

Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu Cluj-Napoca

Facultatea de Medicină

Mihnea Zdrengea

Rezumatul activității academice postdoctorale și planul de dezvoltare a carierei cuprinse în

Teza de Abilitare

Cu titlul: **“De la imunitatea antivirală la imunoterapia în leucemii”**

Dacă, pentru majoritatea profesiilor medicale, componenta lucrativă este implicită, de latura creativă a profesiei este responsabilă, în cea mai mare măsură, activitatea academică. Opțiunile mele profesionale s-au subscris acestui raționament încă din timpul facultății. Oportunitatea de a face cercetare de nivel înalt a venit însă puțin mai târziu, ca student doctorand, în timpul celor trei stagii cu o perioadă cumulată de aproape trei ani petrecute la Imperial College London, susținut prin granturi câștigate prin competiție. Această perioadă mi-a permis familiarizarea cu tehnici actuale de cercetare, de la culturi celulare, ELISA și PCR cantitativ la citometria în flux, spectrometria de masă și proteomica, precum și cu managementul și finanțarea activității de cercetare de laborator și scrierea de granturi.

Activitatea mea științifică postdoctorală a continuat temele abordate ca doctorand, având ca subiect imunitatea înăscută în infecțiile virale. Am continuat și dezvoltat proiectele aflate în curs, împreună cu grupul de la Imperial College, profitând și de disponibilitatea unui model uman de infecție experimentală cu rinovirus, care a generat probe clinice de valoare. Aceasta s-a reflectat în peste 7 articole, majoritatea publicate în reviste din prima cvartilă după factorul de impact și scorul de influență, cele mai multe ca autor principal. Nivelul publicațiilor a fost apreciat și prin două premii ale Universității și patru premii UEFISCDI pentru rezultatele cercetării, în ultimii ani. Experiența câștigată prin desfășurarea acestor studii am translatat-o în domeniul meu de expertiză clinică, hematooncologia, trecând la investigarea unor mecanisme imune înăscute în hemopatii maligne, în principal leucemiile acute, și a potențialului modulării acestor mecanisme în scop terapeutic. Leucemiile acute constituie o patologie gravă cu tratament suboptimal, cu rezultate slabe chiar și la pacienți tineri capabili să suporte chimioterapia intensivă, și cu prognostic mult mai infaust la vârstnici, care reprezintă majoritatea pacienților, și pentru care o abordare mai puțin intensivă, cum este imunoterapia, este privită ca o mare speranță terapeutică. Activitatea a fost finanțată inclusiv printr-un grant UEFISCDI tip Resurse Umane de cercetare postdoctorală (2011) și prin două granturi interne ale UMF Cluj, unul în curs de derulare, și susținută printr-un grant POSDRU gestionat de UMF Cluj în al cărui grup țintă mă situez. Este cunoscut faptul că maturizarea cercetării fundamentale necesită timp măsurat în ani pentru rezultate publicabile ca articole de valoare. Rezultatele investigațiilor coordonate de mine în domeniul imunoterapiei

hemopatiilor maligne urmează, astfel. sa fie fructificate în viitorul apropiat, acest fapt fiind reflectat în structura publicațiilor mele de până acum, multe fiind legate de activitățile debutate cu ani în urmă.

Cercetarea fundamentală, translațională și clinică este prezentată pe larg în secțiunea I a tezei, și include proiecte de cercetare finalizate, materializate prin publicații, precum și proiecte în curs și viitoare.

