

Rezumat

Teza de abilitare intitulată “Implicarea proceselor redox și inflamatorii în evaluarea riscului aterosclerotic asociat dezechilibrelor metabolice” reunește cercetările personale, realizate pe parcursul ultimilor 8 ani, de la acordarea titlului de doctor în Științe Medicale, specialitatea Farmacie. Această teză cuprinde în principal rezultatele publicate în articolele științifice originale, din reviste cotate ISI și respectiv în capitole în volume publicate la edituri internaționale, rezultate obținute în cadrul proiectelor de cercetare în care am fost direct implicată în perioada 2006-2013 (2 proiecte pentru care am fost director și responsabil științific și respectiv 6 proiecte naționale și un proiect internațional la care am fost membru în echipa de cercetare). Teza este structurată pe 5 capitole în care am sintetizat cele două direcții majore ale cercetărilor mele – studiul mecanismelor celulare și moleculare prin care compușii polifenolici (în special quercetina, galatul de epigallocatechină și curcumina) induc efecte benefice asupra echilibrelor fizio-patologice la nivelul aparatului cardio-vascular și respectiv studiul modificărilor oxidative și inflamatorii care se instalează la pacienți cu risc de maladie cardio-vasculară (asociată cu diabetul zaharat, sindromul metabolic, îmbătrânirea, etc).

În primul capitol sunt prezentate principalele realizări științifice și academice pe domenii de cercetare. În capitolele 2 și 3 sunt prezentate cele mai relevante rezultate obținute în cadrul proiectului postdoctoral al cărui director am fost în perioada 2010-2012, intitulat *Studii privind efectul unor polifenoli asupra mecanismelor celulare implicate în dezvoltarea complicațiilor cardio-vasculare ale hiperglicemiei cronice*, proiect coordonat și finanțat de CNCSIS. În cadrul acestui proiect m-am axat pe studiul efectelor unor compuși polifenolici larg răspândiți în dietele bazate pe produse vegetale (quercetina – Q, epigallocatechina galat – EGCG și curcumina - C), în diferite modele experimentale, care impică tipuri de celule responsabile de inițierea și dezvoltarea leziunilor aterosclerotice. Scopul principal a fost evidențierea unor mecanisme prin care compușii menționați anterior induc efecte benefice asupra stării de sănătate a aparatului cardio-vascular. Pentru a justifica premisele de la care s-a pornit în studiile experimentale, cercetările s-au realizat în două tipuri diferite de modele, având ca obiectiv evidențierea mecanismelor redox și/sau inflamatorii prin care compușii selectați acționează pentru reducerea prevalenței maladiilor cardio-vasculare. Au fost astfel realizate studii *in vitro* pe celule mononucleare izolate din sângele periferic al unor pacienți cu diabet zaharat și/sau dislipidemie, afecțiuni care sunt intrinsec asociate cu mecanisme redox și inflamatorii. Al doilea model a fost reprezentat de culturi standard de celule cu implicare directă în dezvoltarea leziunilor cardio-vasculare (celule endoteliale umane HUVEC și respectiv monocite/limfocite), cultivate în medii care mimează diferite condiții patologice (hiperglicemia asociată cu stresul oxidativ și prezența

unor concentrații ridicate de produși de glicare avansată - AGEs). Rezultatele obținute au evidențiat faptul că cei trei polifenoli testați exercită efectul protector la nivelul aparatului cardio-vascular prin reducerea fenomenelor inflamatorii localizate la acest nivel, precum și prin modularea fluidității membranare a celulelor studiate. Aceste fenomene înregistrate la nivel membranar pot determina modificarea căilor de semnalizare intracelulară ceea ce va avea drept consecință reducerea sintezei de molecule proinflamatorii (E-selectina, MCP1) indusă de hiperglicemie și respectiv de prezența de produși de glicare avansată în mediul de cultură, acestea fiind unele din cele mai importante tulburări intracelulare înregistrate la pacienții cu afecțiuni cardio-vasculare.

Pentru a confirma efectele induse de compuși de interes la nivelul membranelor celulelor standard și respectiv a celor izolate de la pacienți, a fost utilizat de asemenea, un al treilea model experimental ce a vizat testarea efectelor induse de asupra unor membrane artificiale (lipozomi), rezultatele obținute fiind prezentate în capitolul 4. Scopul acestor studii a fost integrarea rezultatelor obținute pe culturi de celule standard și respectiv pe celule mononucleare izolate de la pacienți cu afecțiuni metabolice diferite (diabet zaharat, fenomene inflamatorii) cu rezultatele induse de acești compuși asupra unor membrane artificiale.

În capitolul 5 am prezentat rezultate obținute în studii efectuate pe probe biologice izolate de la pacienți cu tulburări metabolice care au la bază mecanisme redox și respectiv inflamatorii.

Obiectivul comun al acestor cercetări l-a reprezentat explorarea modificărilor oxidative din structura diferitelor biomolecule – proteine, lipide, glucide, considerate a fi în prezent cauza leziunilor celulare asociate cu diabetul zaharat, sindromul metabolic sau cu procesul global de îmbătrânire. În acest sens, cercetările personale s-au axat pe analiza interrelațiilor existente între unii parametri metabolici și biochimici clasici ce ilustrează riscul aterogen și noi markeri ai stresului oxidativ și ai disfuncției endoteliale evaluați la nivel sistemic: oxidarea lipoproteinelor de joasă densitate (oxLDL), activitatea enzimei nitric oxid sintaza endotelială (eNOS), nivelul produșilor finali de oxidare (AOPP) și de glicare avansată a proteinelor (AGEs), nivelul markerilor moderni ai procesului inflamator de la nivel vascular (ICAM-1, MCP-1, E-selectina, IL6).

