic) by histopathological and immunohistochemical techniques. In order to assess gene expression, a PCR-array method (Qiagen) was used, which identified relative expression of 18 genes of interest by comparing the tumor with the peritumoral tissue, the normalization being carried out by means of two reference genes.

Results. In cases of pulmonary NETs, *VGF*, *MGMT*, *SSTR1* genes were strongly overexpressed, *GAST*, *SYP*, *CCND1* genes were moderately overexpressed, while *MTOR*, *INS*, *CHGA*, *MKI67*, *SSTR5*, *SLIT2* had a low overexpression. In gastrointestinal NETs, *CHGA*, *SSTR1* genes were moderately overexpressed, *GRPR*, *mTOR*, *SSTR3*, *SSTR5* genes had a low overexpression, *SSTR2*, *MKI67* were downregulated. In pancreatic tumors, *GAST*, *VGF*, *TYMS* genes were moderately overexpressed, *SSTR3* and *SSTR1* had a low overexpression and *MGMT*, *SLIT2* genes were downregulated. Somatostatin receptor (*SSTR*) overexpression represents a predictive marker for the therapy with somatostatin analogues and the expression of somatostatin receptors, especially *SSTR1*, is positively correlated with the patient survival rate.

Conclusions. Identification of the gene profile may represent a sensitive tool for diagnostic and therapy in NETs. A better survival rate of patients with *SSTRs* overexpression justifies the use of these receptor genes as prognostic markers in NETs.

This work was supported by project PN-II-PT-PCCA-91/2012 – RENET.

P5. NEW VISUALISATION TECHNIQUE OF EPIDERMAL LANGERHANS CELLS

Alexandra Victoria Ion¹, Mihaela Adriana Ghiță², Iulia Solomon¹, Sabina Zurac³, Daniel Boda^{2,4}, **Constantin Căruntu**^{2,4}

¹*Elias Emergency University Hospital, Department of Dermatology and Allergology, Bucharest, Romania;*

² *“Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Dermatology Research Laboratory, Bucharest, Romania;*

³*“Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Colentina University Hospital, Department of Pathology, Bucharest, Romania;*

⁴*“Prof. N. Paulescu” National Institute of Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases, Department of Dermatology, Bucharest, Romania*

Langerhans cells are a major subset of skin dendritic cells localized in the epidermis, which have an important role in the pathogenesis of many inflammatory diseases of the skin, being also involved in maintaining peripheral tolerance against antigens expressed in the skin. Ever since Paul Langerhans described the epidermal dendritic cells, several studies aimed to analyze the morphology and location of this type of cells in different conditions of the skin using techniques such as histology, electron microscopy, immunohistochemical staining methods.

One of the most anticipated drawback of these procedures was distortion of the tissue. Therefore, in an attempt to enhance clinical diagnosis, confocal microscopy was developed as an *in vivo* skin-imaging technique which allows visualization of superficial dermis and epidermis with high resolution, much like classic histology.

In this study we examined *in vivo* basal cell carcinoma lesions using a reflectance laser confocal scanning microscope, and further we compared the features found with the histological examination results.

In addition, we also proceed our investigation with immunohistochemical tests for S100, CD1a and Langerin proteins for the same skin lesions previously examined.

Confocal microscopy turned out to be a promising method of visualization of Langerhans cells in various pathological conditions. However, further studies are needed in order to improve this technique.

P6. THE MIR CLUSTER ONCOMIR-1 REGULATES THE HEMATOPOIETIC STEM CELL HOMEOSTASIS

Valeriu Bogdan Cismașiu¹, Laurențiu Anghelache¹, Andreea Oana Urs¹, Florina Gisela Găină¹, Mihaela Surcel^{1,2}, Cristina Mariana Niculițe¹, Bogdan Marinescu¹, Radu-Ionuț Huică^{1,4}, Ioana Mădălina Fenyo³

¹*“Victor Babeș” National Institute of Pathology, Bucharest, Romania;*

²*Faculty of Biology, University of Bucharest, Romania;*

³*IBPC “Nicolae Simionescu”, Bucharest, Romania;*

⁴*“Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania*

The polycistronic miRNA cluster (oncomiR-1) produces a single 800b primary transcript (pri-miRNA) that yield six mature miRNAs: miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b, and miR-92a. The miRs belongs to 4 different families, namely miR-17/miR-20a (seed AAAGUG), mir-18a (seed AAGGUG), miR-19a/19b (seed GUGCAA), and miR-92a (seed AUUGCA). The cluster inhibit gene expression through interaction of miRs with 3' untranslated regions (UTRs) of messenger RNAs (mRNAs). The biological properties of the cluster are the result of the cooperative actions of each member.

