



Institutul Național de Patologie „Victor Babeș”



Academia de Științe Medicale

Diviziunea Română a Academiei Internaționale de Patologie

Sesiunea Științifică Anuală



Al 8-lea Simpozion Național de Patologie

*Medicina de Precizie:
de la modele experimentale la biomarkeri*

Cu participare internațională



19-21 noiembrie 2015

PROGRAM VOLUM DE REZUMATE



Editura Universitară "Carol Davila" București



ISBN:978-973-708-862-8

INSTITUTUL NAȚIONAL DE PATOLOGIE "VICTOR BABEȘ"
ACADEMIA ROMÂNĂ – SECȚIA DE ȘTIINȚE MEDICALE
ACADEMIA DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIVIZIUNEA ROMÂNĂ A ACADEMIEI INTERNAȚIONALE DE PATOLOGIE

ORGANIZEAZĂ

**SESIUNEA ȘTIINȚIFICĂ ANUALĂ A
INSTITUTULUI "VICTOR BABEȘ"**

ȘI

AL 8-LEA SIMPOZION NAȚIONAL DE PATOLOGIE

**«MEDICINA DE PRECIZIE –
DE LA MODELE EXPERIMENTALE LA BIOMARKERI»**

CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ

19 – 21 NOIEMBRIE 2015, BUCUREȘTI

PROGRAM

VOLUM DE REZUMATE

EDITURA UNIVERSITARĂ "CAROL DAVILA", BUCUREȘTI

Editare volum:

Mihaela Surcel, Radu-Ionuț Huică, Dan Ciotaru

Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare în Domeniul Patologiei și Științelor Biomedicale “Victor Babeș”, București

Bun de tipar: Noiembrie 2015. Apărut: 2015.

Tipărit la Editura Universitară “Carol Davila”, București

NOTĂ: Conținutul științific al rezumatelor și redactarea acestora sunt asumate integral de autori.



CUPRINS

ORGANIZATORI.....	5
PROGRAM.....	7
SPONSORI	17
VINERI 20 NOIEMBRIE 2015	19
CONFERINȚE PLENARE.....	21
SESIUNEA 1.....	25
SESIUNEA 2A	37
SESIUNEA 2B	43
SESIUNEA 3.....	47
SÂMBĂȚĂ 21 NOIEMBRIE 2015	59
SESIUNEA 4.....	61
SESIUNE DESCHISĂ.....	71
POSTERE	85
INDEX	101
SPONSORI	107





ORGANIZATORI

COMITETUL ȘTIINȚIFIC

Președinte: Mihail Eugen **Hinescu**

Vicepreședinte: Bogdan Ovidiu **Popescu**

Membri: Aurora **Arghir**
Gabriel **Becheanu**
Mihaela **Gherghiceanu**
Gina **Manda**
Monica **Neagu**
Cristiana **Tănase**

COMITETUL DE ORGANIZARE

Președinte: Mircea **Leabu**

Membri: Valeriu **Cișmașiu**
Mariana **Georgescu**
Cornel **Ursaciuc**

Secretari: Cătălin Cristian **Filipescu**
Irina **Mare**
Mihaela **Surcel**
Maria **Waller**

Echipa tehnică și IT: Angela **Petrescu**
Cezar **Petrescu**

Responsabil grafică: Alexandru Cristian **Popescu**





PROGRAM

JOI, 19 NOIEMBRIE 2015

- 17⁰⁰- 18⁰⁰ Înregistrarea participanților**
- 18⁰⁰- 18¹⁵ Deschidere oficială**
- 18¹⁵- 18³⁰ *In memoriam* Acad. Laurențiu M. Popescu**
- 18³⁰- 19⁰⁰ Concert coral**
- 19⁰⁰ Cocktail**

VINERI, 20 NOIEMBRIE 2015

- 08³⁰- 09⁰⁰ Înregistrarea participanților**
- 09⁰⁰- 10⁰⁰ CONFERINȚE PLENARE**
Conceptul de medicină de precizie
- Moderator: Mircea Leabu**
- 09⁰⁰- 09²⁰ Medicina de precizie – o nouă paradigmă în înțelegerea și managementul sănătății și bolii**
Cristiana Tănase
INCD "Victor Babeș" București, Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București
- 09²⁰- 09⁴⁰ Imunoterapia între medicina personalizată și medicina de precizie**
Cornel Ursaciuc
INCD "Victor Babeș" București
- 09⁴⁰- 10⁰⁰ Patologia digitală în noua eră a medicinei de precizie**
Gabriel Becheanu
INCD "Victor Babeș" București, UMF "Carol Davila" București
- 10⁰⁰- 10³⁰ Pauză de cafea**



10³⁰- 13¹⁰ SESIUNEA 1

Biomarkeri moleculari în medicina de precizie

Moderatori: Monica Neagu, Gina Manda

10³⁰-10⁴⁵ **Celulele tumorale circulante și conceptul de "biopsie lichidă" în tratamentul și urmărirea pacientului oncologic**

Rareș Buiga^{1,2}, Olga Soritau¹, Otilia Barbos¹, Gabriela Cherecheș¹, Ioana Berindan-Neagoe^{1,2}

¹*Institutul Oncologic "Prof. Dr. I. Chiricuță" Cluj-Napoca*, ²*UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca*

10⁴⁵- 11⁰⁰ **Evaluarea prezenței celulelor tumorale circulante în melanom**

Cornel Ursaciuc¹, Radu-Ionuț Huică^{1,2}, Mihaela Surcel¹, Adriana Narcisa Munteanu¹, Ioana Ruxandra Pîrvu¹, Dan Ciotaru¹, Gabriela Coman³, Mihail Alecu^{3,4}

¹*INCD "Victor Babeș" București*, ²*UMF "Carol Davila" București*, ³*Secția Dermatologie - Spitalul Clinic "Victor Babeș" București*, ⁴*Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București*

11⁰⁰- 11¹⁰ **Investigarea efectelor radiațiilor UVA asupra albuminei serice prin spectroscopie de terahertzi**

Maria Mernea, Octavian Calborean, Dan Florin Mihăilescu,
Marina-Tamara Nechifor

Facultatea de Biologie - Universitatea din București

11¹⁰- 11²⁰ **Interferențe imunologice în diagnosticul și prognosticul melanomului cutanat**

Georgiana Găbreanu, Carolina Constantin, Monica Neagu

INCD "Victor Babeș" București

11²⁰- 11³⁰ **Tehnologia protein-microarray – rol în descoperirea și validarea de biomarkeri**

Carolina Constantin¹, Georgiana Găbreanu¹, Georgeta Păunică-Panea², Monica Neagu¹

¹*INCD "Victor Babeș" București*, ²*Spitalul Clinic de Urgență "Sf. Pantelimon", București, România*

11³⁰- 11⁴⁰ **Celulele dendritice în ariile de regresie tumorală ale melanomului malign și în infiltratele reactive cutanate**

Mirela Cioplea¹, Sabina Zurac^{1,2}, Liana Sticlaru¹, Roxana Nedelcu², Cristiana Popp¹, Luciana Nichita^{1,2}, Patricia Stîngă¹, Alexandra Drăgușin¹, Florica Stăniceanu^{1,2}

¹*Serviciul Anatomie Patologică - Spitalul Clinic "Colentina" București*, ²*UMF "Carol Davila" București*



11⁴⁰- 11⁵⁰ Pauză

11⁵⁰- 12⁰⁵ Identificarea țintelor moleculare cu rol în terapia tumorilor maligne

Maria Comănescu, Anca Potecă

INCD "Victor Babeș" București, UMF "Carol Davila" București

12⁰⁵- 12²⁰ Studiul unor noi markeri biochimici implicați în patologia ulcerului de presiune

Mădălina Avram¹, Andreea Claudia Neguț¹, Georgiana Găbreanu², Andreea Lupu², Monica Neagu², Georgeta Păunică-Panea³, Gheorghe Stoian³

¹Universitatea din București, ²INCD "Victor Babeș" București, ³Spitalul Clinic "Sf.Pantelimon" București

12²⁰- 12³⁵ Profilul miARN și nivelul de metilare a ADN în cancerul colorectal cu mutații la nivelul genelor KRAS și BRAF

Maria Dobre¹, Carmen Ardeleanu³, Marieta Costache²

¹INCD "Victor Babeș" București, ²Facultatea de Biologie - Universitatea din București, ³UMF "Carol Davila" București

12³⁵- 12⁵⁵ Schimbare de paradigmă în abordarea artritei reumatoide

Gina Manda, Gheorghița Isvoranu, Maria Dobre

INCD "Victor Babeș" București

12⁵⁵- 13¹⁰ Discuții interactive

13¹⁰- 14⁰⁰ Pauză de masă

14⁰⁰- 17⁰⁰ SESIUNEA 2A

Algoritmi de diagnostic anatomopatologic în boli inflamatorii și neoplazii

Moderatori: Gabriel Becheanu, Mihaela Gherghiceanu

14⁰⁰- 14⁴⁵ From bedside to bench and back. Are there algorithms for translational research? (De la patul bolnavului la masa de laborator și înapoi. Există algoritmi pentru cercetarea translațională?)

Sarit Aviel-Ronen

Sheba Medical Center, Tel-Hashomer, Israel

14⁴⁵- 15³⁰ Role of precision medicine in mesothelioma diagnosis and differentials (Rolul medicinei de precizie în diagnosticul pozitiv și diferențial al mezoteliomelor)

Lucian R. Chirieac.

Harvard Medical School, Brigham and Women's Hospital, Boston, USA



15³⁰- 15⁴⁵ Pauză

15⁴⁵- 16¹⁵ Subtipuri histologice rare și neobișnuite de carcinom prostatic: criterii de diagnostic, implicații clinice, terapeutice și prognostice

Alis Dema

UMF "Victor Babeș" Timișoara

16¹⁵- 16⁴⁵ Noi factori de prognostic în adenocarcinomul cervical infiltrativ

Simona Stolnicu

UMF Târgu Mureș

16⁴⁵- 17⁰⁰ Diagnosticul histopatologic al bolii inflamatorii intestinale: în sprijinul recomandărilor ECCO

Gabriel Becheanu

UMF "Carol Davila" București, INCD "Victor Babeș" București

17⁰⁰- 18⁰⁰ VIZIONARE POSTERE

17³⁰ – 20⁰⁰ SESIUNEA 2B

**Dificultăți de diagnostic în histopatologie
(prezentări de cazuri clinice)**

**Florin Andrei, Doina Pop, Simona Enache, Ariana Neicu, Florina Cionca,
Valentin Enache, Leila Ali, Valentin Moldovan**

INCD "Victor Babeș" București

17³⁰- 20⁰⁰ SESIUNEA 3

Tehnologii "omice" în context translațional

Moderatori: Cristiana Tănase, Aurora Arghir

17³⁰- 17⁴⁵ Genomica – între cercetare și clinică

**Emilia Severin¹, Magdalena Budișteanu^{2,3}, Andreea Țuțulan-Cuniță²,
Sorina Mihaela Papuc², Aurora Arghir²**

¹UMF "Carol Davila" București, ²INCD "Victor Babeș" București, ³Spitalul Clinic
de Psihiatrie "Prof. Dr. Alex. Obregia" București



17⁴⁵- 18⁰⁰ Tulburările de spectru autist și alte afecțiuni neuropsihiatrice – rolul investigațiilor genomice în algoritmul de diagnostic

Magdalena Budișteanu^{1,2,3}, Andreea Țuțulan-Cuniță¹, Sorina Mihaela Papuc¹, Ina Focșa¹, Diana Bârcă², Raluca Grozăvescu², Bogdan Budișteanu², Catrinel Iliescu², Iuliana Dobrescu², Dana Craiu², Emilia Severin⁴, Aurora Arghir¹

¹INCD "Victor Babeș" București, ²Spitalul Clinic de Psihiatrie "Prof. Dr. Alex. Obregia" București, ³Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București, ⁴UMF "Carol Davila" București

18⁰⁰- 18¹⁵ Investigația genomică în bolile de neurodezvoltare cu fenotip complex

Sorina Mihaela Papuc^{1,2}, Andreea Țuțulan-Cuniță¹, Katharina Steindl^{2,3}, Magdalena Budișteanu^{1,4}, Pascal Joset², Lucia Abela³, Beatrice Oneda², Luke Simmons³, Déborah Mathis³, Bernhard Schmitt³, Gabriele Wohlrab³, Lisa Crowther³, Markus Zweier², Laura Gogoll², Michael Papik², Barbara Plecko³, Emilia Severin⁵, Aurora Arghir¹, Anita Rauch^{2,3}

¹INCD "Victor Babeș" București, ²Institutul de Genetică Medicală - Universitatea Zürich, Elveția, ³Departamentul de Neurologie Pediatrică - Universitatea Zürich, Elveția, ⁴Spitalul Clinic de Psihiatrie "Prof. Dr. Alex. Obregia" București, ⁵UMF "Carol Davila" București

18¹⁵- 18³⁰ Diagnosticul molecular al surdității genetice prelinguale non-sindromice

Cristina Dragomir¹, Adriana Ionescu³, Lorand Savu¹, Konstantinos Lilakos⁴, Andreea Țuțulan-Cuniță², Emilia Severin³

¹Genetic Lab București, ²INCD "Victor Babeș" București, ³UMF "Carol Davila" București, ⁴Antisel, Grecia

18³⁰- 18⁴⁰ Pauză

18⁴⁰- 18⁵⁵ Panel de semnalizare personalizat – abordare proteomică în cancer

Cristiana Tănase^{1,2}, Elena Codrici¹, Daniela I. Popescu¹, Simona Mihai¹, Ana-Maria Enciu¹, Laura Necula¹, Maria Linda Cluceru^{1,3}, Adrian Popa³, Radu Albulescu^{1,4}

¹INCD "Victor Babeș" București, ²Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București, ³UMF "Carol Davila" București, ⁴ICCF București

18⁵⁵- 19¹⁰ Identificarea unor micro-ARN relevante pentru cancerul mamar după tratamentul cu compuși bioactivi naturali cu efect antiproliferativ și rol de modulatori epigenetici

Sevinci Pop¹, Gisela Găină^{1,3}, Emilia Manole^{1,2}

¹INCD "Victor Babeș" București, ²Centrul de Cercetare - Spitalul Clinic "Colentina" București, ³Facultatea de Biologie - Universitatea din București



19¹⁰- 19²⁵ Modificări epigenetice la nivelul histonelor nucleozomale, induse de compuși naturali bioactivi, în cancerul mamar

Emilia Manole^{1,2}, Sevinci Pop¹

¹INCD "Victor Babeș" București, ²Centrul de Cercetare-Spitalul Clinic "Colentina" București

19²⁵- 19³⁵ Analiza expresiei unor histon-demetilaze ca reglatori epigenetici în leziuni displazice de col uterin HPV-induse

Iulia V. Iancu¹, Anca Botezatu¹, Adriana Pleșa¹, Irina Huică¹, Demetra Socolov², Gabriela Anton¹

¹Institutul de Virusologie "Ștefan S. Nicolau" București, ²UMF "Gr. T. Popa" Iași

19³⁵- 19⁴⁵ Inhibarea aquaporinelor modulează motilitatea keratinocitelor

Cristina-Mariana Niculițe^{1,2}, Andreea Oana Urs¹, Mirela Onică², Mircea Leabu^{1,2}

¹INCD "Victor Babeș" București, ²UMF "Carol Davila" București

19⁴⁵- 20⁰⁰ Discuții interactive

SÂMBĂȚĂ, 21 NOIEMBRIE 2015

09⁰⁰- 11³⁰ SESIUNEA 4

Animale modificate genetic - instrumente în cercetarea biomedicală

Moderatori: Valeriu Cișmașiu, Bogdan Marinescu

09⁰⁰- 09²⁰ Cerințe legale în utilizarea și raportarea statistică a animalelor modificate genetic

Cristin Coman

INCD "Cantacuzino" București

09²⁰- 09⁴⁰ Stadiul implementării directivei europene 63/2010 privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice în România

Magda Gonciarov

USAMV, Facultatea de Medicină Veterinară București

09⁴⁰- 10⁰⁰ Generarea unui model transgenic murin pentru exprimarea condițională, specific endotelială, a apolipoproteinei e3 umane

Ioana Mădălina Fenyo

IBPC "N. Simionescu" București



10⁰⁰- 10²⁰ Șoarecii knockout la caveolină 1 ca model de boli neurodegenerative

Ana-Maria Enciu^{1,2}, Maria Dudău², Elena Codrici¹, Ionela Daniela Popescu¹,
Simona Mihai¹, Radu Albulescu^{1,3}, Cristiana Tănase^{1,4}

¹INCD "Victor Babeș" București, ²UMF "Carol Davila" București, ³ICCF București, ⁴Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București

10²⁰- 10⁴⁰ Profilul citokinelor, chemokinelor și factorilor de creștere la șoarecii transgenici pentru caveolina-1

Elena Codrici¹, Ionela Daniela Popescu¹, Simona Mihai¹, Ana-Maria Enciu^{1,2},
Radu Albulescu³, Cristiana Tănase^{1,4}

¹INCD "Victor Babeș" București, ²UMF "Carol Davila" București, ³ICCF București, ⁴Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București

10⁴⁰- 11⁰⁰ Modele murine de transplantare utilizate în cancer

Laurențiu Anghelache¹, Bogdan Marinescu¹, Gheorghița Isvoranu¹,
Valeriu Cișmașiu¹, Adrian Feghiu², Manuella Militaru²

¹INCD "Victor Babeș" București, ²USAMV București

11⁰⁰- 11²⁰ Modelarea leucemiei mieloide acute in vivo prin translocția comozomială t(9;11)(p22;q23) indusă în genomul murin

Laurențiu Anghelache, Florina Gisela Găină, Mihaela Surcel, Andreea Oana Urs,
Cristina Mariana Niculițe, Bogdan Marinescu, Radu-Ionuț Huică, Gheorghița Isvoranu, **Valeriu Cișmașiu**

INCD "Victor Babeș" București

11²⁰- 11³⁰ Discuții

11³⁰- 12⁰⁰ Pauză de cafea

12⁰⁰- 14⁰⁰ SESIUNE DESCHISĂ

Contribuții doctoranzi, post-doctoranzi și alte comunicări

Moderatori: Mihail Eugen Hinescu, Bogdan O. Popescu

12⁰⁰- 12¹⁰ Ce, cum, de ce învățăm (pe alții) medicina în secolul XXI?

Mihnea I. Nicolescu.

UMF "Carol Davila" București, INCD "Victor Babeș" București

12¹⁰- 12²⁰ Dinamica telocitelor în infarctul miocardic experimental la șobolani

Cătălin G. Manole.^{1, 2}, Ruxandra Drăgoi Antunes Guerra Galrinho¹,
Gheorghița Isvoranu²

¹UMF "Carol Davila" București, ²INCD "Victor Babeș" București



- 12²⁰- 12³⁰ Predicția rezistenței la rifamicine a tulpinilor de *Mycobacterium tuberculosis* multidrog-rezistente din România**
Simona Péter^{1, 2}, Ionuț Pavel¹, Florin Rusu-Cordunean¹, Ina - Iuliana Macovei¹, Daniela Diculencu², Bogdan-Dragoș Grigoriu¹
¹UMF "Gr. T. Popa" Iași, ²CPI Iași
- 12³⁰- 12⁴⁰ Utilizarea tehnologiei IONTORRENT-WGS pentru caracterizarea tulpinilor multidrog-rezistente de *Mycobacterium tuberculosis***
Pavel Ionuț¹, Macovei Ina Iuliana¹, Péter Simona^{1,2}, Rusu-Cordunean Florin¹, Diculencu Daniela², Grigoriu Bogdan-Dragoș¹
¹UMF "Gr. T. Popa" Iași, ²CPI Iași
- 12⁴⁰- 12⁵⁰ Compararea a trei metode de biologie moleculară pentru detecția mutațiilor EGFR din adenocarcinoame pulmonare: NGS-ION TORRENT, Snapshot/analiza de fragmente, real-time PCR**
Ina Iuliana Macovei^{1,2}, Andrei - Tudor Cernomaz^{1,2}, Ionuț Pavel^{1,2}, Mihai Marinca², Carmen Grigoriu², Rusu - Cordunean Florin¹, Péter Simona², Bogdan - Dragoș Grigoriu^{1,2}
¹IRO Iași, ²UMF "Gr. T. Popa" Iași
- 12⁵⁰- 13⁰⁰ Analiza datelor de secvențiere masiv-paralelă – alternativele analistului debutant**
Radu-Ionuț Huică^{1,2}, Adriana Narcisa Munteanu¹, Mihaela Surcel¹
¹INCD "Victor Babeș" București, ²UMF "Carol Davila" București
- 13⁰⁰- 13¹⁰ Relația dintre parenchimul neuronal și vascularizația hipocampului la om în ontogenie: implicații în studiul complicațiilor neuropsihice în hepatopatii**
Gheorman Victor¹, Zăvoi Roxana², Stanca Liliana², Stănescu Radu³, Rogoveanu Ion¹, Stănescu Mihail-Relu³
¹Departamentul 3: Specialități medicale I - UMF Craiova, ²Departamentul 5: Specialități medicale III - UMF Craiova, ³Departamentul 1: Discipline Morfologice - UMF Craiova
- 13¹⁰- 13²⁰ Vezicule extracelulare eliberate de telocite în țesutul cardiac**
Emanuel T. Fertig, Mihaela Gherghiceanu, Laurențiu M. Popescu
INCD "Victor Babeș" București
- 13²⁰- 13³⁰ Statusul imun celular la șoareci purtători de tumoră**
Gheorghița Isvoranu, Bogdan Marinescu, Laurențiu Anghelache, Mihaela Surcel, Cornel Ursaciuc, Gina Manda
INCD "Victor Babeș" București



13³⁰- 13⁴⁰ Model de studiu in vitro a capacității regenerative a glandelor salivare

Mihnea I. Nicolescu.

UMF "Carol Davila" București, INCD "Victor Babeș" București

13⁴⁰- 13⁵⁰ Epidemiologia și statistica infecțiilor vaginale cu drojdii din genul Candida în România

Sergiu Fendrihan

UMF "Carol Davila" București, Universitatea de Vest "Vasile Goldiș" Arad

13⁵⁰- 14⁰⁰ Structura infecțiilor cu Candida din punctul de vedere al speciilor implicate

Sergiu Fendrihan

UMF "Carol Davila" București, Universitatea de Vest "Vasile Goldiș" Arad

14⁰⁰- 14¹⁵ Discuții

Închiderea lucrărilor Sesiunii Anuale a INCD "Victor Babeș"





SPONSORI

ANTISEL

DIALAB SOLUTIONS

LABORATORIUM

MEDIST

PROTON

ROCHE

RONEXPRIM

TUNIC





VINERI – 20 NOIEMBRIE 2015

CONFERINȚE PLENARE

SESIUNEA 1

SESIUNE 2A

SESIUNEA 2B

SESIUNEA 3

VIZIONARE POSTERE





CONFERINȚE PLENARE

“CONCEPTUL DE MEDICINĂ DE PRECIZIE”





MEDICINA DE PRECIZIE – O NOUĂ PARADIGMĂ ÎN ÎNȚELEGEREA ȘI MANAGEMENTUL SĂNĂTĂȚII ȘI BOLII

Cristiana Tănase

*INCD "Victor Babeș" București,
Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București*

Medicina de precizie promovează conceptul terapiei potrivite pentru grupul potrivit de pacienți, la momentul potrivit, cu costurile adecvate. Medicina de precizie se concentrează pe abordarea individuală, fiind proactivă, a fost rapid preluată în cercetarea biomedicală fundamentală și clinică de avangardă. Pentru aceste motive a fost inclusă în programe de finanțare atât în Uniunea Europeană cât și în Statele Unite ale Americii, fiind o componentă-cheie a programelor Orizont 2020 și White House's Precision Medicine Initiative.

Implicarea tehnologiilor omice în dezvoltarea ulterioară a conceptului de medicină de precizie reprezintă un fenomen relativ recent, care a dat naștere unei imagini complete a statutului sănătate/boală a individului, cu precădere la nivel funcțional.

În vederea evaluării stării de sănătate sau a unei patologii specifice, conform conceptelor "medicină de precizie", este necesară integrarea datelor individuale de genomică, epigenetică, proteomică, metabolomică. Necesitatea aplicării screening-ului molecular în vederea îmbunătățirii diagnosticului este esențială în evaluarea stării de sănătate. Integrarea acestor date într-un tablou coerent, corect și precis face apel la prelucrarea bioinformatică adecvată. În acest context, bioinformatica clinică poate deveni o componentă importantă a medicinei de precizie.

Tehnologiile *high-throughput* de ultimă generație sunt intens aplicate în vederea identificării și cuantificării de noi biomarkeri circulanți. Interacțiile proteină-proteină, la nivel intra- și intercelular, pot fi relevate de către tehnologiile omice și pot conduce la informații noi și utile prin identificare și stabilire de noi paneluri de biomarkeri.

Noua paradigmă ce susține tranziția de la conceptul terapie unică/o patologie la o abordare multisistemică centrată pe pacient reprezintă conceptul de bază al medicinei moderne de precizie.

Acknowledgement: *Această lucrare a fost parțial susținută prin proiectele PN 09.33-04.15, PN 09.33-03.10*



IMUNOTERAPIA ÎNTRE MEDICINA PERSONALIZATĂ ȘI MEDICINA DE PRECIZIE

Cornel Ursaciuc

INCD "Victor Babeș" București

Medicina personalizată se bazează pe evidențierea particularităților fenotipice individuale prin paneluri de biomarkeri și orientarea terapiei conform acestora. Medicina de precizie are în vedere evidențierea unui spectru mai larg al caracteristicilor individuale, pornind de la modificări genomice și ajungând la mediul și stilul de viață al persoanei investigate.

Astfel, prin amploare și exactitate, conceptul de medicină de precizie îl include pe cel de medicină personalizată, iar modalitățile terapeutice devin din ce în ce mai complexe ("precisate"), tinzând să corecteze nu numai boala, ci și totalitatea problemelor individului.

Imunoterapia utilizează efectori ai sistemului imun și reprezintă un mijloc de tratament esențial pentru medicina personalizată prin varietatea de anticorpi monoclonali ce susțin terapia țintită: anti-receptori, anti-citokine, anti-imunoglobuline, imunoconjugate.

Medicina de precizie conferă noi valențe tratamentului cu anticorpi, prin abordarea construcțiilor de anticorpi bispecfici și intersectarea moleculelor țintă în cadrul terapiei *checkpoint*. Toate au ca scop principal individualizarea de căi eficiente de medicație antitumorală prin direcționarea imunoterapiei țintite către multitudinea formelor clinice de cancer pe care oncologul trebuie să le abordeze.

În prezent imunoterapia emergentă din medicina personalizată capătă noi valențe și arii de utilizare în medicina de precizie. Imunoterapia țintită se asociază cu terapia biologică și terapia celulară într-o comuniune destinată să acopere toate posibilitățile de combatere a proliferării maligne.

PATOLOGIA DIGITALĂ ÎN NOUA ERĂ A MEDICINEI DE PRECIZIE

Gabriel Becheanu

*INCD "Victor Babeș" București,
UMF "Carol Davila" București*



SESIUNEA 1

BIOMARKERI MOLECULARI ÎN MEDICINA DE PRECIZIE





CELULELE TUMORALE CIRCULANTE ȘI CONCEPTUL DE "BIOPSIE LICHIDĂ" ÎN TRATAMENTUL ȘI URMĂRIREA PACIENTULUI ONCOLOGIC

Rareș Buiga^{1,2}, Olga Soritau¹, Otilia Barbos¹, Gabriela Cherecheș¹, Ioana Berindan-Neagoe^{1,2}

¹Institutul Oncologic "Prof. Dr. I. Chiricuță" Cluj-Napoca,

²UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca

În principiu, celulele tumorale circulante (CTC) rămân cel mai bun marker tumoral al momentului, reprezentând partea cea mai activă, o versiune permanent actualizată, a tumorii maligne aflate într-o continuă schimbare.

Din punctul de vedere al terapiei, cancerul este o țintă în mișcare. Singura speranță de a avea un tratament eficient împotriva sa este urmărirea în timp real a modificărilor tumorale prin biopsii repetate, urmate de adaptarea continuă a tratamentului. Totuși, obținerea de probe biotice repetate nu este întotdeauna posibilă și nici nu este scutită de riscuri. Astfel, a apărut ideea folosirii CTC ca o adevărată "biopsie lichidă", menită să înlocuiască biopsia clasică și chiar să furnizeze informații genetice unice despre mecanismul de metastazare la nivel individual.

