

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

**THE INTERPLAY BETWEEN INFLAMMATION AND OXIDATIVE
STRESS IN METABOLIC DISEASES AND AGEING**

REZUMATUL TEZEI DE ABILITARE

CANDIDAT:

Șef lucrări Dr. UNGURIANU ANCA

2024

Prezenta teză de abilitare reunește rezultatele studiilor realizate în ultimii cinci ani, după obținerea titlului de doctor, publicate drept articole originale în reviste indexate WOS (Clarivate Analytics) sau în capitole/cărți de specialitate. Totodată, reflectă traiectoria carierei mele academice ca asistent universitar și șef de lucrări în cadrul Disciplinei de Biochimie a Facultății de Farmacie UMFCD și dezvoltarea profesională ca farmacist.

Primul capitol oferă o privire de ansamblu asupra carierei mele de până acum, subliniind interesele mele principale în activitatea de cercetare: evaluarea statusului redox și inflamator în cadru clinic și preclinic, explorarea rolului dietei și al nutrienților în dezvoltarea și progresia bolilor metabolice, și evaluarea efectelor compușilor naturali asupra enzimelor cheie implicate în afecțiunile metabolice și îmbătrânire.

Al doilea capitol conține rezultatele realizărilor mele științifice post-doctorale, prezentate succinct în trei subcapitole. Primul se concentrează pe evaluarea biochimică a relației inflamație-stres oxidativ în diferite patologii. Din studiile privind statusul redox-inflamator în diabetul zaharat de tip 2 (DZT2), am identificat câțiva parametri care ar putea fi utili în evaluarea stării metabolice a pacienților cu DZT2. Unii dintre acești parametri pot avea valoare de diagnostic/prognostic, în timp ce alții ar putea fi utilizați pentru a monitoriza diferite subpopulații de diabetici. Mai mult, am observat noi asocieri semnificative între concentrația serică a zincului, stresul glioxidativ, afectarea celulelor β -pancreatice și rezistența la insulină. Aceste rezultate pot contribui la dezvoltarea unor abordări personalizate privind dieta și terapia pacienților cu DZT2 în vederea îmbunătățirii calității vieții acestora.

În continuare, am sintetizat rezultatele studiilor preclinice efectuate în colaborare cu alte grupuri de cercetare pentru a evalua afectarea redox indusă de compuși sintetici sau naturali în diverse modele experimentale și mecanismele celulare / moleculare prin care aceștia pot interveni în stările patologice respective. Am investigat efectul terapeutic aditiv al sildenafilului și metforminului folosind modele murine de neuropatie diabetică. Rezultatele au fost promițătoare, demonstrând că această combinație a diminuat hiperalgezia, a crescut nivelurile totale ale tiolilor la nivel hepatic și cerebral, și a scăzut sinteza de molecule pro-inflamatorii, precum și concentrațiile totale de nitriți. Un alt studiu a presupus evaluarea venlafaxinei, risperidonei și febuxostatului ca potențiale tratamente pentru bolile demielinizante, într-un model de demielinizare acută indusă cu cuprizonă la șoareci. Rezultatele au indicat că toți cei trei candidați au influențat pozitiv rezultatele evaluărilor comportamentale, integritatea mielinei și markerii biochimici ai demielinizării, indicând potențialul lor drept candidați terapeutici pentru bolile demielinizante. Ulterior, am contribuit la evaluarea monoacilglicerol lipazei ca nouă țintă medicamentoasă în durerea

cronică. Pe baza studiilor *in silico* privind inhibiția MAGL, cetirizina și levetiracetamul au fost selectați ca potențiali inhibitori ai enzimei. Evaluarea *in vitro* – determinarea IC50, alături evaluarea *in vivo* într-un model murin de osteoartrită, a evidențiat cetirizina ca un promițător punct de plecare pentru dezvoltarea de noi compuși pentru tratamentul osteoartritei, influențând atât durerea, cât și inflamația.