The cluster is expressed in HSCs and the miR levels increase during the stem cell commitment to the granulocyte-monocyte progenitors. Although many studies have demonstrated the important contribution of the oncomiR-1 in leukemia and hematopoiesis, there are no published data regarding the role of oncomiR-1 in hematopoietic stem cell (HSC).

To study the cluster role in HSC homeostasis, we have knocked-out the oncomiR-1 by crossing the transgenic Mx1-Cre mouse with a mouse line that carry “flox” sequences inserted within the cluster gene. The Mx1 is very active in HSC and we demonstrated that the cluster miRs are completely absent after Cre induction.

We tested the stem cell properties such as self-renewal, pluripotency and differentiation, both in steady-state and post-transplant hematopoiesis. The phenotype of the KO mice shows that the HSC functions are altered when oncomiR-1 is ablated.

This work was supported by a grant of the Ministry of National Education, CNCS – UEFISCDI, project number PN-II-ID-PCE-2012-4-0395.

P7. PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF NATURAL KILLER CELLS FROM MELANOMA-BEARING MICE

Gheorghita Isvoranu¹, Mihaela Surcel^{1,2}, Bogdan Marinescu¹, Laurențiu Anghelache¹, Radu-Ionuț Huică^{1,3}, Cătălin Gabriel Manole¹

¹*“Victor Babeș” National Institute of Pathology, Bucharest, Romania;*

²*Faculty of Biology, University of Bucharest, Romania;*

³*“Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania*

Introduction: Recent published data on NK cell activation in cancer patients indicate that several important parameters, such as tumour capacity to modulate NK function and NK cells phenotype should be considered for NK-based therapy. Here we show that in a melanoma-bearing mouse model NK cells from the spleen are percentually reduced and express different phenotypic features comparing with NK cells of healthy mouse.

Materials and methods: We used 8-10 weeks old C57BL/6 mice. Melanoma lesions were induced by subcutaneous inoculation of B16F10 cells. Normal values were established in healthy, age-matched mice. 21 days after, the spleens. Were harvested and the flow cytometry analyses of NK cells were made. Stained cells were analyzed with a FACSCanto II flow cytometer using DIVA software.

Results: Experimental data show a statistically significant reduction of the percentage of NK cells in melanoma-bearing mice in comparison with healthy animals. Also, we found a reduction of mature NK cell subsets, an increase of gp49R+NK cells and decrease of CD122+NK cells in melanoma-bearing mice. Analysis of NK cell subsets, defined by the differential expression of a combination of CD27 and CD11b, indicated a significant difference in the distribution of NK cell subsets with the mature subset being dominant in the healthy mice. Increase of gp49R expression on NK cells, that is an inhibitory receptor, may facilitate tumor immune escape. The blocking of inhibitory receptors may prove to be an effective strategy for elimination of cancer cells. NK cell death could be caused by the reduced (or failed) expression of CD122 (receptor subunit that confers IL-15 responsiveness).

Conclusions: Our study has provided new insights into NK cell phenotype in tumors and new approaches to cancer immunotherapy.

Work supported by grant of the Romanian National Authority for Scientific Research PN 16.22.04.04.

P8. MACROPHAGE RESPONSE ON HYBRID MODIFIED SURFACES

Mădălina Icriverzi^{1,2}, Livia Sima¹, Valentina Dincă³, Anișoara Cîmpean², Anca Roșeanu¹

¹IBAR, Ligand-Receptor Interaction Departament, Bucharest, Romania;

²UB, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bucharest, Romania;

³INFLPR, Photonic Processing of Advanced Materials Department, Măgurele, Romania

Introduction: Prolonged macrophage inflammatory response can lead to rejection or impaired function of the implant, therefore material surface must be modified to allow proper integration. The aim of this study was to examine the effect of modified material surfaces with immunodulatory active components (lactoferrin-Lf and hydroxypaptite-HA) and biocompatible copolymer (Co, polyethylene glycol-polycaprolactone) on cellular behavior and cytokine release by human monocytic leukemia THP-1 cells.

