



**COMPETIȚIA DE PROIECTE DE CERCETARE A ACADEMIEI OAMENILOR DE ȘTIINȚĂ DIN  
ROMÂNIA  
DESTINATĂ TINERILOR CERCETĂTORI**

**„ AOȘR-TEAMS-III” EDIȚIA 2024-2025  
„ TRANSFORMAREA DIGITALĂ ÎN ȘTIINȚE”**

**PROFILUL GENOMIC MITOCONDRIAL AL LIMFOCITUL B CD19<sup>+</sup> LA PACIENTUL CU DIABET DE  
TIP 2 CU RISC ANGIOPATIC ȘI METABOLISMUL CELULAR AL SORBITOLULUI – INOVARE  
COMPUTAȚIONALĂ, VALIDARE MULTISURSĂ ȘI GĂSIRE DE NOI ȚINTE ÎN PREDIAGNOSTIC**

**Acronim: CONDRIOM**

**Domeniu științific 08: Științe Medicale**

**RAPORT DE ETAPĂ IV**

**DIRECTOR DE PROIECT:  
Dr. Vlad-Alexandru TOMA**

**ECHIPĂ DE CERCETARE:  
Dr. Gabriel MARC  
Dr. Mihai LUPU  
Dr. Denisa HATHAZI**

**28.11.2025**

## **OPIS:**

### **I. Introducere**

**II. Protocolul de izolare a mitocondriilor în vederea analizării profilul biochimic și genomic. Experiment *in vivo*.**

**III. Analiza profilului biochimic mitocondrial folosind izolatul mitocondrial pur**

**IV. Procedură implementată pentru izolarea ADNmt și secvențarea acestuia**

**V. Accesul în baza de date MitoMap și încărcarea rezultatelor**

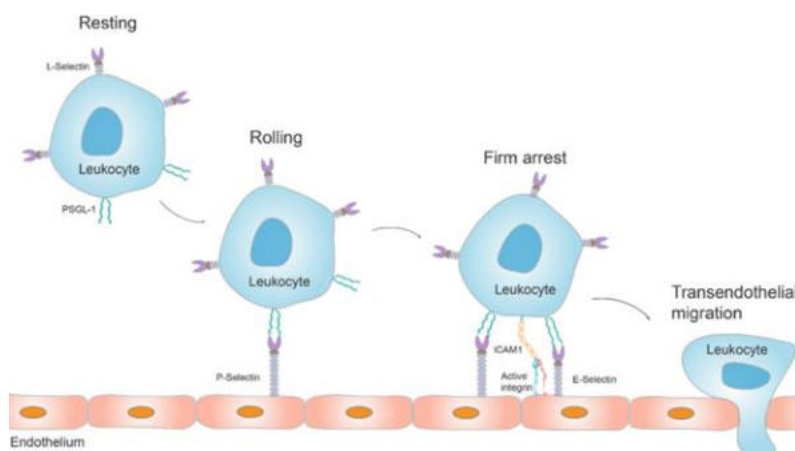
**VI. Procedură și componente etice privind trialul clinic aferent proiectului**