Deși conceptul de "biopsie lichidă" a fost inițial aplicat numai CTC, sensul său a fost ulterior extins și la alte produse secundare de origine tumorală, cum ar fi ADN-ul tumoral circulant și exozomii, care ar putea deveni soluții complementare viabile la analiza CTC. În timp ce ideea biopsiei lichide a stârnit un mare entuziasm în laboratoarele de cercetare, ea nu a fost încă adoptată pe scară largă în clinică, în ciuda excepționalei sale valori prognostice, dovedite prin numeroase studii clinice.

Această prezentare își propune să treacă în revistă principalele motive ale acestei situații, identificând unele dintre principalele obstacole, care includ și lipsa unui test de robust și fiabil. Acest lucru se datorează lipsei de consens în ceea ce privește metoda optimă, lipsa de standardizare a etapelor pre-analitice, lipsa unei validări clinice, dificultăți tehnice legate de raritatea, fragilitatea și heterogenitatea celulelor, lipsa - până de curând - a unor tehnici sigure de analiză biomoleculară unicelulară, și nu în ultimul rând, costului ridicat al tehnicilor actuale.

În ciuda acestor neajunsuri temporare, viitorul CTC este promițător. Aceste noi metode vor permite o cunoaștere mai profundă a genomului și transcriptomului CTC, aruncând lumină asupra proceselor esențiale de dezvoltare tumorală și metastazare. De asemenea, CTC vor deveni o componentă esențială a strategiei de tratament împotriva cancerului, permitând obținerea în timp real a profilului mutațional, urmărirea modificărilor aparute pe parcurs și identificarea de noi ținte terapeutice. Nu în ultimul rând, prin noile metode de cultivare și xenografting a celulelor tumorale vii, vom putea realiza testarea lor funcțională, ținând pasul cu schimbările de chimiosensibilitate tumorală.

Multumiri: *Lucrare parțial realizată cu contribuții din Grantul PN- II- PT-PCCA- 2013-4-2289*



EVALUAREA PREZENȚEI CELULELOR TUMORALE CIRCULANTE ÎN MELANOM

**Cornel Ursaciuc¹, Radu-Ionuț Huică^{1,2}, Mihaela Surcel¹, Adriana Narcisa Munteanu¹,
Ioana Pîrvu¹, Dan Ciotaru¹, Gabriela Coman³, Mihail Alecu^{3,4}**

¹INCD "Victor Babeș" București,

²UMF "Carol Davila" București,

³Secția Dermatologie - Spitalul Clinic "Victor Babeș" București,

⁴Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București

Introducere: Melanomul cutanat (MC) reprezintă o tumoră cu grad mare de invazivitate, ce are un prognostic rezervat. Prognosticul se agravează pe măsură ce leziunea se extinde sub piele, datorită tendinței crescute de metastazare a tumorii.

Evaluarea prin citometrie de flux a melanocitelor pozitive pentru markerul MCSP (*Melanoma-associated Chondroitin-Sulfate Proteoglycan*), corelată cu evidențierea de modificări ale prezenței produșilor genelor asociate controlului ciclului celular al melanocitului pot reprezenta indici pentru stabilirea evoluției tumorale.

Materiale și metode: Celulele MCSP+ au fost identificate în sângele periferic prin citometrie de flux cu anticorpi antiMCSP-APC (*Miltenyi Biotec*) la 23 pacienți cu MC și 5 subiecți martor. Pentru 11 pacienți au fost efectuate corelații între nivelul seric al produșilor genelor BRAF, HRAS și KRAS (determinați prin ELISA) și prezența celulelor tumorale circulante MCSP+.

Rezultate: Dintre pacienții testați pentru celule MCSP+, 64% au relevat prezența de celule tumorale circulante. Corelarea acestui rezultat cu concentrațiile produșilor genelor BRAF, HRAS și KRAS în ser a evidențiat creșterea a cel puțin unui produs genic la 83% din pacienții cu MCSP+, sugerând că mutațiile acestor gene se pot asocia cu metastazarea.

Concluzie: Testul MCSP și corelarea acestuia cu nivelele produșilor genelor mutante în MC sunt utile pentru stabilirea potențialului invaziv al tumorii, prognosticului și duratei de supraviețuire.

Mențiuni: *Lucrarea a beneficiat de finanțare prin Programul Nucleu, PN 09.33-01.19.*



INVESTIGAREA EFECTELOR RADIAȚIILOR UVA ASUPRA ALBUMINEI SERICE PRIN SPECTROSCOPIE DE TERAHERTZI

*Maria Mernea , Octavian Calborean, Dan Florin Mihăilescu, **Marina-Tamara Nechifor***
Facultatea de Biologie - Universitatea din București

Radiațiile electromagnetice solare din spectrul UV ce ajung la suprafața Pământului aparțin cu preponderență domeniului spectral UVA (315-400 nm) și în mai mică măsură domeniului UVB (280-315 nm). Deși au o energie relativ mică, radiațiile UVA penetrează cu ușurință și în profunzime epidermul, acționând chiar și asupra componentelor sângelui din vascularizația dermului. În acest sens, albumina serică, cea mai abundentă proteină plasmatică, poate reprezenta o țintă importantă a acțiunii radiațiilor UVA. Efectele iradierii experimentale asupra albuminei cu doze de radiații UVA de 18,7 și 37,4 J/cm², comparabile cu dozele ambientale, au fost evaluate prin spectroscopie de terahertzi (THz), pentru decelarea modificărilor conformaționale, și prin imunoelectroforeză și cromatografie în strat subțire, pentru evaluarea modificărilor structurale și funcționale. Spectroscopia de THz utilizează radiația cu frecvențe cuprinse între 0,1 și 10 THz. Aceasta accesează direct modurile de vibrație colective ale proteinelor, ce se corelează cu mișcarea regiunilor mari din structura proteinei (domenii, subdomenii) sau chiar a întregii molecule și care pot avea importanță pentru realizarea funcției biologice a proteinei respective. Spectrele de THz înregistrate pentru albumina serică indică o scădere a absorbției proteinei în domeniul de frecvențe 0,2-1,0 THz în urma iradierii UVA, efectul fiind direct proporțional cu doza de iradiere. Aceste rezultate demonstrează că expunerea albuminei serice la radiații UVA induce modificări conformaționale ale acesteia. Analiza imunoelectroforetică a plasmei sanguine expusă la radiații UVA indică modificarea mobilității electroforetice a albuminei, iar analiza prin cromatografie în strat subțire arată o creștere a încărcării albuminei cu lipide. Aceste modificări au fost semnalate atât în probe de plasmă cu valori normale ale concentrației de colesterol, triacilgliceroli și glucoză, cât și în cele cu valori crescute ale concentrației acestor compuși. Rezultatele acestui studiu demonstrează că radiațiile UVA induc modificări ale conformației albuminei care se răsfrâng asupra funcționalității sale, prin amplificarea încărcării cu lipide.



INTERFERENȚE IMUNOLOGICE ÎN DIAGNOSTICUL ȘI PROGNOSTICUL MELANOMULUI CUTANAT

Georgiana Găbreanu, Carolina Constantin, Monica Neagu

INCD "Victor Babeș" București

Incidența în creștere, agresivitatea și caracterul imprevizibil al melanomului cutanat reprezintă o problemă majoră în întreaga lume.

Dacă până acum nu se cunoșteau decât câteva terapii clasice, folosite timp de câteva decenii în ciuda eficienței scăzute, se pare că noi biomarkeri imunologici marchează începutul unei noi ere în terapia melanomului cutanat. Aceste molecule ale sistemului imun, intens studiate în ultima vreme în relație cu una dintre cele mai agresive malignități, sunt de asemenea din ce în ce mai implicate în diagnosticul, evaluarea prognosticului și monitorizarea terapiei în melanomul cutanat.

Așa cum s-a prezentat intens în programul celei mai recente conferințe a Asociației Europene de Dermatologie Oncologică (a 11-a ediție - EADO Octombrie 2015), inhibitorii punctelor cheie de control ale sistemului imunitar (anti-PD1 și anti-CTLA4) și imunoterapia oncolitică reprezintă cele mai noi abordări ale melanomului cutanat. În 2011 a fost aprobată prima terapie imunologică, și anume un anticorp monoclonal ce țintește un modulator cheie al limfocitelor T, și anume CTLA4 (Antigenul pentru limfocitele T citotoxice).

De asemenea, studiile noastre arată importanța monitorizării parametrilor imuni în melanomul cutanat (stadiul I-IV). Astfel, infiltratul tumoral inflamator indică un prognostic prost la pacienții cu melanom atunci când predomină limfocitele T, în comparație cu limfocitele B, care sunt puține sau chiar absente. În ceea ce privește biomarkerii imuni circulatorii, un raport scăzut CD4+/CD8+ indică de asemenea un prognostic prost.

Dupa 4 ani de la aprobarea primei imunoterapii asistăm deja la aprobarea altui blocant al unui punct de control al sistemului imunitar, și anume inhibitorul receptorului PD1, astfel imunologia complexă a melanomului devine din ce în ce mai studiată, atât pentru generarea unor noi terapii, cât și pentru un diagnostic cât mai timpuriu și pentru evaluarea prognosticului pacienților.



TEHNOLOGIA PROTEIN-MICROARRAY – ROL ÎN DESCOPERIREA ȘI VALIDAREA DE BIOMARKERI

Carolina Constantin¹, Georgiana Găbreanu¹, Georgeta Păunică-Panea², Monica Neagu¹

¹INCD "Victor Babeș", București, România,

²Spitalul Clinic de Urgență "Sf. Pantelimon", București, România

Introducere: Proteomica reprezintă un domeniu efervescent care se dezvoltă în timp-real aducând date noi privind procesele biologice de finețe ca efectori sau ținte în demersuri terapeutice. Tehnologia protein microarray și-a câștigat un loc sigur între metodologiile proteomice actuale, fiind utilizată cu succes în abordări inovatoare ca descoperirea de noi biomarkeri sau elucidarea unor căi de semnalizare celulară asociate diferitelor patologii. Revizuirea permanentă a tehnologiei prin extinderea explorărilor și prin stabilirea unor panouri noi de analizi, accelerează introducerea tehnicii pentru aplicații biomedicale cât mai diverse. Astfel, în ultimii ani au fost identificate adevărate rețele de celule, procese biochimice și evenimente moleculare importante în procesul de vindecare a rănilor, conturându-se astfel direcții ce cuprind markeri de definire a vindecării sau care din contră indică un proces de inhibiție. De exemplu, pentru ulcerele de gambă de presiune aceste direcții ajuta la stabilirea unor panouri de biomarkeri în scopul de a determina cele mai bune condiții/statusuri asociate procesului de vindecare a leziunilor în prezența unor pansamente inovatoare.

Materiale și metode: Ser - recoltat de la pacienți cu ulcere de gambă, tratați cu diferite tipuri de pansamente, de la care s-a obținut consimțământul informat privind includerea în studiu; trusă de protein microarray pentru testarea simultană a 42 citokine și chemokine umane (RayBiotech); scanner InnoScan1100L (Innopsys Co).

Rezultate: A fost testată simultan expresia semi-cantitativă a unor seturi de citokine la pacienți cu ulcere de gambă și au fost stabilite panouri diferite de expresie în funcție de tipul de pansament și momentul de timp asociat aplicării terapiei.

Concluzii: Tehnologia protein microarray reprezintă un instrument accesibil și actual privind identificarea sau chiar validarea unor biomarkeri sau panouri de biomarkeri utili în managementul patologiilor diverse. *Studiu finanțat parțial din proiectele PN-II-PT-PCCA-2013-4-1386 (NANOPATCH), POSDRU/159/1.5/S/135760 (CERO) și proiect POSCCE SMIS CSNR 1882/49159 (CAMED).*



CELULELE DENDRITICE ÎN ARIILE DE REGRESIE TUMORALĂ ALE MELANOMULUI MALIGN ȘI ÎN INFILTRATELE REACTIVE CUTANATE

**Mirela Cioplea¹, Sabina Zurac^{1,2}, Liana Sticlaru¹, Roxana Nedelcu², Cristiana Popp¹,
Luciana Nichita^{1,2}, Patricia Stîngă¹, Alexandra Drăgușin¹, Florica Stăniceanu^{1,2}**

¹*Serviciul Anatomie Patologică - Spitalul Clinic "Colentina" București,*

²*UMF "Carol Davila" București*

Introducere: Patogeneza regresiei tumorale în melanomul malign (MM) și implicarea sa prognostică nu sunt bine documentate și înțelese. Deși date de specialitate acordă o semnificație majoră răspunsului imun în malignitățile altor organe, în MM, prezența regresiei tumorale poate avea un prognostic nefavorabil. Celulele dendritice sunt celule prezentatoare de antigen capabile să inducă un răspuns imun primar, fiind esențiale pentru răspunsul inflamator al limfocitelor T în periferie.

Materiale și metode: Am efectuat un studiu retrospectiv de tip caz-control incluzând un lot de 28 de pacienți cu MM cu arii de regresie tumorală parțială/segmentară și un lot de 28 de pacienți cu leziuni inflamatorii cutanate benigne. Diagnosticul de certitudine a fost stabilit clinic și histopatologic. Celulele dendritice au fost identificate prin marcaj imunohistochimic (CD1a, langerină și CD11c) și a fost studiată distribuția acestora în infiltratele inflamatorii dermice din MM și din infiltratele reactive cutanate.

Rezultate: Numărul celulelor dendritice a fost crescut în toate cazurile, dar semnificativ mai crescut în MM. În ariile de regresie tumorală, cel mai frecvent, celulele dendritice au avut dispoziție nodulară (19 cazuri), pe când în infiltratele reactive dermice cel mai frecvent pattern întâlnit a fost cel mixt, difuz și nodular (24 cazuri). Restul cazurilor de MM cu regresie au prezentat dispoziție mixtă (difuză și nodulară 5 cazuri) și difuză (4 cazuri). 4 cazuri de infiltrate reactive dermale au prezentat o dispoziție nodulară a celulelor dendritice.

Concluzie: Distribuția și numărul crescut de celule dendritice de la nivelul ariilor de regresie tumorală pot ajuta la diferențierea dintre ariile de regresie tumorală și leziunile inflamatorii reactive cutanate, îmbunătățind sensibilitatea diagnosticului ariilor de regresie. Sunt necesare studii mai ample pentru stabilirea semnificației prognostice a prezenței și a distribuției celulelor dendritice în ariile de regresie din MM.

Acest studiu a fost susținut de proiectele 190/2014/PN-II-PT-PCCA-2013-4-1407 și POSDRU/187/1.5/S/155420.



IDENTIFICAREA ȚINTELOR MOLECULARE CU ROL ÎN TERAPIA TUMORILOR MALIGNE

Maria Comănescu, Anca Potecă

*INCD "Victor Babeș" București,
UMF "Carol Davila" București*

Neoplaziile maligne reprezintă o cauză importantă de deces în lumea occidentală, și sunt, prin urmare, o problemă mondială de sănătate publică cu semnificație umană și economică copleșitoare. În prezent, există o înțelegere mai bună a modificărilor genetice, biochimice și celulare care conduc la cancer. Odată cu finalizarea secvențierii genomului uman, a fost inițiat un efort major pentru a transla cunoștințele științifice fundamentale despre cancer în terapii mai sigure, mai eficiente și în proceduri de diagnostic precoce.

La fel ca și neoplaziile maligne, pacienții sunt heterogeni, fiecare prezentând o formă unică de neoplazie, precum și un răspuns diferit la tratament. Caracterizarea clasică histopatologică a tumorilor este completată în prezent de identificarea unor biomarkeri specifici tumoralii precum și de informații genetice cu privire la prezența unor mutații potențial oncogene.

Terapiile țintite sunt medicamente sau alte substanțe care blochează creșterea și răspândirea cancerului prin interferarea cu molecule specifice (ținte moleculare) implicate în creșterea, progresia și răspândirea cancerului. Aceste medicamente utilizează informații despre genele și proteinele unei persoane pentru a preveni, diagnostica și trata neoplaziile maligne cu mai multă precizie și potențial mai puține efecte secundare, spre deosebire de chimioterapia tradițională.

În această prezentare vom trece în revistă o serie de astfel de agenți farmacologici ce acționează la nivelul proceselor celulare.



STUDIUL UNOR NOI MARKERI BIOCHIMICI IMPLICAȚI ÎN PATOLOGIA ULCERULUI DE PRESIUNE

*Mădălina Avram¹, Andreea Claudia Neguț¹, Georgiana Găbreanu², Andreea Lupu²,
Monica Neagu², Georgeta Păunică-Panea³, Gheorghe Stoian³*

¹Universitatea din București,

²INCD "Victor Babeș" București,

³Spitalul Clinic "Sf.Pantelimon" București

Introducere: Ulcerul de presiune este rezultatul unei ischemii prelungite/repetate conducând la necroze tisulare. Astfel, scopul acestei lucrări a fost de a evidenția o serie de noi markeri biochimici serici utili în monitorizarea stării de sănătate a unor pacienți suferinzi de ulcere de presiune (PSUP).

Materiale și metode: S-au analizat acidul sialic (forma legată), profilul lipidic (colesterol, fracția lipoproteinelor de mică densitate oxidate, lipidele totale), precum și o serie de markeri ai stresului oxidativ (nivelul malondialdehidei serice, grupările carbonil proteice, grupările tiol libere), la o serie de PSUP, valorile obținute fiind comparate cu cele determinate la un număr de subiecți sănătoși.

Rezultate: Datele obținute au arătat că nivelul lipidelor totale la PSUP a fost mai mic comparativ cu persoanele sănătoase ($383,112 \pm 11,7 \text{ mg/dl}$ față de $630,08 \pm 29,3 \text{ mg/dl}$); în timp ce nivelul LDLox a fost crescut la pacienți ($4,04 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$) comparativ cu lotul normal ($1,77 \pm 0,2 \mu\text{mol/l}$); nivelul colesterolului total la PSUP a avut valori mai mici comparativ cu lotul control ($117,4 \pm 14,8 \text{ mg/dl}$ față de $178,4 \pm 18,5 \text{ mg/dl}$); iar raportul lipide totale/LDLox a fost semnificativ mai scăzut la lotul patologic comparativ cu normalii ($948,2 \pm 14,5 \text{ mg}/\mu\text{mol}$ față de $3559,77 \pm 80,01 \text{ mg}/\mu\text{mol}$). În cazul acidului sialic s-au determinat valori mai mari cu 56% la pacienții patologici, valori ale MDA mai crescute în cazul PSUP ($83,7 \pm 33,5 \text{ nmol/ml}$) comparativ cu controlul ($14,3 \pm 4,1 \text{ nmol/ml}$); concentrația grupărilor carbonil proteice la PSUP a fost mai ridicată, comparativ cu cea obținută în cazul lotului control ($13,452 \pm 9,957 \text{ nmol/ml}$ față de $0,718 \pm 0,643 \text{ nmol/ml}$); iar nivelul grupărilor tiol având valori crescute ($232,36 \pm 12,01 \mu\text{mol/l}$) comparativ cu normalii ($156,05 \pm 9,4 \mu\text{mol/l}$).

Concluzii: (1) Datele noastre preliminare arată că analiza profilului lipidic ori a stresului oxidativ pot fi utile în diagnosticarea precoce și monitorizarea PSUP; (2) Rezultatele obținute par a fi totuși dependente de existența unor alte afecțiuni medicale conexe (diabetul, hipocolesterolemia, etc).



PROFILUL miARN ȘI NIVELUL DE METILARE A ADN ÎN CANCERUL COLORECTAL CU MUTAȚII LA NIVELUL GENELOR KRAS ȘI BRAF

Maria Dobre¹, Carmen Ardeleanu³, Marieta Costache²

¹INCD "Victor Babeș" București,

²Facultatea de Biologie - Universitatea din București,

³UMF "Carol Davila" București

Introducere: Cancerul colorectal (CCR) reprezintă o reală problemă de sănătate publică datorită incidenței și mortalității ridicate. Progresia CCR este un proces multifazic care poate dura chiar zeci de ani, depistarea acestuia realizându-se de obicei în stadii avansate. Prognosticul nefavorabil, cu supraviețuirea medie de 20 luni la pacienții cu metastaze, au impus îmbunătățirea mijloacelor de diagnostic, în special a diagnosticului precoce și identificarea unor noi ținte terapeutice.

Materiale și metode: Au fost luate în studiu fragmente tumorale și peritumorale de la 18 pacienți cu CCR cu status mutațional cunoscut pentru genele KRAS codoni 12, 13 și BRAF (V600E). Prin PCR array (Qiagen) s-a studiat expresia a 84 tipuri de miARN și nivelul de metilare a regiunii promotor a 22 de gene implicate în patologia tumorală colorectală.

Rezultate: Datele experimentale au relevat niveluri de metilare a ADN specifice fiecărui tip de mutație. Astfel, mutațiile genei BRAF se asociază cu epigenotipul hipermetilat, în timp ce mutațiile genei KRAS se asociază cu epigenotipul nemetilat. Cele mai multe tipuri de miARN au fost subexprimate în țesutul tumoral comparativ cu cel peritumoral. Anumite miARN, cum ar fi: miR-132, miR-138, miR-15b, miR-181d, miR-181c, miR-128 sunt subexprimate în țesuturile tumorale cu mutații KRAS codoni 12 sau 13 comparativ atât cu țesutul peritumoral colorectal cât și cu cel normal. Acestea ar putea reprezenta profilul miARN specific acestui tip de țesut tumoral colorectal.

Concluzii: Identificarea nivelurilor de metilare reprezintă un marker sensibil și specific atât pentru stabilirea unor clase moleculare cât și pentru diagnostic și prognostic în CCR. Asocierea subexpresiei anumitor tipuri de miARN cu existența mutațiilor genei KRAS oferă posibilitatea utilizării acestora ca potențiali agenți terapeutici la pacienții cu CCR cu mutații la nivelul genei KRAS.

Această lucrare a fost finanțată din contractele POSDRU/159/1.5/S/133391 și POSCCE 173/2010.



SCHIMBARE DE PARADIGMĂ ÎN ABORDAREA ARTRITEI REUMATOIDE

Gina Manda, Gheorghița Isvoranu, Maria Dobre

INCD "Victor Babeș" București

Abordare integrativă Artrita reumatoidă (AR) este o boală cronică cu componența autoimună și cu substrat inflamator local și systemic pregnant. Datorită naturii sale multifactoriale și poligenice AR continuă să fie o provocare pentru comunitatea medicală. Abordarea de tip "biologie de sistem" deschide o noua perspectivă holistică privind interacțiunile dintre molecule și procese implicate în patofiziologia AR.

Esecuri în descifrarea componenței autoimune: 1) AR este considerată boala cu componență autoimună, dar multitudinea de autoantigene identificate nu a permis evidențierea fără echivoc a acelor care susțin procesele autoimune în AR; 2) succesul terapiilor biologice care țintesc citokine pro-inflamatoare produse de sistemul macrofage-fibroblasti aduce în prim plan imunitatea înnăscută ca mecanism patologic central în AR.

Promisiunile teoriei „Danger” Modelul "danger" oferă o noua perspectiva asupra autoreactivității, complementară modelului tradițional "self-non-self", propunând stresul la nivel tisular ca element coordonator al răspunsului antiinflamator cronic mediat în principal de celulele mieloide.

Polarizarea răspunsului imun sub presiunea micromediului Factorii solubili secretați de celulele imune, în special de celulele mieloide și de sinoviocite, concura la polarizarea răspunsului imun către un fenotip pro-inflamator în AR. Recent, au fost evidențiate variante multiple de fenotip celular, dictate de configurații particulare ale micromediului. Astfel, semnatura unei rețele de biomarkeri reprezintă o abordare mai realistă pentru viitorul medicinei de precizie în AR decât biomarkerii individuali.

Conceptul de „medicină de rețea” Abordarea AR din punctul de vedere al profilului molecular genic și proteic, și nu al simptomatologiei, deschide noi perspective în înțelegerea și abordarea terapeutică a AR. Aplicarea instrumentelor specifice „medicinei de rețea” avansează ipoteza stresului oxidativ cronic ca proces patologic unificator în AR, și evidențiază ca țintă terapeutică rețeaua de semnalizare redox și sistemul antioxidant endogen.

Studiul a fost finanțat de programul Parteneriate prin proiectul PCCA 124/2014.



SESIUNEA 2A

ALGORITMI DE DIAGNOSTIC ANATOMOPATOLOGIC ÎN BOLI INFLAMATORII ȘI NEOPLAZII





FROM BEDSIDE TO BENCH AND BACK. ARE THERE ALGORITHMS FOR TRANSLATIONAL RESEARCH?

Sarit Aviel-Ronen

Sheba Medical Center, Tel-Hashomer, Israel

The goal of personalized medicine, to tailor medical treatment to the individual characteristics of each patient, depends on the ability to classify individuals into subpopulations based on biomarkers. The identification of biomarkers is the product of translational research, a process that starts at the bench or clinical setting, and ends at the patient bed side. How to construct a translation research? What strategies are possible? These questions and others will be discussed and demonstrated by presentation of some studies, emphasizing the pivotal role of pathology in this process.

ROLE OF PRECISION MEDICINE IN MESOTHELIOMA DIAGNOSIS AND DIFFERENTIALS

Lucian R. Chirieac.

Harvard Medical School, Brigham and Women's Hospital, Boston, USA



SUBTIPURI HISTOLOGICE RARE ȘI NEOBIȘNUTE DE CARCINOM PROSTATIC: CRITERII DE DIAGNOSTIC, IMPLICAȚII CLINICE, TERAPEUTICE ȘI PROGNOSTICE

Alis Dema

UMF “Victor Babeș” Timișoara

Peste 90% din cazurile de cancer de prostată diagnosticate sunt adenocarcinoame acinare. Chiar și în cadrul acestui grup relativ omogen de tumori există variante histologice cu particularități morfo-imunohistochimice care au impact asupra diagnosticului: carcinomul atrofic, pseudohiperplastic, cu celule spumoase, microchistic, cu celule Paneth - *like*, limfoepitelial-*like*, oncocitar, hipernefroid, cu micronoduli colageni, cu structuri glomeruloide.

La nivelul prostatei se pot dezvolta subtipuri histologice neobișnuite de carcinom – variante sau tipuri de carcinom non-acinar care, de regulă, au un prognostic mai rezervat comparativ cu carcinomul acinar: carcinomul ductal, carcinomul similar neoplaziei intraepiteliale prostatice de grad înalt (HGPIN-*like*), carcinomul intraductal, mucinous (coloid), cu celule în «inel cu pecete»/«inel cu pecete-*like*», carcinomul cu celule mici, sarcomatoid, cu celule gigante pleomorfe, scuamos și adenoscuamos, carcinomul cu celule bazale și carcinomul urotelial.

Lurarea de față prezintă criteriile de diagnostic și implicațiile clinice, terapeutice și prognostice ale variantelor și subtipurilor rare sau mai puțin obișnuite de carcinom prostatic.



NOI FACTORI DE PROGNOSTIC ÎN ADENOCARCINOMUL CERVICAL INFILTRATIV

Simona Stolnicu

UMF Târgu Mureș

The management of cervical adenocarcinoma is currently based on FIGO/AJCC stadialization (tumor size and depth of invasion-DOI). However, in most of these tumors, DOI is difficult to assess correctly and more than 95% of resected lymph nodes are negative.

Recent work has identified alternative parameters, which could better identify which patient may be at risk of lymph node (LN) metastases and can spare unnecessary lymphadenectomy. According to the new Silva system (Pattern A: well-demarcated glands, B: early destructive stromal invasion arising from well-demarcated glands, C: diffuse destructive invasion) patients are better stratified. Pattern A patients are never associated with metastases or recurrence, pattern B patients have rare instances of LN metastasis (5-9%), the latter finding of which is always accompanied by lymphovascular invasion (LVI) and exceedingly rare recurrence and 24% of the pattern C patients have lymph node metastases, do recur and are always associated with LVI.

Pattern A patients could be observed without additional treatment and avoid LN dissection. Pattern B patients could have sentinel LN sampling. In contrast, pattern C patients need extensive LN dissection and additional treatment might be also justified.

However, a recent study demonstrated that not all patients with pattern C behave aggressively but especially the ones associated with diffuse destructive, confluent, micropapillary architecture and multiple (more than 20) lymphovascular spaces involvement. Also, patients with pattern C have a shorter survival at 5 years and shorter free disease survival when associated with lymph node metastases comparing with patients without metastases.

All these information might be necessary for clinicians and pathologists and could be solid arguments for an alternative to FIGO/AJCC staging.