Materials and methods: THP-1 cells grown on biomaterials were differentiated to macrophages with PMA (phorbol-12-myristate-13- acetate) and treated or not with lipopolysaccharide (LPS). This *in vitro* cellular model allows analysis of early events in inflammation giving information about mechanisms involved in biomaterial-associated inflammation. Cells were characterized for viability and by fluorescence microscopy for attachment and spreading. The release of tumor necrosis factor (TNF- α) in the absence or presence of LPS was analyzed using an ELISA assay technique.

Results: Immunofluorescence images of stained actin and vinculin proteins of THP-1 cells cultured on modified surfaces showed an elongated morphology of macrophages adhered on hybrid Co-HA-Lf coated surfaces that might be associated with a certain state of activation. LPS treatment reduced the number of metabolically active cells on Co-HA-Lf modified surfaces compared to unmodified surfaces. Low levels of secreted proinflammatory cytokine TNF- α were obtained in the case of LPS treatment from cells adhered on hybrid coatings. However, no proinflammatory cytokine secretion was detected without LPS stimulation in none of the analyzed surfaces.

Conclusions: Our results suggest that hybrid coatings modulate recruitment, viability, morphology and inflammatory behavior of macrophage cells on

biomaterial and thus having the potential of minimizing the host inflammatory response after implantation.

Acknowledgments: *The research was supported by the Romanian Ministry of National Education, CNCS – UEFISCDI, under the project PN-II-PT-PCCA 239/2014 and Romanian Academy project 1/2015-2016.*

P9. CORRELATIONS OF HISTOPATHOLOGY AND IN VIVO REFLECTANCE CONFOCAL MICROSCOPY IN DISCOID LUPUS ERYTHEMATOSUS

Julia Solomon¹, Mihaela Adriana Ghiță², Alexandra Victoria Ion¹, Sabina Zurac³, Daniel Boda^{2,4}, Constantin Căruntu^{2,4}

¹*Department of Dermatology and Allergology, Elias Emergency University Hospital, Bucharest, Romania;*

²*Dermatology Research Laboratory, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania;*

³*Department of Pathology, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Colentina University Hospital, Bucharest, Romania;*

⁴*Department of Dermatology, "Prof. N. Paulescu" National Institute of Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases, Bucharest, Romania*

Introduction & Objectives: Discoid lupus erythematosus (DLE) is an inflammatory chronic skin disease clinically characterized by well demarcated erythematous infiltrated plaques, which show a predilection for sun-exposed areas. Even though the clinical diagnosis is based on typical lesions, because of their clinical similarities, DLE can be confused with other erythematous skin disease. Thus, clinical diagnosis of DLE should be often sustained by histopathological examination. To enrich the diagnosis of DLE, *in vivo* confocal laser scanning microscopy (CLSM) was proposed as a non-invasive imaging technique which allows the evaluation of skin lesions with microscopic resolution, close to conventional histopathology.

Materials & Methods: We used a reflectance laser confocal scanning microscope with a wavelength of 785 nm to examine *in vivo* the skin lesions deep to superficial dermis. In addition, for histopathological examination we took a 3mm punch biopsy from erythematous skin lesion previously examined.

Results: Correlating the features found in CLSM with histopathological features of the same DLE lesions, we noticed that criteria such as interface dermatitis, epidermal atrophy, perivascular and periadnexal inflammatory cell infiltration were found in both methods of investigation. One major

drawback of CLSM technique has been the depth of imaging, especially in the diagnosis of DLE that involve the deeper dermis.

Conclusions: In the light of our study, we could establish the value of CLSM in the diagnosis of DLE as a promising non-invasive dermatological examination method which needs a better standardization and application in clinical practice.

