



UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

REZUMATUL RAPORTULUI ȘTIINȚIFIC

pentru anul 2022

Cifra proiectului : 20.80009.8007.13

”Elaborarea metodelor inedite de diagnostic precoce al bolilor imunodeficientare în baza studiului clinico-imunologic și molecular-genetic al pacienților cu suspexție la imunodeficiența primară”

Program de Stat (2020–2023)

Director **ANDRIEȘ Lucia**

Activitatea științifică a echipei de cercetare din cadrul proiectului a fost centrată pe examenul clinico-imunologic și molecular-genetic complex al pacienților cu suspexție de imunodeficiență primară (IDP), pe implementarea metodelor contemporane de diagnostic al erorilor sistemului imunitar, creșterea competenței specialiștilor instituțiilor medico-sanitare publice, elaborarea de noi manopere și metode de testare a bolnavilor. Cercetările clinico-paraclinice au încadrat 79 de pacienți cu realizarea a 1580 de investigații, inclusiv 790 hematologice, 790 - imunologice (474 pentru imunofenotiparea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16/CD56⁺, CD19⁺ și 316 pentru aprecierea concentrației serice sangvine a imunoglobulinelor de clasele M, G, A și E-totale). Pentru aprecierea funcției oxidative a PMN în cazul afectării funcției fagocitare a fost implementat testul NBT (nitro blue tetrazolium). Pentru elaborarea normativelor regionale a indicatorilor TREC/KREC au fost recoltate 25 mostre sangvine din călcâiul nou-născuților la termen și 25 probe de la cei prematuri pe cardurile Guthrie cu aprecierea ulterioară a limfocitelor T și B naive prin metoda cantitativă de polimerizare în lanț (qPCR). Dispersia majoră a datelor obținute a argumentat necesitatea majorării eșantioanelor de cercetare.

În anul 2022 proiectul a fost integrat în Programul Internațional de Secvențiere Genetică pentru IDP, realizat de JMF (SUA). Prioritățile acestui program cu expansiune globală au fost documentate prin identificarea a peste 11.000 variante noi de imunodeficiență primară, reducerea timpului de emisie a diagnosticului exact al patologiei, care în perioada anterioară dura 4-10 ani, analiza secvenței și testarea deleției/duplicației include **574** de gene responsabile de erori congenitale ale imunității la copii și adulți. Acest program susține diagnosticul clinic și contribuie la dezvoltarea unei strategii personalizate de tratament și management. Impactul economic major a fost documentat prin reducerea costului de îngrijire de la 124 400 la 26 900 USD pacient/an, a crescut cu 200% utilizarea transplantului de celule stem hematopoietice, s-a majorat numărul de pacienți tratați cu imunoglobulină i.v. sau subcutanat.

În premieră, pentru Republica Moldova au fost testați (gratuit) 16 pacienți cu suspexție de IDP prin secvențiere NGS cu aprecierea a 574 de gene posibil implicate în geneza bolilor imunodeficientare (compania Invitae, SUA). Studiile molecular-genetice au evidențiat mutații pe 69 de gene responsabile de patologia sistemului imunitar. Cercetarea molecular-genetică a confirmat diagnosticul clinico-imunologic în 5 cazuri: imunodeficiență autosomal recesivă combinată severă sensibilă la radiații, febră mediteraneană familială autosomal recesivă, deficit de adeziune leucocitară autozomal recesiv de tip 1; imunodeficiență combinată severă autosomal recesivă prin deficit de AND PKcs, sindromul Blau. 9 pacienți sunt purtători de gene recesive de IDP, faptul important pentru planificarea familială și consilierea genetică obligatorie.

Rezultatele studiului științific au fost raportate la 4 conferințe naționale și internaționale și se află fixate în 2 Protocoale Clinice Naționale, a 1 recomandări metodice, al 1 ghid, a 4 comunicări orale rezumative și un E-poster.



UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

SUMMARY

The scientific activity of the research team within the project was centered on the complex clinical-immunological and molecular-genetic examination of patients with suspected primary immunodeficiency (PID), on the implementation of contemporary methods for diagnosing immune system errors, increasing the competence of specialists of medical institutions public health, the development of new methods and methods of testing the sick. The clinical-paraclinical research included 79 patients with 1580 investigations, including 790 hematological, 790 - immunological (474 for the immunophenotyping of lymphocyte populations and subpopulations CD3+,CD4+, CD8+, CD16/CD56+,CD19+ and 316 for the assessment of blood serum concentration of immunoglobulins of classes M, G, A and E-total). The NBT (nitro blue tetrazolium) test was implemented to assess the oxidative function of PMN in case of phagocytic function impairment. For the elaboration of the regional norms of the TREC/KREC indicators, 25 blood samples were collected from the heel of full-term newborns and 25 samples from premature ones on Guthrie cards with the subsequent assessment of naïve T and B lymphocytes by the quantitative chain polymerization method (qPCR). The major dispersion of the obtained data argued the need to increase the research samples.

In 2022, the project was integrated into the International Genetic Sequencing Program for IDP, carried out by JMF (USA). The priorities of this program with global expansion have been documented by identifying more than 11,000 new variants of primary immunodeficiency, reducing the time to issue the exact diagnosis of the pathology, which previously took 4-10 years, sequence analysis and deletion/duplication testing includes 574 genes responsible for congenital immune errors in children and adults. This program supports clinical diagnosis and contributes to the development of a personalized treatment and management strategy. The major economic impact was documented by reducing the cost of care from \$124,400 to \$26,900 per patient/year, increasing the use of hematopoietic stem cell transplantation by 200%, increasing the number of patients treated with i.v. immunoglobulin. or subcutaneously.

For the first time, for the Republic of Moldova, 16 patients with suspected IDP were tested (free of charge) by NGS sequencing with the assessment of 574 genes possibly involved in the genesis of immunodeficiency diseases (Invitae company, USA). Molecular-genetic studies revealed mutations on 69 genes responsible for immune system pathology. Molecular-genetic research confirmed the clinical-immunological diagnosis in 5 cases: severe radiation-sensitive autosomal recessive combined immunodeficiency, autosomal recessive familial Mediterranean fever, autosomal recessive leukocyte adhesion deficiency type 1; severe autosomal recessive combined immunodeficiency through PKcs DNA deficiency, Blau syndrome. 9 patients are carriers of recessive IDP genes, the important fact for family planning and mandatory genetic counseling.

The results of the scientific study were reported at 4 national and international conferences and are fixed in 2 National Clinical Protocols, 1 methodical recommendations, 1 guide, 4 summary oral communications and an E-poster.