**VII. Diseminarea rezultatelor**

## I. INTRODUCERE. Glicoproteine în etiopatogeneza bolii vasculare asociată diabetului zaharat

### A) Profilul biochimic și context fiziopatologic

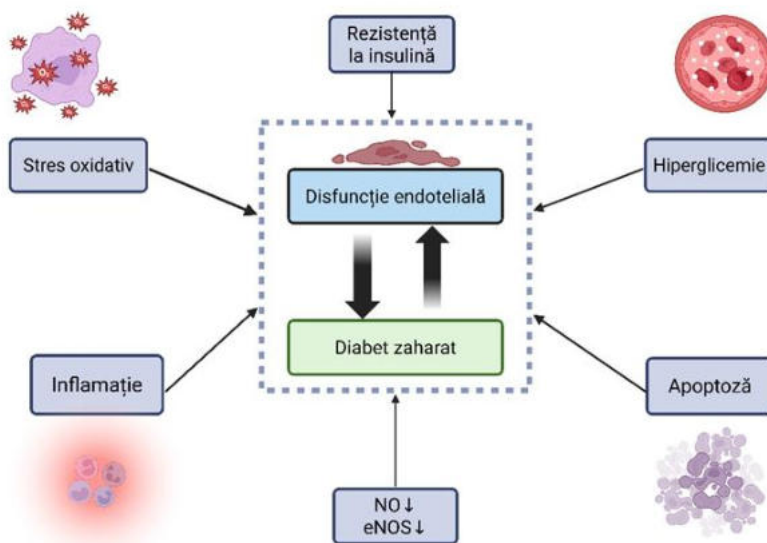
Glicoproteinele sunt formate din proteine la care oligozaharidele sunt unite covalent în anumite puncte ale lanțului de aminoacizi (Hughes, 2012). În subcapitolul următor, vor fi prezentate principalele glicoproteine implicate în funcționarea sistemului vascular. Cu rol de lectine transmembranare, dependente de  $\text{Ca}^{2+}$ , selectinele mediază rostogolirea leucocitelor pe suprafețele vasculare. Acest proces reprezintă faza inițială de adeziune, esențială în inflamație și în cadrul supravegherii imunitare. În timpul acesteia, leucocitele exprimă L-selectina, în timp ce trombocitele activate prezintă P-selectina. Celulele endoteliale activate, la rândul lor, exprimă E-selectina și P-selectina. Studiile in vitro indică faptul că semnalizarea selectinelor permite celulelor mioide să reacționeze la concentrații scăzute de chemokine și alți agoniști. Această cascadă de semnalizare declanșează reacții celulare precum degranularea, producția de superoxid, sinteza de chemokine și degajarea de microparticule cu rol procoagulant și proinflamator. In vivo, adeziunea și semnalizarea mediată de selectine sunt asociate cu patologii cardiovasculare precum ateroscleroza sau tromboza arterială și venoasă profundă (McEver, 2015). Migrația leucocitelor din spațiul vascular este esențială atât pentru recircularea fiziologică a limfocitelor în anumite țesuturi, cât și pentru declanșarea răspunsului imun în zonele inflamatorii. Recrutarea leucocitelor, deplasarea lor către ariile inflamate și localizarea în spațiul extravascular sunt procese determinate de stimularea celulară și de expresia locală a moleculelor de adeziune. Dintre acestea ICAM-1 (molecula de adeziune intercelulară-1) și VCAM-1 (molecula de adeziune a celulelor vasculare-1), ambele membre ale superfamiliei imunoglobulinelor CAM (molecule de adeziune celulară), joacă un rol vital în medierea adeziunii puternice a leucocitelor la celulele endoteliale, atât în afecțiuni acute, cât și cronice. ICAM-1 și VCAM-1 au o importanță considerabilă în menținerea homeostaziei, însă contribuie, de asemenea, la procesul inflamator și facilitează migrația leucocitelor în timpul inflamației (**Fig. 1**). Implicarea acestor molecule se extinde și la diverse condiții patologice, incluzând cancerul, ateroscleroza, fibrilația atrială, infarctul miocardic, astmul, obezitatea și bolile renale (Singh & colab., 2023) (**Fig. 2**).



**Fig. 1.** Cascada de adeziune leucocitară: implicarea selectinelor și integrinelor în extravazare (preluat din Tong & Zou, 2019).

Adeziunea plachetară la locul leziunii vasculare reprezintă o etapă inițială esențială în procesul de hemostază. În acest sens, glicoproteina plachetară (GP) Ib-IX-V are un rol crucial, facilitând interacțiunea cu Factorul von Willebrand (vWF) imobilizat. Pe lângă funcția sa de adeziune, GPIb-IX-V este indispensabilă pentru supraviețuirea plachetelor în circulație și contribuie semnificativ la reglarea eliminării acestora. Disfuncția eliminării plachetare este

