

RAPORTARE ȘTIINȚIFICĂ PD 50/2020 (Etapa 1 – 2021)

REZUMATUL ETAPEI 1

Raportul științific de față se referă la implementarea proiectului PD 50/2020 (Etapa 1: 01.01.2021-11.12.2021) denumit "Expresia metaloproteinazelor matriceale, a metaloproteinazelor inhibitorii tisulare și a factorului endotelial de creștere vasculară în tumori cutanate bovine induse de papillomavirusuri". Scopul acestui proiect este de a analiza implicarea matrix- metaloproteinzelor, a inhibitorilor tisulari ai acestora și a factorului endotelial de creștere vasculară în substratul lezional produs de papillomavirusuri specifice bovinelor. Cercetările propuse în cadrul acestui proiect au fost realizate în cadrul Facultății de Medicină Veterinară, Universitatea pentru Științele Vieții "Ion Ionescu de la Brad" din Iași. Probele analizate în această etapă au fost colectate de la bovine ce prezentau leziuni cutanate cu aspect conopidiform, caracteristice infecției cu papillomavirus bovin. După colectare, fiecare probă a fost împărțită în două părți: o parte fixată în formol, pentru analiza histopatologică și imunohistochimică, iar cealaltă parte congelată la -80 °C în vederea extracției ADN-ului și a analizei biochimice. Pentru a putea fi inclusă în studiu, fiecare probă a fost clasificată din punct de vedere histopatologic: diagnosticul de papilomatoză cutanată/fibropapilomatoză a coincis cu includerea probei în studiu și cu analiza moleculară ulterioară. Pentru confirmarea prezenței papillomavirusurilor bovine (BPV), ADN-ul viral a fost extras din fiecare probă cu ajutorul kiturilor de extracție PureLink™ Genomic DNA Mini Kit și a kitului Stat Nat RNA/DNA, conform instrucțiunilor producătorilor. ADN-ul viral a fost confirmat prin PCR, în primă fază utilizând primeri consensus nespecifici FAP 59/65, urmat de utilizarea primerilor specifici pentru BPV-1, BPV-2 și BPV-4. Pentru a sugera o implicare a BPV în expresia tisulară a matrix-metaloproteinazelor și a inhibitorilor acestora, s-a recurs la analiza imunohistochimică comparativă: expresie imunohistochimică a MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, a inhibitorilor TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 și a VEGF în piele normală provenită de la bovine și în probe reprezentate de fibropapiloame cutanate bovine. Probele incluse la parafină au fost secționate la grosimea de 4μm, deparafinate, incubate cu anticorpul primar corespunzător la diluția specificată de producător, iar vizualizarea imunosemnalului s-a realizat cu ajutorul kitului Novolink Polymer și a Diaminobenzidinei. Tot în această etapă, s-a recurs la analiza parțială biochimică a o parte din probele luate în studiu. Probele au fost supuse extracției proteice în buffer de liză RIPA. După extracția proteică, probele au fost cuantificate cu ajutorul spectrofotometrului Eppendorf, utilizând tehnica de cuantificare Bradford micro. Pentru a putea determina ulterior nivelul de expresie proteică corespunzătoare matrix-metaloproteinazelor, a inhibitorilor acestora și VEGF,

normalizarea probelor se realizează prin raportarea la expresia β -actină și α -tubulină. În acest sens, cantități egale de extract proteic s-au încărcat în gel de poli(acrilamidă), gelul a fost supus electroforezei verticale, apoi transferul proteic s-a realizat pe membrană de nitroceluloză; blocarea situsurilor nespecifice s-a realizat cu soluție de lapte praf degresat, a urmat incubarea cu anticorpii primari anti- β -actină și α -tubulină, apoi cu anticorpi secundari corespunzători marcați cu HRP. Vizualizarea s-a realizat prin augmentarea semnalului chemiluminescent și captarea acestuia pe film radiologic.

În etapa următoare ne propunem determinarea prin tehnica Western Blot și zymografie a nivelului de expresie biochimică a MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13 și MMP-14, a inhibitorilor TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 și a VEGF în fibropapiloame BPV-2 pozitive în comparație cu nivelul expresiei acestor proteine în pielea normală.