În al treilea subcapitol, am prezentat studiile ce au vizat efectele componentelor dietetice naturale în atenuarea inflamației, stresului oxidativ și îmbătrânirii, abordând influența dietei, probioticelor și activitatea sirtuinelor. Prima secțiune a oferit o privire de ansamblu asupra mecanismelor moleculare complexe și a căilor de semnalizare influențate de obiceiurile și componentele alimentare, inclusiv polifenolii, fibrele și acizii grași polinesaturați omega-3 (ω -3 PUFA). Adoptarea unor practici alimentare mai sănătoase, cum ar fi reducerea aportului de carbohidrați și creșterea fibrelor, împreună cu dietele îmbogățite cu polifenoli și ω -3 PUFA, influențează pozitiv inflamația și statusul metabolic. Cu toate acestea, trebuie luate în considerare variabilitatea designului studiilor, modul de analiză și raportare a rezultatelor și caracteristicilor participanților, deoarece metodele tradiționale care se concentrează pe evaluarea efectului izolat a unui nutrient devin irelevante datorită complexității dietei și a potențialelor interacțiuni cu alți nutrienți.

A doua secțiune rezumă rezultatele privind efectele intervențiilor dietetice și ale probioticelor asupra microbiotei în context fiziologic și patologic. Studiile clinice și meta-analizele indică potențialul probioticelor în tratarea și prevenirea bolilor metabolice. În plus, o înțelegere mai profundă a modului în care probioticele afectează metabolizarea, eficacitatea și siguranța medicamentelor ar putea facilita terapia individualizată și actualizarea ghidurilor de tratament.

A treia secțiune cuprinde studii privind efectele compușilor naturali și ale metaboliților acestora asupra activității sirtuinelor, concentrându-se pe cele ale curcuminei, quercetinei și resveratrolului. Au fost analizate mecanismele epigenetice pe care le influențează, împreună cu efectele lor asupra expresiei și activității acestor enzime. Sirtuinele joacă un rol crucial în îmbătrânire, întârzierea senescenței și promovarea longevității celulare, iar activitatea lor este perturbată în multiple boli asociate îmbătrânirii. Polifenolii, compuși naturali găsiți din abundență în surse alimentare, reprezintă unii dintre cei mai ușor de accesat modulatori de sirtuine. Curcumina, resveratrolul și quercetina influențează semnificativ expresia și activitatea izoformelor sirtuinelor, notabil fiind și comportamentul hormetic, doză-dependent, al resveratrolului, efectele biologice urmărite fiind raportate la doze mai mici.

Al treilea capitol prezintă parcursul meu academic și profesional, evidențiind contribuțiile mele ca profesor și membru al comunității academice, precum și evoluția mea ca farmacist. După ce am absolvit Facultatea de Farmacie din cadrul Universității de Medicină și Farmacie Carol Davila București în 2015, început programul de studii doctorale în cadrul Facultății de Farmacie și rezidențiatul în specializarea Farmacie Clinică. Am devenit asistent universitar în octombrie 2016, am promovat examenul de farmacist specialist în farmacie clinică în noiembrie 2018, mi-am susținut public teza de doctorat în mai 2019 și am făcut promovată la șef de lucrări în septembrie 2020. Pe parcursul activității mele în cadrul Disciplinei de Biochimie, responsabilitățile mele au crescut treptat de la un rol de secundar la unul activ în ceea ce privește predarea, coordonarea dizertațiilor și activităților științifice, precum și contribuția la modernizarea și actualizarea materialelor didactice.