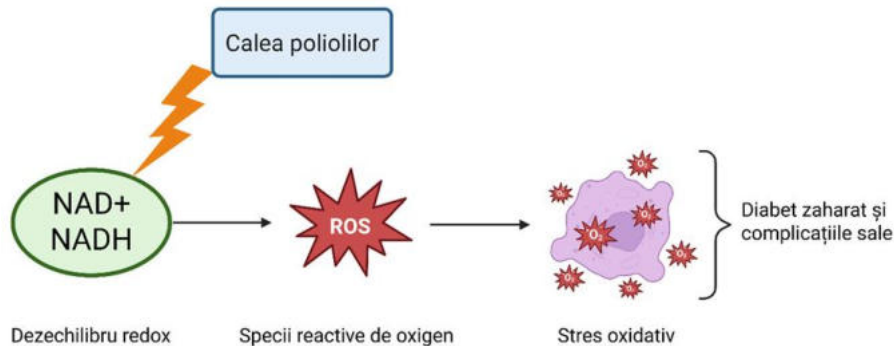
implicată în apariția mai multor afecțiuni hemoragice. GPIb-IX-V este fundamentală pentru numeroase mecanisme fiziologice de îndepărtare plachetară, inclusiv cel mediat de receptori glicanici, eliminarea complexelor vWF-plachete și îndepărtarea rapidă a plachetelor transfuzate. De asemenea, eliminarea dependentă de GPIb-IX-V subliniază trombocitopenia observată în tulburări hemoragice precum boala von Willebrand și trombocitopenia imună (Quach, 2022). Proteina  $\alpha$ I**IIb** $\beta$ 3 de pe membrana plachetară, denumită și glicoproteina IIb/IIIa (GPIIb/IIIa), face parte din familia omniprezentă a integrinelor, fiind un heterodimer transmembranar absolut indispensabil pentru agregarea plachetară. Acest complex,  $\alpha$ I**IIb** $\beta$ 3, mediază agregarea plachetară atunci când fibrinogenul sau vWF se leagă de forma sa activă, formând legături încrucișate între plachetele stimulate adiacente și generând agregate stabile. Asamblarea heterodimerilor  $\alpha$ I**IIb** $\beta$ 3 are loc în reticulul endoplasmic, din monomerii  $\alpha$ I**IIb** și  $\beta$ 3. Mutațiile care afectează sinteza oricăreia dintre aceste subunități duc la o expresie redusă a  $\alpha$ I**IIb** $\beta$ 3, cauzând astfel trombostenia Glanzmann, o tulburare de sângerare autozomală. Pe de altă parte, agregarea plachetară mediată de  $\alpha$ I**IIb** $\beta$ 3 stă la baza formării trombilor arteriali care provoacă infarctul miocardic și accidentul vascular cerebral (Bennet, 2017). Trombomodulina reprezintă o componentă esențială a unui sistem multimolecular, prezentă predominant la nivelul endoteliului vascular. Aceasta integrează căi biochimice și procese biologice de importanță majoră, precum cele aferente coagulării, imunității înnăscute, inflamației și proliferării celulare. Ansamblul acestor procese are rolul de a proteja organismul împotriva leziunilor și de a facilita vindecarea (Loghmani & Conway, 2018).



**Fig. 2.** Factorii care leagă diabetul zaharat de disfuncția endotelială.

Calea poliolor reprezintă o cale metabolică secundară prin care glucoza este procesată în celule, devenind semnificativă în condiții de hiperglicemie, când enzima hexokinază este saturată. În acest proces, glucoza este convertită în sorbitol de către aldoz-reductaza, consumând o moleculă de NADPH. Ulterior, sorbitolul este transformat în fructoză de către sorbitol-dehidrogenaza, generând NADH din NAD. Un aspect crucial al activității căii poliolor este impactul său asupra echilibrului redox. Consumul excesiv de NADPH de către aldoz-reductaza, în condiții hiperglicemice, reduce disponibilitatea acestei coenzime esențiale pentru reducerea glutatationului. Deficiența de glutatone declanșează stresul oxidativ, contribuind la deteriorarea celulară. De asemenea, calea poliolor este o sursă importantă de NADH, iar producția sa excesivă perturbă echilibrul redox dintre NADH și  $\text{NAD}^+$ , favorizând generarea de SRO în lanțul transportor de electroni mitocondrial. Deși este considerată o cale minoră de metabolizare a glucozei în condiții normale, cu o afinitate redusă a aldoz-reductazei pentru glucoză, în hiperglicemie, calea poliolor