Rezultatele obținute în cadrul acestei etape au fost valorificate prin participarea la patru conferințe internaționale.

RAPORT ȘTIINȚIFIC ȘI TEHNIC

ETAPA 1 - ANALIZA HISTOPATOLOGICĂ, IMUNOHISTOCHEMICĂ ȘI BIOCHIMICĂ A TUMORILOR EPITELIALE DE ORIGINE BOVINĂ

Act 1.1 - Analiza histopatologică și identificarea ADN-ului BPV în tumorile epiteliale de origine bovină – grad de realizare total

Analiza histopatologică. În această etapă, un număr de 36 de probe au fost colectate de la bovine ce prezentau leziuni cutanate cu aspect conopidiform, caracteristice infecției cu papillomavirus bovin. După colectare, fiecare probă a fost împărțită în două părți: o parte fixată în formol soluție 10%, pentru analiza histopatologică și imunohistochemică, iar cealaltă parte congelată la -80°C în vederea extracției ADN-ului și analizei biochimice. Pentru a putea fi inclusă în studiu, fiecare probă a fost clasificată din punct de vedere histopatologic: diagnosticul de papilomatoză cutanată/fibropapilomatoză a coincis cu includerea probei în studiu și cu analiza moleculară ulterioară. Astfel, probele fixate în formol soluție 10% au fost incluse în parafină și secționate la $4\ \mu\text{m}$ și colorate prin metoda Hematoxină-Eozină. Clasificarea histologică a fiecărei leziuni s-a realizat conform ghidului recomandat de OMS (*Goldschmidt, M.H., Dunstan, R.W., Stannard, A.A., et al. (1998) World Health Organization International Histologic Classification of Tumors of Domestic Animals. Histological Classification of Tumors of the Skin of Domestic Animals, 2nd series, vol. III. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C.*). Astfel, s-a urmărit gradul de proliferare epitelială și fibroblastică, prezența koilocitelor și prezența hiperkeratozei. Analiza microscopică a evidențiat în probele evaluate toate cele trei criterii enunțate, astfel fiind stabilit diagnosticul de fibropapilomatoză cutanată bovină (figura 1a). Simultan, s-a analizat histologic și piele sănătoasă, unde modificările ce pot fi asociate papillomavirusului bovin au lipsit (figura 1b).

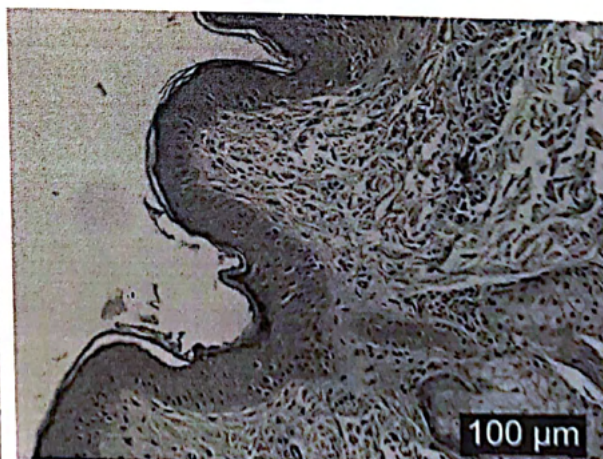
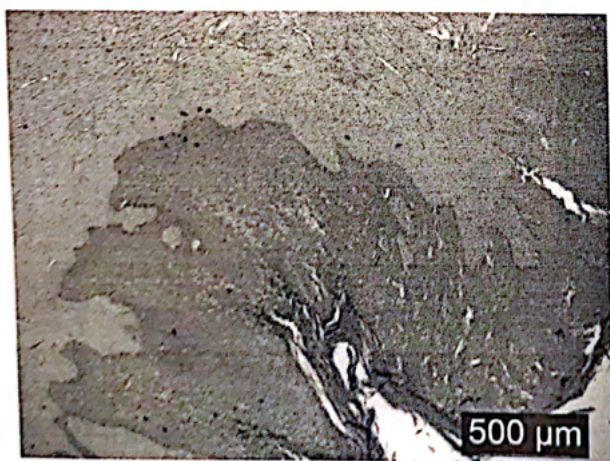