Al patrulea capitol al tezei se concentrează pe strategiile și perspectivele de dezvoltare viitoare a carierei. În ceea ce privește cariera mea academică, voi contribui constant la îmbunătățirea materialelor didactice – lucrări de laborator și cursuri pentru studenții de farmacie din anii III și IV, alături de cele pentru programele postuniversitare de studii în nutriție și studii clinice; de asemenea, voi întocmi o propunere de curs opțional pentru studenții de la farmacie din anul V. În ceea ce privește activitatea de cercetare, intenționez să îmi continui studiile asupra efectelor stresului oxidativ, împreună cu testarea compușilor naturali, derivaților sau metaboliților acestora, privind funcția lor antioxidantă sau antiinflamatoare, alături de mecanismele celulare conexe. Deoarece bolile metabolice și inflamația sunt strâns legate de stresul oxidativ, sper să continui colaborarea cu colegii din facultate și cu medici, urmărind evaluarea statusului redox la pacienții cu afecțiuni metabolice și inflamatorii. De asemenea, voi continua cercetările asupra sirtuinelor începute în proiectul meu postdoctoral, prin efectuarea de screening in vitro a activatorilor/inhibitorilor SIRT1, SIRT2 și SIRT6, concentrându-mă în special pe compușii naturali. Totodată, evaluarea nivelurilor serice ale acestor sirtuine ar putea duce la dezvoltarea de biomarkeri neinvazivi pentru diagnosticarea și monitorizarea îmbătrânirii, tulburărilor metabolice și cancerului.

Abstract

This habilitation thesis amasses the results from the five years of research following the completion of my PhD. It encompasses work published as original scientific articles in WOS (Clarivate Analytics)-indexed, peer-reviewed journals, along with book chapters and books. Additionally, it reflects my academic trajectory as an assistant professor and lecturer in the Biochemistry Department, and professional development as a pharmacist.

The **first chapter** offers a succinct overview of my career so far, underlining my primary research interests: evaluating redox-inflammatory status in clinical and preclinical settings, exploring the role of diet and nutrients in the development of metabolic maladies, and assessing the effects of natural compounds on key enzymes involved in non-communicable diseases and aging.

The **second chapter** contains the results of my post-PhD scientific achievements, concisely presented in three subchapters. The first focuses on the biochemical and clinical evaluation of the inflammation-oxidative stress interplay in various pathologies. From our studies on the redox-inflammatory status in type 2 diabetes mellitus (T2DM), we identified several parameters that could serve as tools for assessing the metabolic status of T2DM patients compared to non-diabetics. Some of these parameters may have diagnostic or prognostic value, while others could be utilized to monitor different subpopulations of diabetics, exhibiting discriminatory value when comparing patients with varying smoking statuses. Additionally, we uncovered new significant associations between zinc status, glycoxidative stress, pancreatic β -cell impairment, and insulin resistance. These insights offer a foundation for developing personalized nutrition and treatment strategies to improve the longevity and quality of life for patients with diabetes.

Secondly, I synthesized results from preclinical studies conducted in collaboration with various research groups to assess oxidative damage induced by synthetic and natural compounds, and the cellular and molecular mechanisms by which this oxidative damage is involved in pathological states. In one set of studies, we investigated the additive therapeutic effect of sildenafil and metformin using murine models of diabetic neuropathy. The results were promising, demonstrating that this combination reversed mechanical hyperalgesia, increased total thiol levels in liver and brain tissues, and decreased the production of inflammatory markers, as well as total nitrite concentrations. Another study focused on venlafaxine, risperidone, and febuxostat as potential treatments for demyelinating diseases. We examined their interaction with the TRPA1 calcium channel in a cuprizone-induced

acute demyelination model in mice. Results indicated that all three candidates positively influenced behavioral outcomes, myelin integrity, and biochemical markers of demyelination, indicating their potential as therapeutic candidates for demyelinating diseases. Also, I contributed to the evaluation of monoacylglycerol lipase as a novel drug target in chronic pain. Based on chemical, mechanistic and computational studies on MAGL inhibitors, cetirizine and levetiracetam were selected as potential MAGL inhibitors. In vitro enzyme-based assessment of IC₅₀, combined with in vivo evaluation in an osteoarthritis rat model revealed cetirizine as a promising starting point for the development of novel compounds for osteoarthritis treatment, addressing both pain and inflammation.