P10. CHANGES OF T LYMPHOCYTES AND CYTOKINES SECRETION IN CUTANEOUS MELANOMA

Mihaela Surcel^{1,2}, Radu-Ionuț Huică^{1,3}, Adriana Narcisa Munteanu¹, Ioana Ruxandra Pîrvu¹, Dan Ciotaru¹, Cornel Ursaciuc¹, Monica Neagu^{1,2}

¹*Department of Immunology, "Victor Babeș" National Institute of Pathology, Bucharest, Romania;*

²*Faculty of Biology, University of Bucharest, Romania;*

³*"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania*

Introduction. Cutaneous melanoma (CM) is a melanocytic malignant tumor and is the most severe skin neoplasia. Although it represents only 4% of all skin cancers, it is responsible for 80% of deaths, melanoma being one of the most metastasizing neoplasms. CM generally affects relatively young population, the average age of diagnosis being 50 years old. Over 90% of cases of melanoma can be treated successfully if detected and treated in early stages, justifying the interest in identifying and describing the prognostic markers and evolution.

Materials and methods. There were quantified lymphocytes populations and subpopulations of peripheral blood: total T cells (CD3⁺), B cells (CD3⁻CD19⁺), NK cells (CD3⁻CD16⁺ and/or CD56⁺), T helper cells (CD3⁺CD4⁺), T supressor/cytotoxic cells (CD3⁺CD8⁺) and regulatory T cells (CD4⁺/CD25⁺/FOXP3⁺), for a group of patients with CM. There were also determined the percentages of lymphocytes secreting IL-2, IFN- γ and TNF- α from peripheral blood. The samples were analyzed by flow-cytometry (*BD FACSCanto II*, software *BD FACSCanto* and *BD FACSDiva 6.1*), and the values were reported to those obtained in a group of normal subjects.

Results. The main registered changes were the decreasing of percentage and absolute number of T-CD8⁺ lymphocytes in 83%, respectively 61% of tested patients. T-CD4⁺/T-CD8⁺ ratio was increased to 60% of cases, due to the decrease of the T-CD8⁺ lymphocytes percentage. T-reg values were elevated in 53% of cases; 63% of patients with increased T-reg presented

decreased percentage of T-CD8+ lymphocytes. For intracellular cytokines, the results are expressed as percentage of secreting lymphocytes from all lymphocytes. We observed significant changes in the proportion of lymphocytes involved in the IFN- γ synthesis ($17\pm 7\%$ of cases, and $9\pm 3\%$ in controls, $p < 0.02$) and in TNF- α synthesis ($33\pm 9\%$ of cases, compared with $22\pm 11\%$ in controls, $p < 0.05$).

Conclusions. CM cellular profile suggests a trend of dissociation of antitumor immune response efficiency. Firstly, the decreasing of T-cytotoxic cells and the increasing of regulatory T cells diminish the cytotoxic activity. On the other hand, the increasing of percentages of the proinflammatory cytokines secretory cells (IFN- γ and TNF- α) may be relative, being the consequence of increasing the share of T-helper cells, indicating the turning trend of antitumour activity from cytotoxicity to inflammation.

The results are part of the doctoral thesis titled "The immunological exploring of the inflammatory syndrome in autoimmune and malignant tumoral skin pathology (psoriasis, cutaneous melanoma)" (drd Mihaela Surcel).

P11. BIOLOGICAL EFFECTS OF RUTHENIUM (III) COMPOUNDS ASSOCIATED TO CYCLODEXTRINS ON LOVO CELLS

Mirela Mihăilă¹, Camelia Hotnog¹, Marinela Bostan¹, Viviana Roman¹,
Valentina Uivaroși², Lorelei Irina Brașoveanu¹

¹"Ștefan S. Nicolau" Institute of Virology, Center of Immunology, Bucharest, Romania;

²"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Inorganic Chemistry, Bucharest, Romania

The present study is a complex interdisciplinary approach that aims to develop pharmaceutical products with significant antitumor action and minimal side effects. The clinical use of Cisplatin (CisPt) might be limited by tumor drug resistance and adverse effects, therefore other metal agents that possess anti-tumor and anti-metastatic activities such as ruthenium (III) compounds (Ru-nf, Ru-oflo, Ru-levo), could be considered as alternative drugs. Studies were extended to ruthenium compounds associated to cyclodextrins in order to improve their pharmacokinetics. In order to evaluate the *in vitro* cytotoxicity of the new synthesized compounds and continuously monitor the viability of LoVo human colon adenocarcinoma cells, it was used the real time cell analysis (RTCA) by xCellingence system (ACEA Biosciences), comparing it to cytotoxicity evaluation by