Figura 1a. Prezența proliferării epiteliale și Figura 1b. Piele normală de bovină: prezența fibroblastice, a koilocitelor și a hiperkeratozei; stratului epidermic, dermic și hipodermic. HE x fibropapilom cutanat bovin, HE x 100 200

Identificarea ADN-ului BPV prin PCR. Izolarea ADN-ului genomic total din probele recoltate s-a realizat cu ajutorul kitului de extracție PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen) și a kitului Stat Nat RNA/DNA (Biorad), conform instrucțiunilor producătorilor. ADN-ul viral a fost confirmat prin PCR convențional, în primă fază utilizând primeri consensus nespecifici, urmat de utilizarea primerilor specifici pentru BPV-1, BPV-2 și BPV-4 (Tabelul 1).

Tabelul 1 Primeri utilizați pentru identificarea BPV

Primeri	Regiune	Secvența	Referință
FAP 59/64	L1	5" TAACWGTIGGICAYCCWTATT 3" and 5" CCWATATCWVHCATITCICCATC 3"	Forslund O. <i>et al</i> , 1999
BPV-2	L2	5" GTTATACCACCCAAAGAAGACCCT 3" 5" CTGGTTGCAACAGCTCTCTTTCTC 3"	Araldi R.P. <i>et al</i> , 2013
BPV-1	L1	5" GGAGCGCCTGCTAACTATAGGA 3" and 5" ATCTGTTGTTTGGGTGGGTGGTGAC 3"	Araldi R.P. <i>et al</i> , 2013
BPV-4	E7	5" GCTGACCTTCCAGTCTTAAT 3" 5" CAGTTTCAATCTCCTCTTCA 3"	Araldi R.P. <i>et al</i> , 2013

Rezultate. Prin testul PCR clasic s-a identificat ADN-ul papilomaviral utilizând perechea de primeri degenerați FAP 59/64. Astfel, un fragment de 478 pb corespunzător genei L1 a fost amplificat în 11 (30%) probe (figura 2).



Figura 2. Rezultat PCR reprezentativ: gel agaroză 1,5% cu benzi specifice de 478 pb, amplificate cu ajutorul primerilor degenerați FAP59/64 primers. MW – 100 bp; C-control negativ; C+ control pozitiv; 1-17 probe testate (tumori cutanate)

Pentru identificarea BPV-2, s-a recurs la utilizarea unei perechi specifice de primeri, capabilă să amplifice un fragment de 164 pb corespunzătoare genei BPV-2 L-2. Din cele 36 probe testate, 34 (94,4%) au fost pozitive pentru BPV-2. Două probe au fost negative la testarea PCR cu ambele perechi de primeri.

În ceea ce privește identificarea tipurilor BPV-1 și BPV-4, testul PCR a fost negativ în cazul tuturor probelor (tabelul 2).

Tabelul 2 Rezultatele testelor PCR

Probe	FAP 59/64	BPV-2	BPV- 1	BPV-4
Fibropapiloame	11/36 (30%)	34/36 (94,4%)	0/36 (0%)	0/36 (0%)

Fragmentele amplificate prin PCR au fost supuse electroforezei în gel de agaroză în concentrație de 1.5%, colorat cu SybrSafe (Invitrogen), în prezența matorului molecular de 100 pb (Invitrogen). Benzile specifice au fost vizualizate cu aparatului GelDoc (Biorad).

Rezultatele obținute în cadrul testării PCR confirmă faptul că BPV-2 este principalul papillomavirus bovin circulant la bovinele luate în studiu.

Act 1.2 - Analiza imunohistochimică și biochimică a expresiei MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, a inhibitorilor TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, VEGF și a proteinei E5 - BPV atât în fibropapiloame bovine, cât și în piele normală bovină – grad de realizare parțial

Analiza imunohistochimică. Cele 36 de probe fixate și incluse la parafină au fost prelucrate prin metode histologice de rutină, colorate prin metoda Hematoxilină-Eozină, cu scopul identificării modificărilor specifice induse de BPV și a stabilirii diagnosticului de papilomatoză. Din cauza conținutului ridicat în cheratină și a secționării dificile la microtom, 12 probe nu s-au fixat pe lame, astfel încat aceste probe nu au putut fi incluse mai departe în analiza imunohistochimică. Din cele 24 de probe corespunzătoare, s-au realizat câte 15 secțiuni care s-au etalat pe lame încărcate electrostatic (Apex, Superior Adhesive Slides, Leica).