Rolul interleukinei (IL)-15 al moleculelor MICA/B a fost investigat în contextul activității citotoxice înăscute a celulelor NK și CD8+ mediată de receptorii activatori NKG2D.. Semnalizarea prin acești receptori, având ca liganzi moleculele MICA/B prezente pe celulele țintă, poate ocoli semnalele inhibitoare transmise pe axa moleculelor codificate de genele complexului major de histocompatibilitate de tip I, liganzi ai receptorilor KIR (killer immunoglobulin-like receptors). Am arătat că infecția cu virus respirator sincitial induce IL-15 și MICA în celulele epiteliale respiratorii printr-un mecanism dependent de NF-kB (Zdrenghea *Eur Respir J* 2012) și că inducția IL-15 de către rinovirusuri este scăzută la astmatici și corelează invers cu simptomele infecției respiratorii inferioare (Laza-Stanca *Plos Pathogens* 2012), și că expresia MICB este scăzută și corelează cu tabloul clinic (Telcian *Chest* 2014) într-un model experimental uman de infecție *in vivo* cu virusuri respiratorii. De asemenea, am elaborat un review despre rolul IL-15 în exacerbările BPOC (Zdrenghea *Eur J Clin Invest* 2012). Am propus investigarea mecanismelor imune antileucemice legate de IL-15 și semnalizarea prin MICA și B, și modularea lor de către inhibitorii de histon-deacetilaze, agenți epigenetici de interes în hemopatii maligne, într-un proiect de cercetare finanțat printr-un grant postdoctoral UEFISCDI, iar activitatea de cercetare este în curs. Ipoteza a fost publicată sub formă unui review (Zdrenghea *Med Hypotheses* 2012). De asemenea, am postulat un rol benefic al inhibitorilor de metaloproteinaze matriceale în leucemii, prin scăderea clivării moleculelor MICA/B de la suprafața celulelor țintă. Acest proiect este de asemenea în curs, investigând agenți farmacologici cu profil de securitate clinică confirmat, pentru a permite o translatare rapidă a rezultatelor în practică.

Studiul axei co-inhibitorii PD-1-PD-L a fost o altă direcție de cercetare abordată. Blocarea terapeutică a semnalizării imune prin receptori co-inhibitori, ca *Programmed Death* (PD)-1 sau CTLA4, a fost recent raportată ca având un efect antitumoral impresionant în melanomul metastatic în studii de fază precoce, rezultând într-un interes major pentru aceste căi de semnalizare în imunoterapia cancerelor. Am arătat, într-un model *in vitro* de infecție virală a celulelor epiteliale bronșice primare umane, ca semnalizarea prin PD-L1 indus de virus inhibă efectele antivirale ale limfocitelor citotoxice CD8+ (Telcian *J Infect Dis* 2011). De asemenea, am elaborat un review despre rolul PD-1-PD-L în infecțiile respiratorii virale (Zdrenghea *Microbes Infect* 2012). În domeniul imunoterapiei hemopatiilor maligne, am propus blocarea semnalizării prin PD-1 ca modalitate terapeutică în leucemii, printr-un proiect aflat în derulare și finanțat printr-un grant intern UMF, iar elaborarea unui review cu acest subiect este în curs.

Alte direcții ale activității de laborator au constat în adaptarea la resursele noastre și

implementarea, în premieră în serviciul nostru, a diagnosticului molecular în hemopatiile maligne, după metode ieftine, *in house*, în colaborare cu colegi hematologi din departament, și cu Universitatea din Rouen. De asemenea, sunt implicat ca și colaborator într-un proiect de cercetare al rolului vitaminei D în imunitate, în cadrul unui grant UEFISCDI Idei.

Printre realizările pe care eu le consider cele mai notabile se numără **organizarea, dotarea, și funcționarea**, pornind de la zero, a **unui laborator de cercetare specializat în hematologie**, în cadrul departamentului, la sediul secției noastre. Acesta, finanțat din granturi și donații, are la ora actuală o infrastructură de top, care permite de la separare și culturi celulare, la conservare de țesuturi și biobanking (-80C și azot lichid), ELISA, extracții de acizi nucleici, evaluare spectrofotometrică, PCR clasic și, din acest an, PCR cantitativ și citometrie în flux. Chiar dacă aceste tehnici erau disponibile în alte laboratoare ale Institutului sau ale Universității noastre, acest laborator specific pentru hematologie experimentală a deschis calea conservării sistematice de probe patologice, a unor proiecte mai ample de cercetare, precum și a unor colaborări naționale și internaționale, conducând inclusiv la implementarea în premieră a unor tehnici de diagnostic și evaluare ale pacienților hematologici. Dezvoltarea acestui laborator și a serviciilor oferite este în centru proiectelor mele de viitor, și include dezvoltarea, pe baza materială existentă, a unei Unități de Cercetare, conform Regulamentului activității de cercetare științifică din cadrul Cartei UMF „Iuliu Hațieganu”.