DIAGNOSTICUL HISTOPATOLOGIC AL BOLII INFLAMATORII INTESTINALE: ÎN SPRIJINUL RECOMANDĂRILOR ECCO

Gabriel Becheanu

*UMF "Carol Davila" București,
INCD "Victor Babeș" București*

Bolile inflamatorii intestinale sunt afecțiuni cronice cu incidență mai crescută în țările dezvoltate economic și au o etiopatogenie complexă, rezultată prin interacțiunea unor factori genetici și factori de mediu. Termenul de IBD (boală inflamatorie intestinală) a fost creat pentru a include boala Crohn și colita ulcerativă (rectocolita ulcero-hemoragică), adaugându-se de curând și colitele microscopice (colita colagenoasă și colita limfocitară). În ultimii 25 de ani, mai mulți factori au influențat acuratețea diagnosticului de boală inflamatorie intestinală. Introducerea și dezvoltarea tehnicii de endoscopie a permis evaluarea histologică a biopsiilor mucoale recoltate la nivele diferite ale tractului gastro-intestinal (rect, colon, ileon terminal și tract digestiv superior). Etiologia bolilor inflamatorii intestinale nu este clar elucidată și, de aceea, un tratament specific, care să se adreseze direct cauzei acestor afecțiuni nu este, încă, disponibil. Introducerea unor noi strategii de tratament, care interferează cu sistemul imun al pacientului, poate determina remisiunea marcată a leziunilor mucoale, chiar până la vindecarea mucoasă completă. Aceste aspecte evolutive trebuie cunoscute de către medicul anatomo-patolog atunci când evaluează histologic biopsii mucoale provenite de la pacienți în curs de tratament sau cu tratamente anterioare. Tratamentul medicamentos al bolilor inflamatorii intestinale poate schimba complet tabloul histologic, rezultând aspecte atipice, care pot reprezenta factori de eroare al diagnosticului corect.

Consensul inițiat de ECCO (Organizația Europeană de Boală Crohn și Colită Ulcerativă) împreună cu Societatea Europeană de Patologie (ESP) în anul 2012 urmărește să evalueze și să clarifice într-o măsură cât mai corectă diferite aspecte ale diagnosticului anatomo-patologic în bolile inflamatorii intestinale:

1. proceduri necesare pentru un diagnostic corect;
2. aspecte microscopice care pot fi utilizate în analiza biopsiilor endoscopice;
3. aspecte microscopice care pot fi utilizate în analiza pieselor chirurgicale;
4. criterii pentru diagnosticul pozitiv și diferențial;
5. situații speciale întâlnite în practica curentă, inclusiv cele care implică modificările mucoale postterapeutice.

Aspectele pivotale ale diagnosticului bolilor inflamatorii intestinale includ:

- a. tipul și numărul modificărilor histologice necesare pentru un diagnostic de certitudine;
- b. rolul examenului histologic în urmărirea evoluției;
- c. detecția displaziei epiteliale și a cancerului la pacienții cu aceste afecțiuni;
- d. precizarea aspectelor histologice care reprezintă semne de activitate a bolii.



SESIUNEA 2B

DIFICULTĂȚI DE DIAGNOSTIC ÎN HISTOPATOLOGIE (PREZENTĂRI DE CAZURI CLINICE)

*Florin Andrei, Doina Pop, Simona Enache, Ariana Neicu, Florina Cionca, Valentin Enache,
Leila Ali, Valentin Moldovan*

INCD "Victor Babeș" București





TUMORI CHISTICE MANDIBULARE ÎN BOLILE GENETICE (PREZENTĂRI DE CAZ)

F. Cionca¹, L. Cionca², C. Vizitiu²

¹INCD "Victor Babeș", București, România

²Spitalul Clinic de Chirurgie Oro-Maxilo-Facială "Prof. Dr. Dan Teodorescu", București, România

Cazul I: Pacient de sex feminin, în vârstă de 9 ani, se prezintă cu două formațiuni tumorale localizate lateromandibular bilateral, de dimensiuni medii, nedureroase, asimetrice, cu creștere progresivă. Examenul clinic mai evidențiază implantarea anormală a dentiției la nivelul maxilarului inferior. Radiologic se observă leziuni multichistice bilaterale mandibulare și implantarea anormală a dentiției. Examenul anatomo-patologic arată prezența a numeroase celule gigant multinucleate acidofile distribuite aleator într-o stromă fibrovasculară de celule mononucleate dispuse în ax. Afirmativ nu există alți membri ai familiei cu leziuni similare.

Examenul clinic precum și aspectele radiologice și histopatologice pledează pentru diagnosticul de cherubism, boală genetică rară transmisă autozomal-dominant, caracterizată de displazie osoasă benignă autolimitată aproape exclusiv maxilară. Boala afectează populația pediatrică, cu progresie lentă până la pubertate, urmată de remisie graduală, în general cu restitutio ad integrum.

Diagnosticul e confirmat molecular în 80% cazuri, identificându-se mutații ale genei SH3BP2, localizate la nivelul 4p16.3.

Cazul II: Pacient de sex feminin, în vârstă de 30 de ani, se prezintă cu formațiuni tumorale unilaterale la nivelul mandibulei, fără alte modificări la examenul clinic. Radiografia evidențiază leziuni multichistice mandibulare. Histopatologic se observă multiple cheratochisturi odontogene unilaterale. Pacienta a prezentat în antecedente alte trei leziuni similare localizate la nivelul maxilarului inferior, precum și două carcinoame bazale faciale. Istoricul familial evidențiază încă doi membri ai familiei cu leziuni similare.

Cheratochistul odontogen recurent al mandibulei și multiplele carcinoame bazale constituie criterii majore de diagnostic pentru sindromul Gorlin-Goltz sau carcinomul bazal nevoid celular, boală genetică cu transmitere autozomal-dominantă, penetranță completă și expresivitate variabilă. Sindromul mai poate asocia hiperkeratoză palmo-plantară, calcificări ectopice, anomalii scheletale, dismorfism facial, fibroame intracardiac și ovariene. Singura genă asociată sindromului e gena supresoare tumorală PTCH, localizată la nivelul cromozomului 9 (9q22.3-q31), cu mutații la majoritatea pacienților.





SESIUNEA 3

TEHNOLOGII “OMICE” ÎN CONTEXT TRANSLAȚIONAL





GENOMICA – ÎNTRE CERCETARE ȘI CLINICĂ

*Emilia Severin¹, Magdalena Budișteanu^{2,3}, Andreea Țuțulan-Cuniță², Sorina Mihaela Papuc²,
Aurora Arghir²*

¹UMF "Carol Davila" București,

²INCD "Victor Babeș" București,

³Spitalul Clinic de Psihiatrie "Prof. Dr. Alex. Obregia" București

Introducere: Integrarea tehnologiilor genomice în practica clinică are scopul de a îmbunătăți îngrijirea medicală prin adaptarea serviciilor medicale la necesitățile individuale ale pacientului.

Deși tehnologiile genomice sunt disponibile pe scară largă ele sunt utilizate limitat în clinică din cauza costurilor mari de implementare, a beneficiilor clinice încă nevalidate în unele cazuri sau a resurselor financiare insuficiente.

Autorii consideră necesară o prezentare a utilizării informației genetice în îngrijirea clinică în vederea identificării oportunităților de integrare a tehnologiilor genomice în serviciile medicale din România.

Metode: Consultarea bazelor de date Embase, Medline și PubMed în vederea selectării articolelor relevante publicate între anii 2003 – 2015.

Rezultate: Cunoștințele generate prin efortul cercetării genomice sunt deja aplicate în oncologie, farmacologie, boli rare, boli nediagnosticate și boli infecțioase.

Utilizarea unor tehnologii genomice (secvențierea ADN, secvențierea întregului genom/exom) a permis diagnosticul precis și rapid al multor boli monogenice și boli rare, identificarea unor noi gene candidate pentru dizabilitatea intelectuală severă, evaluarea riscului pentru cancer de sân/ovarian, identificarea opțiunilor terapeutice pentru tratarea cancerului de sân, a melanomului sau leucemiilor dar și determinarea cantității de medicament administrată pacientului pe baza genotipului său.

Concluzii: Translația rezultatelor cercetării genomice în practica clinică este dificilă, de durată și costisitoare. Aplicațiile clinice recente și beneficiile potențiale ale utilizării tehnologiilor genomice în practica medicală pentru prevenirea, diagnosticarea și tratamentul bolilor accelerează transferul rezultatelor din laborator la "patul bolnavului".



TULBURĂRILE DE SPECTRU AUTIST ȘI ALTE AFECȚIUNI NEUROPSIHATRICHE – ROLUL INVESTIGAȚIILOR GENOMICE ÎN ALGORITMUL DE DIAGNOSTIC

**Magdalena Budișteanu^{1,2,3}, Andreea Țuțulan-Cuniță¹, Sorina Mihaela Papuc¹, Ina Focșă¹,
Diana Bârcă², Raluca Grozăvescu², Bogdan Budișteanu², Catrinel Iliescu², Iuliana Dobrescu²,
Dana Craiu², Emilia Severin⁴, Aurora Arghir¹**

¹INCD "Victor Babeș" București,

²Spitalul Clinic de Psihiatrie "Prof. Dr. Alex. Obregia" București,

³Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București,

⁴UMF "Carol Davila" București

Afecțiunile neuropsihiatrice pediatrice, printre care și tulburările de spectru autist, sunt boli complexe cu o componentă genetică importantă. Cauzele genetice ale afecțiunilor neuropsihiatrice variază de la anomalii cromozomiale vizibile microscopic la mutații punctiforme. Introducerea hibridizării comparative genomice bazată pe microarray (aCGH).

s-a dovedit a fi esențială în investigarea acestui grup de afecțiuni, permițând identificarea unor dezechilibre de mici dimensiuni și a unor gene noi implicate în apariția fenotipului comportamental patologic.

Prezentăm 150 de cazuri cu tulburări de spectru autist și alte afecțiuni neuropsihiatrice (ticuri, boală bipolară, deficit de atenție și hiperactivitate, etc) investigate prin aCGH și CGH+SNP array în combinație cu metode clasice de investigație (examen de cariotip, hibridizare fluorescentă *in situ* - FISH).

Copiii afectați au prezentat fenotipuri complexe incluzând pe lângă autism sau alte probleme comportamentale, dizabilitate intelectuală, întârziere de limbaj, dismorfisme craniofaciale și/sau ale membrelor, crize epileptice, malformații congenitale etc. Tabloul clinic complex a pus probleme de tratament și supraveghere periodică.

Din perspectiva semnificației clinice, variantele genomice identificate la pacienții noștri au acoperit întregul spectru, de la benign la patologic. Dintre dezechilibrele genomice patologice identificate în acest grup de pacienți menționăm delețiile regiunilor genomice 8p11.2p21.2, 9q34.1, 9p13, 22q11.2, 22q13.3 precum și duplicațiile regiunilor genomice Xq28, 1q21.3q22, 4p16.1p16.3 și 13q14.13q34.

Investigațiile genomice efectuate la pacienții noștri s-au dovedit utile pentru stabilirea etiologiei genetice cu implicații asupra managementului acestor pacienți și a consilierii familiilor.

Proiect de cercetare: PN 09.33.02.03.



INVESTIGAȚIA GENOMICĂ ÎN BOLILE DE NEURODEZVOLTARE CU FENOTIP COMPLEX

Sorina Mihaela Papuc^{1,2}, **Andreea Țuțulan-Cuniță**¹, **Katharina Steindl**^{2,3},
Magdalena Budișteanu^{1,4}, **Pascal Joset**², **Lucia Abela**³, **Beatrice Oneda**², **Luke Simmons**³,
Déborah Mathis³, **Bernhard Schmitt**³, **Gabriele Wohlrab**³, **Lisa Crowther**³, **Markus Zweier**²,
Laura Gogoll², **Michael Papik**², **Barbara Plecko**³, **Emilia Severin**⁵, **Aurora Arghir**¹,
Anita Rauch^{2,3}

¹INCD "Victor Babeș" București,

²Institutul de Genetică Medicală - Universitatea Zürich, Elveția,

³Departamentul de Neurologie Pediatrică - Universitatea Zürich, Elveția,

⁴Spitalul Clinic de Psihiatrie "Prof. Dr. Alex. Obregia" București,

⁵UMF "Carol Davila" București

Dezvoltarea tehnicilor de rezoluție înaltă - hibridizarea comparativă bazată pe array (aCGH, SNP-array) și secvențierea de nouă generație - a condus la un progres semnificativ în înțelegerea etiologiei genetice extrem de heterogene a afecțiunilor de neurodezvoltare precum dizabilitățile intelectuale și epilepsia. Această lucrare reunește rezultatele investigațiilor genomice obținute pe 2 grupuri de studiu, pacienți cu dizabilități intelectuale și pacienți cu epilepsie, utilizând strategii diferite de investigare.

Protocolul de investigare în cazul primului grup, constituit din 195 de pacienți, a constat în evaluarea integrității cromozomiale structurale și numerice la toți pacienții luați în studiu, prin metode citogenetice clasice, studii moleculare țintite (FISH, PCR specific de metilare), urmate de aplicarea tehnologiei aCGH la pacienții fără modificări citogenetice identificate prin tehnicile aplicate anterior. În cazul celui de-al doilea grup de studiu, tehnologia SNP-array a fost aplicată la toți cei 60 pacienți, ce au prezentat ca trăsătură clinică comună epilepsie encefalopatică timpurie. La pacienții fără anomalii cromozomiale care să explice fenotipul clinic s-a aplicat tehnologia de secvențiere a întregului exom (WES). Aceasta tehnică a fost efectuată atât la pacienți, cât și la părinții acestora pentru a permite analiza în trio a datelor.

Strategiile de investigare prezentate mai sus au permis identificarea defectelor genetice patologice la 30% dintre pacienții din grupul 1, respectiv 38% din grupul 2. În concluzie, aplicarea combinată a tehnicilor de rezoluție înaltă bazate pe array și WES reprezintă o strategie eficientă de investigare a bolilor de neurodezvoltare permițând creșterea ratei de detecție a defectelor genomice cauzale precum și acumularea de date relevante pentru patogeneza acestor afecțiuni complexe.

Proiecte de cercetare: PN 09.33.02.03 și „Metabolic and Genetic Research into Early Onset Epileptic Encephalopathies” (Rare Disease Initiative Zürich (radiz) Clinical Research)



DIAGNOSTICUL MOLECULAR AL SURDITĂȚII GENETICE PRELINGUALE NON-SINDROMICE

**Cristina Dragomir¹, Adriana Ionescu³, Lorand Savu¹, Konstantinos Lilakos⁴,
Andreea Țuțulan-Cuniță², Emilia Severin³**

¹Genetic Lab București,

²INCD "Victor Babeș" București,

³UMF "Carol Davila" București,

⁴Antisel, Grecia

Introducere: Hipoacuzia este una din cele mai frecvente deficiențe întâlnite la naștere și este cea mai frecventă tulburare din întreaga lume. Unul din aproximativ 500 de nou-născuți prezintă surditate. Studiile epidemiologice au arătat că 50-60% din cazurile de surditate au cauze genetice, iar mutațiile genelor GJB2 și GJB6 sunt răspunzătoare pentru mai mult de jumătate din cazurile de surditate non-sindromică. Luând în considerare aceste aspecte, am investigat copii cu surditate prelinguală non-sindromică pentru a oferi un spectru actualizat al mutațiilor genelor GJB2 și GJB6. Scopul nostru a fost de a obține un diagnostic corect și de a realiza consilierea privind intervenția adecvată pe baza evaluării cauzelor pierderii auzului.

Materiale și metode: Au fost investigați genetic 125 de copii diagnosticați clinic cu surditate non-sindromică. Detectia mutațiilor genelor GJB2 și GJB6 la copiii incluși în studiu s-a realizat prin tehnicile ARMS-PCR, PCR multiplex, secvențierea Sanger și NGS.

Rezultate: 56% din cei 125 de copii investigați au prezentat mutații la nivelul genei GJB2. Cea mai frecventă mutație a fost c.35delG. A doua mutație ca frecvență a fost c.71G>A. Ambele mutații au fost detectate atât în stare homozigotă cât și heterozigot-compusă. De asemenea, au fost detectate și mutațiile c.-23+1G>A și c.380G>A, c.109G>A, c.551G>A. Nu s-au detectat mutații la nivelul genei GJB6.

Concluzii: Rezultatele noastre sugerează că mutațiile genei GJB6 sunt nesemnificative pentru populația României și că investigarea genei GJB2 ar trebui realizată în cazul copiilor cu surditate non-sindromică. De asemenea, screening-ul genetic neonatal ar putea oferi un diagnostic precoce ce permite intervenția corespunzătoare (aparate auditive sau implanturi cohleare, realizarea în timp util a programelor educaționale speciale), sporind astfel în mod substanțial șansele de recuperare a auzului, inclusiv dezvoltarea limbajului și integrarea copilului în societate.

Această lucrare a beneficiat de suport financiar prin proiectul " CERO - Profil de carieră: Cercetător Român", contract nr. POSDRU/159/1.5/S/135760.



PANEL DE SEMNALIZARE PERSONALIZAT – ABORDARE PROTEOMICĂ ÎN CANCER

**Cristiana Tănase^{1,2}, Elena Codrici¹, Daniela I. Popescu¹, Simona Mihai¹, Ana-Maria Enciu¹,
Laura Necula¹, Maria Linda Cluceru^{1,3}, Adrian Popa³, Radu Albulescu^{1,4}**

¹INCD "Victor Babeș" București,

²Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București,

³UMF "Carol Davila" București,

⁴ICCF București

Căile de semnalizare joacă un rol important în patogeneza tumorală, evoluția tumorii fiind corelată cu modificări la nivelul căilor de semnalizare. Monitorizarea unui panel de molecule de semnalizare poate oferi o mai bună înțelegere a evenimentelor implicate în progresia tumorilor și poate conduce la posibile identificări de biomarkeri și ținte terapeutice.

Evaluarea moleculelor implicate în semnalizare celulară, a citokinelor și receptorilor lor din lizate tumorale sau culturi celulare derivate din țesut tumoral și peritumoral prin metode proteomice/multiplexare s-a dovedit un instrument puternic de identificare a unor posibili biomarkeri tumorali. Rezultate originale au demonstrat că nivelurile de exprimare ale moleculelor de semnalizare au fost semnificativ crescute în tumorile analizate comparativ cu țesutul peritumoral, iar aceste rezultate s-au regăsit în culturi derivate de la pacienți.

Una din căile de semnalizare importante, care se constituie ca un adevărat "nod de comunicare" în tabloul complex al semnalizării intracelulare este PI3K-Akt. Ea este frecvent alterată în special în tumorile solide, iar studiile *in vitro*, folosind inhibitori de PI3K în culturile derivate de la pacienți, au putut sublinia implicarea acestui nod de semnalizare în realizarea unor terapii țintite, susținând utilitatea căii PI3K ca terapie antitumorală.

Multiplexarea prin metoda x-MAP poate fi utilizată ca o metodă rapidă și eficientă în identificarea unor molecule de semnalizare, citokine și/sau receptorii acestora, drept biomarkeri de diagnostic pentru anumite tumori. Printre avantajele oferite de această metodă se pot număra posibilitatea efectuării unui screening pentru biomarkeri moleculari, identificarea potențialelor ținte terapeutice și monitorizarea terapiei.

Acknowledgement: Această lucrare a fost parțial susținută prin proiectele PN II 265/2014, PNII 93/2012, PN II 192/2014



IDENTIFICAREA UNOR MICRO-ARN RELEVANTE PENTRU CANCERUL MAMAR DUPĂ TRATAMENTUL CU COMPUȘI BIOACTIVI NATURALI CU EFECT ANTIPROLIFERATIV ȘI ROL DE MODULATORI EPIGENETICI

Sevinci Pop¹, Gisela Găină^{1,3}, Emilia Manole^{1,2}

¹INCD "Victor Babeș" București,

²Centrul de Cercetare - Spitalul Clinic "Colentina" București,

³Facultatea de Biologie - Universitatea din București

Introducere: Mecanismele epigenetice (metilarea ADN-ului, modificarea histonelor, remodelarea structurii cromatinei și expresia microARN-urile) sunt implicate în controlul activării/represiei genelor, în diferențierea și dezvoltarea celulară, precum și în apariția/dezvoltarea patologiilor cronice. Subseturi de microARN-uri controlează expresia reglatorilor epigenetici: ADN metil-transferazele (DNMTs), histon-deacetilazele (HDACs), histone-acetilazele (HATs), etc. MicroARN-urile și proteinele din căile epigenetice formează o rețea de tip "feedback" care reglează și organizează întregul profil al expresiei genice. Compușii bioactivi naturali sunt capabili să moduleze mecanismele epigenetice, acționând asupra expresiei microARN-uri și a proteinelor reglatori epigenetici. Astfel, studiile folosind compuși bioactivi cu rol de modulatori epigenetici pe linii celulare tumorale pot aduce informații privind mecanismele circuitului microARN-uri – factori epigenetici și ar ajuta la descoperirea de noi ținte terapeutice.

Materiale și metode: Studiile s-au realizat pe două linii celulare tumorale mamare, MCF-7 (ER⁺ PR⁺), MDA-MB-468 (ER⁻ PR⁻) și pe una non-tumorală MCF-12A. Efectul antiproliferativ al tratamentului cu acidul docosahexaenoic (DHA) pe aceste linii celulare a fost determinat prin măsurarea impedanței electrice a stratului celular. Nivelul de exprimare al proteinelor DNMT 1, 3A și 3B a fost studiat prin imunofluorescență și Western Blot; iar expresia ARN-ului mesager și a microARN-urilor a fost cuantificată prin SyberGreen qRT-PCR.

Rezultate: Tratamentul cu DHA a prezentat un puternic efect antiproliferativ pe cele două linii tumorale, iar pentru MCF12A efectul a fost scăzut. Proteinele care controlează/mențin metilarea ADN-ului genomic au prezentat niveluri diferite de exprimare, fiind supraexprimate în celulele MDA-MB-468 comparativ cu MCF-7. S-a observat că nivelul lor scade la tratamentul cu DHA, pentru ambele linii celulare. Expresia ARN-ului mesager nu s-a modificat, dar a fost puternic afectat nivelul de expresie al unor microARN-uri care ar putea regla exprimarea acestor proteine, identificându-se o serie de posibili candidați.

Concluzii: Studiul a evidențiat legătura dintre expresia microARN-urilor și proteinele implicate în procesele epigenetice de metilare a ADN-ului genomic.

Studiul a fost finanțat prin Programul Nucleu 09, proiectul PN 09.33.03.12



MODIFICĂRI EPIGENETICE LA NIVELUL HISTONELOR NUCLEOZOMALE, INDUSE DE COMPUȘI NATURALI BIOACTIVI, ÎN CANCERUL MAMAR

Emilia Manole^{1,2}, Sevinci Pop¹

¹INCD "Victor Babeș" București,

²Centrul de Cercetare - Spitalul Clinic "Colentina" București

Introducere: Mecanismele epigenetice controlează expresia genelor. Factori dietetici și de mediu pot perturba aceste mecanisme, ducând la apariția unui fenotip malign. Una din modificările epigenetice importante o reprezintă modificarea gradului de acetilare/deacetilare sau metilare/demetilare la nivelul resturilor de lizină (K) ale histonelor H3 și H4. Hipoacetilarea la K16 și hipometilarea la K20me3 la nivelul histonei H4, sunt doi markeri comuni în diferite tumori solide. Studii recente arată că reversibilitatea alterărilor epigenetice poate fi indusă de compuși bioactivi naturali. Studiarea efectului acestora asupra mecanismelor epigenetice în diferite tipuri de cancer, poate fi utilă pentru terapia țintită și validarea/descoperirea de noi biomarkeri epigenetici.

Materiale și metode: Cercetarea s-a făcut pe culturi celulare și s-a studiat efectul indus de tratamentul cu DHA (acid gras de tip omega 3) asupra modificărilor epigenetice de la nivelul resturilor de lizină ale histonelor H3 și H4 pe doua linii celulare tumorale mamare, MCF-7 (ER⁺ PR⁺), MDA-MB-468 (ER⁻ PR⁻) și una non-tumorală, MCF-12A. Gradul de acetilare la histonele H4 (K16), H3 (K9), trimetilare la H3 (K9), tri/di metilarea de la H4 (K20) și expresia proteinelor SIRT1 și hMOF, responsabile pentru procesele de deacetilare, respectiv acetilare, s-au investigat prin imunofluorescență și Western blot.

Rezultate: Pentru celulele MCF-7, markerii epigenetici H4K16 prezintă grad ridicat de hiperacetilare respectiv hipermetilare (H4K20me3) la tratament prelungit cu DHA. Proteina SIRT1 este supraexprimată în celulele netratate, nivelul de expresie scăzând semnificativ în celulele tratate cu DHA. Proteina hMOF se comportă diametral opus. Pentru celelalte două linii celulare diferențele nu sunt semnificative. Pentru celulele tumorale ER⁻ PR⁻ nivelul de dimetilare al histonei H4 K20 (marker al represiei genice) scade semnificativ pentru celulele tratate, la celelalte doua linii celulare diferențele nefiind semnificative.

Concluzii: Studiul a evidențiat reversibilitatea modificărilor epigenetice induse de un compus natural bioactiv (DHA) pe celule tumorale de cancer mamar, demonstrand potentialul sau terapeutic.

Studiul a fost finanțat prin Programul Nucleu 09, proiectul PN 09.33.03.12



ANALIZA EXPRESIEI UNOR HISTON-DEMETILAZE CA REGLATORI EPIGENETICI ÎN LEZIUNI DISPLAZICE DE COL UTERIN HPV-INDUSE

**Iulia V. Iancu.¹, Anca Botezatu¹, Adriana Pleșa¹, Irina Huică¹, Demetra Socolov²,
Gabriela Anton¹**

¹*Institutul de Virusologie "Ștefan S. Nicolau" București,*

²*UMF "Gr. T. Popa" Iași*

Introducere: Infecția genitală cu genotipuri HPV de risc înalt poate conduce la apariția neoplaziei cervicale intraepiteliale și a carcinomului invaziv. Pentru transformarea neoplazică expresia oncogenelor virale E6 și E7 este esențială, dar nu suficientă. Recent, numeroase studii evidențiază rolul important al modificărilor epigenetice în carcinogeneza de col uterin, arătându-se că oncoproteinele E6 și E7 interacționează cu enzime modulatorie histonice care reglează capacitatea de transcriere a cromatinei celulei gazdă.

Scopul acestui studiu este de a evalua pattern-ul de expresie al unor histon-demetilaze (KDM) la paciente cu diferite tipuri leziuni cervicale (preneoplazice și neoplazice) și de a corela aceste rezultate cu progresia leziunilor cervicale în contextul infecției cu HPV.

Materiale și metode: Au fost incluse în studiu 86 de paciente cu vârsta medie de 42,5 (între 20-77 ani) cu leziuni displazice de col uterin. De la acestea s-au prelevat chirurgical fragmente biopsice pentru investigații anatomo-patologice și pentru izolarea acizilor nucleici în vederea testării virale (ADN HPV) și a determinării prin Real-Time PCR a nivelului de expresie al unor KDM asociate fie represiei fie activării transcripționale.

Rezultate: Evaluarea nivelului de expresie al KDM în leziuni precursoră și cancer cervical a indicat un profil diferit de expresie. Datele au evidențiat că anumite KDM par a se corela mai bine cu severitatea leziunii (KDM4C, KDM5C, KDM6A și KDM6B). Dintre aceste histon-demetilaze, expresia KDM6A și KDM6B poate constitui un marker de diferențiere între leziunile CIN1 și CIN2+ ($p=0,0062$, respectiv $p=0,0162$). Pe de altă parte, demetilaza KDM1B s-a dovedit a fi un potențial marker care poate discrimina între infecția HPV productivă versus infecția transformantă ($p=0,004$).

Concluzii: În lotul de paciente studiate s-a observat că pattern-ul de expresie al unor KDM se corelează statistic cu severitatea leziunii dar și cu prezența infecției cu HPV de risc înalt sugerându-se astfel un potențial rol pentru aceste demetilaze în diagnosticul leziunilor cervicale.

Acest studiu a fost finanțat prin proiectul: PNII-RU-TE-2014-4-2502.



INHIBAREA AQUAPORINELOR MODULEAZĂ MOTILITATEA KERATINOCITELOR

Cristina-Mariana Niculițe^{1,2}, Andreea Oana Urs¹, Mirela Onică², Mircea Leabu^{1,2}

¹INCD "Victor Babeș" București,

²UMF "Carol Davila" București

Introducere: Aquaporinele (AQP) sunt proteine transmembranare ce reglează transportul apei, fiind implicate într-o varietate de procese celulare, inclusiv migrarea. AgNO₃ este un inhibitor al transportului apei prin aquaporine. Prezentăm aici efectul asupra migrării keratinocitelor al dublului tratament cu AgNO₃ și cu acid cis docosa-4,7,10,13,16,19 hexaenoic (DHA), modulator al fluidității membranei.

