

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „CAROL DAVILA”
BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
MEDICINĂ**



**EXPLORAREA CONEXIUNILOR TISULARE
REZUMATUL TEZEI DE ABILITARE**

CANDIDAT

Conf. Dr. LAURA CRISTINA CEAFFALAN

Conferențiar, Disciplina Biologie celulară, Moleculară și Histologie

Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București

-2024-

Această teză prezintă reperele carierei mele academice și de cercetare de peste douăzeci de ani la Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, unde sunt în prezent conferențiar universitar la disciplina Biologie Celulară, Moleculară și Histologie, și la Institutul Național de Patologie Victor Babeș, unde conduc laboratorul de Biologie Celulară, Miologie experimentală și Neuroștiințe și perspectivele de dezvoltare ale acestor direcții.

Prima parte a tezei este o prezentare generală a celor mai relevante rezultate ale activității de cercetare. În acest timp, am participat la 35 de proiecte de cercetare ca investigator principal sau membru al echipei. Interesul meu s-a mutat de la telocite la celulele interstițiale și comunicările lor intercelulare în regenerarea și patologia mușchilor scheletici și investigarea mecanismelor moleculare ale neurodegenerării și îmbătrânirii și mai departe la definirea bazei moleculare a cooperării inter-țesuturi pe axa creier-mușchi. Unul dintre cele mai recente obiective se referă la identificarea biomarkerilor pentru depistarea precoce și progresia bolilor neurodegenerative și a cancerului. Patruzeci și cinci de articole au fost publicate în reviste ISI și au primit peste 2000 de citări. Am fost primul autor a unsprezece articole originale ISI și a zece recenzii, dintre care 15 au fost publicate din 2014. De asemenea, am fost coautor a două cărți publicate la edituri naționale și a șapte capitole de carte publicate la edituri internaționale.

Am început cariera de cercetare ca membru al echipei care a descoperit și caracterizat un nou tip de celulă interstițială, telocitul (TC). Analiza ultrastructurală s-a dovedit a fi singura tehnică care a permis identificarea fără echivoc a TCs. Identificarea lor imuno-fenotipică a fost mai dificilă. Astfel de date au indicat posibilitatea ca mai multe subpopulații de TCs să existe în țesutul interstițial, cu caracteristici ultrastructurale similare, dar prezentând fenotipuri diferite. Aceste observații susțin ipoteza că TCs îndeplinesc roluri specifice regiunii. Teza mea de doctorat, sub coordonarea Prof. L.M. Popescu, fostul șef al disciplinei de Biologie Celulară, Moleculară și Histologie, a documentat, în premieră, prezența TCs în placenta umană la termen și caracterizarea lor ultrastructurală și fenotipică. În acest domeniu, am publicat șapte articole în calitate de prim autor și am fost coautor a încă zece și al unui capitol de carte (Springer, 2016). Aceste articole au adunat peste 1500 de citări ISI.

Investigarea compartimentului interstițial în timpul **regenerării musculare în țesutul sănătos și patologic** a fost încurajată de identificarea acestui nou tip de celulă TC, în interstițiul