colorimetric assay with MTS. The technique allowed to pinpoint the optimal time points and concentrations for conducting endpoint assays such as flow-cytometry approaches. The biological effect of Ru compounds+cyclodextrins on LoVo cells was assessed by evaluation of apoptosis using Annexin V/FITC and propidium iodide (PI) double staining, followed by flow-cytometry analysis with BD FACS CantoII flow-cytometer. Treatments with Ru-levo, Ru-nf, Ru-oflo + HPbetaCD induced apoptosis in 26.6%, 23.4%, and 24,6% respectively, of the LoVo cells, compared to Cis-Pt induced apoptosis of 23.3% cells. Results showed that association of Ru-nf and Ru-oflo with HPbetaCD induced a significant increase of apoptotic events compared to single treatments (15% and 9%, respectively). Since chemotherapy of solid tumors is still limited by the lack of selectivity of oncolitical drugs and recurrence of resistant tumors to treatments, mthe association between chemotherapeutical drugs and new pharmaceutical compounds might be of great benefit inducing an increase in anti-tumor response.

P12. MODULATION OF CHEMOTHERAPY RESPONSE BY NATURAL COMPOUNDS IN HUMAN PHARYNX TUMOR CELLS

Georgiana Gabriela Petrică-Matei^{1,2}, Viviana Roman¹, Mirela Mihăilă¹, Camelia Hotnog¹, Lorelei Irina Braşoveanu¹, Marinela Bostan¹

¹*Center of Immunology, “Stefan S. Nicolau” Institute of Virology, Bucharest, Romania;*

²*Departament of Cytogenetics, Personal genetics - Medical Genetics Center, Discipline of Medical Genetics, Bucharest, Romania*

Malignant lesions arising in the pharynx are initially mainly asymptomatic, aggressive, and frequently invade and migrate to distant organs, making them difficult to treat. Current treatment for pharynx cancer is using a chemotherapeutic agent – Cisplatin - which induces some toxic effects at the renal and bone marrow levels. That prompted us to investigate the *in vitro* effects of *Ganoderma lucidum* (GL), an oriental medical mushroom (which contains many biologically active compounds such as polysaccharides, triterpenes and immunomodulatory proteins) on cell proliferation and apoptosis of FaDu human pharynx carcinoma cell cultures, treated or not with cisplatin. Cells were treated with varying concentrations of GL in the presence or absence of cisplatin, and CellTiter 96 Non-Radioactive Cell Proliferation assays were then performed to evaluate the effect of single or associated treatments on FaDu cell growth. The cell cycle phase

distribution, apoptosis process and molecular markers expressions (p21 or Bax) in FaDu cells were assessed using flow cytometry approaches. Results showed that GL extract had a strong inhibition effect of cell proliferation on FaDu tumor cell cultures. Cell cycle analysis showed that the growth inhibition effect was associated with G2/M arrest and up-regulation of p21 antigen expression. In addition, GL induced apoptosis of FaDu tumor cells and an increase of the pro-apoptotic Bax protein expression. Furthermore, the treatment with GL significantly amplified the apoptosis induced by cisplatin in FaDu cells. Taken together, these findings suggest that GL exerts anti-tumor effects on FaDu tumor cells and enhances the sensitivity of FaDu tumor cells to cisplatin. In conclusion, the effects induced by GL on cancer cells are due to activation of various cellular and molecular mechanisms, which might suggest the use of this compound as an adjuvant to the classical pharynx chemotherapy.

P13. PHARMACOGENETIC APPROACH OF IMMUNOSUPPRESSION THERAPY: TPMT GENOTYPING METHODS FOR EFFICIENT TREATMENT BASED ON THIOPURINE DRUGS

Maria Iacob¹, Adriana Oprea¹, Ileana Constantinescu², **Natalia Cucu**^{1,3}

¹*University of Bucharest, Faculty of Biology, Department of Genetics, Epigenetics Laboratory, Bucharest, Romania;*

²*"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Clinical Hospital Fundeni, Department of Immunogenetics, Bucharest, Romania;*