devine activă, deviind glucoza de la calea normală a glicolizei. Această activare contribuie la producția de SRO și la dezvoltarea stresului oxidativ prin alterarea metabolismului glutationului și prin dezechilibrul redox al NAD/NADH. Prezența aldoz-reductazei predominant în țesuturi precum retina, nervii, vasele și glomerulele subliniază rolul esențial al căii polioliilor în progresia complicațiilor microvasculare diabetice, inclusiv retinopatia, neuropatia și nefropatia. Astfel, calea polioliilor este un contributor major la deteriorarea celulară în diabet, în special prin generarea de stres oxidativ (Garg & Gupta, 2022) (Fig.3).

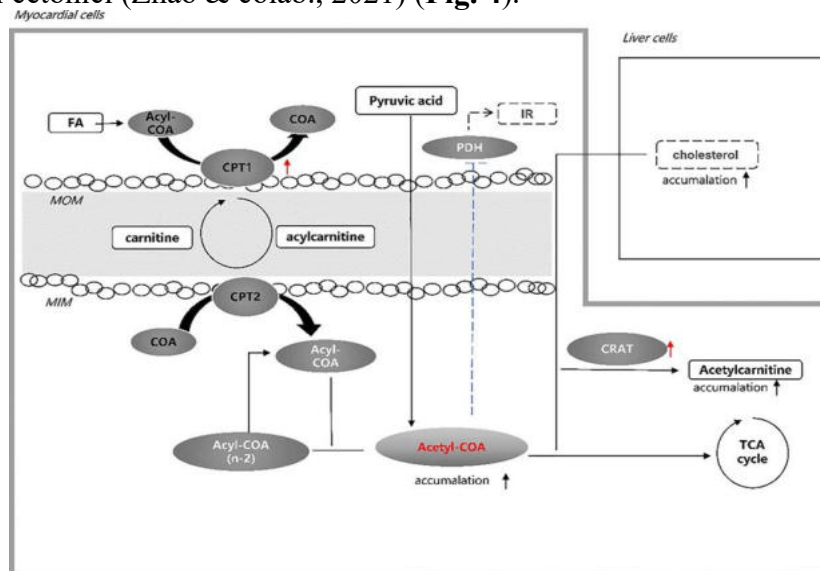


**Fig. 3.** Mecanismul de inducere a stresului oxidativ în diabet, mediat de calea polioliilor.

*B) Rolul mitocondriei în modularea profilului biochimic. Efectele unor amplificatori mitocondriali precum acetilcarnitina.*

