

# **TEZA DE ABILITARE**

## **REZUMAT**

**Abordări moderne de biologie moleculară și  
celulară pentru dezvoltarea unor strategii  
terapeutice bazate pe apolipoproteine**

**Domeniul fundamental:** Științe biologice și biomedicale

**Domeniul de abilitare:** Biologie și Biochimie

**Dr. Anca Violeta Gafencu**

**Institutul de Biologie și Patologie Celulară  
"Nicolae Simionescu"  
Academia Română**

**BUCUREȘTI**

**2020**

Teza de abilitare "**Abordările moderne de biologie moleculară și celulară pentru dezvoltarea unor strategii terapeutice bazate pe apolipoproteine**" reflectă activitatea autorului, desfășurată între 2005 și 2020 la Institutul de Biologie Celulară și Patologie "Nicolae Simionescu" și definește planurile de evoluție și dezvoltare a carierei profesionale, științifice și academice. Teza este structurată pe trei secțiuni: (I) Realizările științifice, profesionale și academice; (II) Planurile de evoluție și dezvoltare ale carierei profesionale, științifice și academice; căi de cercetare / aplicații practice și potențiale moduri de acțiune pentru punerea lor în aplicare și (III) Referințe.

Prima secțiune cuprinde (A) realizările științifice și (B) realizările profesionale și academice. Realizările științifice majore sunt împărțite în două capitole: 1. Reglarea genelor apolipoproteinelor în stări patologice normale și 2. Strategii terapeutice noi bazate pe apoE pentru tratamentul aterosclerozei. Principalele rezultate prezentate în capitolul *Reglarea genelor apolipoproteinelor în stări normale și patologice* au evidențiat unele mecanisme de reglare moleculară implicate în expresia genică a apolipoproteinelor aparținând clusterului apoE / apoCI / apoCIV / apoCII. Datele principale au arătat că (i) pe lângă elementele de reglare proximale, elemente reglatoare distale joacă un rol important în modularea genelor situate în clusterul apoE-CII, (ii) interacțiunea ME.2 cu promotorul apoE este specifică macrofagelor; această interacțiune facilitează procesul transcripțional al apoE prin factorii de transcripție STAT1 care se leagă de ME.2; (iii) KLF4 reglează pozitiv gena apoE după legarea pe regiuni specifice prezente pe promotorul apoE; (iv) inducerea expresiei KLF4 este sincronizată cu a apoE în timpul diferențierii macrofagelor; (v) interacțiunea KLF4 cu CREB determină o creștere a reglării genice a apoE; (vi) glucocorticoizii reglează în mod diferit expresia genei apoE, crescând nivelul în mod specific în macrofage, în timp ce un efect combinatoriu conduce la incapacitatea glucocorticoizilor de a modula expresia apoE în hepatocite; (vii) concentrația crescută de homocisteină inhibă expresia apoE, iar acest efect negativ este mediat prin activarea factorului de transcripție proinflamator NF-κB; (viii) mecanismele de semnalizare moleculară conduc la reglarea apoE în condiții de stres inflamator; (ix) metformina reglează pozitiv gena apoE în macrofagele supuse stresului cu endotoxină; mecanismul prin care metformina atenuează efectul LPS implică inhibarea NF-κB; (x) Mecanismele de reglementare specifice celulei c-Jun pentru expresia apoE; (xi) în astrocite, hormonii tiroidieni reglează expresia apoE, acționând asupra ME.2; (xii) STAT1 se poate lega atât de ME.2, cât și de promotorul proximal apoCII și poate transactiva promotorul apoCII; STAT1 cooperează cu RXRα pentru reglarea genei apoCII în macrofage. Capitolul Noi strategii terapeutice bazate pe apoE pentru tratamentul aterosclerozei se referă la (i) biotehnologia nanoparticulelor (ii) transplantului de celule și (iii) inducția condiționată a expresiei apoE în celulele endoteliale într-un model transgenic murin. Principalele date au arătat că nanoparticulele pe bază de fullerol purtând apoE3 imită lipoproteine bogate în apoE care oferă beneficii anti-aterosclerotice semnificative, contribuind la scăderea