Din **activitatea clinică** am menționat, pe lângă activitatea tipică unui hematolog practician, cercetarea clinică materializată prin publicarea de articole tip *case report*, activitate care continuă și va fi extinsă la abordarea publicării de rapoarte pe serii mici de pacienți, corespunzător resurselor clinice disponibile. Am promovat consultarea cu colegi români și străini în deciziile terapeutice și plănuiesc să dezvolt o platformă care să faciliteze aceste interacțiuni. Aș mai reține promovarea de tratamente moderne, de ultimă oră, în unele hemopatii, cum ar fi leucemia acută limfoblastică, precum și introducerea tratamentului ambulator în unele cure de chimioterapie până atunci tratate exclusiv în regim de spitalizare, cum ar fi leucemia acută, sau efectuarea de cure de chimioterapie cu administrare continuă în regim ambulator, prin utilizarea de seringi electrice și pompe peristaltice portabile, cu un impact pozitiv major asupra calității vieții pacientului. De asemenea, am promovat și voi promova extinderea serviciilor oferite de departamentul nostru, de la gesturi simple ca montarea în cadrul secției a cateterelor venoase centrale la demersuri mai ample, ca procedurile de afereză terapeutică, mergând până la transplantul medular.

Activitatea didactică, de networking, de mentorare, și abilitățile de a coordona și gestiona cercetarea și învățarea au fost abordate în secțiunea a doua a prezentei tezei, cu conturarea planurilor de dezvoltare ale acestor activități.

Activitatea didactică a decurs în perioada postdoctorală conform cu atribuțiile de asistent universitar, și, din 2012, de șef de lucrări al catedrei de hematologie a UMF Cluj, incluzând lucrări practice și cursuri, majoritatea pentru studenți de la liniile de studiu engleză și franceză, coordonarea de lucrări de diplomă (peste 10 finalizate și 4 în curs), precum și mentorarea unui

student în obținerea și derularea unui grant intern UMF pe un proiect de cercetare în leucemii acute, student care a rămas, ca rezident, atașat grupului nostru de cercetare. Activitatea a inclus și supervizarea și organizarea de cursuri pentru rezidenți de hematologie sau de alte specialități, pe care am încercat să îi includ nu doar în munca de spital ci și în activitatea de consultații ambulatorii, unde există un contact cu o patologie extrem de diversă. Am susținut inclusiv direct, material, prin fundația pe care o conduc, participarea rezidenților la cursuri postuniversitare și la congresul anual al asociației europene de hematologie, precum și , în cadrul unui protocol cu Institutul Francez Cluj, organizarea de cursuri de franceză pentru rezidenții noștri. Rezidenții au fost încurajați în activitatea științifică, inclusiv prin participarea la publicarea de articole în reviste cu factor de impact.

Activitatea de networking a constat în consolidarea și dezvoltarea relațiilor existente cu alți hematologi sau cercetători, români sau străini, și dezvoltarea de relații noi de colaborare. Astfel, avem o relație substanțială cu serviciul de hematologie din Brest, care include, în afara consultărilor clinice, vizite reciproce, elaborarea de lucrări științifice, articole și manuale de hematologie, organizarea de donații către serviciul nostru, și participarea de medici și cercetători din Brest la workshopul nostru anual. Relația s-a extins spre a include și echipa de cercetare a laboratorului de imunologie al CHU Brest.

Am promovat și susținut relații de colaborare cu serviciul de hematologie din Strasbourg, al cărui rezident am fost pentru un an, în special în consultanță privind activitatea de afereză terapeutică, biobanking și conservare de celule și țesuturi, relație care mă aștept să devină și mai fructuoasă odată cu dezvoltarea acestor servicii în departamentul nostru, în care doresc să mă implic substanțial în viitorul apropiat. Colaborarea cu specialiști ai Centrului de Luptă Contra Cancerului Rouen, cu care am promovat și un acord la nivel universitar, ne-a permis dezvoltarea serviciilor de diagnostic molecular în hematopatologie, pe infrastructura noastră, și doresc ca această activitate se fie dezvoltată substanțial în anii următori. Alte relații de colaborare avem cu un grup de cercetare în cancer de la Universitatea din Lausanne, cu care derulăm un proiect în leucemii limfoide cronice, și cu grupul unui ex-coleg de la Imperial College, acum profesor asociat la Universitatea din Nanjing, împreună cu care am depus o candidatură pentru un grant UEFISCDI Romania-China, în curs de evaluare. Nu în ultimul rând, am menținut colaborarea cu foștii colegi de la Imperial College, cu care ne propunem să colaborăm în diagnosticul infecțiilor virale la pacienții hematologici.