L-carnitina și derivatul său, L-acetilcarnitina, utilizate ca și suplimente alimentare, sunt esențiale în transportul grupărilor acil și acetil către mitocondrii. Calea glicolică este activată, iar activitatea complexului piruvat dehidrogenazei este stimulată de aceste substanțe. Mai mult, ele facilitează absorbția acizilor grași cu lanț lung în mitocondrii, optimizând astfel  $\beta$ -oxidarea și corectând deficiențele fosforilării oxidative observate în diabetul zaharat. Prin aceste mecanisme, se poate îmbunătăți utilizarea și stocarea glucozei, contracarând tranziția de la utilizarea carbohidraților la cea a lipidelor, specifică rezistenței la insulină. Studiile anterioare au indicat că administrarea intravenoasă de L-carnitină poate ameliora sensibilitatea la insulină la pacienții cu diabet. Însă, un studiu pilot a demonstrat că acetilcarnitina administrată oral nu doar că a îmbunătățit sensibilitatea la insulină, dar a și redus semnificativ TAS (tensiunea arterială sistolică) la subiecți non-diabetici cu risc cardiovascular crescut, fără a afecta TAD (tensiunea arterială diastolică). Corelația puternică dintre TAS și rezistența la insulină sugerează că această reducere a tensiunii arteriale poate fi atribuită, cel puțin parțial, ameliorării sensibilității la insulină. Dovezile obținute din studii pe animale cu hipertensiune arterială sugerează că o activitate crescută a carnitinei ar putea fi legată de o disponibilitate sporită a NO și de o reducere a stresului oxidativ sistemic, alături de o reglare descendentă a componentelor RAAS. Aceste descoperiri suplimentare indică un efect direct al carnitinei asupra tonusului vascular și un rol potențial în reglarea tensiunii arteriale. În ceea ce privește profilul lipidic, deși studii pilot mici cu L-carnitină orală la pacienții cu diabet au generat rezultate inconsistente în privința trigliceridelor și lipoproteinelor, o meta-analiză recentă a concluzionat că L-carnitina orală nu a avut un impact semnificativ asupra acestor componente lipidice, dar a produs o reducere notabilă a colesterolului total și a LDL-colesterolului. Astfel, dovezile sugerează că acetilcarnitina administrată oral ar putea oferi avantaje distincte, reducând tensiunea arterială și având efecte benefice asupra profilului lipidic la pacienții cu diabet zaharat, depășind potențial beneficiile L-carnitinei simple prin acțiunea sa mai amplă și impactul direct asupra parametrilor cardiovasculari (Parvanova & colab., 2018). Suplimentarea dietei cu acetilcarnitină oferă multiple beneficii neurologice, având efecte neuroprotectoare, neurotrofice, antidepresive și analgezice în cazul neuropatiilor dureroase (Traina, 2016). Astfel, prezintă un avantaj în ameliorarea simptomelor neuropatiei diabetice. Acizii grași liberi sunt activați în

citoplasmă pentru a forma acil-CoA, care apoi intră în mitocondrii prin sistemul navetă al carnitinei, facilitat de enzimele CPT1 și CPT2 (carnitin palmitoil transferaza 1 și 2). Odată ajuns în matricea mitocondrială, acil-CoA este supus unui ciclu de patru etape sub acțiunea sistemului de oxidare al acizilor grași: deshidratare, hidratare, o nouă deshidratare și sulfatare. Acest proces repetitiv descompune acil-CoA într-o moleculă de acetyl-CoA și o moleculă de acil-CoA mai scurtă. Acil-CoA-ul scurtat reia ciclul până la formarea completă de acetyl-CoA sau se poate combina cu carnitina liberă pentru a forma acilcarnitină. Acetyl-CoA-ul rezultat are mai multe destinații importante în organism: poate fi transformat în acilcarnitină prin intermediul enzimei CRAT (carnitin acetiltransferaza), poate intra în ciclul acizilor tricarboxilici (TCA) pentru a genera energie sub formă de ATP, poate servi ca material de bază pentru sinteza colesterolului sau poate fi convertit în corpi cetonici (Zhao & colab., 2021) (**Fig. 4**).



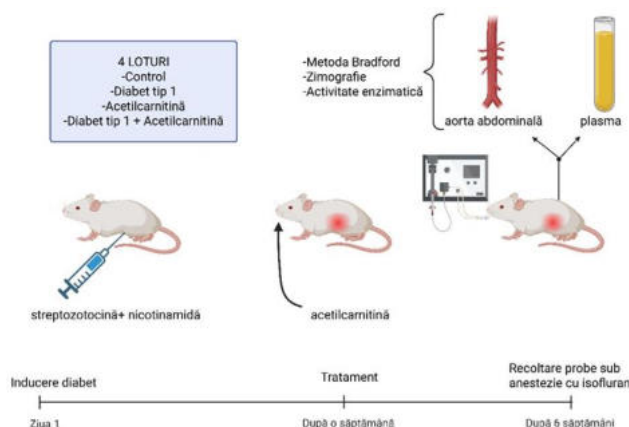
**Fig. 4.** Metabolismul acetilcarnitinei. CPT1, CPT2- carnitin palmitoil transferaza 1, 2; CRAT- carnitin acetiltransferaza; FA- acizi grași; IR- rezistență la insulină; MIM- membrana mitocondrială internă; MOM- membrana mitocondrială externă; PDH- piruvat dehidrogenază; TCA- acizi tricarboxilici (preluat din Zhao & colab., 2021).