Materiale și metode: Efectele tratamentelor asupra motilității celulare au fost monitorizate prin videomicroscopie în timp real, cu ajutorul sistemului BioStation IM, într-un model experimental de vindecare a rănilor. Influența tratamentului cu AgNO₃ și/sau DHA asupra distribuției AQP 1, 2 și 3 în keratinocite, precum și asupra kinazei adeziunilor focale (FAK), implicată în asamblarea contactelor focale, a fost investigată prin imunofluorescență.

Rezultate: Testarea mai multor concentrații de AgNO₃ a permis alegerea celei optime (10μM) pentru studierea influenței tratamentului cu DHA (100μM) și AgNO₃ asupra motilității celulare. Viteza de migrare a keratinocitelor displazice a scăzut după administrarea DHA și AgNO₃ față de cea a celulelor normale. Direcționalitatea mișcării în urma tratamentului doar cu DHA a fost mai puțin coordonată la keratinocitele normale, fără ca inhibarea AQP să aibă efect. În experimentele de imunofluorescență, după 2 ore de tratament cu AgNO₃, s-a observat o creștere a intensității semnalului AQP preponderent în jurul nucleului, sugerând o posibilă biosinteză *de novo* a AQP. În cazul AQP 1 și 2, efectul a fost mai pronunțat la celulele normale și mai mic la cele displazice, dar distribuția AQP către frontul de migrare a fost evidentă la toate celulele. Inhibarea AQP nu pare să influențeze exprimarea FAK, însă a fost observată o distribuție diferită a proteinei la celulele normale față de cele displazice.

Concluzii: Administrarea AgNO₃ și/sau DHA a afectat motilitatea celulară și exprimarea/distribuția aquaporinelor în mod diferit în keratinocitele normale și displazice.

Mențiuni: *Lucrarea a beneficiat de finanțare prin Programul Nucleu, PN 09.33.02.05.*





SÂMBĂȚĂ, 21 NOIEMBRIE 2015

SESIUNEA 4
SESIUNE DESCHISĂ





SESIUNEA 4

ANIMALE MODIFICATE GENETIC – INSTRUMENTE ÎN CERCETAREA BIOMEDICALĂ





CERINȚE LEGALE ÎN UTILIZAREA ȘI RAPORTAREA STATISTICĂ A ANIMALELOR MODIFICATE GENETIC

Cristin Coman

INCD "Cantacuzino" București

România a transpus integral legislația Uniunii Europene, atât pentru primirea în Uniunea Europeană cât și ulterior ca stat membru. În ceea ce privește organismele modificate genetic (OMG) documentul legislativ ce reglementează utilizarea în țara noastră a OMG este Ordonanța de Urgență nr. 44 din 23 mai 2007 privind utilizarea în condiții de izolare a microorganismelor modificate genetic. Textul inițial a fost publicat în Monitorul Oficial nr. 438 din 28 iunie 2007, iar Legea 3/2008 a adoptat ordonanța cu modificări și completări. Autoritatea competentă este Ministerul Mediului însă în domeniul animalelor de laborator competență are Autoritatea Națională Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor (ANSVSA): „c) asigură inspecția și controlul incintelor în care se derulează activități cu organisme modificate genetic ... în regimul animalelor de laborator”. În aceeași lege se prevede că: „Proiectele de cercetare-dezvoltare care fac obiectul de aplicare al prezentei ordonanțe de urgență nu pot fi finanțate fără depunerea din partea utilizatorului a unei copii după autorizație”.

Directiva 63/2010 privind protecția animalelor în scopuri științifice și omoloaga ei din dreptul intern Legea 43/2014 este și mai severă. Astfel, în sensul Directivei și al Legii 43/2014, "animalele modificate genetic" includ modificările genetice în mod natural sau induse.

Utilizarea animalelor pentru întreținerea coloniilor modificate genetic necesită o autorizație de proiect la fel și utilizarea de animale modificate genetic într-o procedură.

Animale modificate genetic sunt raportate statistic:

- a) atunci când sunt utilizate pentru crearea unei noi linii;
- b) atunci când sunt utilizate pentru menținerea unei linii în cadrul proiectului autorizat;
- c) atunci când sunt utilizate în alte proceduri;

Legislația actuală prevede o autorizare și raportare strictă a animalelor modificate genetic atât în scopul de a asigura protecția acestei categorii de animale, dar și pentru a oferi siguranță utilizatorilor și opiniei publice.



STADIUL IMPLEMENTĂRII DIRECTIVEI EUROPENE 63/2010 PRIVIND PROTECȚIA ANIMALELOR UTILIZATE ÎN SCOPURI ȘTIINȚIFICE ÎN ROMÂNIA

Magda Gonciarov

USAMV, Facultatea de Medicină Veterinară București

Scopul reglementărilor referitoare la protecția animalelor utilizate în scopuri științifice, este acela de a pune sub controlul unei autorități guvernamentale, utilizarea și creșterea animalelor de laborator, în vederea asigurării bunăstării acestei categorii de animale.

Astfel, în anul 2010 la nivelul Uniunii Europene intră în vigoare Directiva 63/2010/UE privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice.

România, ca stat membru al Uniunii Europene a adoptat aceasta directivă, fiind transpusă în dreptul intern prin Legea 43 din 11 aprilie 2014 privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice, iar în baza legii, ca legislație suplimentară, a fost elaborat Ordinul ANSVSA nr. 97/2015 care aprobă două norme:

- Norma sanitară veterinară privind procedura de autorizare sanitară veterinară a unităților utilizatoare, crescătoare și furnizoare de animale utilizate în scopuri științifice și
- Norma sanitară veterinară privind procedura de autorizare sanitară veterinară a proiectelor care implică utilizarea animalelor în proceduri.

Legea 43/2014 armonizează legislația românească cu cea din celelalte țări ale UE. Aceasta va duce la accesarea mai ușor a fondurilor de cercetare, având în vedere că bunăstarea animalelor, standardele etice și autorizarea proiectelor vor fi aproximativ identice în toate țările comunitare. Obligă autorizarea tuturor crescătorilor, furnizorilor și utilizatorilor de animale de laborator; obligă aprobarea tuturor studiilor pe animale înainte de începerea lor.

Legea nr. 43/2014 permite utilizarea animalelor doar atunci când alte metode nu sunt valabile și minimizează numărul animalelor utilizate în experimente. Solicită cercetătorilor să justifice utilizarea animalelor și dacă beneficiile așteptate din studiile lor sunt mai mari decât răul produs animalelor. Promovează și solicită respectarea principiilor 3R. Solicită personalului ce lucrează cu animalele să fie educat și instruit corespunzător și să-și demonstreze competența înainte de începerea lucrului cu animalele, atunci când nu sunt supervizați. Stabilește un laborator de referință care va coordona și va promova utilizarea metodelor alternative în cazul testelor pe animale.



GENERAREA UNUI MODEL TRANSGENIC MURIN PENTRU EXPRIMAREA CONDIȚIONALĂ, SPECIFIC ENDOTELIALĂ, A APOLIPOPROTEINEI E3 UMANE

Ioana Mădălina Fenyo

IBPC "N. Simionescu" București

Introducere: Ne-am propus generarea unui model transgenic pentru inducerea condiționată a exprimării hapoE3 în mod specific în endoteliu, folosind principiul transactivării transcripționale dependentă de tetraciclină.

Materiale și metode: Prin clonare moleculară, s-au obținut transgenele: (i) Tek/Tie2promotor-Tet3G-Tek/Tie2enhancer (TekTet3G, 5200pb) conținând gena Tet-On3G pentru proteina transactivator, sub controlul promotorului specific endotelial Tek/Tie2 ($P_{\text{Tek/Tie2}}$), și enhancerul specific endotelial Tek/Tie2 ($E_{\text{Tek/Tie2}}$); (ii) TRE-hapoE3 (5523pb) conținând gena pentru hapoE3 sub controlul P_{TRE3G} inductibil. Celule BPAEC, RAW264.7 și HTB-11 au fost transfectate cu plasmide conținând fie $P_{\text{Tek/Tie2}}$, fie $P_{\text{Tek/Tie2}}$ și $E_{\text{Tek/Tie2}}$, pentru a le testa funcționalitatea și specificitatea prin determinarea capacității lor de a activa transcrierea genei luciferazei. Pentru a testa capacitatea de a induce condiționat exprimarea hapoE3, celule BAEC, PBAEC și HTB-11 au fost co-transfectate cu plasmide conținând transgenele, cultivate în prezența sau absența Dox, iar expresia proteică a hapoE3 s-a determinat prin Western blot. Transgeneza s-a făcut prin injecție pronucleară în ovocite fertilizate de la femele de șoarece din linia FVB, reimplantate apoi în femele pseudogestante. Animalele transgenice au fost identificate prin genotipare prin PCR.

Rezultate: $P_{\text{Tek/Tie2}}$ este activat în BPAEC, dar nu și în Raw 264.7 sau HTB-11. $E_{\text{Tek/Tie2}}$ a indus creșterea activității $P_{\text{Tek/Tie2}}$ (≈ 1.8 ori) specific în BPAEC și nu a avut efect asupra activității acestuia în Raw 264.7 sau HTB-11. Celulele BAEC și BPAEC co-transfectate cu plasmidele pGL3-Tek/Tie2promotor-Tet3G-Tek/Tie2enhancer și pTRE3G-hapoE3 au exprimat hapoE3 doar în prezența Dox, iar celulele HTB-11 nu au exprimat hapoE3. Prin transgeneză, s-au obținut un fondator pentru linia TRE-hapoE3 și patru pentru linia TekTet3G.

Concluzii: S-a dezvoltat un șoarece dublu-transgenic în care exprimarea hapoE3 să poată fi indusă prin administrarea Dox. Pentru o exprimare în absența apoE endogen, animalele au fost înmulțite cu șoarecele apoE deficient.

Mulțumiri: Academia Română, PN-II-ID-PCE-2011-3-0591 197/2011, POSDRU/159/1.5/S/133391-finantat de Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial pentru Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 – 2013.



ȘOARECII KNOCKOUT LA CAVEOLINĂ 1 CA MODEL DE BOLI NEURODEGENERATIVE

**Ana-Maria Enciu^{1,2}, Maria Dudău², Elena Codrici¹, Ionela Daniela Popescu¹, Simona Mihai¹,
Radu Albulescu^{1,3}, Cristiana Tănase^{1,4}**

¹INCD "Victor Babeș" București,

²UMF "Carol Davila" București,

³ICCF București,

⁴Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București

Introducere: Animalele de laborator knockout reprezintă un instrument valoros în cercetarea fundamentală. Datorită expresiei abundente a acestei proteine la nivelul endoteliului în condiții normale, șoarecii knockout la caveolină-1 reprezintă un instrument util în special pentru studiul bolilor cardiovasculare. Deși acest model a început să fie recunoscut în ultimii ani și ca model de boli neurodegenerative, mecanismul de apariție a modificărilor patologice nu este elucidat.

Material și metode: Cortexul cerebral recoltat de la 2 loturi de animale (knockout și control) a fost investigat prin western blot și real-time PCR pentru expresia proteinei precursoră a amiloidului (APP), esențială în dezvoltarea bolii Alzheimer

Rezultate: Analiza western blot a arătat scăderea expresiei APP în cortexul șoarecilor knockout la caveolină-1, comparativ cu controlul. Mai mult, această scădere este limitată la nivelul cortexului și nu se regăsește la nivelul cerebelului. În schimb, datele de real-time PCR au fost neconcludente.

Concluzii: Nivelul proteinei precursoră a amiloidului este modificat în mod specific în cortexul șoarecilor knock-out la caveolină-1. Mai multe date sunt necesare pentru a elucidă mecanismul de apariție al acestei modificări.

Acknowledgement: *Această lucrare este parțial sprijinită de către Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane (POS DRU) finanțat din Fondul Social European și de către Guvernul României prin contractul nr. POS DRU 141531 și de către PN 09.33-04.15; PNII-RU-TE-2014-4-1534, nr 101/1.10.2015.*



PROFILUL CITOKINELOR, CHEMOKINELOR ȘI FACTORILOR DE CREȘTERE LA ȘOARECII TRANSGENICI PENTRU CAVEOLINA-1

**Elena Codrici¹, Ionela Daniela Popescu¹, Simona Mihai¹, Ana-Maria Enciu^{1,2}, Radu Albulescu³,
Cristiana Tănase^{1,4}**

¹INCD "Victor Babeș" București,

²UMF "Carol Davila" București,

³ICCF București,

⁴Facultatea de Medicină - Universitatea "Titu Maiorescu" București

Introducere. Pentru a evalua rolul caveolinei-1 în biogeneză, endocitoză, proliferare celulară cât și în alte mecanisme moleculare, a fost creat un model de șoarece knockout pentru caveolina-1 (CAV-1^{-/-}). Scopul studiului a fost de a investiga modularea nivelurilor plasmatice ale diferitelor citokine, chemokine și factori de creștere la acești șoareci (respectiv, în absența caveolinei-1).

Material și metode. A fost analizată plasma provenită de la șoareci transgenici Cav-1^{-/-} (CAV-1 KO: Cav1tm1Mls/J) și control Cav-1^{+/+} (B6129PF2/J) (The Jackson Laboratory) utilizând două tehnologii de multiplexare: xMAP și Proteome Profiler. Platforma Luminex200 a fost utilizată pentru achiziție, iar analiza datelor obținute prin multiplexare a fost realizată utilizând softul xPONENT 3.1. Dot-bloturile rezultate din analiza Proteome Profiler au fost scanate utilizând scanner-ul MicroChemi 4.2 și analizate cu softul ImageJ.

Rezultate. Analiza xMAP a relevat valori plasmatice crescute, cu diferențe semnificative statistic ($p < 0,05$) la șoareci transgenici față de martori, pentru următoarele molecule: IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-4, IL-12p70, TNF α și VEGF. În urma analizei Proteome Profiler moleculele IL-1a, IL-6, RANTES, IL-12p70, eotaxin și VEGF au înregistrat valori crescute ($p < 0,05$) în plasma provenită de la șoareci transgenici, comparativ cu lotul martor.

Concluzii. Cercetările noastre demonstrează ca panelul de citokine, chemokine și factori de creștere menționat mai sus este corelat cu absența caveolinei-1 la acești șoareci transgenici. Monitorizarea profilului molecular la șoareci KO pentru caveolina-1 ne poate permite o mai bună înțelegere a implicării acestei mutații în mecanismele moleculare din diferite patologii.

Acknowledgement: Această lucrare este parțial sprijinită de către Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane (POS DRU) finanțat din Fondul Social European și de către Guvernul României prin contractul nr. POS DRU 141531, PN 09.33-04.15 și PN 09.33-03.10.



MODELE MURINE DE TRANSPLANTARE UTILIZATE ÎN CANCER

*Laurențiu Anghelache¹, Bogdan Marinescu¹, Gheorghița Isvoranu¹, Valeriu Cișmașiu¹,
Adrian Feghiu², Manuella Militaru²*

¹INCD "Victor Babeș" București,

²USAMV București

Introducere: Modelele murine de transplantare includ tehnici de propagare a tumorii în șoareci pentru studii in vivo. Metodele au fost folosite de decenii și sunt modele bine optimizate, altele sunt mai recente și în dezvoltare.

Materiale și metode: Modelul murin de tip alogrefă se realizează periodic în cadrul unității noastre. Sunt utilizați șoareci C57BL/6 (donor-receptori) în vârstă de 3 luni. Suspensiile celulare (melanom și carcinom) se administrează subcutanat, în doză de 1×10^6 – 2×10^6 per șoarece.

Modelul murin de tip xenogrefă a utilizat șoareci transgenici din linia NU/J (nuzi și imunodeficienți).

S-a transplatat suspensia celulară (Sarcom Stiker), prin administrare subcutanată și intraperitoneală.

Modelul murin, manipulat genetic pentru leucemie mieloidă acută umană, a fost realizat prin utilizarea șoarecilor transgenici knock-in. Celulele stem hematopoietice, cu oncogenă Mll-AF9KI/+ sunt recoltate din maduva osoasă și administrate intravenos, șoarecilor din linia B6SJL (iradiați cu doză de 7,5 Gy). Celule stem hematopoietice, fără oncogenă (Mll-AF9+/+) s-au transplatat pentru control.

Investigarea transplantului s-a realizat prin: examen clinic periodic, examen anatomopatologic și citometrie în flux.

Rezultate: Datele experimentale confirmă realizarea transplantului datorită caracteristicilor specifice ale celulelor grefate. În cazul transplantului de celule leucemice, datele de citometrie în flux indică un randament de aproximativ 85-90%.

Concluzii: Modelele experimentale prezintă avantaje și dezavantaje, datorate răspunsului imun, respectiv microclimatului tumoral.

Modelul de inginerie genetică este mai exact histologic și genetic. Limitările privind frecvența, latența și creșterea tumorală ne amintesc de caracterul variabil al tumorilor.

Studiul a fost susținut financiar de către Ministerului Educației și Cercetării prin programul NUCLEU PN09.33-04.17 și prin CNCS-UEFISCDI PN-II-ID-PCE-2012-4-0395.



MODELAREA LEUCEMIEI MIELOIDE ACUTE IN VIVO PRIN TRANSLOCAȚIA COMOZOMIALĂ t(9;11)(p22;q23) INDUSĂ ÎN GENOMUL MURIN

*Laurențiu Anghelache, Florina Gisela Găină, Mihaela Surcel, Andreea Oana Urs,
Cristina Mariana Niculițe, Bogdan Marinescu, Radu-Ionuț Huică, Gheorghița Isvoranu,
Valeriu Cișmașiu*

INCD "Victor Babeș" București

Leucemia mieloidă acută este rezultatul acumulării succesive de mutații în celulele stem hematopoietice și progenitorii oligopotenți ai celulelor mielopoietice. Transformarea tumorală este declanșată de către mutația primară, care destabilizează genomul celulei pre-leucemice, și care, astfel, favorizează acumularea mutațiilor secundare, necesare apariției celulei leucemice. Dacă celula pre-leucemică este în mod necesar o celula stem, singura capabilă de a perpetua mutațiile acumulate, studiile recente au arătat că, în cazul leucemiei mieloidă, celula stem leucemică poate proveni dintr-o celulă aflată în procedura de diferențiere mieloidă (cel mai frecvent, progenitori comuni ai monocitelor și granulocitelor).

În contextul distincției dintre celula pre-leucemică (celula inițitoare a cancerului) și celula stem leucemică, care dintre ele eludează tratamentul antitumoral și este responsabilă pentru recidiva leucemică? Răspunsul implică definirea imunofenotipică cât mai exactă a celor două populații celulare și, implicit, depinde de generarea unui model experimental care să reproducă cu mare fidelitate leucemia mieloidă umană. Modelul experimental utilizat în laboratorul nostru se bazează pe șoarecii $Kmt2a^{tm2(MLLT3)Thr/+}$ (#009079, The Jackson Laboratory, USA), în care gena *MLLT3* (AF9) este ligată în locusul genei *Kmt2a* (MLL), echivalentul translocației comozomiale t(9;11)(p22;q23) întâlnită în leucemia mieloidă acută.

În consecință, alela mutantă determină expresia unei proteine hibrid MLL-AF9 care alterează reglajul epigenetic al genomului, favorizând mutațiile secundare în celulele hematopoietice stem și progenitoare. Avantajele și dezavantajele modelului, precum și rezultatele imunofenotipării vor fi discutate prin raportare la modelul alternativ, frecvent utilizat și anume introducerea genei codificatoare a hibridului MLL-AF9 în celulele hematopoietice prin transducție virală.

Deoarece fenotipul celular leucemic variază în funcție de modelul experimental, descifrarea corectă a mecanismelor transformării oncogenice depinde de calitatea modelului folosit în reproducerea fidelă a patologiei leucemiei mieloidă umane.

Studiul este finanțat parțial de către Ministerul Educației Naționale, CNCS-UEFISCDI PNII-ID-PCE-2012-4-0395.





SESIUNE DESCHISĂ

**CONTRIBUȚII DOCTORANZI,
POST-DOCTORANZI ȘI ALTE COMUNICĂRI**





CE, CUM, DE CE ÎNVĂȚĂM (PE ALȚII) MEDICINA ÎN SECOLUL XXI?

Mihnea I. Nicolescu.

*UMF "Carol Davila" București,
INCD "Victor Babeș" București*

Introducere: Cantitatea de date și informații referitoare la fiziologia și patologia umană crește exponențial. Educația medicală este pusă în fața unei probleme majore de selecție a noțiunilor de predat, dar și a modului de prezentare a acestora. Scopul rămâne același: formarea de medici capabili să își folosească raționamentul și cunoștințele acumulate pentru a ajuta alți oameni.

Studiul de față își propune a prezenta schimbările de abordare pedagogică necesare în vederea atingerii acestui scop, luând în calcul caracteristicile specifice secolului XXI.

Materiale și metode: Clasic, procesul didactic presupune existența a trei entități: profesorul, studentul și noțiunile de transmis. O importanță crescută o are însă anume modul de transmitere. Am comparat două stiluri pedagogice – românesc și anglo-saxon – la nivel universitar și postuniversitar. Elementele studiate au inclus managementul activității didactice propriu-zise, dar și cerințele de implicare activă a studentului.

Rezultate: Evaluarea unei activități pedagogice constă în finalitatea acesteia. Sistemele moderne educaționale, care au ținut cont de schimbările de metodologie și de structură a auditoriului, au drept rezultat un număr crescut de absolvenți care practică meseria pentru care au fost instruiți. Pe de altă parte, MOOC-urile (*massive open online courses*), deși privite ca alternativă la educația tradițională, nu au demonstrat în ultimii ani că pot înlocui complet metodele clasice.

Concluzii: Conceperea cursurilor și a celorlalte activități pedagogice trebuie să ia în calcul particularitățile generației căreia îi sunt adresate. Tinerii din generația „mileniului” (*născuți la finalul mileniului trecut – n.a.*) sunt participanți activi în procesul didactic, iubitori de tehnologie, cu spirit de echipă; cu o energie care trebuie captată și utilizată în beneficiul lor și al colegilor.

Studentul învățat CUM și DE CE să învețe, cu siguranță va învăța CE să învețe.

Mențiune: *Această lucrare este parțial sprijinită de către Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane (POSDRU) finanțat din Fondul Social European și de către Guvernul României prin contractul nr. POSDRU 141531.*



DINAMICA TELOCITELOR ÎN INFARCTUL MIOCARDIC EXPERIMENTAL LA ȘOBOLANI

Cătălin G. Manole^{1,2}, *Ruxandra Drăgoi Antunes Guerra Galrinho*¹, *Gheorghîța Isvoranu*²

¹UMF "Carol Davila" București,

²INCD "Victor Babeș" București

Introducere: Prezența telocitelor (un tip de celulă interstițială relativ nou) a fost documentată în intersitițiul celor trei straturi ale peretelui cardiac (epicard, miocard, endocard) atât la om, dar și la diverse specii animale. Particularitățile de distribuție și interacțiune ale telocitelor indică o serie de roluri posibile pe care acestea le pot avea în fiziopatologia cardiacă. Am folosit modelul de infarct miocardic experimental în încercarea de a studia modificările (ultra)structurale din periferia cicatricii de infarct miocardic, cu accent pe relația telocite - (neo)angieneză.

Materiale și metode: S-au folosit șobolani de laborator din speciile Wistar și Sprague Dawley. Inducerea infarctului miocardic s-a realizat prin ligatura chirurgicală a arterei coronare descendente stângi. Performanța ligaturii și răsunetul funcțional asupra ventriculului stâng au fost apreciate folosind ecocardiografia. Documentarea dinamicii distribuției și a modificărilor (ultra)structurale ale telocitelor s-a realizat folosind microscopia electronică și imunohistochimia.

Rezultate: Numărul, tiparul de distribuție și modificările ultrastructurale ale telocitelor cardiace variază în funcție de zonele leziunii de infarct miocardic. Ultrastructural, s-a documentat strânsa vecinătate a telocitelor cu celulele endoteliale ale elementelor de (neo)angieneză cu care stabilesc multiple nanocontacte (cu spațiu intermembranar < 50 nm). Multiple vezicule de secreție indică faptul că telocitele au secreție paracrină, iar studii individuale au indicat prezența de microARN proangiogenic la nivelul telocitelor.

Concluzii: Datele experimentale sugerează variația densității și distribuției telocitelor în concordanță cu evoluția leziunii de infarct miocardic. Mai mult, datele sugerează implicarea telocitelor în (neo)angieneză în periferia leziunii de infarct miocardic la 4 săptămâni de la întreruperea fluxului sanguin coronar. În altă ordine de idei, acest model de infarct miocardic experimental reprezintă o alegere bună pentru a oferi răspunsuri la aspectele fiziopatologice și terapeutice ale infarctului miocardic, atât din punct de vedere al reproductibilității rezultatelor, dar și din punct de vedere economic.

Mențiuni: Această lucrare este finanțată din proiectele POSDRU/159/1.5/S/141531 și PN-11-RU-TE-2014-4-1811.



PREDICȚIA REZISTENȚEI LA RIFAMICINE A TULPINILOR DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS MULTIDROG-REZISTENTE DIN ROMÂNIA

*Simona Péter^{1, 2}, Ionuț Pavel¹, Florin Rusu-Cordunean¹, Ina - Iuliana Macovei¹,
Daniela Diculencu², Bogdan-Dragoș Grigoriu¹*

¹UMF "Gr. T. Popa" Iași,

²CPI Iași

Introducere: Tuberculoza multidrog-rezistentă reprezintă o dificultate în abordarea terapeutică.

Scopul studiului a fost de a investiga corelația între fenotipul rezistenței la rifamicine (rifampicina, rifabutina, rifapentina) și mutațiile din regiunea de 81 perechi de baze la tulpinile de *Mycobacterium tuberculosis* multidrog-rezistente izolate în regiunea de Nord-Est a României în perioada ianuarie 2009 și februarie 2014.

Material și metodă: Au fost utilizate un număr de 127 de tulpini de *Mycobacterium tuberculosis* provenind din colecția laboratorului de Bacteriologie a Spitalului de Pneumoftizilogie Iași. Aceste probe au fost supuse testării sensibilității la linia a I-a și la linia a II-a precum și testării CMI printr-o metoda MODS modificată. Secvențierea Sanger pentru detectarea prezenței genei rpoB a regiunii RRDR a fost efectuată pe 66 de tulpini dintre acestea.

S-a vizat secvențierea directă a regiunii de 81 bp care codifică subunitatea beta a ARN polimerazei micobacteriene – RRDR.

Rezultate: Toate tulpinile studiate au prezentat rezistență la rifampicină (RMP) – valorile concentrațiilor minime inhibitorii (CMI) au fost peste 2 µg/ml cu o singură excepție (1 µg/ml). Situația a fost similară pentru rifapentină (RIP), la care concentrațiile minime inhibitorii au fost peste 1 µg/ml. Douăsprezece tulpini au avut valori ale CMI-ului sub 0.5 µg/ml astfel ele fiind considerate sensibile).

Mutațiile detectate în regiunea de 81 pb ce determină rezistență la rifampicină se regăsesc la nivelul a cinci codoni: 511, 516, 526, 531 și 533. La un singur izolat secvențiat au fost două mutații: una la nivelul codonului 516 și a doua la nivelul codonului 526.

Mutațiile din codonul 516 nu par a fi factorul determinant al sensibilității la rifabutină deoarece nu se observă diferențe semnificative între tulpini.

Concluzii: Metoda este utilă în detecția rifampicinei însă nu pune în evidență corelația dintre rezistența la rifampicină și sensibilitatea la rifabutină a tulpinilor MDR TB. Acest lucru indică necesitatea secvențierii întregului genom micobacterian.

Surse de finanțare: PN-II-ID-PCE-2011-3-0565



UTILIZAREA TEHNOLOGIEI IONTORRENT-WGS PENTRU CARACTERIZAREA TULPINILOR MULTIDROG-REZISTENTE DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

*Pavel Ionuț¹, Macovei Ina Iuliana¹, Péter Simona^{1,2}, Rusu-Cordunean Florin¹,
Diculencu Daniela², Grigoriu Bogdan-Dragoș¹*

¹UMF "Gr. T. Popa" Iași,

²CPI Iași

Introducere: În fiecare an sunt diagnosticate aproximativ 12000 de noi cazuri de tuberculoză, din care 500 cu multidrog-rezistență (MDR-MTB). Democratizarea metodelor de biologie moleculară a permis identificarea și determinarea profilului de rezistență a sușelor de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) în câteva zile.

Scopul: Studiarea capacității tehnologiei NGS de identificare a sușelor de *Mycobacterium tuberculosis* multidrog-rezistente și corelarea cu metoda fenotipică.