Secțiunile au fost deparafinate în xilen pentru 30 minute, apoi rehidratate prin includere în alcool absolut 100° pentru 10 minute, apoi în alcool denaturat 100° pentru 10 minute, apoi câte 5 minute în alcool de 95°, 70° și 50°, după care probele au fost spălate cu apă distilată timp de 5 minute. Blocarea activității peroxidazelor endogene s-a realizat prin incubarea secțiunilor în cameră umedă, la temperatura camerei, timp de 20 minute cu soluție metanol:H₂O₂, în raport de 1:4. Demascarea antigenului s-a realizat prin pretratamentul probelor în soluție tampon citrat, pH 6.00, la microunde, la 525 W, timp de 2 reprize a câte 5 minute fiecare, apoi s-au efectuat 3 spălări succesive a câte 5 minute fiecare cu tampon fosfat salin, pH 7.4, 0.1 M (PBS). Blocarea epitopilor nespecifici s-a realizat prin incubarea secțiunilor cu protein block

(0.4% Casein in phosphate-buffered saline) timp de 30 minute. În cazul controlului negativ s-a omis anticorpul primar, iar etapele ulterioare au fost similare. După această etapă, fără a spăla secțiunile, acestea au fost incubate cu anticorpii primari corespunzători, diluați în PBS, peste noapte la 4°C, în cameră umedă (tabelul 3).

Tabelul 3 Anticorpii primari utilizați pentru tehnica imunohistochimică

Anticorp	Clona	Specia țintă	Diluția	Producător
MMP-1	3B6	Șoarece	1:200	Santa Cruz Biotechnology
MMP-2	2C1	Șoarece	1:50	Santa Cruz Biotechnology
MMP-3/10	F10	Șoarece	1:50	Santa Cruz Biotechnology
MMP-7	JL07	Șoarece	1:50	Santa Cruz Biotechnology
MMP-8	B-1	Șoarece	1:50	Santa Cruz Biotechnology
MMP-9	E-11	Șoarece	1:50	Santa Cruz Biotechnology
TIMP-1	2A5	Șoarece	1:50	Santa Cruz Biotechnology
TIMP-2	3A4	Șoarece	1:50	Santa Cruz Biotechnology
TIMP-3	B-2	Șoarece	1:50	Santa Cruz Biotechnology
VEGF	VG-1	Șoarece	1:500	Santa Cruz Biotechnology

Ulterior, după expirarea contactului cu anticorpul primar, s-au efectuat 2 spălări succesive, fiecare a 5 minute, în PBS, după care s-a aplicat anticorpul secundar Post Primary (Rabbit anti mouse IgG) timp de 30 minute la temperatura camerei. După expirarea timpului de contact cu anticorpul secundar, au urmat două spălări succesive a câte 5 minute, apoi incubarea cu complexul HRP conjugat cu streptavidină biotină (Novolink™ Polymer, Anti-rabbit Poly-HRP-IgG) timp de 30 minute. Colorarea este completă după incubarea cu substratul cromogen DAB (diaminobenzidină), timp de 3-5 minute, rezultând un precipitat maro acolo unde este localizat antigenul căutat. Pentru colorarea nucleilor, se realizează o contracolorare cu hematoxină Mayers, timp de 5 minute, urmată de o clătire abundentă cu apă de robinet și distilată. Deshidratarea secțiunilor se face utilizând o serie crescătoare de alcooli: 50°, 80°, 95°, 2 minute fiecare, apoi câte 10 minute în alcool denaturat 100° și absolut 100°. Pentru clarificarea preparatelor se realizează 2 pasaje a câte 30 minute în xilen. Preparatele colorate sunt montate permanent, utilizând kitul Eurokitt. Examinarea preparatelor s-a realizat cu ajutorul microscopului optic. S-a urmărit prezența colorației specifice, și anume colorarea în maro a citoplasmei celulelor epiteliale și dermice. Imunoreactivitatea

fiecărei probe a fost evaluată după cum urmează: negativă (-), slabă (+), moderată (++) și puternică (+++). În tabelul 4 este redată expresia imunohistochimică a fiecărei probe pentru anticorpii luați în studiu.