## II. PROTOCOLUL DE IZOLARE A MITOCONDRIILOR ÎN VEDEREA ANALIZĂRII PROFILUL BIOCHIMIC ȘI GENOMIC MITOCONDRIAL. EXPERIMENT IN VIVO.

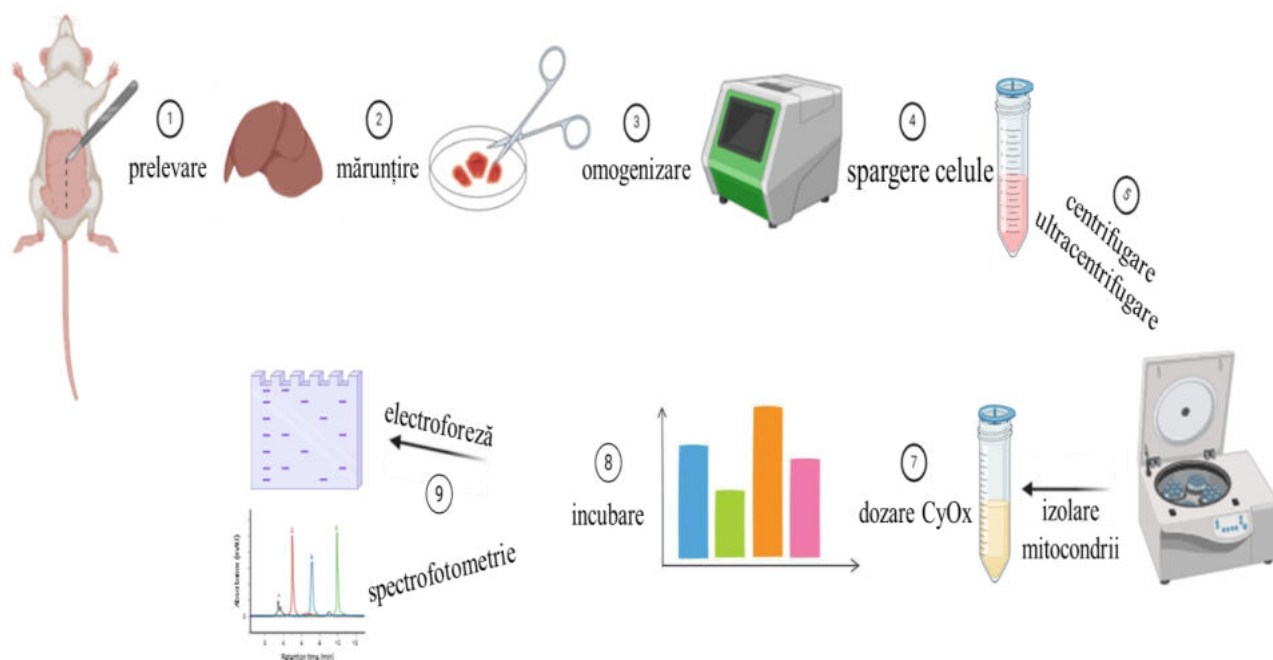
### 1.1. Design experimental

Experimentul s-a desfășurat în Biobaza USAMV Cluj-Napoca, în condiții zooigienice standard, cu alternanță lumină/întuneric 12h/12h, temperatură constantă de 22 °C. Animalele utilizate au fost șobolani albi din rasa Wistar, masculi, cu greutatea relativă medie de 280 +/- 20 g. Animalele au fost împărțite în 4 loturi: Control, Diabet tip 1, Acetilcarnitină, Diabet tip 1 + Acetilcarnitină. Acetilcarnitina s-a administrat pe cale orală în doză de 50 mg/kg greutate corporală, timp de 6 săptămâni atât la animalele cu diabet tip 1 cât și la cele care au primit doar acetilcarnitină. Diabetul de tip 1 a fost indus cu streptozotocină și nicotinamidă în doză unică de 25 mg/kg respectiv 200 mg/kg greutate corporală administrate intraperitoneal. La 7 zile după doza de streptozotocină, glicemiile au depășit valoarea de 400 mg/dL, astfel s-a constatat diabetul indus. Din acest moment timp de 6 săptămâni s-a administrat acetilcarnitina, zilnic. Glicemiile și evoluția ponderală s-au măsurat săptămânal. La finalul celor 6 săptămâni de tratament, animalele care au păstrat hiperglicemia din lotul Diabet tip 1 au fost selectate, iar împreună cele din restul grupurilor experimentale, au fost supuse procesului de recoltare a probelor biologice. Astfel, sub anestezie cu isofluran, s-a recoltat sângele integral în vederea obținerii plasmei, mononuclearelor periferice,