³*Association for Epigenetics and Metabolomics, Bucharest, Romania*

The way a person responds to medication depends on a complex of factors, including uptake, bioavailability, activation, deactivation, metabolism and clearance of the drug and the deactivated metabolites. Thiopurines, substituted analogs of purines, are widely used for the treatment of certain types of leukemia, organ rejection and inflammatory disorders. They are activated and metabolized by the enzymes of the degradation and inter-conversion reactions of purine metabolism. As such the enzymes activity is indicative for their efficacy and safety. It has been well documented that a genetic defect in one of these enzymes may result in an altered response to purine or pyrimidine derived medication. The study of such alterations in the metabolism of therapeutic drugs is known as pharmacogenetics. Thiopurine S-methyltransferase (TPMT, EC2.1.1.67) is one critical enzyme involved in the metabolism of thiopurine drugs (such as tacrolimus). Genetic factors influence how thiopurines are handled: metabolites may

accumulate or are converted into less efficient or more toxic compounds. It has been proven that polymorphisms in the gene encoding TPMT, resulting in its decreased activity are associated with adverse drug reactions during thiopurine therapy, and a person can be adversely affected if common doses of thiopurines are prescribed. Biochemical monitoring of the metabolites resulted from thiopurine reactions being difficult, the genotyping of the gene encoding for TPMT is considered the most informative for the drug efficiency and personalization.

Two methods have been approached on 6 healthy individuals for TPMT genotyping of its single nucleotide polymorphisms and haplotypes: Next Generation Sequencing (NGS) on ThermoFischer Ion Torrent system and High Resolution Melting Analysis (HRMA) on Arkray i-densy system and their efficiency as diagnostic tools has been estimated. The results are commented in terms of the significance of the TPMT*2 and *3 genotypes for drugs doses recommendations in the case of eventual thiopurine treatments.

P14. FUTURE PERSPECTIVES FOR ADJUVANT TREATMENT OF COLON CANCER: BIOMOLECULES OF POTENTIAL CLINICAL USE

Camelia Hotnog¹, Mirela Hirt¹, Marieta Panait², Marinela Bostan¹, Maria Iuliana Gruia², Lorelei Irina Braşoveanu¹

¹“Ştefan S. Nicolau” Institute of Virology, Center, of Immunology, Bucharest, Romania;

²“Alexandru Trestioreanu” Institute of Oncology, Bucharest, Romania

Proliferation of mammalian cells is tightly regulated by multiple environmental influences, adhesion to extracellular matrix (ECM), cell-cell adhesion and soluble factors like cytokines. Adhesion represents a main component of cell migration and recognition involved in proliferation, differentiation and apoptosis, immune and inflammatory response. Formation and invasion of tumors are closely associated with decreased dependence on adhesion needed for growth and survival. Biomarkers like mucins, EpCAM, E-cadherin and VEGF are considered as potential immunotherapeutic targets because they play an important role not only in releasing cells from the primary tumors and in invasion processes, but also in angiogenesis. Therefore, our study focused on the possible modulation of antigen expression of several biomolecules associated to colon cancer cell lines with different degrees of proliferation (LoVo and SW1116) by cytotoxic drugs (5-Fluorouracil) and/or natural compounds (resveratrol,

curcumin). Treatment doses were established after real time cell analysis (RTCA) by using xCELLigence system. Levels of ICAM-1, VCAM-1, E-cadherin, VEGF or endoglin antigen expression were evaluated by sequential treatment of cells with specific monoclonal antibodies and secondary FITC-labeled polyclonal antibodies, followed by flow-cytometry analysis. In addition, the biological effects of stimuli treatment were evaluated by flow-cytometry approaches in terms of production of reactive oxygen species (ROS) and modulation of apoptotic process, in the presence or absence of anti-VEGF treatment with Avastin. Data obtained showed a differential expression and functional behavior of TAA associated to colon cancer cells suggesting their possible involvement in regulating the interactions between tumor cells and host immune system. Adjuvant mAb-mediated immunotherapy may provide an effective method to prevent or reduce the spread of tumor cells. The results obtained will further be used in elaborating new anticancer immunotherapeutic strategies focused on anti-TAA mAbs with biological functions in order to diminish the primary tumor and control/eliminate the metastases.