Material și metodă: Un număr de 64 de izolate MTB-MDR au fost secvențiate pe o platforma IonTorrent apoi aliniate la genomul de referință *H37Ra*. Analiza bioinformatică s-a efectuat cu programul SeqNext. În studiu au fost incluse 33 de gene implicate în rezistența la antituberculoasele curențe de linia I-a și a II-a (izoniazidă - INH, rifampicină - RMP, acidul para-amino-salicilic PAS, etambutol - EMB, capreomicină - CAP, cicloserină - DCS, kanamicină - KAN, etionamidă - ETH, ofloxacină - OFX, streptomycină - SM).

Rezultate: Adâncimea de citire pentru toate sușele de MTB a fost de aproximativ 50X, cu o încărcare medie a cipului de 63%. Analiza bioinformatică a permis identificarea a 113 mutații diferite pe genele studiate, 23 dintre acestea fiind descrise în baze de date internaționale ca mutații de rezistență. Corelarea profilului genotipic cu cel fenotipic a prezentat o concordanță de 91% pentru tulpinile MDR, 95% pentru INH, 95% pentru RMP și 84% pentru EMB. Mutațiile de rezistență identificate au fost prezente pe genele *inhA* (I21T n=1), *katG* (S315T n=60), *rpoB* (V146F n=1, L511P n=2, Q513P n=1, D516V n=11, H526N n=1, H526Y n=7, S531L n=33, S531W n=1, L533P n=4) și *embB* (M306L n=2, M306V n=5, M306I n=31, D354A n=3, Q497R n=5).

Concluzii: Utilizarea tehnologiei IonTorrent permite detectarea rapidă atât a sușelor multidrog-rezistente cu mutații cunoscute cât și identificarea de noi mutații cu posibile implicații în rezistența la antibiotice, prezentând un potențial ridicat pentru ghidarea clinicienilor și laboratoarelor de referință.

Surse de finanțare: PN-II-ID-PCE-2011-3-0565.



COMPARAREA A TREI METODE DE BIOLOGIE MOLECULARĂ PENTRU DETECȚIA MUTAȚIILOR EGFR DIN ADENOCARCINOAME PULMONARE: NGS-ION TORRENT, SNAPSHOT/ANALIZA DE FRAGMENTE, REAL-TIME PCR

*Ina Iuliana Macovei^{1,2}, Andrei-Tudor Cernomaz^{1,2}, Ionuț Pavel^{1,2}, Mihai Marinca²,
Carmen Grigoriu², Rusu-Cordunean Florin¹, Péter Simona², Bogdan - Dragoș Grigoriu^{1,2}*

¹IRO Iași,
²UMF "Gr. T. Popa" Iași

Introducere: Determinarea mutațiilor EGFR reprezintă un element important în managementul cancerelor pulmonare non-microcelulare, ele putând fi prezente în 10 până la 40% din adenocarcinoame. Scopul acestei lucrări este de a compara trei tehnici de detecție a mutațiilor EGFR: qPCR, SnaPShot/analiză de fragemente și NGS.

Materiale și metode: Un total de 64 biopsii fixate la parafină de adenocarcinoame pulmonare au fost testate pentru identificarea mutațiilor EGFR prin trei metode: un test qPCR bazat pe tehnologia TaqMan (EGFR Entrogen kit), o tehnică in-house combinând SNaPShot/analiza de fragmente și secvențiere NGS pe o platformă Ion Torrent utilizând un panel comercial predefinit (Ion AmpliSeq Cancer Hotspot).

Rezultate: Analiza qPCR a permis identificarea a 15 mutații EGFR pentru 14 probe (c.2573T>G n=8, c.2361G>A n=1, delețiile exonului 19 n=5, c.2155G>A/T/C n=1), prin SNaPShot am identificat 11 mutații EGFR pentru 10 probe (c.2573T>G n=5, c.2361G>A n=1, delețiile exonului 19 n=4, c.2155G>A n=1). O probă a prezentat dublă mutație c.2573T>G și c.2361G>A.

Analiza datelor obținute la secvențierea NGS cu parametrii de calitate prestabiliți a permis detecția a 10 mutații EGFR pentru 9 probe (c.2573T>G n=5, c.2361G>A n=1, delețiile exonului 19 n=3, c.2155G>A n=1). Adâncimea de citire a fost 1265 +/- 637x cu o medie de 1024x. Analiza manuală a regiunilor hotspot a permis identificarea mutațiilor, inclusiv, la probele cu procent tumoral mic. Pe lângă mutațiile comune detectate prin qPCR și SNaPShot, prin NGS s-au mai identificat pe gena EGFR: trei inserții pe exonul 20, cinci mutații punctuale și 58 mutații silențioase.

Concluzii: Cele trei metode utilizate oferă rezultate similare pentru probe cu procent de celule tumorale ridicat (> 15%). Utilizarea NGS sau SNaPShot presupune o interpretare atentă a datelor pentru probe de o calitate inferioară. Alegerea metodei de analiză presupune luarea în considerare a mai multor factori ca: echipament, expertiză, profilul laboratorului.

Surse de finanțare: IZERZO_142235_1/2012, PN-II-RU-TE-2014-4-2858, POSDRU 159/1.5/S/136893.

Mulțumiri: Medical Systems GmbH (Ettenheim, Germania) pentru programul SeqNext.



ANALIZA DATELOR DE SECVENȚIERE MASIV-PARALELĂ – ALTERNATIVELE ANALISTULUI DEBUTANT

Radu-Ionuț Huică^{1,2}, Adriana Narcisa Munteanu¹, Mihaela Surcel¹

¹INCD "Victor Babeș" București,

²UMF "Carol Davila" București

Introducere: Analiza datelor de secvențiere masiv-paralelă (NGS) poate fi realizată folosind soluții bioinformatiche comerciale (programe brevetate care însoțesc, uzual, echipamentele de secvențiere), sau soluții deschise și/sau gratuite, dematerializate sau instalate local. Diversitatea și dinamica dezvoltării acestora reprezintă în același timp un avantaj, dar și o problemă pentru utilizatorul debutant în tehnologii NGS.

Materiale și metode: Au fost evaluate variantele de analiză a unui set de date NGS generate de echipamentul de secvențiere Ion Torrent PGM (ITPGM, Life Technologies / Thermo Scientific) pentru opt probe de melanom malign. Pentru evaluare au fost utilizate sisteme de operare Windows (7 și 10) și Linux virtualizate (Ubuntu 14 și BioLinux 8), în variante de lucru cu interfețe grafică (GUI) și prin linii de comandă (CLI). Datele experimentale primare au fost analizate cu programe brevetate dedicate, furnizate sau accesate de/prin intermediul producătorului echipamentului ITGPM (mediul integrat de gestionare a echipamentului și datelor Torrent Suite Software (TSS) și serviciul-software de analiză Ion Reporter) și cu variante software independente (SI), instalate local sau la distanță.

Rezultate: Evaluarea calității datelor primare (pre-procesarea) a furnizat date concordante pentru TSS și SI (în ambele variante, GUI și CLI). Analiza propriu-zisă a datelor prin TSS și Ion Reporter (în GUI) a oferit, în plus, informații privind variațiile genomice (0-3 per probă).

Concluzii: Fluxurile de lucru brevetate de producători sau propuse de utilizatori independenți avansați prezintă reale avantaje în utilizarea unor proceduri de analiză validate, furnizarea de servicii clinice sau pentru colective debutante în analiza datelor NGS. Ele pot fi suplimentate (cu precădere în etapa de pre-procesare) de SI, dar nu și reproduse într-o manieră simultan facilă și completă.

Mențiune: Această lucrare este parțial sprijinită de către Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane (POS DRU) finanțat din Fondul Social European și de către Guvernul României prin contractul POS DRU nr. 141531 și CAMED 633/11.03.2014.



RELAȚIA DINTRE PARENCHIMUL NEURONAL ȘI VASCULARIZAȚIA HIPOCAMPULUI LA OM ÎN ONTOGENIE: IMPLICAȚII ÎN STUDIUL COMPLICAȚIILOR NEUROPSIHICE ÎN HEPATOPATII

Gheorman Victor¹, Zăvoi Roxana², Stanca Liliana², Stănescu Radu³, Rogoveanu Ion¹,
Stănescu Mihail-Relu³

¹Departamentul 3: Specialități medicale I - UMF Craiova,

²Departamentul 5: Specialități medicale III - UMF Craiova,

³Departamentul 1: Discipline Morfologice - UMF Craiova

Formațiunea hipocampică joacă un rol important în mecanismul memoriei și învățării. Dezvoltarea creierului nu se oprește la naștere și date relativ recente au sugerat că dezvoltarea poate continua până la vârsta adultă. În prezenta lucrare ne propunem să urmărim corelația dintre arhitectura neuronală și structura vasculară a hipocampului în dinamica ontogenetică.

Material și metode: În urma autopsiilor efectuate asupra 12 subiecți umani cu vârste cuprinse între 18 săptămâni intrauterin și 64 ani, am prelevat fragmente de hipocamp și din anumite organe, pentru studiu comparativ. Fragmentele au fost prelucrate cu tehnica histologică clasică hematoxilină și eozină.

Rezultate și discuții: hipocampul uman evoluează etapizat, începând cu migrația neuroblaștilor din zona ventriculară către viitoare zone CA3 și CA4, în timp ce girusul dentat se formează mai târziu, traiectul stratului granular corelându-se cu traiectul structurilor vasculare. În etapa de vârstă medie nu se constată corelații neurovasculare semnificative. Mai târziu însă, raporturile dintre fenomenele de neuroliză și ateroscleroza incipientă încep să se contureze. Deși neurodiferențierea hipocampului se manifestă încă de la jumătatea etapei intrauterine de dezvoltare a individului uman, raporturile neuro-vasculare evoluează pe parcursul întregii vieți.

În **concluzie**, reperele evoluției naturale a hipocampului uman pot constitui o bază pentru studiul modificărilor patologice la subiecții cu manifestări neuropsihice în cadrul hepatitelor cronice.



VEZICULE EXTRACELULARE ELIBERATE DE TELOCITE ÎN ȚESUTUL CARDIAC

Emanuel T. Fertig, Mihaela Gherghiceanu, Laurențiu M. Popescu

INCD "Victor Babeș" București

Comunicarea celulară în țesutul cardiac implică atât contact direct între diferitele tipuri de celule, cât și semnalizare la distanță prin vezicule extracelulare (VE). VE se împart în exozomi și ectozomi, în funcție de mecanismul de biogeneză și dimensiuni.

Prin intermediul microscopiei electronice și a electrono-tomografiei am demonstrat că telocitele din țesutul cardiac eliberează cel puțin 3 tipuri de VE distincte: exozomi (eliberați din compartimentul endozomal; 45 ± 8 nm), ectozomi (eliberați prin înmugurire din membrana plasmatică; 128 ± 28 nm) și cargo-uri multiveziculare (CMV, eliberate prin înmugurire; 1 ± 0.4 μ m).

Prin intermediul electrono-tomografiei am arătat, pentru prima oară, că CMV nu sunt simple structuri sferice, ci conțin un număr mare de vezicule delimitate de endomembrane, fiecare cu un diametru mediu de 145 ± 35 nm. Odată detașat de membrana plasmatică, CMV eliberează conținutul în spațiul intercelular, contribuind probabil la o transmitere mai eficientă a semnalelor moleculare în țesutul cardiac.



STATUSUL IMUN CELULAR LA ȘOARECI PURTĂTORI DE TUMORĂ

*Gheorghita Isvoranu, Bogdan Marinescu, Laurențiu Anghelache, Mihaela Surcel,
Cornel Ursaciuc, Gina Manda
INCD "Victor Babeș" 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. Greutatea și volumul tumoral au fost evaluate săptămânal. În ziua 21 de la inocularea celulelor tumorale populațiile și subpopulațiile limfocitare (CD3, CD4, CD8, CD19, NK1.1) au fost evaluate prin citometrie în flux.

Rezultate: Evaluarea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare atât în sângele periferic, cât și în splină la loturile de șoareci purtători de tumoră a evidențiat alterarea distribuție limfocitare în comparație cu lotul control. 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 a acestora, semnificativă statistic doar în cazul șoarecilor purtători de carcinom.

Concluzii: Distribuția populațiilor și subpopulațiilor 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.

Mențiune: Această lucrare este parțial sprijinită de către Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane (POS DRU) finanțat din Fondul Social European și de către Guvernul României, prin contractul nr. POS DRU 141531.



MODEL DE STUDIU IN VITRO A CAPACITĂȚII REGENERATIVE A GLANDELOR SALIVARE

Mihnea I. Nicolescu.

*UMF "Carol Davila" București,
INCD "Victor Babeș" București*

Introducere: Glandele salivare prezintă o patologie complexă, care include manifestări clinice de tipul xerostomiei, în afectări primare (e.g. sindrom Sjögren), sau secundare – reacții adverse la tratamente generale medicamentoase (antihipertensive, miorelaxante) sau includerea în câmpul de iradiere în cadrul tratamentului multimodal al tumorilor maligne din teritoriul oro-maxilo-facial.

Înțelegerea mecanismelor de regenerare intrinsecă va contribui la consolidarea medicinei de precizie și a unor terapii personalizate ale afecțiunilor ce implică o diminuare sau oprire a funcției glandelor salivare.

Materiale și metode: Am recoltat glande submandibulare de șoareci sub anestezie terminală (femele, ICR). După procesare, am stabilit culturi primare, pe care le-am urmărit în condiții normale de incubare, comparativ cu condiții de microgravitație (bioreactor RCCS-4D Synthecon, vase de 10ml).

Rezultate: Viteze de rotație diferite (7,5; 10 și 15 rpm) au oferit rezultate variabile în raport cu condițiile clasice de cultură (în plăci de 6 godeuri). Astfel, formarea de macro-agregate a predominat în probele supuse microgravitației, în timp ce în plăcile clasice s-a putut observa formarea de salisfere. Răspunsul celulelor din cele două loturi (clasic vs. microgravitație) la neuromediatorii (atropină, acetilcolină, VIP și substanță P) a fost diferit, dar nu semnificativ statistic.

Concluzii: Modelul de studiu al comportamentului culturii primare de celule din glandele salivare în condiții de microgravitate poate reprezenta o soluție în vederea reproducerii cât mai fidele a situației reale de la nivelul organului *in vivo*. Sunt încă necesare optimizări ale condițiilor micromediului de cultură în vederea stabilirii potențialului regenerativ al diferitelor subtipuri celulare.

Mențiune: *Această lucrare este parțial sprijinită de către Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane (POS DRU) finanțat din Fondul Social European și de către Guvernul României prin contractul nr. POS DRU 141531.*



EPIDEMIOLOGIA ȘI STATISTICA INFECȚIILOR VAGINALE CU DROJDII DIN GENUL CANDIDA ÎN ROMÂNIA

Sergiu Fendrihan

*UMF "Carol Davila" București,
Universitatea de Vest "Vasile Goldiș" Arad*

Introducere: Infecțiile cu *Candida* sunt din ce în ce mai numeroase mai ales ca infecții la pacienți imunocompromisi /imunodepresați și cu alți factori de risc și nosocomiale. Lucrarea de față caută să lămurească aspectele de epidemiologie, spre a putea să le comparăm cu rezultate obținute în alte țări și a vedea ce măsuri de igienă și prevenție se pot lua de către autoritățile de igienă publică pentru diminuarea incidenței acestora.

Material și metode: Datele brute despre infecțiile cu *Candida* au fost obținute cu ajutorul Ministerului Sănătății, Direcția de Statistică, pentru a prelucra datele pe mai mulți ani și a obține informații privind frecvența unor infecții fungice și a incidenței acestora în România pe categorii de vârstă și de populație. Datele privind infecțiile genitale cu *Candida* la femei au fost supuse unei analize statistice .

Rezultate: În România, o incidență medie a infecțiilor vulvo-vaginale pe anii 2008-2013, a fost în medie de 25,75%, din infecțiile totale cu *Candida* la femei.

Concluzii: Infecțiile vulvo- vaginale cu *Candida*, rămân unele dintre cele mai frecvente infecții și în România.

Această lucrare este parțial suportată de Progamul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane (POSDRU) finanțat de Fondul Social European și Guvernul României sub numărul de contract POSDRU 141531.



STRUCTURA INFECȚIILOR CU CANDIDA DIN PUNCTUL DE VEDERE AL SPECIILOR IMPLICATE

Sergiu Fendrihan

UMF "Carol Davila" București,
Universitatea de Vest "Vasile Goldiș" Arad

Introducere: Infecțiile cu *Candida* sunt din ce în ce mai numeroase mai ales ca infecții la pacienți imunocompromisi /imunodepresați și cu alți factori de risc și nosocomiale. Datele existente, nu precizează și incidența diferitelor specii de *Candida* implicate în aceste infecții. Acesta ar fi important, datorită susceptibilității diferite la antifugice..

Material și metode: S-au prelevat probe (tampoane) de la pacientele care s-au prezentat la Spitalul Elias cu diferite ocazii inclusiv pentru estimarea stadiului sarcinii. Probele prelevate au fost cultivate pe mediu cromogen *Candida* Crom agat (MLSRL Romania). După incubare, au fost evaluate toate probele și determinate, apoi s-a făcut o analiză statistică pentru a identifica participarea diferitelor specii la infecții

Rezultate: S-au identificat următoarele specii de *Candida* în aceste infecții și anume *C.albicans*, *C.glabrata*, *C.krusei*, prima fiind cea mai frecvent întâlnită.

Concluzii: Prezența acestor specii de *Candida* nu diferă de studiile din alte țări, ca de altfel nici proporția în care apar în infecții, totuși specii ca *C. dubliniensis* și *C.parapsilopsis* nu au putut fi identificate, aceasta necesitând analize speciale.

Această lucrare este parțial suportată de Progamul Operațional Sectorial Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane (POSDRU) finanțat de Fondul Social European și Guvernul României sub numărul de contract POSDRU 141531.



POSTERE





P.1 SPECTRUL HIPERPLAZIILOR ENDOMETRIALE ȘI AL LEZIUNILOR ASOCIATE ALE TRACTULUI GENITAL FEMININ

Păltineanu Ioana¹, Prioteasa Mădălina Ilariana¹,
Potecă Anca²

1. Student U.M.F. „Carol Davila” București, România
2. S.C.O.G. „Prof. Dr. Panait Sârbu” București, România,
Asistent universitar anatomie patologică U.M.F. „Carol
Davila” București, România

Introducere: În țările dezvoltate, cancerul endometrial este a patra cauză de deces la sexul feminin. La nivelul endometrului se pot dezvolta două tipuri de adenocarcinom. Tipul I, carcinomul endometrial endometrioid și tipul II, carcinoamele non-endometrioidice (adenocarcinom seros sau adenocarcinom cu celule clare). Se descriu leziuni precursore pentru adenocarcinomul endometrioid: hiperplaziile endometriale atipice (EIN - endometrial intraepithelial neoplasia) dar și pentru adenocarcinomul seros: EIC (carcinomul endometrial intraepitelial) (WHO 2014).

Material și metodă: Prezentăm o analiza retrospectivă pe un an de zile a cazuisticii Departamentului de Anatomie Patologică a Spitalului de Obstetrică și Ginecologie „Panait Sârbu” București, pe un lot de 99 de paciente cărora li s-a prelevat material biopsic endometrial (91) sau li s-au efectuat intervenții de histerectomie totală (8).

Scopul: analiza repartiției pe grupe de vârstă și pe tipuri de leziuni, precum și prezența altor leziuni asociate.

Rezultate În lotul studiat, pacientele au avut între 27 și 83 ani. Au fost identificate 77 (77,77%) paciente cu hiperplazie fără atipii, 21 (21,21%) cu hiperplazie atipică (EIN) și 1 pacientă (1,01%) cu carcinom intraepitelial endometrial (EIC). Vârsta medie pentru pacientele cu hiperplazie fără atipii a fost de 47,16 ani, pentru EIN 62 ani, iar pentru EIC 60 ani. De asemenea, s-au observat și alte leziuni asociate. Hiperplaziile fără atipii s-au asociat cu polipi endometriali (11), disfuncții ale endometrului (10), leiomiome (8), focare de adenomioza (5), neoplazii cervicale intraepiteliale (4), polipi endocervicali (3), chisturi ovariene (3), adenocarcinom endometrioid (1). Hiperplaziile cu atipii s-au asociat cu polipi endometriali (3) și cu focare de adenocarcinom endometrioid (13).

Concluzii și discuții Patologia genitală feminină are la bază o paletă largă de modificări histopatologice, de cele mai multe ori existând o intricare a modificărilor benigne, unele asociate cu diferite modificări hormonale, cu aspectele premaligne și maligne. Este important de evidențiat potențialul premalign al hiperplaziilor endometriale deoarece acesta stă la baza

alegerii conduitei terapeutice optime (medicală/chirurgicală).

P.2 ENDOMETRIOZA - ASPECTE HISTOPATOLOGICE ȘI EPIDEMIOLOGICE

Burcuță Alina¹, Irina Stavarache¹, Anca Potecă^{2,3}

1. Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila” – student
2. S.C.O.G. “Panait Sârbu”
3. Asistent Universitar la Catedra de Anatomie Patologică a UMF “Carol Davila”

Introducere: Endometrioza este definită ca și prezența ectopică de glande și stromă endometrială, cu localizare frecvent multifocală. Se manifestă sub două forme anatomoclinice: endometrioza internă (adenomioza), la nivelul miometrului și endometrioza externă, la nivelul organelor pelvine și abdominale, cu posibilitatea de localizare la orice nivel. Incidența și prevalența se apreciază a se situa între 5-10% la femeile de vârstă fertilă. Clinic poate fi asimptomatică sau poate determina infertilitate, dismenoree, dureri pelvine cronice, dispareunie.

Materiale și metodă: Prezentăm o analiză retrospectivă a unui lot de 77 paciente care au suferit intervenții chirurgicale clasice sau cu abord laparoscopic în intervalul 1.10.2014-23.10.2015, în care li s-au prelevat piese operatorii cu diferite localizări. Piesele histopatologice au fost prelucrate prin tehnica obișnuită de includere la parafină, colorație hematoxilină-eozină și examinate la microscopul optic la nivelul Departamentului de Anatomie Patologică a Spitalului de Obstetrică Ginecologie Prof. Dr. Panait Sârbu București.

Rezultate și discuții: Dintre cele 77 de paciente înregistrate cele mai frecvente cazuri de endometrioza au fost localizate la nivel ovarian (chisturi endometrioizice) 64,93%, peritoneal (41,55%), pelvin (36 %) și rectovaginal (19,48%). Mai puțin întâlnite au fost endometrioza vezicală și cervicală, fiecare reprezentând 1,29%. Adenomioza a fost prezentă la 2,59 % dintre paciente.

Majoritatea pacientelor au prezentat localizări multiple ale focarelor de endometrioza, cu o asociere frecventă între chisturile endometrioizice și endometrioza pelvină - 20,77%, urmate de endometrioza rectovaginală și chisturile ovariene endometrioizice - 16, 88%. Pacientele cuprinse în studiu au avut între 22 ani și 49 ani, cu o medie de 41 de ani.

Concluzii: În ciuda progreselor realizate în ultimii ani, endometrioza rămâne și în prezent o afecțiune puțin înțeleasă, cu un impact major asupra calității vieții pacientelor.



P.3 CARCINOMUL MAMAR DUCTAL INVAZIV – CAZ CLINIC

Ruxandra Florentina Ionescu¹, Robert Mihai Enache¹, Sanda Maria Crețoiu^{1,2}, Mircea Savu^{1,3}

1. Facultatea de Medicină, UMF Carol Davila
2. INCD Victor Babeș
3. Institutul Oncologic "Alexandru Trestioreanu" București

Introducere: Cancerul mamar la pacientele sub 50 de ani este puțin frecvent, peste 75% din tumorile maligne apărând în general după această vârstă. Chirurgia conservatoare urmată de chimio-radioterapie este frecvent utilizată ca tratament de elecție.

Caz clinic: Pacientă în vârstă de 45 de ani, fără antecedente familiale de cancer la sân, se prezintă pentru formațiune tumorală în cadranul supero-extern al glandei mamare stângi, de dimensiuni 3^{2,5} cm, mobilă, nedureroasă și adenopatie axilară stângă de 0,5 cm, stadiul IIB (T2N1Mx). Se practică mastectomie stângă radicală, modificată, tip Madden și limfadenectomie axilară stângă. Examenul anatomopatologic relevă un carcinom ductal invaziv (trabecular și glanduliform); G1 – Fc2a2m2 (ypT2). Din cei 19 ganglioni examinați, 7 au fost invadați (ypN2a). Imunohistochimic, tumoarea este 90% ER pozitivă, 80% PGR pozitivă, discontinuu Cerb B2 pozitivă, 10-15% Ki67 pozitivă. Postoperator se instituie tratament adjuvant chimio - (4 serii FEC) și radioterapic (teleiradierea 3D cu fotoni 6MV pe ariile ganglionare stângi și perete toracic 267 cGy/fracțiune, DT=40 Gy) și tratament de supresie ovariană cu agoniști LHRH (Zoladex). Evoluția postoperatorie este bună și se recomandă verificarea periodică a markerilor tumorali (CA15-3; CA 125; CEA; AFP la 3 luni), ecografie pelviabdominală (la 6 luni), ecografia mamară (la 6 luni), ecografie transvaginală și test Babeș Papanicolau (la 6 luni), mamografie (anual), CT torace, pelvis, abdomen (anual), scintigrafie osoasă (anual), control clinic (la 3 luni).

Concluzii: Cancerul de sân la femeile sub 50 de ani diferă de cancerul de sân la femeile mai în vârstă prin numeroase caracteristici clinice, patologice și biologice. Studiile demonstrează că tumorile maligne de sân la femeile sub 40 de ani au un profil mai agresiv decât cel de la pacientele în vârstă. Chirurgia conservatoare însoțită de chimio-radioterapie este cel mai frecvent utilizat tratament, cu toate acestea agresivitatea tumorii din cazul prezentat a necesitat chirurgie radicală cu mastectomie totală.

P.4 TUMORI NEUROENDOCRINE CU LOCALIZARE PRIMARA HEPATICA

Elena Stoica-Mustafa¹, V.Herlea¹, C.Pechianu¹, Andreea Iorgescu¹, Monica Hortopan¹, Mihaela Mihai¹, M.Ionescu², C.Vasilescu², L.David², I.Popescu²

1. Serviciul de Anatomie Patologică, IC Fundeni, București, România
2. Centrul de Chirurgie generală și Transplant hepatic, IC Fundeni, București, România

Introducere: Tumorile neuroendocrine (TNE) primare hepatice rămân a fi unele foarte rare, în pofida creșterii incidenței tumorilor neuroendocrine, în general. Acestea reprezintă aproximativ 0,3% dintre toate TNE și, de multe ori, sunt depistate accidental. În literatură sunt menționate aproximativ 130 de cazuri de astfel de tumori, fiind descrise pentru prima dată de către Edmonson în 1958. Acestea apar, de cele mai multe ori, în jurul vârstei de 60 ani și au o ușoară predominanță feminină de ^{1,4}:1. Printre cazurile înregistrate în literatură vârsta variază între 18 și 84 de ani, având o medie de 54 ani.

Materiale și metode: Sunt prezentate 5 cazuri de TNE cu localizare primară hepatică, internate și tratate în Institutul Clinic Fundeni. Pacienții au fost investigați, fiind excluse alte localizări primare. Toate cazurile au fost confirmate imunohistochimic.

Rezultate: Dintre cazurile examinate 3 cazuri au fost înregistrate la bărbați și 2 cazuri la femei, cu vârste cuprinse între 39 și 69 ani (vârsta medie 5^{4,8} ani). Dimensiunea tumorală a variat între 8 și 20 cm (dimensiunea medie 13 cm), 3 cazuri având forma chistică și 2 cazuri - nodulară. Gradul histologic al tumorilor examinate a variat între G1-G3, acestea având și diferite stadii patologice - pT1-pT3a. Nici unul din cazuri nu a avut metastaze limfoganglionare. Markerii imunohistochimici neuroendocrini au fost difuz pozitivi în aproape toate cazurile (într-un singur caz fiind focal pozitivi).

În concluzie, diagnosticul tumorilor neuroendocrine primare hepatice trebuie făcut cu foarte mare atenție, deoarece ficatul este o localizare favorită a metastazelor tumorilor neuroendocrine cu orice altă localizare primară, astfel diagnosticul acestor tumori este unul de excludere. Tratamentul de elecție rămâne a fi cel chirurgical, în cazul tumorilor rezecabile, iar examenul histopatologic, împreună cu cel imunohistochimic, reprezintă metodele care pot stabili cu certitudine natura neuroendocrină a tumorilor și determină gradul acestora.