Activitatea de networking a fost susținută de organizarea, de către mine, în colaborare cu colegi din departament și colaboratori din străinătate, a unui workshop de hematologie, anual, începând cu 2011, și care s-a bucurat de susținerea, la primele două ediții, a Ambasadei Franței la București, iar la ediția din 2012 am obținut un grant UEFISCDI Idei pentru această manifestare. Workshopul a avut invitați nu doar din Franța, ci și din Germania, Elveția și UK, alături de colegi români, și a fost și urmează să fie în continuare un vehicul valoros în dezvoltarea de colaborări științifice, el urmând a fi extins în acest an spre a include o sesiune de networking pentru tineri cercetători ai Universității.

Planul de dezvoltare a carierei academice este sistematizat în a III-a secțiune a prezentei teze, care reia mențiuni punctuale din secțiunile anterioare și le integrează într-o viziune mai largă.

În plan științific, voi continua aplicarea abilităților dobândite prin cercetarea doctorală și postdoctorală în domeniul meu principal de activitate clinică, hemopatiile maligne. Au fost descrise proiectele în curs prin care sunt implicat în studiul unor mecanisme imune înnăscute, cu potențial de aplicare în imunoterapia hemopatiilor maligne, și investigarea rolului unor categorii de agenți farmacologici ca inhibitorii de histon-deacetilază și de metaloproteinaze matriceale în tratamentul leucemiilor. Aceste proiecte vor continua și preconizez extinderea modelului experimental astfel consolidat la alte hemopatii maligne. Aceași direcție o preconizez pentru studiul axei co-inhibitoare PD-L-PD-L1. Voi continua implementarea și consolidarea diagnosticului molecular în hemopatiile maligne, prin metode adaptate, dezvoltate *in house*, la costuri rezonabile, permițând o utilizare sistematică în serviciul nostru, începând cu monitorizarea tratamentului în leucemia mieloidă cronică și diagnosticul mutațiilor care conferă rezistență la inhibitorii de tirozin-kinază. De asemenea, screeningul viral la pacienții imunodeprimați va fi abordat începând cu acest an. O altă țintă este introducerea, în colaborare cu colegii din Rouen, a secvențierii directe și a electroforezei capilare ca metodă de diagnostic molecular accesibil și de importanța majoră în leucemii, și de diagnostic hematopatologic mai precis al limfoamelor. Pe termen lung, doresc consolidarea unui grup de cercetători și medici implicați în aceste activități, care să contribuie la fructificarea și dezvoltarea excelentelor conexiuni clinice și de cercetare actuale și la stabilirea de noi colaborări, cu creșterea vizibilității activității noastre, precum și a nivelului publicațiilor științifice.

În plan didactic, doresc promovarea sistematizării învățământului universitar de hematologie, cu structurarea și adaptarea programului de predare în funcție de necesitățile studentului, și contactul și dezvoltarea de programe în congruență cu alte discipline cu care tematica hematologiei este conectată. Voi susține în continuare alegerea de subiecte de cercetare clinică prospectivă sau fundamentală pentru lucrări de diplomă, precum și obținerea de finanțări prin granturi studentești, implicarea activă a studenților și rezidenților în munca de cercetare de laborator, și participarea la elaborarea de lucrări științifice. Voi promova și coordona elaborarea de materiale pentru studenți, inclusiv în franceză și engleză, precum și a unor lucrări de hematologie destinate medicilor de familie sau de alte specialități care astăzi privesc hematologia, în mod nejustificat, ca pe o specialitate ermetică.

Voi continua și dezvoltarea susținerii rezidenților pentru implicare activă în dezvoltarea serviciilor clinice pe care le oferim, precum și participarea lor în stagii clinice sau de cercetare în servicii partenere din alte țări. Consider ca fiind o responsabilitate extrem de motivantă și valoroasă **mentorarea activă și substanțială** atât a studenților, cât și a rezidenților, aceasta putând influența enorm formarea lor ca medici și specialiști. Susținerea precoce a educării și formării în direcțiile pe care serviciul nostru nu le acoperă în prezent o consider a fi esențială pentru viitorul departamentului nostru.

Un extrem de important pas în cariera mea este obținerea abilitării de a conduce lucrări de doctorat. Această cea mai înaltă poziție academică îmi va permite dezvoltarea unui grup de cercetare coerent și de substanță în hematologia experimentală, și realizarea unor planuri de colaborare deja discutate, incluzând organizarea de schimburi și stagii doctorale de cercetare și doctorate în co-tutela cu instituții partenere, ducând la creșterea semnificativă a vizibilității și a conectării noastre în plan național și european.