mușchilor scheletici. Regenerarea musculară necesită intervenția diferitelor elemente celulare și moleculare ale compartimentului stromal cu proprietăți reglatoare. Capacitatea de regenerare este compromisă în caz de traume severe, îmbătrânire sau boli cronice și genetice, care se caracterizează prin inflamație extinsă și fibroză. Proiectul pe care l-am coordonat s-a concentrat pe diferite tipuri de celule stromale, dinamica lor și modelul de interacțiune celulară și moleculară în cronologia regenerării tisulare la modelele animale de șoareci normali și distrofici și contribuția lor la organizarea și menținerea nișei de celule stem rezidente. Datele obținute sugerează eterogenitatea celulară a teritoriilor conjunctive din mușchiul scheletic normal, cel mai probabil făcând parte dintr-un continuum fenotipic care permite ajustarea acestui compartiment în funcție de nevoile de moment. Analiza ultrastructurală a constatat că macrofagele și celulele de tip fibroblast stabilesc contacte directe cu celulele satelit activate, mioblastele și miotuburile în toate etapele de regenerare a țesutului, menținând și direcționând echilibrul dintre miogeneză și fibrogeneză, ceea ce asigură eficiența regenerării. Alte studii care investighează profilul proteomic și de expresie genică al moleculelor matricei extracelulare și al moleculelor de adeziune au fost publicate ulterior. Am găsit modificări semnificative în expresia genelor pentru matricea extracelulară și moleculele de adeziune în stadiile incipiente ale regenerării musculare în urma leziunilor musculare severe. Supraexprimarea genelor a fost mai intensă și cu o inducție ulterioară, cu cât trauma era mai gravă. Acest profil de expresie poate indica evoluția nefavorabilă a regenerării. Analiza proteomică a permis identificarea unui panel de factori de creștere și citokine sintetizate de diferite populații de celule stromale care ar putea modula regenerarea țesuturilor ca molecule trofice sau angiogenice. Nivelurile acestor molecule au fost semnificativ crescute la animalele cu distrofie în absența leziunilor musculare.

În **Neuroștiințe**, am fost interesată de **modificările ultrastructurale induse de îmbătrânire la diferite niveluri în cadrul unității neurovasculare (NVU)**, în special de barierele cerebrale. Unul dintre studiile noastre s-a concentrat pe bariera hemato-encefalică la șoarecii în vârstă, dar sănătoși. Am descoperit că membrana bazală (MB) a capilarelor cerebrale a avut o grosime crescută și o acumulare neașteptată de lipide. Am detectat, de asemenea, buzunare neobișnuite ale MB ale piciosușelor astrocitelor care conțineau proiecții ale MB adiacente, în care au fost identificate agregate de picături lipidice. Acumularea particulelor de lipide poate genera un obstacol hidrofob pentru traficul molecular prin barieră și astfel pot provoca acumularea de deșuri și proteine anormale în MB, accentuând neurodegenerarea în îmbătrânire. Un alt interes

constant a fost **optimizarea modelelor in vitro și in vivo** pentru bolile neurodegenerative (BN) pentru a dezvolta o platformă pentru studierea mecanismelor patogene și pentru a stabili implicarea factorilor de mediu în patogeneza bolii. Un proiect important s-a concentrat pe **identificarea de noi mecanisme, ținte terapeutice și biomarkeri în boala Parkinson (BP)**. Microbiota este în prezent investigată ca un posibil declanșator și o strategie de intervenție pentru a controla debutul și respective progresia BN. În studiul nostru in vitro (în presă), am expus celulele SH-SY5Y diferențiate dopaminergic la molecule derivate din microbiotă, cum ar fi lipopolizaharidul (LPS), ramnolipidul (Rha) și amiloizii funcționali. Studiul nostru indică un efect dependent de concentrație asupra viabilității neuronale, citotoxicității, adeziunii celulare și morfologiei în cazul Rha. Studiul a dovedit o supraexpresie a α -sinucleinei dependentă de concentrație în neuronii dopaminergici, atât pentru Rha, cât și pentru LPS. Un alt obiectiv al acestui proiect a fost identificarea biomarkerilor care permit dezvoltarea unor strategii profilactice/terapeutice eficiente. Acesta a fost un studiu caz-control care investighează nivelurile serice și fecale ale markerilor de inflamație și permeabilitate intestinală la adulții cu și fără PD. Am găsit o asocierie între BP sporadică și calprotectina și zonulina serică. Dorim să continuăm să extindem ipoteza de lucru asupra altor BN, cum ar fi boala Alzheimer.