Rezultate.

Tabelul 4. Expresia imunohistochimică a metaloproteinazelor, inhibitorilor acestora și VEGF în fibropapiloame

Nr. Probă tumorală	Anticorp primar utilizat									
	MMP-1	MMP-2	MMP-3/10	MMP-7	MMP-8	MMP-9	VEGF	TIMP-1	TIMP-2	TIMP-3
1	+	-	-	++	++	-	+++	-	-	-
2	-	-	+	+	+	-	+++	+	-	-
3	-	-	++	+	++	-	++	++	-	-
4	-	-	++	++	+++	-	+++	+	-	-
5	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-
6	++	+	+	-	+	++	+++	+	-	-
7	+	+	++	+++	+	+	+++	++	-	-
8	+	+	+++	+	-	-	+++	+	-	-
9	+	+	+	-	-	-	+++	++	-	-
10	+	+	+	-	++	-	+++	+	-	-
11	-	-	+	+	+	-	+++	-	+	-
12	-	-	+	++	+	-	+++	++	-	-
13	-	-	+	+	+	-	+++	+	-	-
14	-	-	+	+	+	-	++	-	-	-
15	+	+	++	-	+	-	+++	++	-	-
16	-	-	+	-	+	+	+++	-	-	-
17	-	-	-	-	++	+	+++	-	-	-
18	++	-	+	+	++	+	+++	+	-	-
19	++	-	+	+	++	++	+++	+	-	-
20	+	-	++	+	+++	+	+++	+	-	-
21	-	++	+++	+	+	++	+++	++	-	-
22	-	+	++	-	++	-	+++	-	-	-
23	-	-	++	-	+	-	+	++	-	-
24	+	+	+++	-	++	-	+++	-	-	-

Expresia MMP-1. În 13 probe (54,17%) testate imunohistochimic, expresia MMP-1 a fost negativă; 8 probe (33,33%) au prezentat un imunosemnal slab în citoplasma celulelor parabazale; 3 probe (12,5%) au prezentat un semnal pozitiv moderat în citoplasma celulelor parabazale.

Expresia MMP-2. În 15 probe (62,5%) imunosemnalul specific a fost negativ; 8 probe (33,33%) au fost imunopozitive, cu un semnal slab citoplasmatic în stratul bazal epitelial; 1 probă (4,17%) a prezentat un imunosemnal moderat în stratul bazal epitelial.

Expresia MMP-3/10. Din cele 24 probe, 2 (8,33%) au fost negative; 12 probe (50%) au prezentat un imunosemnal slab în citoplasma celulelor epiteliale și în fibroblaste; 7 probe (29,17%) au prezentat un

imunosemnal moderat; 3 probe (12,5%) au prezentat semnal pozitiv intens în citoplasma celulelor epiteliale și fibroblaste.

Expresia MMP-7. Din cele 24 probe analizate, 10 probe (41,67%) au fost negative; 10 probe (41,67%) au prezentat un imunosemnal slab în citoplasma celulelor din stratul bazal; 3 probe (12,5%) au prezentat un semnal pozitiv moderat; 1 probă (4,167%) a fost intens pozitivă.

Expresia MMP-8. Din cele 24 probe, 2 probe (8,33%) au fost negative; 12 probe (50%) au prezentat un imunosemnal slab pozitiv citoplasmatic în stratul spinos și granular; 8 probe (33,34%) au prezentat un semnal moderat, iar 2 probe (8,33%) au prezentat un imunosemnal citoplasmatic intens în stratul granular și spinos.

Expresia MMP-9. Din probele analizate, 15 probe (62,5%) au fost negative; 6 probe (25%) au prezentat o imunoreactivitate slabă în citoplasma celulelor din toate straturile epiteliale; 3 (12,5%) probe au prezentat o imunoreactivitate moderată în toate straturile epiteliale.

Expresia VEGF. Toate probele analizate au prezentat imunoreactivitate specifică: 2 probe (8,33%) o imunoreactivitate slabă, fină, granulară în toate straturile epiteliale; 2 probe (8,33%) au prezentat o imunoreactivitate asemănătoare; 20 probe (83,34%) au prezentat o imunoreactivitate intensă citoplasmatică în toate straturile epiteliale.