Thirdly, I explored the effects of natural dietary components in mitigating inflammation, oxidative stress and ageing, focusing on diet, probiotics, and the activity of sirtuins. The first section provided an overview of the complex molecular mechanisms and signaling pathways affected by dietary habits and components, including polyphenols, fiber, and omega-3 polyunsaturated fatty acids (ω -3 PUFAs). Adopting healthier dietary practices, like reducing carbohydrate intake and increasing fiber, along with enriching diets with polyphenols and ω -3 PUFAs, were shown to positively influence inflammation and metabolic health. However, the variability in study designs, outcomes, and participant characteristics must be considered, as traditional methods focusing on single nutrients are becoming outdated due to the complexity of human diets and potential nutrient interactions.

The second section summarized findings on the effects of dietary interventions and probiotics on the microbiota in health and disease. Clinical trials and meta-analyses indicate the potential of probiotics in treating and preventing metabolic diseases. Additionally, a deeper understanding of how probiotics affect drug metabolism, efficacy, and safety could improve therapy management, facilitating individualized therapy and updating treatment guidelines.

The third section encompasses studies regarding the effects of natural compounds and their metabolites on the activity of sirtuins focusing on curcumin, quercetin and resveratrol. The epigenetic mechanisms they regulate were analyzed, together with their effects on the expression and activity of sirtuins, seeing as supplementing diet with polyphenols in a bench-to-bedside approach could greatly benefit patients. Sirtuins play a crucial role in aging, delaying cellular senescence and promoting cellular longevity, and their activity can be dysregulated in various age-related diseases. Some of the most abundant and easy to access sirtuin modulators are natural compounds, especially polyphenols widely found in dietary sources. Curcumin, resveratrol and quercetin significantly influence the expression and

activity of sirtuin isoforms, affecting numerous cellular pathways associated with specific pathophysiological conditions. Importantly, resveratrol has a dose-dependent hormetic behavior, and its most beneficial biological effects were reported for lower doses.

The **third chapter** presents my academic and professional activity, highlighting my contributions as a teacher and member of the faculty, as well as my evolution as a pharmacist. After graduating from the Faculty of Pharmacy at Carol Davila University in 2015, I enrolled in a PhD program and pursued residency in Clinical Pharmacy. I became an assistant professor in October 2016, passed the Clinical Pharmacy Specialist exam in November 2018, defended my PhD in May 2019, and transitioned to Lecturer in September 2020. Throughout my activity in the Biochemistry Department, my responsibilities gradually increased from a supporting role to an active one regarding teaching, coordinating dissertations and scientific activities, and upgrading and updating the course material.

The **fourth chapter** of the thesis focuses on strategies and perspectives for career development. As for my academic career, there are several aspects I seek to improve regarding laboratory work and lectures for the third- and fourth-year pharmacy students, along those for the postgraduate programs of nutrition and clinical studies; also, I aim to draw up a proposal for an optional course for the fifth-year pharmacy students. Regarding research, I plan to continue my studies on the effects of oxidative stress, along with testing the effects of natural compounds, their derivatives or metabolites, uncovering their antioxidant, anti-inflammatory or enzyme modulatory function. As metabolic diseases and inflammation are closely linked to oxidative stress, I hope to continue collaborating with colleagues and physicians, to take part in clinical studies to evaluate the oxidative status of patients with metabolic and inflammatory conditions. Also, I will continue the research on sirtuins developed in my postdoctoral work, by conducting in vitro screening of SIRT1, SIRT2, and SIRT6 activators/inhibitors, especially focusing on natural compounds. Moreover, assessing serum sirtuin levels could provide valuable insights into aging, metabolic disorders, and cancer potentially leading to the development of non-invasive biomarkers for diagnosing and monitoring these conditions.