P.5 PARTICULARITĂȚI DE DIAGNOSTIC MORFOPATOLOGIC ÎN TUMORILE NEUROENDOCRINE PANCREATICE

V.Herlea¹, Elena Stoica-Mustafa¹, C.Pechianu¹, Andreea Iorgescu¹, Monica Hortopan¹, Mihaela Mihai¹, M.Ionescu², C.Vasilescu², C. Stroescu², D. Andronesi², C.Ungureanu², L.David², I.Popescu²

1. Serviciul de Anatomie Patologică, IC Fundeni, București, România
2. Centrul de Chirurgie generală și Transplant hepatic, IC Fundeni, București, România

Introducere: Tumorile neuroendocrine pancreatice (TNEP) sunt tumori cu o incidență de 2-4/1.000.000 populație anual, dar cu o creștere semnificativă în ultimii 30 ani. Apar, în general, între 30-60 ani, dar se pot întâlni la orice vârstă. Au comportament biologic agresiv cu potențial metastazant, mai mult de jumătate prezentând metastaze la momentul diagnosticului, secretă substanțe biologic active, generând sindroame clinice specifice.

Materiale și metode: Populația acestui studiu a inclus 61 pacienți cu TNEP, internați și tratați în Institutul clinic Fundeni în perioada 2000-2014. Toate cazurile au fost confirmate imunohistochimic.

Rezultate: Dintre pacienții studiați 36 (59%) au avut sex feminin și 25 (41%) – sex masculin, 21 (34.4%) au avut vârsta ≤ 40 ani, 25 (41%) între 41 - 60 ani, iar 15 (24.6%) > 60 ani. Dintre TNEP incluse în studiu, 20 (32.8%) au demonstrat dimensiuni ≤ 2 cm, 21 (34.4%) - dimensiuni între ^{2,1} - 5cm, iar 20 (32.8%) - dimensiuni > 5cm, 27 (44.3%) tumori au avut localizare cefalică, iar 34 (55.7%)- corporeocaudală; 49 (80.3%) tumori au avut forma nodulară, 8 (13.1%)-infiltrativă și 4 (6.6%) tumori - chistică.

Douazeci (32.8%) pacienți au demonstrat stadiul pT1, 2 (44.3%)- stadiul pT2, 10 (16.4%)- stadiul pT3, iar 4 (6.5%)- stadiul pT4, 40 (65.6%) tumori au demonstrat gradul G1 (Ki67<2%), 13 (21.3 %) tumori- gradul G2 (Ki 67 2-20%), iar 8 (13.1%) tumori - gradul G3 (Ki 67>20%); iar 14 (23%) au prezentat metastaze hepatice. În 28 cazuri au fost examinați ganglionii limfatici regionali, dintre acestea 9 (32.1%) au prezentat metastaze limfo-ganglionare.

Concluzii: 1. S-a observat o predominanță feminină de ^{1,4}:1, mai frecvent < 60 ani. 2. A prevalat localizarea corporeocaudală. 3. Au predominat tumorile nodulare, mai frecvente la sexul feminin, tumorile infiltrative și chistice, fiind mai frecvente la sexul masculin. 4. Majoritatea tumorilor au avut gradul tumoral G1 și stadiile pT1 și pT2. 5. Majoritatea metastazelor hepatice au fost prezente la pacienți > 40 ani cu tumori > 5 cm, cu localizare corporeocaudală, aspect nodular,

grad tumoral G1 și stadiu pT2, acestea nefiind asociate cu metastaze limfoganglionare.

P.6 DIAGNOSTICUL HISTOPATOLOGIC ȘI IMUNOHISTOCHIMIC ÎN HEMANGIOENDOTELIOMUL EPITELIOID HEPATIC

Pechianu C. ¹, Herlea V. ¹, Stoica-Mustafa Elena¹, Iorgescu Andreea¹, Vasilescu C. ², Croitoru Adina³, Cerban R⁴., Gheorghe Liana⁴, Popescu I².

1. Departamentul de Anatomie Patologică - I.C. Fundeni București
2. Centrul de Chirurgie Generală și Transplant Hepatic - I.C. Fundeni București
3. Departamentul de Oncologie - I.C. Fundeni București
4. Centrul de Gastroenterologie și Hepatologie - I.C. Fundeni București

Introducere: Hemangioendoteliomul epitelioid hepatic este o tumoră cu un potențial malign incert, compusă din celule fuziforme sau epitelioid ce proliferază de-a lungul vaselor sau formează vase noi. Apare la vârste variind de la 12 la 86 de ani.

Materiale și metoda: Am selectat din arhiva Departamentului de anatomie patologică din Institutul Clinic Fundeni, 5 pacienți diagnosticați cu hemangioendoteliom epitelioid hepatic; toate cazurile au fost investigate cu următorul panel imunohistochimic: Vimentina, CK7, Chromogranina, CK19, CK20, Ki67, Desmina, CD34, CD31, Factor VIII, CD117, SMA.

Rezultate: Am găsit un singur caz de hemangioendoteliom epitelioid hepatic multicentric. Toate cazurile au prezentat pozitivitate la CD34, CD31, Factor VIII, Vimentina și pozitivitate sub 5% pentru Ki 67. Următorii markeri imunohistochimici: CK 7, CK 19, CK20, CD 117 și desmina au prezentat reacție negativă la toate cazurile studiate. În urma analizei parenchimului hepatic adiacent, s-a observat un singur caz care prezenta infecție VHB concomitentă.

Concluzii: 1. Pacienții cu hemangioendoteliom epitelioid hepatic prezentați au o rată de supraviețuire scăzută - 95 de zile post operator, în comparație cu pacienți având carcinom hepatocelular respectiv colangiocarcinom hepatic, fapt corelat cu dimensiunea tumorală, cea mai mare în loturile studiate, respectiv 1^{1,5} cm (media);

2. Hemangioendoteliomul epitelioid hepatic s-a dezvoltat numai pe ficat noncrotic;
3. Rata mică de supraviețuire poate fi datorată comportamentului agresiv incert tumoral, fie diagnosticării în stadiu avansat și răspunsului inadecvat la tratamentul oncologic.



P.7 ASPECTE ALE EVOLUȚIEI GALT ÎN ULTIMUL TRIMESTRU DE SARCINĂ

Stănescu Mihail-Relu¹, Forțofoiu Mircea-Cătălin², Forțofoiu Maria³, Niculescu Mihaela¹, Mateescu Garofița-Olivia¹, Stănescu Radu¹

1. Departamentul 1: Discipline Morfologice, UMF Craiova
2. Departamentul 3: Specialități Medicale I, UMF Craiova
3. Departamentul 7: Specialități Medicale III, UMF Craiova

În prezenta lucrare ne propunem să urmărim dezvoltarea țesutului limfoid asociat mucoasei tubului digestiv (GALT) în ultimul trimestru de sarcină, atât în dinamica spațială (de-alungul diferitelor segmente ale tubului digestiv), cât și în cea temporală (din ultimul trimestru de sarcină, perinatal și postnatal).

Material și metode: Materialul biologic a fost reprezentat de 5 feți și un nou-născut prematur, decedați intrauterin sau la scurt timp după naștere. Fragmentele recoltate în urma autopsiei au fost prelucrate histologic folosind tehnicile clasice de fixare în formalină 10%, deshidratare, includere la parafină și colorare cu hematoxilina și eozină. Achiziția imaginilor s-a realizat folosind pachetul de programe de achiziție și procesare a imaginilor Lucia Net v. 1.20.

Rezultatele și discuțiile arată o dezvoltare relativ precoce a structurilor limfatice asociate intestinului, începând de la nivelulul ileonului și continuând ascendent (jejun, stomac) și, mai ales, descendent (colon). Stadiul dezvoltării GALT este diferit la aceeași vârstă gestațională de la un caz la altul, fără a putea face, deocamdată, o corelație anatomo-clinică.

În concluzie, deși se presupune că intestinul fetal este steril la naștere, bariera limfatică intestinală este formată deja cu mult timp înaintea populării microbiene a acestui

P.8 INVESTIGAȚII IN VITRO ALE TOXICITĂȚII ȘI ACTIVITĂȚII SPECIFICE ALE EXTRACTULUI DE NĂMOL SAPROPELIC

Elena Codrici¹, Cristiana Tănase¹, Ionela Daniela Popescu¹, Simona Mihai¹, Ana-Maria Enciu^{1,2}, Nicu Stoica³, Radu Albulescu^{1,4}, Nina Lopăzan¹, Nicoleta Constantin¹

1. INCĐ "Victor Babeș", București
2. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București
3. SC Pellamar Cosmetics SRL, Buzău
4. Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Chimico-Farmaceutică, București

Introducere: Extractele de nămol sapropelic reprezintă adjuvanți terapeutici valoroși, cât și alternative terapeutice la medicamentele sintetice, în special în boli cronice precum artrita, osteoartrita etc. Utilizarea

extractelor de nămol contribuie la o stabilitate pe termen lung a efectelor terapeutice, evitând astfel inconveniente comune ale medicamentelor convenționale, cum ar fi instalarea rezistenței terapeutice și a efectelor adverse. Scopul acestui studiu este de a investiga citotoxicitatea și eficacitatea terapeutică a fracțiunilor active obținute din nămol folosind metode *in vitro*.

Material și metode: Testarea *in vitro* a citotoxicității a fost realizată pe culturi celulare ATCC-CRL-9855, în condiții standard și la diferite momente de expunerii, la concentrații de 300, 150, 75 și 37,5 μg/mL, utilizând testele MTS și LDH.

Rezultate: Teste de citotoxicitate: 9 extracte de nămol investigate nu au exprimat citotoxicitate semnificativă (în testele LDH și MTS) la concentrații variind între 3^{7,5} și 300 μg/mL. Un extract de nămol a exprimat o citotoxicitate dependentă de doză, iar pierderea viabilității celulare a condus la o estimare a CT50 la o valoare mai mare de 1 mg/mL.

Concluzii: Folosind o combinație de analize *in vitro*, extractele de nămol ar putea fi clasificate și ierarhizate pentru citotoxicitatea și activitatea specifică, furnizând un sistem eficient de screening pentru descoperirea de potențiali compuși terapeutici.

Acknowledgement: Această lucrare este parțial sprijinită de către Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane (POSDRU) finanțat din Fondul Social European și de către Guvernul României prin contractul nr. POSDRU 141531 și PNII 265/2014.

P.9 PROFILUL SERIC ÎN CANCERUL DE PROSTATĂ PRIN ANALIZA PROTEOMICĂ

Ionela Daniela Popescu¹, E. Codrici¹, S. Mihai¹, A.M. Enciu^{1,2}, R. Albulescu^{1,3}, A. Preda⁴, G. Ismail⁴, C. Tănase^{1,5}, N. Constantin¹

1. INCĐ "Victor Babeș", București
2. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București
3. Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Chimico-Farmaceutică, București
4. Centrul pentru urologie și transplant renal, Institutul Clinic Fundeni, București
5. Universitatea "Titu Maiorescu", Facultatea de Medicină

Introducere: Cancerul de prostată este cel mai frecvent tip de cancer la bărbați și reprezintă a doua cauză de deces prin cancer. Abordările proteomice prin identificarea de noi biomarkeri permit descifrarea mecanismelor moleculare în patologia prostatei.

Material și metode: Platforma SELDI-TOF MS a fost utilizată pentru a efectua profilul proteic din 25 de probe de ser: 15 de cancer de prostată și 10 martori. Probele au fost aplicate pe 3 tipuri de chip-uri de proteine: CM10 (Weak Cation Exchange ProteinChip



CM10), Q10 (Strong Anion Exchanger), IMAC 30 (ProteinChip IMAC-30) realizându-se mai multe variante experimentale.

Rezultate: S-a editat protocolul de măsurare preliminară cu ajutorul programului "Protein Chip DATA Manager" și s-a utilizat unul din spoturile de control pentru calibrarea energiei de activare și a numărului de pulsuri laser. S-a repetat procedura la diverse nivele energetice și pulsuri, până la obținerea unui nivel optim al semnalului. Analiza spectrelor a presupus identificarea picurilor, normalizarea și alinierea spectrelor; identificare, ierarhizare și analiza clusterelor și procedura de analiză uni-variata. Prin aplicarea protocolului de măsurare asupra probelor de proteine și analiza datelor s-a identificat un grup total de 20 de clustere serice identificabile în probele de ser pe intervalul de greutate moleculară 2000-50000 Da (condiția de selecție a clusterelor relevante: $p < 0,05$ și prezența picului în cât mai multe probe).

Concluzii: A fost proiectată și experimentată o metodologie de identificare a unor potențiali biomarkeri serici cu valoare predictivă în diagnosticul cancerului de prostată prin tehnologia proteomică SELDI – TOF MS.

Acknowledgement: PN II 192/2014, PN 09.33-04.15 și PN 09.33-03.10.

P.10 ABORDĂRI PROTEOMICE ÎN MANAGEMENTUL BOLII RENALE CRONICE

Simona Mihai¹, E. Rusu², D. Zilișteanu², E. Codrici¹, I.D. Popescu¹, A.M. Enciu^{1,2}, R. Albulescu^{1,3}, M. Voiculescu², G. Anton⁵, Cristiana Tănase^{1,4}, N. Lopăzan¹

1. INCD "Victor Babeș", București
2. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București
3. Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Chimico-Farmaceutică, București
4. Universitatea "Titu Maiorescu", Facultatea de Medicină, București
5. Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau”, București

Introducere: Calcificarea vasculară (CV) reprezintă un factor semnificativ de risc cardiovascular la pacienții cu boală renală cronică (BRC). CV este un proces activ, cu o multitudine de proteine implicate în axa os - rinichi - sistem cardiovascular. Studiul de față își propune să evalueze relația dintre tulburările metabolismului mineral și osos și nivelul circulant a 10 biomarkeri la pacienții cu BRC.

Material și metode: Analiza multiplex xMAP (platforma Luminex 200) a fost efectuată pe probe de ser (pacienți cu BRC - stadiile 2-4, nedializați și lot control) pentru a evalua nivelul a 8 molecule

(osteoprotegerin, osteocalcin, osteopontin, FGF-23, PTH, IL-6, IL-1 β și TNF- α). Fetuin A și calcitriol au fost evaluate prin tehnica ELISA.

Rezultate: Niveluri crescute ale moleculelor implicate în metabolismul mineral și osos s-au corelat cu un nivel ridicat de citokine proinflamatorii la pacienții cu BRC. Nivelurile serice ale Fetuin-A și calcitriol au fost scăzute la pacienții cu BRC, în comparație cu lotul control. De asemenea, a fost observată o corelație pozitivă între nivelul biomarkerilor analizați și stadiul BRC.

Concluzii: Configurarea unui nou panel de biomarkeri circulanți, prin abordări proteomice avansate, ar putea contribui la diagnosticarea precoce a CV și îmbunătățirea prognosticului bolii renale cronice.

Acknowledgement: Această lucrare este parțial sprijinită din proiectele PN II 93/2012, PN 09.33-04.15 și PN 09.33-03.10.

P.11 EFECTELE CÂMPULUI ELECTROMAGNETIC DE JOASĂ FRECVENȚĂ ȘI INTENSITATE ASUPRA PROLIFERĂRII ȘI DIFERENȚIERII CELULELOR STEM

Radu Albulescu^{1,2}, Elena Codrici², Simona Mihai², Ana-Maria Enciu², Bogdan Vlădila³, Georgeta Neagu¹, Silvia Neagoie⁴, Adrian Albulescu⁴, Cristiana Tănase²

1. INCD Chimico-Farmaceutică, București,
2. INCD „Victor Babeș”,
3. SC Denticare SRL,
4. Facultatea de Biologie, Univ. București,

Introducere: Câmpul Electromagnetic (EMF), la diverse frecvențe și intensități, este utilizat în scopuri terapeutice, cum ar fi tratamentul bolilor inflamatorii cronice și în oncologie. Acest studiu urmărește evaluarea efectelor câmpurilor electromagnetice de intensitate și frecvență scăzută asupra proliferării și diferențierii celulelor stem în fenotipuri adipocitare și osteocitare, în scopul investigării aplicabilității unor dispozitive EMF în medicina regenerativă.

Material și metode: ADMSC (Celule Stem Mezenchimale Derivate din Țesut Adipos) – ATCC PCS 500-011), s-au cultivat în Mediu Bazal pentru Celule Mezenchimale suplimentat cu MSC supliment. Celulele din pasajul 3 s-au utilizat pentru monitorizarea diferitelor profile de EMF, prin cultivare în plăci cu 96 de godeuri așezate pe dispozitivele de generare a EMF, la 4 frecvențe (6,93, 7,89, 8,46 și 23,1 Hz). Culturile au fost expuse la EMF 2 ore pe zi, timp de 4 zile. În ziua 5 s-a determinat rata de creștere prin testul MTS.

Celulele din pasajul 4 au fost utilizate în vederea inducerii diferențierii la adipocite osteocite. Diferențierea a fost monitorizată prin metoda Luminex-



xMAP, determinând nivelul unor molecule de semnalizare totală și cel al citokinelor-chemokinelor, în ADMSC, adipocite și osteocite.

Rezultate și discuție: Expunerea la EMF cu frecvența de 7.89 Hz a avut ca rezultat o stimulare de 123% comparativ cu martorul a ratei de proliferare a ADMSC, ($p < 0.05$). Frecvențele celelalte au generat o proliferare nesemnificativă statistic sau egală cu a martorului neexpus. Aplicarea altor frecvențe, precum și aplicarea asupra celulelor în curs de diferențiere, a evidențiat efecte mai scăzute ale EMF și lipsite de semnificație statistică.

Aparent, efectul EMF este mai intens în celulele care se găsesc într-o fază de creștere (proliferare) activă decât în celulele aflate în diferențiere, unde indicele mitotic este mai scăzut.

Testele xMAP au evidențiat păstrarea profile practic constante ale moleculelor de semnalizare și citokinelor în culturile de ADMSC, precum și în cele diferențiate, expuse la EMF față de culturile echivalente realizate în condiții standard.

Anumite setări ale frecvenței EMF în zona de foarte joasă frecvență au capacitatea de a stimula proliferarea celulelor stem, fără a afecta semnătura moleculelor de transducție a semnalului sau a citokinelor secretate.

Notificare: Studiile au fost finanțate din Granturile POS-CCE Nr. 502/2013 și PN 09.33-03.10/2009

P.12 ASPECTE MICROSCOPICE VASCULARE LA PERSOANELE CU AVC

Mateescu Garofița, Adriana Bold, Mihail-Relu Stănescu

Departamentul 1: Discipline Morfologice, UMF din Craiova

În acest studiu, autorii își propun observarea modificărilor ce pot surveni la nivel arhitectural, al pereților vasculari meningocerebrali, la persoanele cu AVC, în mod deosebit focal, perilezional, studiul fiind urmarea incidenței crescute a acestei patologii.

Material și metode: fragmentele tisulare prelucrate au fost recoltate de la un număr de 23 de subiecți. A fost folosită tehnica includerii la parafină, preparatele fiind ulterior evidențiate în colorații uzuale (hematoxilin-eosină), histochemice (tricromic Goldner-Szeckelly, impregnație argentică Nonidez), precum și prin metode imunohistochemice. Prelucrarea fragmentelor (tehnica uzuală și studiul imunohistochemic) a fost realizată în cadrul Serviciului de anatomie patologică a Spitalului Clinic Municipal Filantropia Craiova, precum și în cadrul Laboratorului de imunohistochimie al Centrului de Cercetarea pentru Studii de Morfologie Microscopică a UMF din Craiova.

Rezultate și discuții: Examinarea preparatelor studiate a evidențiat dinamizarea arhitecturală, în special a arhitecturii vasculare meningeale, comparativ cu zonele

perilezionale. Ectazia vasculară meningeală, endotelioza focală, edemul disociant zonal, infiltratele hematice interstițiale au fost frecvent întâlnite la nivelul arhitecturii scoarței cerebrale, în mod deosebit în zonele de vecinătate lezională. Imunomarcajul pentru CD31 a relevat pozitivitate focală moderată a celulelor endoteliale structurante vaselor din zonele perilezionale. Imunomarcajul pentru CD34 a fost negativ în mod frecvent atât la nivelul vaselor meningeale, cât și al celor cerebrale, pozitivitatea fiind în general raportată unor structuri vasculare posibil preexistente sau posibil de neoformație. Colorațiile uzuale și histochemice au completat imaginea de ansamblu a leziunilor de interes menționate anterior.

Concluzie: considerăm că identificarea aspectelor menționate concordă dinamicii structurale vasculare în zonele de interes lezional.

Lucrare elaborată în cadrul contractului 1069/2013.

P.13 EVALUAREA FRECVENȚEI MICRONUCLEILOR ÎN POPULAȚIA EXPUSĂ PROFESIONAL LA RADIAȚII IONIZANTE

G. Chelu¹, S. Mihai¹, L. Constantinescu², L. Bucur², V. Preoteasa¹

¹ INCD "Victor Babeș", București, România

² Belsana Grup SRL, București, România

Introducere: Radiațiile ionizante au efecte nocive asupra sănătății, potențialul lor carcinogen fiind dovedit prin numeroase studii. Leziunile induse la nivel genic prin diverse mecanisme sunt responsabile de acest efect. Genotoxicitatea radiațiilor ionizante este cuantificată prin analiza micronucleilor, structuri intracitoplasmice cu conținut de cromatină, formate prin excluderea unui cromozom întreg sau doar a unor fragmente cromozomiale, în timpul diviziunii celulare.

Material și metode: Grupul lucrătorilor expuși a fost selectat dintre angajații care operează în incinta sursei de radiații iar grupul control a fost constituit din angajații altor departamente.

S-au analizat date legate de vârstă, sex, obiceiuri, perioada totală în serviciu, perioada de expunere, vârsta la care a început expunerea. S-au efectuat culturi de limfocite din sânge periferic și s-a determinat numărul de micronuclei la 1000 de celule binucleate obținute prin blocarea citokinezei cu citochalazină, conform protocolului standard.

Rezultate: Rezultatele noastre confirmă dependența indicelui de micronuclei de sexul și vârsta subiecților investigați. De asemenea, se corelează semnificativ și cu consumul de alcool și fumatul, precum și cu administrarea unor medicamente.

Concluzii: Micronucleii reprezintă un biomarker real prin monitorizarea căruia se poate evalua eficient



“starea de sănătate” a ADN-ului. Gradul în care expunerea profesională la radiații ionizante alterează genomul uman poate fi cuantificat prin testul micronucleilor, metodă rapidă, eficientă și, nu în ultimul rând ieftină, prin comparație cu alte teste citogenetice.

P.14 DETERMINAREA PONDERII ACUMULĂRII DE MICROELEMENTE LA ȘOARECI TRANSGENICI PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ ICP - MS

V. Preoteasa¹, F. Mitu², B. Marinescu¹, G. Chelu¹, M. Mocanu¹

1. INCD “Victor Babeș”, București, România
2. Universitatea Politehnică, București, România

Introducere: Scopul experimentului a fost determinarea comparativă a prezenței unor minerale considerate „toxice” (**Hg, Pb,...**), sau a altora considerate „nutritive” (**Se, Li,...**) ce se acumulează semnificativ în țesuturi țintă prelevate de la doua linii de șoareci transgenici și de la martor.

Materiale și metode: Liniile de șoareci transgenici studiate au fost: **H₁₆**, cod internațional B6.C-H^{7b}/By Kit^{W-50J}/J, **H₁₇**, cod internațional B6.Cg-Clu^{tm1Jackh}/J și **H₁₄**, cod internațional B6By.Cg-Kit^{W-v}Mitf^{Mi-wh}T/J. De asemenea s-au analizat probe de hrană și apă de băut. Țesuturile biologice au fost mineralizate în prezența HNO₃ ultrapur, folosind microunde.

Mineralele au fost cuantificate cu ajutorul unui spectrometru de masă cu cuplaj inductiv.

Rezultate: Dintre elementele chimice studiate, **Cd, Pb,...** nu au fost identificate în nici un țesut biologic. În schimb elementele **Mg, Al,...** au fost prezente în toate probele.

Comparând concentrațiile elementelor din hrană cu cele acumulate în timp în țesuturile șoarecilor transgenici putem remarca:

- **Pb, Ag,...**: prezente în hrană, nu se acumulează în țesuturile șoarecilor transgenici
- **As** și **Al** considerate minerale „toxice” pentru lumea vie, prezente în hrană, s-au acumulat și în toate țesuturile studiate, mai semnificativ în „păr”
- **Ni**, tot mineral „toxic”, este introdus în organism prin hrană, dar, eliminat în timp, astfel că este foarte rar întâlnit în țesuturile studiate
- **Li** considerat mineral „nutritiv” pentru lumea vie, deși prezent în hrană, nu se acumulează în țesuturile șoarecilor transgenici, cu mici excepții, mai ales pentru martorul **H₁₄**
- **Mg** important pentru lumea vie se acumulează în țesuturi în timp; dovadă concentrația din probe depășește cu mult concentrația din hrană
- **Mn**, contrar mineralului **Mg**, este mai prezent în hrană decât se acumulează în țesuturile studiate

Concluzii: Unele minerale considerate toxice pentru lumea vie, deși sunt prezente în hrana animalelor, sunt eliminate în timp de organism, iar altele, sunt acumulate, mai ales în firul de păr. Comparând concentrațiile elementelor din hrană cu cele acumulate în timp în țesuturi constatăm că, în general, sunt la același nivel, cu excepția **Al, Mn, Sr** și ²³⁸**U**, care sunt mai puțin prezente în țesuturi.

P.15 EVALUAREA IMUNOGENOMICĂ ȘI SEROLOGICĂ A UNOR BIOMARKERI DE EVOLUȚIE ȘI PROGNOSTIC ÎN MELANOMUL CUTANAT

Adriana Narcisa Munteanu, Mihaela Surcel, Radu-Ionuț Huică, Ioana Ruxandra Pîrvu, Dan Ciotaru, Cornel Ursaciuc

Secția Imunologie, INCD "Victor Babeș" București

Introducere: Melanomul este o formă rară, dar gravă de cancer cutanat, deoarece metastazează rapid, invadând alte organe. Deși melanomul cutanat (MC) reprezintă mai puțin de 5% din cazurile de cancer de piele, este responsabil pentru 80% din decesele legate de aceste cancere. Incidența în populația caucasiană a crescut semnificativ la nivel mondial în ultimele decenii. Descoperite încă din primele stadii, 90% din cazurile de melanom pot fi tratate cu succes.

Material și metode: A fost extras ADN genomic tumoral din 8 piese prelucrate la parafină și diagnosticate histopatologic, provenite de la pacienți cu MC. S-au detectat prin qPCR-array (Sistem *PCR Rotor-Gene 6000, Corbett*) mutațiile somatice de pe genele BRAF, CDKN2A, CTNNB1/beta-catenină, GNAQ, HRAS, KIT, KRAS, NRAS, PIK3CA și LKB1/STK11 (Trusă *Human Melanoma qBiomarker Somatic Mutation – SA Bioscience/Qiagen*)

S-au cuantificat în ser prin tehnica ELISA (Linie ELISA *TECAN*) produșii principalelor gene cu modificări de expresie la pacienți cu melanom cutanat: TP53, MITF, NRAS, GNAQ, CDKN2A/P16, BRAF, HRAS, KRAS) (Truse *MyBioSource*). Concentrațiile MITF și TP53 au fost determinate pentru 36 pacienți, HRAS, KRAS și BRAF la 21 pacienți, NRAS și GNAQ la 32 pacienți, iar concentrațiile CDKN2A/P16 pentru 43 cazuri.

Rezultate: Au fost identificate mutații la 5 din cele 8 tumori testate, la nivelul următoarelor gene: BRAF (2 mutații), GNAQ, KIT, KRAS, NRAS (4 mutații), CDKN2A (2 mutații). Produșii genelor mutante au avut valori crescute astfel: 52% pentru BRAF, 9,5% pentru HRAS și 57% pentru KRAS. Gena CDKN2A este ubicuitar supraexprimată în MC, în timp ce genele NRAS și GNAQ nu au o prezență semnificativă ca modificare de expresie.



Concluzii: Investigațiile relevă posibilitatea de acreditare a unor noi biomarkeri în melanom, decelabili prin metode genomice sau serologice. Importanța acestor biomarkeri este relevantă în tumori *in situ* (markeri de evoluție) sau pentru stabilirea tratamentului și monitorizării la pacienți cu mutații cunoscute ale genelor implicate în dezvoltarea și proliferarea melanocitelor maligne.

Mențiuni: *Lucrarea a beneficiat de finanțare prin Programul Nucleu, PN 09.33-01.19.*

P.16 IMPORTANȚA CELULELOR NK ÎN EVALUAREA INFERTILITĂȚII FEMININE

Ioana Ruxandra Pîrnu, Mihaela Surcel, Radu-Ionuț Huică, Adriana Narcisa Munteanu, Dan Ciotaru, Cornel Ursaciuc

Secția Imunologie, INCD "Victor Babeș" București

Introducere: Rolul celulelor NK în infertilitatea feminină nu este încă bine înțeles, dar în ultimii ani clinicile de fertilizare *in vitro* solicită investigarea celulelor NK periferice (NKp). Implantarea embrionului implică modificări hormonale materne, un răspuns imun și evenimente de maturizare la nivelul embrionului. Este speculat că o creștere a numărului NKp ar putea avea efect asupra capacității de reproducere, această creștere fiind în prezent folosită uneori ca test pentru inițierea terapiei.