Expresia TIMP-1. Din cele 24 probe, 8 probe (33,33%) au fost negative; 9 probe (37,5%) au prezentat un imunosemnal slab în citoplasma celulelor din straturile parabazale; 7 probe (29,17%) au prezentat o imunoreactivitate caracteristică în citoplasma celulelor din straturile parabazale.

Expresia TIMP-2. Din cele 24 de probe analizate, 1 probă (4,17%) a prezentat un imunosemnal pozitiv slab în citoplasma din stratul bazal, restul de 23 (95,83%) fiind negative.

Expresia TIMP-3. În nicio probă analizată nu s-a putut evidenția expresia imunohistochimică a TIMP-3.

Pentru a putea compara nivelul de expresie a matrix-metaloproteinazelor, a inhibitorilor acestora și a VEGF, în paralel s-au testat un număr de 5 probe reprezentate de piele provenită de la bovine sănătoase. Pielea a fost recoltată în cadrul unui abator de sacrificări bovine. Astfel, după sacrificarea acestora, s-a recoltat o porțiune de 3 cm² de piele, care a fost procesată histologic și imunohistochimic în același timp cu probele de țesut tumoral luate în studiu. Rezultatele examenului imunohistochimic sunt redată în tabelul 5.

Tabelul 5 Expresia imunohistochimică a metaloproteinazelor, a inhibitorilor acestora și VEGF în pielea sănătoasă bovină

Nr. Probă Piele	Anticorp primar utilizat									
	MMP-1	MMP-2	MMP-3/10	MMP-7	MMP-8	MMP-9	VEGF	TIMP-1	TIMP-2	TIMP-3
1	+	-	-	-	++	-	+	-	-	-
2	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
3	-	-	-	-	++	-	+	+	-	-
4	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
5	-	-	+	-	+		+	-	-	-

Expresia imunohistochimică a MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14 și a proteinei E5 - BPV atât în fibropapiloame bovine, cât și în pielea normală bovină va fi determinată în etapa 2, conform planului de realizare.

Procesare biochimică și tehnica Western Blot. Pentru prima etapă a analizei biochimice, extracția proteinelor a fost realizată din trei probe reprezentate de țesut cutanat normal și din șase fibropapiloame. Probele au fost cântărite și depuse în tuburi Eppendorf de 2 ml, iar peste o cantitate de ~40 mg de țesut decongelat din fiecare probă a fost adăugat 1ml soluție tampon RIPA (Santa Cruz) rece. Probele au fost triturate cu ajutorul trituratorului mecanic Mikro Dismembrator S (sartorius). Pentru o omogenizare mai eficientă, în fiecare tub a fost introdusă în prealabil o bilă de omogenizare (din titan cu diametru de 3mm). După finalizarea triturării, tuburile au fost supuse centrifugării la 10.000 x rpm, apoi cu ajutorul unei tije magnetice, bilele de omogenizare au fost înlăturate. Pentru a obține extractul de proteine, tuburile au fost centrifugate la 4°C timp de alte 20 min, la final fiind recuperat supernatantul. Cuantificarea conținutului total de proteine obținut în urma extracției s-a determinat cu ajutorul kitului de dozare a proteinelor Quick start Bradford protein assay kit (Bio-Rad Laboratories), iar citirea s-a realizat cu ajutorul spectrofotometrului Eppendorf, utilizând tehnica de cuantificare Bradford micro, la final obținându-se o cantitate exactă de ng proteine/μL pentru fiecare probă. Pentru a putea determina ulterior nivelul de expresie proteică corespunzătoare fiecărei probe, normalizarea probelor s-a realizat prin determinarea cantității de β-actină și α-tubulină. Cantități egale de proteine din fiecare probă au fost amestecate cu un agent denaturant, și anume β-mercaptoetanol, apoi supuse la o temperatură de 100°C, timp de 5 min, în acest interval în prezența agentului denaturant și al căldurii având loc denaturarea (liniarizarea) proteinelor. Probele astfel preparate au fost depuse în godeurile gelului de bis/acrilamidă Gel precast MP TGX 4-15% (Biorad). După încărcarea probelor în gel, camera de migrare verticală este umplută cu tampon de migrare. Camera de migrare este decuplată de la sursa de curent, iar proteinele migrate prin gel au fost supuse