INDEX

A

Albulescu Radu	8, 42, 94
Androsiac Gabriela Elena	9, 35, 86
Anghelache Laurențiu	8, 9, 13, 14, 42, 46, 60, 61, 94, 98, 112, 113
Antohe Ion	12, 53, 105
Anton Gabriela	5
Arghir Aurora	5

B

Bădescu Daniela	7, 33, 85
Băicuș Cristian	11, 47, 99
Bălănescu Anca	11, 47, 99
Bălănescu Eugenia	11, 47, 99
Bălănescu Paul	11, 47, 99
Boda Daniel	13, 14, 59, 63, 111, 115
Bostan Marinela	14, 15, 65, 66, 68, 117, 118, 120
Brașoveanu Lorelei Irina	8, 14, 15, 65, 66, 68, 117, 118, 120
Butan M.	11, 48, 100

C

Cavailon Jean-Marc	12, 55, 107
Căruntu Constantin	13, 14, 59, 63, 111, 115
Ceacareanu Alice C.	17, 28, 80
Ceauș Ionica	7, 32, 84
Cercel Cristina	9, 44, 96
Chicoș Bogdan	11, 49, 101
Chifiriuc Carmen	7
Cianga Corina	7, 8, 24, 43, 76, 95
Cianga Petru	7, 8, 12, 13, 16, 24, 43, 53, 56, 76, 95, 105, 108
Ciortescu Irina	13, 56, 108
Ciotaru Dan	10, 14, 36, 64, 88, 116
Cișmașiu Valeriu Bogdan	13, 60, 112
Ciulean Ioana Sonya	12, 55, 107
Cîmpean Anișoara	14, 62, 114
Codrici Elena	8, 42, 94
Cojocaru Inimioara Mihaela	11, 49, 50, 101, 102
Cojocaru Manole	11, 49, 101
Comănescu Maria Victoria	13, 58, 110
Constantin Carolina	8, 12, 25, 52, 77, 104
Constantinescu Daniela	8, 43, 95
Constantinescu Ileana	15, 16, 17, 37, 38, 39, 40, 67, 89, 90, 91, 92, 119

SOCIETATEA DE IMUNOLOGIE DIN ROMÂNIA

Constantinescu Ștefan	5
Costache Marieta	9, 13, 17, 35, 45, 57, 87, 97, 109
Cotar Ani Ioana	7, 33, 85
Cremer Lidia	9, 44, 96
Crețu Carmen-Michaela	7, 32, 84
Cristea Victor	5, 6, 8, 11, 21, 41, 73, 93
Cuadrado Antonio	10, 27, 79
Cucu Natalia	15, 67, 119

D

Dan Gheorghe Andrei	11, 47, 99
Dănăilă Cătălin	12, 53, 105
Dăscălescu Angela	12, 53, 105
Deleanu Diana	5
Diaconu Carmen	5
Dincă Valentina	14, 62, 114
Dinescu Sorina	9, 13, 45, 57, 97, 109
Dițu Lia Mara	7, 31, 83
Dobre Maria	13, 58, 110
Dudău Maria	8, 42, 94

E

Enciu Ana-Maria	8, 10, 27, 42, 79, 94
-----------------------	-----------------------

F

Fayazi Zahra S.	17, 28, 80
Fenyo Ioana Mădălina	13, 60, 112
Forrest Alan	17, 28, 80
Fu Hsin-Wei	17, 28, 80

G

Gaile Dan P.	17, 28, 80
Găină Florina Gisela	13, 60, 112
Gălățeanu Bianca	9, 13, 35, 57, 87, 109
Gheorghe Anca	9, 35, 87
Ghiță Mihaela Adriana	13, 14, 59, 63, 111, 115
Gruia Maria Iuliana	15, 68, 120

H

Hammel Jeffrey P.	17, 28, 80
------------------------	------------

A 46-a Conferință Anuală de Imunologie

Hinescu Mihail Eugen.....	5
Hirt Mirela.....	15, 68, 120
Hotnog Camelia	14, 15, 65, 66, 68, 117, 118, 120
Hudiță Ariana	9, 13, 35, 57, 87, 109
Huică Radu-Ionuț	10, 13, 14, 36, 60, 61, 64, 88, 112, 113, 116