colesterolului plasmatic și la creșterea expresiei hepatice a apoA-I și a transportatorilor de lipide, cum ar fi ABCA1 și SR-B1. Direcționarea monocitelor modificate *ex vivo* la plăcile aterosclerotice reprezintă o metodă terapeutică nouă pentru ateroscleroza. În această abordare s-a folosit un fenomen natural care are loc în timpul aterogenezei, și anume infiltrarea monocitelor în placa aterosclerotică, proces utilizat ca mijloc pentru țintirea plăcii aterosclerotice. Ipoteza de lucru presupune ca monocitele care exprimă apoE, infiltrate în placa aterosclerotică vor crește producția apoE în placă, conducând la un eflux de colesterol crescut, cu potențiale efecte antiinflamatorii și antiproliferative, inhibând evoluția plăcii aterosclerotice. Acest studiu a relevat că transplantul de monocite care exprimă apoE la șoarecii apoE<sup>-/-</sup> cu plăci aterosclerotice incipiente a contribuit la reducerea zonei leziunii a vasculaturii. Model de șoareci dublu transgenici care exprimă condițional apolipoproteina E în mod specific în endoteliu a fost generat pentru evaluare efectului apoE secretat la nivelul vasculaturii. Modelul dublu transgenic a fost obținut prin încrucișarea șoarecilor transgenici care exprimă apoE sub elemente sensibile la tetraciclină (pentru expresie condiționată), cu șoareci transgenici care exprimă transactivatorul Tet sub promotorul Tek (pentru expresia specifică endotelială). În final linia dublu transgenică a fost adusă pe fond de șoareci deficienți apoE murin și selectată pentru această caracteristică. Modelul este funcțional, deoarece apoE este exprimat în celulele endoteliale după stimularea cu doxaciclină. În aorta animalelor transgenice, apoE este exprimat pe suprafața endotelială și în zona subendotelială. ApoE este secretat în plasmă unde este găsit liber, dar și în toate tipurile de lipoproteine (VLDL, LDL și HDL), cu o distribuție mai mare în HDL în comparație cu apoE murină la șoarecii control. Rezultatele au arătat că stimularea secreției endoteliale apoE poate împiedica formarea de plăci aterosclerotice prin reducerea dimensiunii sale la șoarecii hrăniți cu o dietă bogată în grăsimi. Un alt rezultat important este faptul că apoE secretat de endoteliu reduce suprafața plăcilor aterosclerotice formate în modelul transgenic. Acest model de șoareci condiționali transgenici poate fi utilizat în viitor pentru a studia regresia plăcii aterogene. Publicațiile pe fiecare tematică sunt menționate în capitolul respectiv. Lucrările au fost publicate în reviste științifice precum PLoS ONE, Journal of Biological Chemistry, International Journal of Molecular Sciences, Computational and Structural Biotechnology Journal.

A doua parte a secțiunii I evidențiază principalele realizări profesionale și academice obținute de la momentul obținerii titlului de doctorat. Expertiza tehnică dobândită include biologie moleculară, biochimie, culturi celulare, microscopie și experimentarea animalelor. Aceste abilități tehnice au fost îmbunătățite în timpul stagiilor de cercetare desfășurate în diferite laboratoare europene și în timpul cursurilor practice organizate la Cold Spring Harbour (SUA), Universitatea New Castle (Regatul Unit), EMBL Heidelberg (Germania), UMCG (Olanda), NTNU (Norvegia). Sprijinul financiar al activităților de cercetare a asigurat condițiile optime pentru progresul în

domeniul biologiei celulare și moleculare cu aplicații în medicina modernă. Șapte granturi pentru realizare unor proiecte de cercetare au fost obținute prin competiție de autor pe tematică diferită de subiectul cercetării doctorale. Cercetarea a fost stimulată de activitățile de colaborare în care a fost implicat autorul. Dr. A. Gafencu a participat la un proiect de colaborare științifică NATO, a fost în Comitetul de gestionare a Acțiunii COST BM0904 (HDLnet), a fost managerul executiv al două proiecte susținute de Comisia Europeană (în PC-ul și în PC-ul 6), a fost responsabil de proiect într-o colaborare Grecia- Romania și este în prezent responsabilul partenerului român într-un proiect ERA-NET PerMed (PerProGlio).

Sectiunea II cuprinde *Evoluția și planurile de dezvoltare ale carierei profesionale, științifice și academice în perioada următoare*. Acestea sunt axate pe biotehnologii în domeniul biomedical, legate de peptide himerice, proteine țintite, apolipoproteine trunchiate, celule încapsulate, etc. În teza curentă, sunt prezentate două proiecte legate de biotehnologiile bazate pe apolipoproteine. Pe baza activității dezvoltate până în prezent, este prevăzut un set extins de activități la nivel local, național și internațional. Rezultatele ar putea fi îmbunătățite în mod semnificativ dacă echipa de cercetare va fi extinsă cu doctoranzi, coordonată ca urmare a obținerii titlului de Doctor Abilitat.