transferului pe membrana de nitroceluloză, prin metoda semi-umedă cu ajutorul aparatului TransBlot Turbo (Biorad). Blocarea situsurilor nespecifice s-a realizat cu soluție de lapte praf degresat 5%, a urmat incubarea cu anticorpii primari anti- β -actină (Actin (C-2): sc-8432, Santa Cruz) și α -tubulină (α Tubulin (B-5-1-2): sc-23948, Santa Cruz), în diluție de 1:500, apoi incubarea cu anticorpii secundari corespunzători marcați cu HRP (Anticorp goat anti rabbit Igg-HRP, Biorad). Vizualizarea s-a realizat prin augmentarea semnalului chemiluminescent cu ajutorul tamponului Western blotting luminol și captarea acestuia pe film radiologic. În fiecare probă, s-a evidențiat o bandă de 45 kda, confirmând o încărcare egală de proteine totale pentru fiecare probă. În etapa următoare, concentrația de proteine prezentă în fiecare probă va fi normalizată cu ajutorul nivelului de actină și tubulină, apoi exprimată ca raport densitometric.

În etapa următoare ne propunem determinarea prin tehnica Western Blot și zymografie a nivelului de expresie biochimică a MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13 și MMP-14, a inhibitorilor TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 și a VEGF în fibropapiloame BPV-2 pozitive în comparație cu nivelul expresiei acestor proteine în pielea normală.

Act 1.3 - Diseminarea rezultatelor – grad de realizare total

Conform planului de realizare, diseminarea parțială a rezultatelor obținute în cadrul acestei etape s-a concretizat prin participarea online la 4 conferințe internaționale (deoarece în contextul pandemic aceste conferințe nu s-au mai putut desfășura fizic). Toate cele 4 conferințe s-au desfășurat în ultima parte a anului (septembrie, octombrie și noiembrie). Din cauza acestui lucru, abstractele nu sunt încă publicate în volumele aferente.

Participări internaționale:

- 4th Joint ESVP, ECVF and ESTP Cutting Edge Pathology Congress, 15-17 septembrie 2021 –Online – prezentare poster *Florentina Bocaneti Daraban, Anca Mihaela Dascalu, Oana Irina Tanase, Sorin Pasca, Mihai Mares - Expression of matrix metalloproteinase -1 and its tissue inhibitor in bovine fibropapilloma*. Abstractul va fi publicat în luna ianuarie 2022, jurnalul internațional indexat ISI Journal of Comparative Pathology, cu factor de impact 1,311.
- European Biotechnology Congress, 23-25 septembrie 2021 – Virtual – prezentare poster - *Florentina Daraban Bocaneti, Anca Mihaela Dascalu, Oana Irina Tanase, Mihai Mares - Detection of Papillomavirus DNA in cutaneous lesions in cattle from Iasi County, Romania*. Abstractul va fi publicat în ianuarie-februarie în jurnalul internațional The EuroBiotech Journal.
- International Scientific Congress Life Science Today for Tomorrow, Universitatea pentru Științele Vieții Ion Ionescu de la Brad, din Iași, 21-22 octombrie 2021 – prezentare orală - *Florentina (Bocăneți) Daraban, Anca Mihaela Dascălu, Oana Irina Tănase, Sorin Aurelian Pașca, Mihai Mareș - Bovine papillomavirus*

type 2 is harboured in cattle cutaneous warts. Lucrarea in extenso va fi publicată în The Journal "Scientific papers - Veterinary Medicine ", volum 64, ianuarie-februarie 2022, CNCSIS B+.

-IPVC 2021 - The 34 th International Papillomavirus Conference, Toronto 15-19 noiembrie 2021 – Virtual – prezentare poster - *Florentina Bocaneti Daraban, Anca Mihaela Dascalu, Oana Iritna Tanase, Sorin Pasca, Mihai Mares - Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Matrix Metalloproteinase 3/10 in bovine cutaneous fibropapilloma*

Director Proiect,

Asistent universitar doctor,

Florentina DARABAN (BOCANETI)