I

Iacob Maria	15, 67, 119
Iancu Adina	10
Icriverzi Mădălina.....	14, 62, 114
Ion Alexandra Victoria	13, 14, 59, 63, 111, 115
Istrate Claudia.....	7, 32, 84
Isvoranu Gheorghița	8, 9, 14, 46, 61, 98, 113

K

Khoury Thaer	17, 28, 80
--------------------	------------

L

Lazăr Veronica.....	7, 10, 26, 34, 78, 86
Lăpădatu Rozalina.....	6
Livescu Alexandra	10
Lupu Andreea-Roxana.....	8, 9, 10, 12, 25, 44, 52, 77, 96, 104

M

Manda Gina	8, 9, 10, 27, 46, 79, 98
Manole Cătălin Gabriel	9, 14, 46, 61, 98, 113
Manole Emilia	12, 51, 103
Marinescu Bogdan	9, 13, 14, 46, 60, 61, 98, 112, 113
Maxim Roxana	13, 56, 108
Mihai Simona	8, 42, 94
Mihalache (Radu) Mihaela Raluca	7, 34, 86
Mihăilă Camelia	8, 43, 95
Mihăilă Mirela.....	14, 15, 65, 66, 117, 118
Mihăilescu Patricia.....	7, 32, 84
Moise Ana	16, 17, 38, 39, 40, 90, 91, 92
Munteanu Adriana Narcisa	10, 14, 36, 64, 88, 116

N

Neagu Alina.....	7, 34, 86
Neagu Monica.....	5, 6, 8, 12, 14, 25, 52, 64, 77, 104, 116

SOCIETATEA DE IMUNOLOGIE DIN ROMÂNIA

Nedelcu Daniela	16, 38, 39, 90
Negrei Carolina	9, 35, 87
Niculite Cristina Mariana	13, 60, 112
Nimako George K.....	17, 28, 80
Nițu Simona	11, 48, 100

O

Onu Adrian	9, 17, 30, 44, 82, 96
Oprea Adriana	15, 67, 119

P

Panait Marieta	15, 68, 120
Petrescu Ștefana M.	6, 23, 75
Petrică-Matei Georgiana Gabriela	15, 66, 118
Pîrvu Ioana Ruxandra	10, 14, 36, 64, 88, 116
Plesa Alina	13, 56, 108
Ponoran Carmen	11, 48, 100
Pop Lucian	6, 8, 21, 41, 73, 93
Popescu Daniela Ionela	8, 42, 94

R

Radu Eugen.....	5
Rașid Orhan	12, 55, 107
Roman Viviana.....	5, 14, 15, 65, 66, 117, 118
Roșeanu Anca	14, 62, 114

S

Severin Emilia	5
Sima Livia.....	14, 62, 114
Solomon Iulia.....	13, 14, 59, 63, 111, 115
Sora Mihaela	16, 38, 39, 90, 91
Stanciu Carol.....	13, 56, 108
Stăvaru Crina	11
Surcel Didi.....	11, 48, 100
Surcel M.	11, 48, 100
Surcel Mihaela	9, 10, 13, 14, 36, 46, 60, 61, 64, 88, 98, 112, 113, 116

Ș

Șerban C.	9, 35, 87
Șerban Mirela	9, 13, 35, 57, 87, 109

A 46-a Conferință Anuală de Imunologie

Ștefănescu Daniela	11, 50, 102
Ștefănescu Vlad	11, 50, 102

T

Tănase Cristiana.....	5, 6, 8, 42, 94
Toader Adela.....	16, 38, 39, 90, 91
Toader S.	11, 48, 100
Trifan Anca.....	13, 56, 108

U

Uivaroși Valentina.....	13, 14, 57, 65, 109, 117
Urs Andreea Oana.....	13, 60, 112
Ursaciuc Cornel.....	6, 9, 10, 14, 22, 36, 46, 64, 74, 88, 98, 116
Ursu Larisa	16, 17, 38, 39, 40, 90, 91, 92

V

Vagu Codruța	9, 35, 87
Vasilescu Florina	13, 58, 110

W

Wintrob Zachary A.P.	17, 28, 80
---------------------------	------------

Z

Zlei Mihaela	12, 53, 105
Zurac Sabina.....	13, 14, 59, 63, 111, 115