respectiv hemoglobinei. S-au recoltat apoi aorta abdominală, cortexul cerebral și zona striată, din care s-au realizat lizate tisulare respectiv examenele histopatologice. Ficatul a fost utilizat pentru izolarea mitocondriilor.



**Fig. 5.** Designul experimental al studiului *in vivo*.

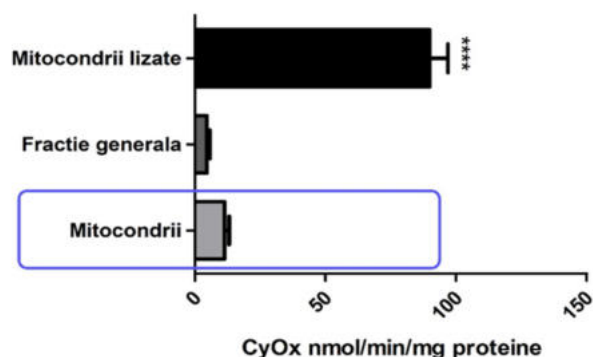


**Fig. 6.** Protocolul cu tampon manitol-albumină aplicat în vederea izolării mitocondriilor hepatice ca prototip de izolare și analiză în vederea optimizării procedurii pentru trialul clinic. Inedit: nu am aplicat tradiționalul gradient de sucroză, având în vedere că tocmai interacțiunea cu glucidele urma să o explorăm.

Izolarea Mt este un proces deosebit de sensibil termic astfel că totul trebuie lucrat pe gheață iar izolatul Mt obținut trebuie dozat în termeni de mg proteine/mL izolat Mt. Având în vedere ca probele de la pacient uman cu diabet zaharat vor fi restrânse ca volum și limitate ca număr, am decis să optimizăm întreg protocolul experimental, folosind hepatocitele de la experimentul *in vivo*. Astfel, după cum se observă în **Fig. 6**, hepatocitele au fost supuse centrifugării și ultracentrifugării în gradient de Ficoll.