Materiale și metode: Au fost luate în studiu 115 paciente: 66 - infertilitate de etiologie neprecizată, vârsta 27 - 44 ani, 42 - eșec de fertilizare *in vitro* (EFIV), 29 - 42 ani și 7 - boală abortivă, 30 - 38 ani. Au fost determinate populațiile și subpopulațiile limfocitare din sângele periferic: limfocite T-CD3⁺, T-CD4⁺, T-CD8⁺, B-CD19⁺, celule NKp-CD16⁺ CD56⁺, prin citometrie în flux (citometru BD FACSCanto II, software BD FACSCanto Clinical).

Rezultate: Principalele modificări înregistrate au fost creșteri ale raportului T-CD4⁺/T-CD8⁺ la peste 60% din cazuri pentru loturile cu infertilitate și EFIV, acestea datorându-se în principal scăderii procentului de T-CD3⁺CD8⁺ la peste 80% din cazuri. Pentru pacientele cu boală abortivă, principala modificare a fost scăderea procentului T-CD3⁺CD8⁺ la 86% din cazuri. Analiza NKp (CD56⁺CD16⁺) a relevat valori procentuale și absolute peste limite normale în 25, respectiv 31% din cazuri. Deși valorile procentuale normale pentru NKp se situează între 10-19% din limfocite, unii autori au considerat ca prag critic valoarea de 12%, peste care s-ar indica intervenție terapeutică. Acest prag a fost depășit la 73% din pacientele cu infertilitate, 69% din pacientele cu EFIV și la 86% din pacientele cu boală abortivă.

Concluzii: Deși evaluarea celulelor NKp este solicitată în diagnosticarea unor cazuri de infertilitate feminine,

depășirea unui prag aleatoriu situat în interiorul plajei de valori normale nu garantează sau confirmă implicarea NKp în patologia studiată.

P.17 INVESTIGAȚII IMUNOFENOTIPICE LA ȘOARECII TRANSGENICI (STOCK CAV1^{tm1Mls/J})

Mihaela Surcel, Radu-Ionuț Huică, Adriana Narcisa Munteanu, Ioana Ruxandra Pîrnu, Silvia Sorca, Elena Codrici, Dan Ciotaru, Cornel Ursaciuc

Laborator Imunopatologie, INCD "Victor Babeș",
București, România

Introducere: Evaluarea în modele experimentale a diverselor mutații genice și a expresiei diferențiate a proteinelor la nivelul șoarecilor transgenici face necesară cunoașterea tuturor modificărilor pe care aceste organisme modelate pot să le prezinte după inducerea transgeniei. Studiul face parte dintr-un proiect mai amplu ce are drept scop realizarea unui tablou cât mai complet al biomarkerilor proteomici și imunologici ce caracterizează animalele de laborator și stabilirea diferențelor între organismele normale și cele transgenice.

Material și metode: Au fost realizate investigații imunofenotipice din sânge periferic și splină pentru lotul de șoareci transgenici (STOCK Cav1^{tm1Mls/J}) prin determinarea populațiilor limfocitare CD3⁺, CD3⁺CD19⁺, CD3⁺NK1.1⁺, subpopulațiilor limfocitare CD3⁺CD4⁺ și CD3⁺CD8a⁺ și a subpopulațiilor CD3⁺NK1.1^{dim} și CD3⁺NK1.1^{bright}. Probele marcate cu anticorpi monoclonali (*Biolegend*) au fost analizate prin citometrie în flux (BD FACSCanto II, software BD FACSDiva 6.1), iar valorile parametrilor determinați au fost raportate la cele obținute pe un lot de șoareci normali (linia B6129PF2/J).

Rezultate: Pentru toate populațiile limfocitare (CD3⁺, CD19⁺, NK1.1⁺) se constată același aspect în sângele periferic și splină, ponderea acestora fiind mai mică la șoarecii transgenici. Analiza internă a populației CD3⁺ a relevat scăderea ponderii subpopulației CD4⁺ și creșterea ponderii subpopulației CD8a⁺ la transgenici față de normali în sângele periferic; pentru suspensia de splenocite, distribuția ponderii acestor subpopulații este inversă. Analiza internă a populației NK (NK1.1⁺) a relevat o inversiune a distribuției celor două subpopulații (NK1.1^{dim} și NK1.1^{bright}) în sângele periferic și suspensia de splenocite între cele două loturi de șoareci investigate: raport NK1.1^{dim}/NK1.1^{bright} supraunitar în sânge și subunitar în splină la normali, raport NK1.1^{dim}/NK1.1^{bright} subunitar în sânge și supraunitar în splină la transgenici.

Concluzii: Analiza comparativă a populațiilor limfocitare din sângele periferic și splină la șoareci normali și transgenici a relevat diferențe în majoritate



semnificative între cele două tipuri de organisme, sugerând o distribuție celulară parțial modificată la șoarecii transgenici.

Mențiuni: *Lucrarea a beneficiat de finanțare prin Programul Nucleu, PN 09.33-04.15.*

P.18 MUCOASĂ GASTRICĂ ECTOPICĂ LA NIVELUL LIMBII

Corina Nastasia

Spitalul Clinic de Chirurgie OMF "Prof. Dr. Dan Theodorescu" București

Introducere: Mucoasa gastrică ectopică reprezintă prezența de mucoasă gastrică localizată în afara stomacului și poate fi găsită aproape oriunde la nivelul tractului gastro-intestinal, dar mai frecvent la nivelul esofagului. Localizarea în zona capului și gâtului este foarte rară.

Material și metodă: Prezentăm cazul unui pacient de 16 ani internat pentru o formațiune tumorală localizată pe fața dorsală linguală, treimea posterioară, asimptomatică, prezentă de la naștere și care și-a mărit ușor dimensiunile. Fragmentele tisulare recoltate au fost fixate în formol 10%, incluse la parafină și colorate cu hematoxilină-eozină.

Rezultate: Macroscopic s-a constatat o formațiune tumorală polipoasă, sesilă, roz-albicioasă, de aproximativ 1,3 cm. Examenul microscopic a evidențiat prezența de mucoasă gastrică de aspect polipoid, ulcerată în suprafață, cu rare ectazii ductale, zonal cu modificări epiteliale reactive (discretă anizocarie și prezența de mitoze tipice), cu rare focare limfocitare în lamina propria și profund, țesut muscular neted.

Concluzii: Aspectul histopatologic corelat cu istoricul pacientului (prezența de la naștere) au condus la diagnosticul de mucoasă gastrică ectopică la nivelul limbii. Ectopia gastrică poate apărea ca leziune chistică sau solidă, varianta solidă, ca în cazul nostru, fiind mult mai rar descrisă în literatură. În ceea ce privește originea mucoasei gastrice ectopice la nivelul limbii, se consideră a fi mai degrabă o malformație congenitală produsă prin sechestrarea la acest nivel, de celule endodermale nediferențiate, în timpul dezvoltării.

P.19 ASPECTE CLINICO-PATOLOGICE ÎN TUMORILE STROMALE GASTRICE

Andreea Iorgescu¹, Vlad Herlea¹, Elena Stoica-Mustafa¹, Cătălin Pechianu¹, Irinel Popescu²

1. I. C. Fundeni - Serviciul de Anatomie Patologică
2. I. C. Fundeni - Centrul de Chirurgie Generală și Transplant Hepatic "Dan Setlacec"

Introducere: Tumorile stromale gastrointestinale sunt neoplasme mezenchimale cu punct de plecare în celulele Cajal sau în celulele precursorale acestora, ce se

găsesc de-a lungul tractului gastrointestinal. Localizarea gastrică este cea mai frecventă (53%), urmată de cea intestinală (33%), rectală (5%), esofagiană (5%) și colonică (4%).

Scopul acestui studiu a fost de a evidenția trăsăturile clinico-patologice ale tumorilor stromale gastrice primare, precum și prognosticul acestora.

Material și metode: Lotul de studiu a inclus 62 de pacienți cu tumori stromale cu localizare gastrică, pacienți diagnosticați și tratați în Institutul Clinic Fundeni între anii 2004-2015.

Rezultate: Din cei 62 pacienți cu tumori stromale cu localizare gastrică, 24 au fost bărbați și 38 au fost femei, cu vârste cuprinse între 26 și 83 ani (media 59 ani). Diametrul tumoral a variat între 1 și 30 cm (media 7.2cm). Marea majoritate (24) s-au încadrat în grupul prognostic 2. Histologic s-a urmărit modul de dezvoltare, celularitatea, necroza, pleiomorfismul celular. Colorațiile imunohistochemice aplicate pentru diagnostic au inclus următorii markeri: CD117, DOG1, CD34, SMA, Desmină, PDGFRA. Asociația lui CD34 cu numărul de mitoze atipice a fost semnificativă statistic (χ^2 (12, N = 41) = 24.9, p < .05), CD34 pozitiv fiind mai frecvent în rândul pacienților cu mai puține mitoze atipice. Supraviețuirea medie a fost de 1798.92 zile (deviație standard 1257.760).

Concluzii: Este importantă diagnosticarea timpurie a acestei maladii și acest lucru nu poate fi făcut decât cu ajutorul examenului histopatologic și imunohistochemic. GISTurile cu localizare gastrică prezintă un prognostic mai bun cu o supraviețuire medie de 1798.92 zile pe lotul studiat.

P.20 SUPRAEXPRESIA CORELATĂ A BCL-2 ÎN CELULELE EPITELIALE ȘI ÎN LIMFOCITELE STROMALE – EXPRESIE A STRESSULUI OXIDATIV ÎN COLITA ULCERATIVĂ

Cristiana Popp¹, Gianina Micu¹, Luciana Nichita^{1,2}, Mirela Petre¹, Liana Sticlaru¹, Gabriel Pop¹, Radu Mateescu^{2,3}, Theodor Voiosu^{2,3}, Florica Stăniceanu^{2,3}, Sabina Zurac^{1,2}

1. Spitalul Clinic Colentina București – Serviciul de Anatomie Patologică
2. UMF „Carol Davila” București
3. Spitalul Clinic Colentina București – Clinica de Gastroenterologie

Introducere: Colita ulcerativă (CU) este o boală inflamatorie intestinală cronică idiopatică, care apare de obicei la adulții tineri și evoluează cronic, cu perioade de remisiune și recăderi repetate. Cea mai gravă complicație pe termen lung este apariția malignităților epiteliale sau limfoide ca efect al stresului oxidativ îndelungat. Studii independente au



observat o creștere a expresiei proteinei antiapoptotice bcl-2 în celulele epiteliale și în limfocitele din micromediul stromal la pacienții cu CU, ca indicator al efectelor stresului oxidativ asupra celulelor.

Materiale și metode: Am efectuat un studiu prospectiv de cohortă, incluzând 45 de pacienți cu diagnostic de CU, care au fost evaluați clinic, endoscopic și histologic la interval de 12 luni. Expresia bcl-2 a fost exprimată procentual, atât în celulele epiteliale cât și în limfocite, pe biopsii prelevate de la fiecare pacient la începutul și la sfârșitul anului de supraveghere.

Rezultate: bcl-2 a fost supraexprimată în majoritatea cazurilor studiate atât în celulele epiteliale (48 de biopsii din cele 90 studiate au prezentat pozitivitate epitelială pentru bcl-2) cât și în limfocite (expresie prezentă în ~50% din limfocitele prezente pe biopsiile examinate). S-au identificat corelații semnificative statistic între expresia în celulele epiteliale și limfocite (t test $p=0,0078$).

Concluzii: Prezența corelației semnificative între expresia bcl-2 în celulele epiteliale și limfocite indică acumularea de mutații în aceste celule sub acțiunea stresului oxidativ și a acumulării de produși toxici în micromediul stromal. Expresia bcl-2 este utilă în algoritmul de stabilire a unui prognostic pe termen lung la pacienții cu colită ulcerativă, algoritm care trebuie să țină seamă de riscul de displazie și malignitate.

P.21 INFLAMAȚIA PLEXULUI MIENTERIC GASTRIC – UN POSIBIL ROL ÎN PATOGENEZA INFECȚIEI CU *HELICOBACTER PYLORI*?

*Liana Sticlaru¹, Mirela Cioplea¹, Cristiana Popp¹,
Gianina Micu¹, Florica Stăniceanu^{1,2}*

1. Spitalul Clinic Colentina, București

2. UMF "Carol Davila", București

Introducere: Existența unor modele diferite de progresie a infecției cu *Helicobacter pylori*, heterogenitatea simptomatologiei induse de aceasta, precum și persistența simptomelor digestive la unii pacienți după eradicarea microorganismului sugerează faptul că, pe lângă polimorfismul genetic al gazdei și variabilitatea virulenței bacteriene, există și alți factori individuali implicați în patogeniza celei mai răspândite infecții cronice de pe glob. Unul dintre acești factori adiționali poate fi reprezentat de alterările morfologice și neurochimice ale sistemului nervos enteric gastric.

Materiale și metode: Am efectuat un studiu retrospectiv de cohortă care a cuprins 40 de pacienți prezentând infecție cu *H. pylori* confirmată histopatologic, la care s-a practicat gastrectomie totală sau parțială în Spitalul Clinic Colentina pe parcursul unei perioade de 5 ani. Am analizat, prin colorații uzuale și speciale, dar mai ales prin tehnici

imunohistochimice, prezența celulelor inflamatorii dispuse în proximitatea plexului mienteric gastric, precum și efectele acestora asupra structurii neuronilor din respectivele structuri ganglionare. Rezultatele au fost comparate cu cele obținute într-un lot martor, care a inclus un număr similar de pacienți, însă fără istoric recent de infecție cu *H. pylori*.

Rezultate: Am identificat diferențe semnificative între cele două grupuri analizate. Evaluarea specimenelor tisulare provenind de la pacienții infectați cu *H. pylori* a relevat, în majoritatea cazurilor, prezența unui infiltrat inflamator cronic dominat de limfocite T CD3-pozitive, dispus în proximitatea plexului mienteric. Infiltratul a inclus și limfocite B, plasmocite și eozinofile, însă într-un număr mai redus. Ganglionita mienterică s-a asociat în mod semnificativ cu apoptoza neuronală, caracterizată prin pierderea expresiei proteinei antiapoptotice bcl-2.

Concluzii: Prezentul studiu a demonstrat, pentru prima dată, că infecția cu *H. pylori* poate induce inflamația ganglionilor mienterici, conducând astfel la alterări structurale ale sistemului nervos gastric. Rezultatele obținute furnizează astfel o bază morfologică pentru o mai bună înțelegere a unor aspecte încă incomplet elucidate ale patogenizei infecției cu *H. pylori*.

P.22 MEDULOBLASTOM CU MULTIPLE DETERMINĂRI SECUNDARE SUPRA ȘI SUBTENTORIALE LA PRIMA PREZENTARE. RAPORTARE DE CAZ ȘI REVIZUIREA LITERATURII DE SPECIALITATE.

Oana Cristina Voinea, Cătălin Cocoșilă, Maria Sajin, Mariana Costache, Adrian Dumitru, Andreea Mihai, Anamaria Pop, Manuela Popa, Oana Pătrașcu, Mihai Gheorghe Lisievi

UMF Carol Davila, SUU Bagdasar-Arseni București, SUUB

Introducere: Meduloblastomul este o tumoră neuroectodermală primitivă ce se dezvoltă în fosa posterioară și are o predilecție de diseminare în neuroaxis, mai frecvent la nivelul maduvei spinării pe calea lichidului cefalorahidian. Deși rar, metastazele sistemice pot apărea, în special la nivel osos, hepatic și pulmonar. Determinările secundare supratentoriale sunt extrem de rare și se pot întâlni în cazul rezecțiilor parțiale ale tumorii, chimio- și radio-terapie subdozată (întreruptă prin complicații diverse) după o perioadă variabilă de timp (3-6 luni). În această lucrare raportăm cazul unui pacient care la prima adresare către un serviciu medical a fost diagnosticat cu meduloblastom și numeroase determinări supratentoriale, confirmate histologic postnecroptic.



Materiale și metode: În decembrie 2014 un băiat în vârstă de 4 ani s-a prezentat la UPU cu semne clinice de hipertensiune intracranială severă. S-a efectuat un examen IRM în urma căruia s-a decelat o formațiune tumorală de 44/32/30 mm localizată în vermisul cerebelos și multiple alte mici tumori situate cu preponderență în lobul parietal stâng și leptomeningeal. S-a intervenit chirurgical în doi timpi, pentru a rezolva HTIC și ulterior pentru a rezeca procesul tumoral vermian. Examenul histopatologic a confirmat diagnosticul de meduloblastom. La 11 zile de la intervenție, băiatul a suferit o infecție acută respiratorie severă ce a provocat decesul. La examenul necropsic s-au decelat peste 300 de formațiuni tumorale distincte cu dimensiuni infracentimetrice care au fost confirmate histopatologic drept determinări secundare de meduloblastom.

Rezultate: În această lucrare prezentăm cazul evoluției rapid progresive a unui meduloblastom cu determinări multiple preponderent supratentoriale, până în prezent acesta fiind primul caz raportat în literatura de specialitate.

Concluzii: Din cauza importanței hipertensiunii intracraniene, o posibilă explicație pentru diseminarea supratentorială a determinărilor metastatice supratentoriale ar putea fi schimbarea sensului de circulare a LCR. Prin această lucrare, confirmăm că și în alte raportări de caz, importanța direcției fluxului LCR în determinările secundare (peritoneale, hepatice, pulmonare).

Mulțumiri: Această lucrare a fost realizată cu sprijinul Programului Operațional Sectorial de Dezvoltare a Resurselor Umane (SOP HRD), finanțat de Fondul Social european și de către Guvernul României prin contractul POSDRU/187/1.5/S/156069/

P.23 FIBROBLAȘTII ASOCIAȚI CANCERULUI ÎN MELANOMUL MALIGN

Patricia Stîngă¹, Răzvan Andrei¹, Liana Sticlaru¹, Mirela Cioplea¹, Alexandra Drăgușin¹, Vlad Mageriu¹, Florica Stăniceanu^{1,2}, Sabina Zurac^{1,2}

1. Spitalul Clinic Colentina, București, România
2. UMF "Carol Davila", București, România

Introducere: În prezent este general acceptată ideea că dezvoltarea melanomului malign (MM) nu depinde exclusiv de melanocitele maligne, ci este influențată și de componente tumorale stromale, dintre care un rol important îl joacă fibroblaștii intra- și peritumorali - fibroblaștii asociați cancerului (cancer associated fibroblasts - CAF). Sunt diferiți de fibroblaștii țesutului conjunctiv indemn; achiziționează proprietăți de miofibroblaști, remodelează matricea extracelulară, arhitectura tisulară, secretă anumite substanțe, promovând creșterea tumorală, angiogeneza, procesul

de metastazare în MM. CAF reprezintă o subclasă celulară heterogenă și necesită pentru identificare un set de markeri imunohistochimici care include markeri de fibroblaști (desmină, vimentină, FAP, FSP-1), markeri de activare fibroblastică (alfa-SMA) și markeri de agresivitate (THY1, PSP-1, PDGR-alfa, TN-C, MMP3, podoplanină etc).

Materiale și metode: În studiu au fost incluse 15 melanoame maligne diagnosticate în cadrul departamentului de Anatomopatologie al Spitalului Clinic Colentina între anii 2009-2010; pentru identificarea CAF au fost folosite metode de imunohisto fluorescență cu dublu imunomarcaj pentru alfa-SMA și MMP3.

Rezultate: Celulele cu dublu marcaj (pozitive atât pentru alfa-SMA cât și pentru MMP3) au fost superioare numeric în ariile intra- și peritumorale comparativ cu ariile aflate la distanță de tumoare în care predomină celule pozitive pentru alfa-SMA.

Concluzii: CAF sunt entități celulare posibil implicate în procesele creșterii și progresiei tumorale și ar putea servi ca factor de evaluare a potențialului de extensie/invasie tumorală. Este necesară realizarea de studii imunohisto chimice complexe, cu utilizarea unei varietăți mai mari de markeri imunohisto chimici pentru identificarea CAF și studierea comportamentului lor.

**Acest studiu a fost susținut de proiectul 190/2014/PN-II-PT-PCCA-2013-4-1407.*

P.24 MODIFICĂRI ALE CĂILOR DE SEMNALIZARE ÎN CANCERUL GASTRIC – POSIBILE ȚINTE TERAPEUTICE

Ioana M. Aldea¹, Laura G. Necula^{1,2,3}, Mihaela Chivu Economescu¹, Coralia Bleotu¹, Denisa Dragu¹, Gabriel Constantinescu⁴, Simona O. Dima⁵, Irinel Popescu⁵, Carmen C. Diaconu¹

1. Institutul de Virusologie Ștefan S. Nicolau, București, România;
2. INCĐ Victor Babeș, București, România;
3. Universitatea Titu Maiorescu, București, România;
4. Spitalul Clinic de Urgență Floreasca, București, România;
5. Centrul de Boli Digestive și Transplant Hepatic al Institutului Clinic Fundeni, București, România.

Introducere: Studiul își propune să analizeze patogeneza moleculară a adenocarcinomului gastric prin explorarea căilor de semnalizare aberant exprimate în țesuturi tumorale gastrice și linii celulare tumorale gastrice.

Materiale și metode: În studiu au fost incluși 51 de pacienți cu adenocarcinom gastric de la care au fost obținute probe de țesut tumoral și normal, adiacent tumorii. ADN-ul complementar și proteinele s-au folosit pentru analizarea expresiei genice și a căilor de



semnalizare prin tehnici de gene microarray și dot-blotting. Tehnologia ARN de interferență a fost folosită pe linii celulare tumorale gastrice, pentru a inhiba genele cu expresie semnificativ modificată în țesutul gastric tumoral, în scopul analizării semnificației biologice a acestor gene în patogeneza cancerului gastric. Confirmarea inhibiției acestor gene s-a realizat prin RT-PCR cantitativ în timp ce efectul inhibiției expresiei genice s-a analizat prin dot-blotting.

Rezultate. Analizele de expresie genică au identificat în țesutul tumoral gastric, gene semnificativ supraexprimate, asociate cu progresia tumorală. Rezultatele de proteomică au evidențiat activarea mai multor căi de semnalizare în țesutul tumoral gastric. Inhibarea genelor supraexprimate a dus la scăderea semnalizării la nivelul căilor de semnalizare asociate cu proliferarea, migrarea și angiogeneza.

Concluzii. Genele identificate ca fiind supraexprimate în țesutul tumoral ar putea reprezenta posibile ținte pentru dezvoltarea de noi strategii terapeutice în cancerul gastric.

Acknowledgement: Ioana M. Aldea a fost finanțată prin programul POSDRU/159/1.5/S/137390.

P.25 ASPECTE GENETICE ȘI EPIGENETICE IMPLICATE ÎN AFECȚIUNILE CARDIOVASCULARE

Irina Huică¹, Iulia V. Iancu¹, Anca Botezatu¹, Elena Lupeanu², Mariana Anton³

1. Institutul de Virusologie "Ștefan S. Nicolau", București
2. Institutul „Ana Aslan”, Otopeni
3. UMF „Carol Davila”, București

Introducere: Bolile cardiovasculare constituie principala cauză de deces la nivel mondial, fiind cauzate de o multitudine de factori. Variabilitatea genetică și mecanismele epigenetice sunt considerate factori cheie în patofiziologia cardiacă. Printre factorii de risc în această patologie se numără și MTHFR (metilen-tetrahidrofolat reductaza) enzimă cheie în metabolismul folatului. Pe de altă parte, TIMP-1 (*tissue inhibitors of metalloproteinases*) s-a dovedit a fi un factor de risc în insuficiența cardiac cronică. TIMP-1 exercită un efect important asupra matrix metaloproteinazelor și reglarea sa se poate efectua și prin mecanisme epigenetice.

Scopul acestui studiu a constat în evaluarea unei potențiale corelații între gradul de metilare al promotorului genei TIMP-1 și polimorfismele genei MTHFR în afecțiunile cardiovasculare.

Materiale și metode: Studiul a inclus 90 pacienți cu afecțiuni cardiovasculare (vârsta: 23 - 87 ani, media = 5^{1,5}, mediana = 5^{3,4} ani) și un lot control format din 25 subiecți sănătoși (vârsta: 20-53 ani, media = 36 ani, mediana = 35 ani) de la care s-au recoltat probe de

sange pe EDTA. Investigațiile s-au efectuat pe ADN celular total izolat din sânge cu ajutorul kit-ului High Pure Template (Roche). Nivelul de metilare a promotorului TIMP-1 s-a determinat prin MS-PCR (Methylation Specific PCR) după conversia cu bisulfid de sodiu a reziduurilor de citozină nemetilată (EpiTect Bisulfite kit, Qiagen). Polimorfismele genei MTHFR (C677T și A1298C) s-au determinat prin PCR – RFLP (*restriction fragment length polymorphism*).

Rezultate și concluzii: Procentul subiecților care au prezentat polimorfisme ale MTHFR a fost semnificativ mai mare în grupul pacienților cu afecțiuni cardiovasculare (84% C677T și 90% A1298C), față de grupul control (32% C677T și 40% A1298C). Metilarea promotorului TIMP a fost identificată la 6^{7,80}% dintre pacienți cu afecțiuni cardiovasculare și la doar 12% în grupul subiecților sănătoși. A fost găsită o asociere pozitivă între modificările genetice și epigenetice studiate și afecțiunile cardiovasculare.

P.26 ASPECTE HISTOLOGICE ÎN SARCOAMELE DE PĂRȚI MOI ALE EXTREMITĂȚILOR

Luminița Elena Mitrache¹, Maria Sajin^{1,2}

1. UMF "Carol Davila", București, România
2. Spitalul Universitar de Urgență, București, România

Introducere: Sarcoamele de părți moi sunt tumori maligne extrem de heterogene datorită histogenezei complexe ce se reflectă în prognosticul și aspectele clinice variabile. Sunt tumori rare ce reprezintă 1% din totalul tumorilor maligne.

Materiale și metode: În cadrul Spitalului Universitar de Urgență București, s-a realizat un studiu retrospectiv în care au fost incluși 45 de pacienți diagnosticați cu sarcoame de părți moi ale extremităților. S-a realizat evaluarea datelor clinice, morfologice și imunohistochimice. Datele clinice au fost obținute din foile de observație clinică. Lamele histopatologice au fost examinate și s-au folosit kit-uri de anticorpi pentru examinarea imunohistochimică.

Rezultate: 21 dintre pacienți au fost bărbați și 24 au fost femei. Vârsta pacienților a variat de la 17 la 88 de ani (mediana de aproximativ 60 de ani). 82% dintre pacienți au avut tumori localizate la nivelul membrelor inferioare, cel mai frecvent afectat segment fiind coapsa, urmat de gamba. Tipurile histologice tumorale, în funcție de frecvență, au fost următoarele: liposarcom (25%), sarcom nediferențiat de grad înalt (20%), leiomiomiom (18%), mixofibrosarcom (13%), tumoră malignă de teacă de nerv periferic (9%), sarcom sinovial (4%) și câte un caz pentru fiecare dintre: angiosarcom, rabdomiosarcom, sarcom alveolar, sarcom cu celule clare și sarcom Ewing extrascheletal. Dimensiunile tumorale au variat de la 2 la 20 cm



(mediana de 6 cm). Un singur pacient a prezentat invazie a ganglionilor limfatici, 10 dintre tumori au recidivat iar 14 pacienți au dezvoltat metastaze.

Concluzii: Sarcoamele de părți moi sunt tumori extrem de rare cu un prognostic rezervat datorită riscului de recidivă și de metastazare. Diagnosticul de precizie al acestor tumori necesită tehnici complementare imunohistochimice. Comunicarea dintre chirurg-radiolog-anatomopatolog stă la baza unui diagnostic bine orientat și a unei stadializări cât mai precise a tumorii.

tinere, fiind considerată neoplasm malign de grad jos. Din cunoștințele noastre este al doilea caz raportat de carcinom renal cu celule clare asociat cu neoplasm pancreatic solid pseudopapilar, și cel mai frecvent se asociază cu mutația β cateninei.

Adelina Birceanu-Corobea și Monica Hortopan autori în egală măsură.