Capitolul 6 include principalele direcții de dezvoltare viitoare a carierei, cu evidențierea celor mai importante teme pe care intenționez să le abordez din punct de vedere didactic. Referitor la activitățile de cercetare am pus accentul pe direcțiile în care studiile efectuate până în prezent vor fi continuate prin aplicații viitoare la competiții naționale și internaționale. Lucrarea este susținută de o bibliografie selectivă, axată pe articolele publicate în reviste indexate ISI.

Abstract

The habilitation thesis entitled "Redox and inflammatory processes in atherosclerosis risk associated with metabolic imbalance" combines personal research results, conducted over the past eight years, from the moment I obtained the PhD in Medical Sciences, specialty Pharmacy. The thesis comprises mainly original results published in scientific ISI journals and book chapters published by international publishing houses, results obtained in the framework of research projects in which I was directly involved in the period 2006-2013 (2 projects for which I was director and scientific coordinator, 6 national projects and 1 international project in which I was a member of the research team). The thesis is divided into five chapters that synthesize the two major directions of my research - the study of cellular and molecular mechanisms by which polyphenolic compounds (especially quercetin, epigallocatechin gallate and curcumin) induce beneficial effects on the pathophysiological balance of the cardio -vascular system and the study of oxidative and inflammatory changes that are identified in patients at risk of cardiovascular disease (associated with diabetes, metabolic syndrome, aging, etc.).

The first chapter presents the main scientific and academic research fields in which I had contributed. Chapters 2 and 3 present the most relevant results obtained in the postdoctoral project *Studies regarding the effect of some polyphenolic compounds on the cellular mechanisms involved in the development of cardio-vascular complications of chronic hyperglycemia*, whose director I was (2010-2012), project coordinated and funded by the CNCSIS. In this project I focused on studying the effects of polyphenolic compounds widely distributed in diets based on vegetable products (quercetin - Q, epigallocatechin gallate - EGCG and curcumin - C) in different experimental models that involve cell types responsible for the initiation and the development of atherosclerotic lesions. The main purpose was to highlight the mechanisms by which the above compounds induce beneficial effects on the health of the cardiovascular system. To justify the premises from which I started in experimental studies, surveys were conducted in two different models, with the objective of highlighting the redox and / or inflammatory mechanisms compounds through which the selected compounds act to reduce the prevalence of cardiovascular diseases. In this context, I have performed in vitro studies on peripheral blood mononuclear cells isolated from patients with diabetes and / or dyslipidemia, conditions that are intrinsically associated with redox and inflammatory mechanisms. The second model used standard cells directly involvement in the development of cardiovascular lesions (HUVEC – human umbilical vein endothelial cells and monocytes / lymphocytes), grown in media

mimicking various pathological conditions (hyperglycemia associated with oxidative stress and the presence of high concentrations of advanced glycation end-products - AGEs).

The results showed that the three tested polyphenols exert protective cardiovascular effects by reducing localized inflammatory phenomena, and by modulating membrane fluidity of the studied cells. These phenomena recorded at membrane level cause changes of the intracellular signaling pathways, consequently leading to the decrease synthesis of proinflammatory molecules (E-selectin, MCP1) that is induced by hyperglycemia and by the advanced glycation end-products in the culture medium; these are among the most important intracellular impairments occurring in patients with cardiovascular disease.

In order to confirm the effects induced by compounds of interest on the cell membranes of the cells I also used a third experimental model that was aimed at testing the effects caused by polyphenols on model membranes (liposomes); the results have been presented in Chapter 4.

The purpose of these studies was to integrate the results obtained on standard cell culture or on mononuclear cells isolated from patients with various metabolic disorders (diabetes mellitus, inflammatory phenomena) with those induced by the compounds on artificial membranes.

Chapter 5 presents the results obtained in studies on biological samples isolated from patients with metabolic disorders which are based on redox and that inflammatory mechanisms . The common objective of this research was to explore the oxidative changes in the structure of different biomolecules - proteins, lipids , carbohydrates, currently considered to be due to cellular damage associated with diabetes , metabolic syndrome or the overall process of aging. In this sense, personal research focused on analyzing the relationships between some metabolic and biochemical parameters illustrating classics the atherogenic risk with new markers of oxidative stress and endothelial dysfunction evaluated at systemic level: oxidation of low density lipoprotein (oxLDL), endothelial nitricoxide synthase activity (eNOS), the advanced oxidation protein products (AOPP) and advanced glycation end-products (AGEs) , the level of modern markers of vascular inflammatory process (ICAM -1 , MCP -1 , E- selectin , IL6) .

Chapter 6 includes the main directions for future career development, highlighting the most important issues to be addressed in terms of teaching and research activities . Regarding the research activities I shall focus on the directions in which studies carried out so far gave good results, which will be continued in future applications to national and international competitions.

The work is supported by a selective bibliography, based on articles published in ISI journals.