A doua secțiune a tezei prezintă **planul de evoluție și dezvoltare** a carierei profesionale, științifice, respectiv academice, precum și direcții de cercetare și predare și posibile modalități de acțiune pentru implementarea acestora. Pe baza rezultatelor obținute, activitatea de cercetare se va concentra în continuare pe direcțiile abordate anterior: regenerarea și patologia musculară, bolile neurodegenerative dar și cancerul.

În **patologia musculară**, plănuiesc să mă concentrez în continuare pe interacțiunile celulare și comunicarea pentru terapii personalizate în regenerarea musculară. Destabilizarea rețelelor celulare care își schimbă modelul de interacțiune pe parcursul regenerării tisulare prin modificări ale fenotipului, perturbă echilibrul dintre miogeneză și fibrogeneză. Modularea activității celulelor interstițiale poate fi unul dintre cele mai eficiente moduri de a optimiza regenerarea tisulară. Aceasta este ipoteza unei propuneri de proiect cu care intenționez să particip în următoarea rundă a competițiilor naționale.

În **neuroștiințe**, intenționez să continui dezvoltarea **platformelor experimentale** in vitro/3D și in vivo pentru studierea mecanismelor fiziopatologice în bolile neurodegenerative prin

optimizarea protocolului de reprogramare pentru fibroblaste umane, înființarea unei biobanci cu iPSC derivate de la pacient și înființarea biobancii de probe animale. Un alt obiectiv este **identificarea de noi mecanisme, ținte terapeutice și biomarkeri pentru bolile neurodegenerative pentru diagnosticul precoce, terapiile țintite și monitorizarea efectelor terapeutice.** În acest sens, în cadrul competiției CoEx-2024 a fost depusă o nouă propunere de proiect pentru formarea Centrului de excelență pentru neuroștiință și îmbătrânire sănătoasă, pentru înțelegerea și prevenirea cauzelor de neurodegenerare și declinul cognitiv asociat cu îmbătrânirea, să definească soluții personalizate pentru managementul bolii și să dezvolte terapii inovatoare în contextul îmbătrânirii. Un studiu în curs de desfășurare se concentrează pe **cooperarea inter-tisulară pe axa mușchi-creier în boala Parkinson,** cu scopul de a stabili un panel de biomarkeri musculari circulanți modificați în BN avansate însoțite de pierderea musculară.

Un alt studiu în curs de desfășurare se concentrează pe **biomarkerii tumorali din biopsiile lichide/ solide și minim invazive la pacienții cu cancer colorectal** care ar putea prezice riscul de transformare malignă sau riscul de metastaze. Corelarea cu investigarea probelor de țesut și a profilurilor inflamatorii sistemice va consolida validarea biomarkerilor circulanți. În plus, intenționez să investighez **dereglarea metabolismului lipidic în oncogeneză.**

În privința planurilor academice, sunt implicată activ în dezvoltarea unui laborator de microscopie de ultimă generație, cu microscopie educaționale dotate cu camere digitale. Imaginile pot fi accesate folosind dispozitive digitale familiare cu software simplu pentru documentarea și partajarea imaginilor. pe parcursul ultimului an am participat la intalnirile legate de planul de consolidare si reorganizare al cladirii istorice in care ne desfasuram activitatea astfel incat la finalizarea proiectului aceste spatii sa fie adaptate nevoilor actuale ale grupurilor de studenti pe care le gestionam. In plus, am participat la discutiile legate de proiectul de constructie al unui nou centru de cercetare al universitatii in spatiile caruia vor fi organizate laboratoarele de microscopie, procesare a probelor histologice si laboratoare de culturi celulare si biologie moleculara. Implicarea studenților la medicină în activitatea de cercetare devine o necesitate și, astfel, treptat o condiție a competitivității universitare. Experiența acumulată în cei 20 de ani de activitate de cercetare și cei 22 de ani de experiență didactică îmi oferă fundamentul pentru a corela cele două activități de formare și creștere a valorii resurselor umane atât în școala de medicină cât și în cercetarea biomedicală.