P.27 TUMORI SINCRONE: NEOPLASM PSEUDOPAPILAR SOLID PANCREATIC ȘI CARCINOM RENAL CU CELULE CLARE

Adelina Birceanu-Corobea¹, Monica Hortopan², Mihaela Mihai², Vlad Herlea², Florinel Pop³, Ioanel Sinescu²

1. Spitalul Clinic De Urgență București, România

2. INC Fundeni, București, România

3. UMF Carol Davila București, România

Introducere: Neoplasmul pseudopapilar solid pancreatic este o tumoră pancreatică rară, indolentă. Carcinomul renal cu celule clare este cea mai frecventă tumoră renală, cel mai frecvent la vârstnici.

Material și metodă: Pacientă în vârstă de 40 de ani, se prezintă în Clinica de Urologie, la Institutul Clinic Fundeni, cu dureri în flancul stâng și masă palpabilă, greață și vărsături. Se recomandă tomografie computerizată cu substanță de contrast.

Rezultate: Imagistic se evidențiază la nivelul cozii pancreatice, masă tumorală, bine delimitată, încapsulată, solidă cu arii chistice. Renal, polar inferior, se identifică formațiune tumorală bine delimitată solidă, cu arii chistice și arii hemoragice. Se practică nefrosuprarenalectomie stângă în bloc cu splenopancreatectomie distală. Histopatologic se identifică la nivelul cozii pancreatice, tumoră cu diametrul maxim 6,5 cm, bine delimitată, multilobulată cu aspect pestriț. Aspectele microscopice coroborate cu testele imunohistochimice susțin diagnosticul de neoplasm pancreatic pseudopapilar solid. Teste imunohistochimice au relevat următoarele CD 10 și Vimentină intens pozitiv intens în celulele tumorale, Synaptofizina pozitiv focal intratumoral.

La nivelul polului inferior renal, se identifică o formațiune tumorală, cu diametrul maxim 5,5 cm, bine delimitată ce invadează sinusul renal, cu aspect pestriț pe secțiune. Aspectul histopatologic este compatibil cu diagnosticul de carcinom renal cu celule clare Fuhrman 3.

Concluzie: Neoplasmul pancreatic solid pseudopapilar este o tumoră rară, ce apare cel mai frecvent la femei





INDEX





A

Abela Lucia, 11, 51
Albulescu Adrian, 91
Albulescu Radu, 11, 13, 53, 66, 67, 90, 91
Aldea Ioana M., 97
Alec Mihail, 8, 28
Ali Leila, 10, 43
Andrei Florin, 10, 43
Andrei Răzvan, 97
Andronesi D., 89
Anghelache Laurențiu, 13, 14, 68, 69, 81
Anton G., 91
Anton Gabriela, 12, 56
Anton Mariana, 98
Ardeleanu Carmen, 9, 35
Arghir Aurora, 5, 10, 11, 49, 50, 51
Avram Mădălina, 9, 34

B

Barbos Otilia, 8, 27
Bârcă Diana, 11, 50
Becheanu Gabriel, 5, 7, 9, 10, 24, 42
Berindan-Neagoe Ioana, 8, 27
Birceanu-Corobea Adelina, 99
Bleotu Coralia, 97
Bold Adriana, 92
Botezatu Anca, 12, 56, 98
Bucur L., 92
Budișteanu Bogdan, 11, 50
Budișteanu Magdalena, 10, 11, 49, 50, 51
Buiga Rareș, 8, 27
Burcuță Alina, 87

C

Calborean Octavian, 8, 29
Cerban R, 89
Cernomaz Andrei - Tudor, 14, 77
Chelu Grațela, 92, 93
Cherecheș Gabriela, 8, 27
Chirieac Lucian R., 9, 39
Chivu Economescu Mihaela, 97
Cionca Florina, 10, 43, 45
Cionca L., 45
Cioplea Mirela, 8, 32, 96, 97
Ciotaru Dan, 8, 28, 93, 94
Cișmașiu Valeriu, 5, 12, 13, 68, 69
Cluceru Maria Linda, 11, 53
Cocoșilă Cătălin, 96
Codrici Elena, 11, 13, 53, 66, 67, 90, 91, 94
Coman Cristin, 12, 63
Coman Gabriela, 8, 28

Comănescu Maria, 9, 33
Constantin Carolina, 8, 30, 31
Constantin Nicoleta, 90
Constantinescu Gabriel, 97
Constantinescu L., 92
Costache Mariana, 96
Costache Marieta, 9, 35
Craiu Dana, 11, 50
Crețoiu Sanda Maria, 88
Croitoru Adina, 89
Crowther Lisa, 11, 51

D

David L., 88, 89
Dema Alis, 10, 40
Diaconu Carmen C., 97
Diculencu Daniela, 14, 75, 76
Dima Simona O., 97
Dobre Maria, 9, 35, 36
Dobrescu Iuliana, 11, 50
Dragomir Cristina, 11, 52
Dragu Denisa, 97
Drăgoi Antunes Guerra Galrinho Ruxandra, 13, 74
Drăgușin Alexandra, 8, 32, 97
Dudău Maria, 13, 66
Dumitru Adrian, 96

E

Enache Robert Mihai, 88
Enache Simona, 10, 43
Enache Valentin, 10, 43
Enciu Ana-Maria, 11, 13, 53, 66, 67, 90, 91

F

Feghiu Adrian, 13, 68
Fendrihan Sergiu, 15, 83, 84
Fenyo Ioana Mădălina, 12, 65
Fertig Emanuel T., 14, 80
Filipescu Cătălin Cristian, 5
Focșa Ina, 11, 50
Forțoiu Maria, 90
Forțoiu Mircea-Cătălin, 90

G

Găbreanu Georgiana, 8, 9, 30, 31, 34
Găină Gisela, 11, 13, 54, 69
Georgescu Mariana, 5
Gheorghe Liana, 89
Gheorman Victor, 14, 79



Gherghiceanu Mihaela, 5, 9, 14, 80
Gogoll Laura, 11, 51
Gonciarov Magda, 12, 64
Grigoriu Bogdan-Dragoș, 14, 75, 76, 77
Grigoriu Carmen, 14, 77
Grozăvescu Raluca, 11, 50

H

Herlea Vlad, 88, 89, 95, 99
Hinescu Mihail Eugen, 5, 13
Hortopan Monica, 88, 89, 99
Huică Irina, 12, 56, 98
Huică Radu-Ionuț, 8, 13, 14, 28, 69, 78, 93, 94

I

Iancu Iulia V., 12, 56, 98
Iliescu Catrinel, 11, 50
Ionescu Adriana, 11, 52
Ionescu M., 88, 89
Ionescu Ruxandra Florentina, 88
Iorgescu Andreea, 88, 89, 95
Ismail G., 90
Isvoranu Gheorghița, 9, 13, 14, 36, 68, 69, 74, 81

J

Joset Pascal, 11, 51

L

Leabu Mircea, 5, 7, 12, 57
Lilakos Konstantinos, 11, 52
Lisievi Mihai Gheorghe, 96
Lopăzan Nina, 90, 91
Lupeanu Elena, 98
Lupu Andreea, 9, 34

M

Macovei Ina - Iuliana, 14, 75, 76, 77
Mageriu Vlad, 97
Manda Gina, 5, 8, 9, 14, 36, 81
Manole Cătălin G., 13, 74
Manole Emilia, 11, 12, 54, 55
Mare Irina, 5
Marinca Mihai, 14, 77
Marinescu Bogdan, 12, 13, 14, 68, 69, 81, 93
Mateescu Garofița-Olivia, 90, 92
Mateescu Radu, 95
Mathis Déborah, 11, 51
Mernea Maria, 8, 29
Micu Gianina, 95, 96
Mihai Andreea, 96
Mihai Mihaela, 88, 89, 99
Mihai Simona, 11, 13, 53, 66, 67, 90, 91, 92

Mihăilescu Dan Florin, 8, 29
Militaru Manuela, 13, 68
Mitrache Luminița Elena, 98
Mitu Florin, 93
Mocanu Mihaela, 93
Moldovan Valentin, 10, 43
Munteanu Adriana Narcisa, 8, 14, 28, 78, 93, 94

N

Nastasia Corina, 95
Neagoie Silvia, 91
Neagu Georgeta, 91
Neagu Monica, 5, 8, 9, 30, 31, 34
Nechifor Marina-Tamara, 8, 29
Necula Laura, 11, 53, 97
Nedelcu Roxana, 8, 32
Neguț Andreea Claudia, 9, 34
Neicu Ariana, 10, 43
Nichita Luciana, 8, 32, 95
Nicolescu Mihnea I., 13, 15, 73, 82
Niculescu Mihaela, 90
Niculițe Cristina-Mariana, 12, 13, 57, 69

O

Oneda Beatrice, 11, 51
Onică Mirela, 12, 57

P

Papik Michael, 11, 51
Papuc Sorina Mihaela, 10, 11, 49, 50, 51
Pavel Ionuț, 14, 75, 76, 77
Păltineanu Ioana, 87
Pătrașcu Oana, 96
Păuunică-Panea Georgeta, 8, 9, 31, 34
Pechianu Cătălin, 88, 89, 95
Péter Simona, 14, 75, 76, 77
Petre Mirela, 95
Petrescu Angela, 5
Petrescu Cezar, 5
Pîrvu Ioana Ruxandra, 8, 28, 93, 94
Plecko Barbara, 11, 51
Pleșa Adriana, 12, 56
Pop Anamaria, 96
Pop Doina, 10, 43
Pop Florinel, 99
Pop Gabriel, 95
Pop Sevinci, 11, 12, 54, 55
Popa Adrian, 11, 53
Popa Manuela, 96
Popescu Alexandru Cristian, 5
Popescu Bogdan O., 5, 13
Popescu Daniela I., 11, 13, 53, 66, 67, 90, 91
Popescu Irinel, 88, 89, 95, 97
Popescu Laurențiu M., 14, 80
Popp Cristiana, 8, 32, 95, 96



Potecă Anca, 9, 33, 87
Preda A., 90
Preoteasa Vasile, 92, 93
Prioteasa Mădălina Ilariana, 87

R

Rauch Anita, 11, 51
Rogoveanu Ion, 14, 79
Rusu-Cordunean Florin, 14, 75, 76, 77

S

Sajin Maria, 96, 98
Sarit Aviel-Ronen, 9, 39
Savu Lorand, 11, 52
Savu Mircea, 88
Schmitt Bernhard, 11, 51
Severin Emilia, 10, 11, 49, 50, 51, 52
Simmons Luke, 11, 51
Sinescu Ioanel, 99
Socolov Demetra, 12, 56
Sorca Silvia, 94
Soritau Olga, 8, 27
Stanca Liliana, 14, 79
Stavarache Irina, 87
Stănescu Mihail-Relu, 14, 79, 90, 92
Stănescu Radu, 14, 79, 90
Stăniceanu Florica, 8, 32, 95, 96, 97
Steindl Katharina, 11, 51
Sticlaru Liana, 8, 32, 95, 96, 97
Stîngă Patricia, 8, 32, 97
Stoian Gheorghe, 9, 34
Stoica Nicu, 90
Stoica-Mustafa Elena, 88, 89, 95
Stolnicu Simona, 10, 41
Stroescu C., 89

Surcel Mihaela, 5, 8, 13, 14, 28, 69, 78, 81, 93, 94

T

Tănase Cristiana, 5, 7, 10, 11, 13, 23, 53, 66, 67, 90, 91

Ț

Țuțulan-Cuniță Andreea, 10, 11, 49, 50, 51, 52

U

Ungureanu C., 89
Urs Andreea Oana, 12, 13, 57, 69
Ursaciuc Cornel, 5, 7, 8, 14, 24, 28, 81, 93, 94

V

Vasilescu C., 88, 89
Vizitiu C., 45
Vlădilă Bogdan, 91
Voiculescu M., 91
Voinea Oana Cristina, 96
Voiosu Theodor, 95

W

Waller Maria, 5
Wohlrab Gabriele, 11, 51

Z

Zăvoi Roxana, 14, 79
Zurac Sabina, 8, 32, 95, 97
Zweier Markus, 11, 51





SPONSORI





DISTRIBUITOR DE ECHIPAMENTE ȘTIINȚIFICE

www.antisel.ro



Dialab Solutions

company profile

- Our Company, Dialab Solutions, is the National Distributor for Bio-Rad Laboratories U.S. since Bio-Rad Laboratories U.S. acquired Pasteur Sanofi Diagnostics, with over 20 years experience in the diagnostic business. We also provide products and solutions for life science research, for universities and research institutes in the country .
- Our company, Dialab Solutions, is one of the major diagnostic reagent and equipment distributors in Romania. We cover the whole country through our local representatives in 6 major cities besides Bucharest who visit customers bi-weekly in adjacent counties with company cars. Our personnel currently counts 35 people, located in Bucharest and in the major cities around Romania, according to a territorial distribution detailed below.
- Our sales people are specialized in Biological Fields: Biologists, Biochemists, Medical and Veterinary Doctors
- Annual training sessions are organized to ensure our sales force is up to date with the latest technologies and selling skills. Over the years, the majority of our staff has participated in products training courses organized by Bio-Rad Laboratories U.S.
- Distribution is ensured nation-wide through the 7 logistics centers spread in the main cities of Romania. The logistic and distribution services have been externalized, based on a contract.
- Our service team ensures service and maintenance for more than 600 instruments installed on site. The service team, over the years participated in all training courses organized by Bio-Rad Laboratories U.S.

Dialab Solutions®

Str. Albac nr. 1, etaj 1, corp A, sector 1,
Cod postal 011607
J40/7696/2008; RO 23818271
Telefon 021/33.22.534;
Fax 021/33.22.292;
e-mail office@aadialab.ro



**Laboratorium
Life Science**

Laboratorium Life Science comercializeaza echipamente, consumabile si reactivi de laborator pentru urmatoarele domenii: anatomie patologica, biologie moleculara, culturi celulare si microbiologie.

Suntem distribuitori oficiali Thermo Scientific, divizia de Anatomie Patologica si IHC. Thermo Scientific inglobeaza producatori de renume, precum: Microm, Shandon, Richard - Allan Scientific, RA Lamb si Lab Vision. La aceste produse, oferim atat consultanta si suport tehnic cat si service.

Compania a fost infiintata la inceputul anului 2012 si face parte din grupul de firme Laboratorium. Suntem o companie tanara, ne ramarcam prin seriozitate, competenta si ascultarea permanenta a nevoilor clientilor. Motivul infiintarii companiei a fost si este in continuarea deservirea comunitatii stiintifice prin oferirea de produse si solutii bazate pe calitate si preturi corecte, corelate cu nevoile si puterea de cumparare a pietei.

Activitatea noastra se desfasoara pe intreg teritoriul Romaniei prin intermediul punctelor de lucru din Bucuresti (Birou de lucru central), Iasi si Cluj (Puncte de lucru), Galati (Sediu social).

Etichetare & Trasabilitate • Procesare tesuturi si Imparafinare • Criotomie • Microtomie • Colorare si Montare lamele pe lame Consumabile si Stocare • Citologie • Statii de lucru pentru patologie • Instrumente si consumabile Imuno Histo Chimie



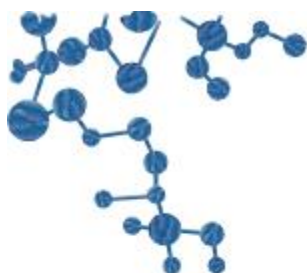
**Laboratorium
Life Science** | Together. A Step Forward™

office@laboratoriumlifescience.ro | www.laboratoriumlifescience.ro

Sediu Bucuresti | Str. Bala, Nr. 16, Sector 1, cod 013495
Tel/Fax: 0314 378 146

Sediu social Galati | Loc. Targu Bujor, Str. Abatorului Nr. 16 - Jud. Galati
J17/1339/2014, RO 29662316

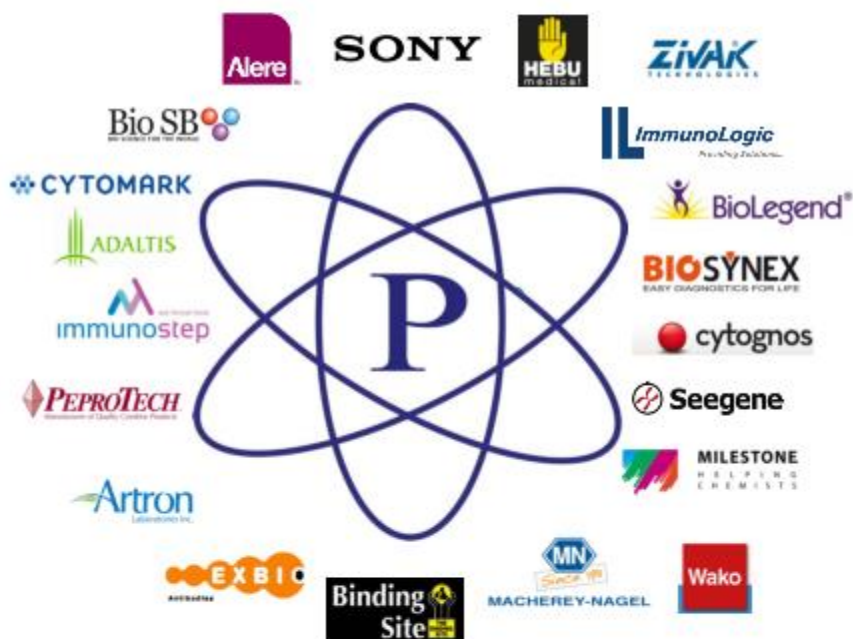




Proton Impex 2000 SRL
9, Mugur Mugurel str. 031227 Bucharest ROMANIA
Tel/Fax: +40-21-224 5281 E-mail: office@proton.com.ro
www.proton.com.ro ; www.hepascor.ro; www.halopaptest.ro



- SOLUTII INOVATOARE PENTRU LABORATORUL SAU CLINICA DVS.:
- DOTARI COMPLETE LABORATOARE DE DIAGNOSTIC SI CERCETARE
- CONSULTANTA SI PROIECTE LA CHEIE
- REACTIVI SI ECHIPAMENTE DE ULTIMA GENERATIE
- SERVICE



Proton Impex 2000 SRL este certificata ISO9001, ISO14001, ISO13485, ISO18001.





11 November 2015

Roche Diagnostics Romania

Prezentare

Prezent pe piața românească încă din perioada interbelică, Roche își închide filiala din România după o scurtă perioadă, datorită depresiei economice din anii '30, dar în anul 1992 își redeschide reprezentanța locală. În anul 2005, grupul Roche ia decizia să înființeze societatea comercială Roche Romania SRL, urmand ca activitatea reprezentanței din București să fie preluată de compania locală nou înființată.

Pentru Roche România cel mai important lucru este facilitarea accesului a cât mai multor pacienți la tratamente inovatoare și teste de diagnosticare de ultimă generație, care îmbunătățesc starea de sănătate și prelungesc supraviețuirea în bolile grave.

Roche oferă produse și servicii care acoperă întreg spectrul îngrijirilor de sănătate, pornind de la prevenție, tratament și până la monitorizarea post-tratament, în arii terapeutice majore unde există nevoi medicale neacoperite încă. O largă gamă de produse permite obținerea unor progrese terapeutice reale, atât pentru pacienți, cât și pentru medici și spitale.

Prin intermediul Roche România, ambele divizii ale Grupului Roche - divizia de farmaceutice și divizia de diagnostice - sunt prezente pe piața din țara noastră, oferind produse și servicii de înaltă specializare.

Compania Roche, prin cele două divizii, farmaceutică și **de diagnostic**, reprezintă o parte importantă a fundamentului pe care se sprijină serviciile medicale moderne din România.

Gama largă de teste și sistemele inovatoare **de diagnostic** joacă un rol esențial în cadrul soluțiilor medicale personalizate și integrate și cuprinde detectarea precoce, depistare specifică, evaluarea și monitorizarea diverselor patologii.

Divizia de diagnostic a companiei Roche activează pe toate segmentele de piață, de la cercetare științifică și sisteme dedicate laboratoarelor medicale până la automonitorizarea pacienților.



RONEXPRIM
WE DELIVER PERFORMANCE

Str. Colituri, Nr. 5, Sector 1, Bucuresti, 010885, Romania
T: 021 314 35 99, -98, -97; **M:** 0372 127 400; **F:** 021 313 62 44;
E: office@ronexprim.com; **W:** www.ronexprim.com

SOLUȚII COMPLETE PENTRU LABORATOARE

Agenzie și service în ROMANIA pentru:



Sistem de Management Integrat
ISO 9001:2008, ISO 14001:2004
OHSAS 18001:2007 certificat de SRAC:



Profilul companiei

Ronexprim este unul dintre furnizorii importanți de echipamente și servicii pentru clienți din industrie, cercetare/dezvoltare, mediu, educație, etc.

Oferta companiei Ronexprim include:

- Aparatură pentru caracterizarea materialelor
- Sisteme de preparare a probelor
- Etaloane și materiale de referință certificate
- Aparatură pentru testarea echipamentelor medicale
- Aparatură de măsură și control
- Echipamente și sisteme electronice de cântărire și dozare
- Se adreseaza domeniilor:
 - Nanotehnologii
 - Biomedical
 - Microbiologie
 - Biologie moleculară
 - Farmaceutic
 - Materiale de construcții
 - Extractie și prelucrare de materii prime

Suport

- Asistență și suport tehnic complet:
 - ✓ Consultanță
 - ✓ Mentenanță
 - ✓ Instalări
 - ✓ Instruirea utilizatorilor
 - ✓ Autorizări
 - ✓ Software specializat
- Service în garanție, intervenții la cerere și contracte de service asigurate de inginerii de service certificați de către producători.
- Service, testare și depanare on-line.
- Aprobări de model și buletine de verificare metrologică.
- Asistență tehnică pentru acreditarea laboratoarelor de încercări.
- Asistență tehnică pentru validarea echipamentelor (documentație și materiale)
- Consultanță și asistență tehnică pentru metode și validarea acestora.
- Suport tehnic de la producători.
- Integrarea echipamentelor livrate în sistemul intern al beneficiarului.
- Piese de schimb, consumabile, standarde și materiale de referință certificate.
- Documentație completă de utilizare în limba română.



Aparatură pentru caracterizarea materialelor	Sisteme de preparare a probelor	Echipamente portabile pentru controlul proceselor
Microscopie ✓ Microscopie electronică de transmisie (TEM și STEM) ✓ Microscopie de baleaj SEM ✓ Microscopie cu fascicul de electroni și ioni (Dual Beam) ✓ Microscopie de forță atomică	✓ Sisteme cu microonde (dezagregare, extracție, calcinare, sinteză) de pregătire a probelor pentru AA, GC, ICP, HPLC ✓ Echipamente de preparare probe pentru microscopie electronică ✓ Echipamente de preparare a probelor pentru XRF ✓ Morii de măcinat, concasoare, prese hidraulice, cuploare de tocare	✓ Calibratoare portabile de proces ✓ Multimetre de proces ✓ Clești de curent pentru semnal unificat ✓ Instrumente certificate ATEX
Spectrometrie ✓ Spectrometrie și difractometrie cu raze X ✓ Spectrometrie cu absorbție atomică ✓ Spectrofluorimetrie ✓ Spectrofotometrie UV/Vis / NIR ✓ Spectrometrie Raman ✓ Laseri ✓ Sisteme de determinare a mercurului	Mașini de spălat sticlărie de laborator Mobilier de laborator Etaloane și materiale de referință certificate ✓ Etaloane ICP, AA, GC, ionocromatografie, XRF, emisie optică ✓ Etaloane și materiale de referință pentru laboratoare din industria petrolieră, metalurgică, chimică, alimentară, farmaceutică etc. precum și pentru laboratoare din domeniul public, mediu, sănătate, veterinar	Echipamente pentru cercetare-dezvoltare ✓ Osciloscopie staționară și portabile ✓ Sisteme de achiziție de date ✓ Numărătoare, frecvențimetre, RLC-metre, ✓ Generatoare de semnal ✓ Surse de alimentare ✓ Multimetre de laborator (5% și 6% digits) Echipamente de etalonare/ calibrare pentru laborator ✓ Etaloane în domeniul electric: calibratoare, multimetre de referință, standarde ✓ Calibrare de temperatură: indicatoare de temperatură, băi termostatare, senzori de temperatură, celule de punct fix ✓ Etaloane de presiune: manometru cu piston și greutăți, controlere de presiune ✓ Microohmmetre, cutii de rezistențe decadică
Echipamente Electrochimice și de Laborator ✓ pH-metre, conductometre, oxigenometre, titrațoare, ionometre, multiparametre ✓ Balaște analitice și termice ✓ Agitatoare, băi de apă, băi de nisip, etuve, incubatoare, distilatoare, bidistilatoare, băi cu ultrasunete ✓ Densimetre și Refractometre automate, portabile și de laborator, Analizoare de bere ✓ Unguri de contact, Tensiometre	Echipamente și sisteme electronice de cântărire ✓ Echipamente și accesorii pentru cântărire ✓ Sisteme electronice de cântărire ✓ Modernizări de poduri auto și CF ✓ Sisteme pentru măsurări de forțe ✓ Software pentru aplicații de cântărire ✓ Consultanță și proiectare de profil Aparatură de măsură și control Instrumente pentru instalații electrice ✓ Multimetre portabile profesionale ✓ Clești de curent și testere electrice ✓ Megohmmetre ✓ Aparatură pentru măsurat prize de pământ Analizoare pentru calitatea energiei Camere de termoviziune ✓ Camere de termoviziune pentru diagnosticarea termică în construcții ✓ Camere de termoviziune cu utilizare în aplicații de întreținere predictivă Termometre digitale și echipamente pentru analiza calității aerului ✓ Termometre digitale cu contact și în infraroșu ✓ Echipamente pentru analiza calității aerului	Automatizări industriale ✓ Senzori și scanere de temperatură IR Testarea aparatelor medicale ✓ Instrumente pentru testarea aparatului medical Testarea cablurilor și a uleiurilor electroizolante Analiza gazului SF6 Accesorii ✓ Sonde și cabluri de test pentru diverse aplicații ✓ Accesorii temperatură ✓ Accesorii pentru testare în domeniul auto ✓ Huse și genți Software ✓ Software de calibrare și administrare baze de date ✓ Software pentru descarcare date și întocmire rapoarte
Echipamente pentru Analize Fizio-Chimice ✓ Analizoare de Carbon Organic Total, Azot, Sulf, Clor, AOX ✓ Analizoare pentru caracterizarea produselor petroliere ✓ Analizoare de gaze ✓ Analizoare IR ✓ Calorimetru cu bombă ✓ Cromatografie de Gaze și Accesorii ✓ Cromatografie de lichide, Ionocromatografie, ✓ Analizoare aminoacizi ✓ Aparatură analiză senzorială ✓ Cuploare și prese de laborator Reometre, Cromatografie GPS/SEC ✓ Reometre ✓ Cromatografie GPS/SEC Sisteme de caracterizare a particulelor	Sisteme de depunere prin ablație laser (PLD)	



**Tunic Prod SRL - importator și distribuitor autorizat de reactivi, consumabile
și aparatură pentru sectorul medical și industrial.
Oferim service autorizat pentru aparatura din portofoliu**

Tunic Prod SRL este o companie românească, cu capital privat, înființată în anul 1993, cu profil de activitate în domeniul importului și distribuției de reactivi, consumabile și aparatură pentru laboratoare medicale și cu alt specific.

Distribuiem în regim exclusiv pe teritoriul României produse ale unor firme de prestigiu din Uniunea Europeană și SUA, asigurând astfel respectarea standardelor de calitate cu care ne-am obișnuit clienții, căutând în permanență să dezvoltăm gama de produse existentă, astfel încât să putem acoperi din ce în ce mai mult și mai bine cerințele clienților noștri.

Compania are implementat un sistem de management integrat conform cu specificațiile standardelor SR EN ISO 9001:2008, SR EN ISO 14001:2005, SR OHSAS 18001:2008, SR EN ISO 13485:2008, sistem ce permite derularea întregii activități într-un mod unitar, al cărui scop final este satisfacerea la cel mai înalt nivel a cerințelor clienților noștri.

Portofoliul nostru include o gamă variată și largă de produse – reactivi chimici, reactivi pentru analize medicale, substanțe chimice, consumabile de laborator (plastic, sticlă), diverse consumabile medicale, mică aparatură de laborator și aparatură specifică domeniului medical în care activăm.

Pentru toate tipurile de aparatură oferită de Tunic Prod SRL asigurăm service autorizat prin personalul tehnic propriu – inginerii noștri de service calificați și certificați de producător/organisme de autorizare din România, precum și cu ajutorul parteneriatelor cu firme specializate.

Așteptăm solicitările dumneavoastră pentru a găsi împreună soluția optimă!



Aleea Mizil nr. 62, sector 3, București,
Tel.: 021.322.15.16, Fax: 021.322.56.72

office@tunic.ro
www.tunic.ro