### III. ANALIZA PROFILULUI BIOCHIMIC MITOCONDRIAL FOLOSIND IZOLATUL MITOCONDRIAL PUR

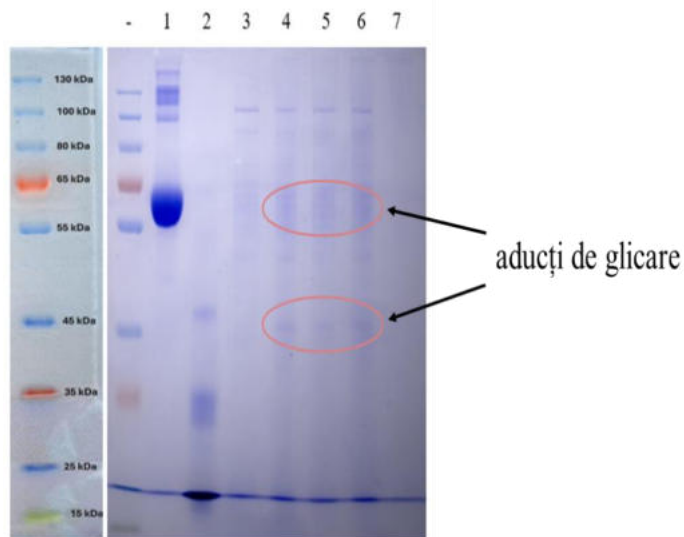
Izolatul Mt a fost apoi suspus analizei calitative și cantitative. Din punct de vedere calitativ, s-a dozat activitatea citocrom-oxidazei (CyOx) care e indicatorul fidel al leziunii Mt. Dacă activitatea acesteia este crescută comparativ cu mitocondria lizată, acest fapt sugerează integritate joasă a Mt. După cum arătăm în **Fig. 7**, activitatea CyOx a fost foarte scăzută, astfel am avut un prim indicator al calității foarte bune a izolatului mitocondrial.



**Fig. 7.** Dozarea spectrofotometrică a activității citocrom-oxidazei (CyOx) în trei fracții celulare: fracția generală, și 2 fracții mitocondriale: fracție lizată cu Tween 80 respectiv fracția test. Datele sugerează că, prin prisma activității CyOx, integritatea Mt s-a păstrat folosind protocolul inedit, cu manitol-albumină serică bovină (BSA).

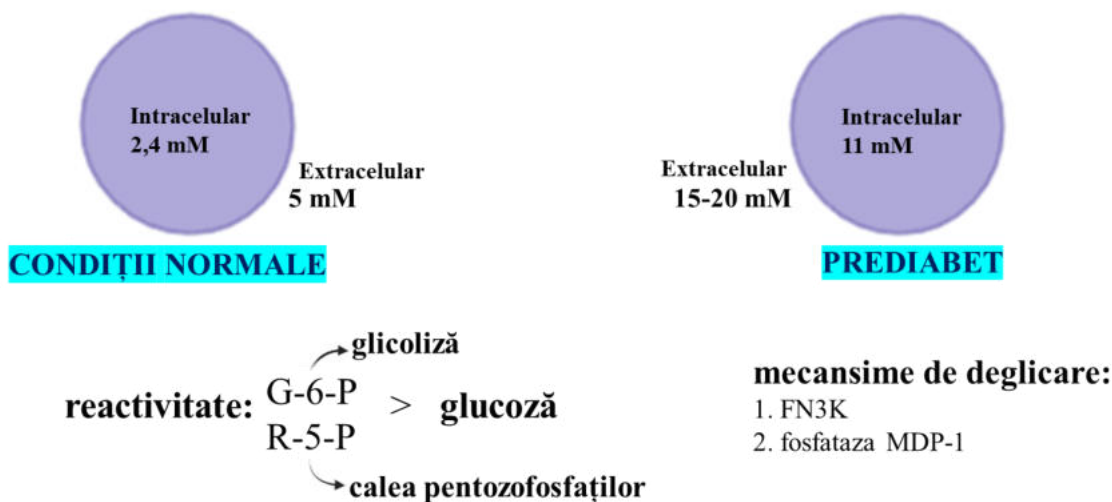
Analiza calitativă a izolatului mitocondrial a continuat cu examinarea în SDS-PAGE a acestuia, comparativ cu citocromul C. Datele expuse mai jos în **Fig. 8**, demonstrează puritatea izolatului și de asemenea, aducții de glicare pe care doream să îi evidențiem.

Contextul în care am izolat Mt are la bază ipoteza expusă în rapoartele precedente, conform căreia, dorim să investigăm vulnerabilitatea la glicare a mitocondriilor în prediabet, drept cauză mai apoi a instalării diabetului, mai ales al celui de tip 2. Astfel, Mt izolate au fost incubate experimental cu diferite monoglucide, în concentrații celulare specifice prediabetului (cca. 20 mM). Probele au fost apoi împreună analizate SDS-PAGE alături de control. **Fig. 8** demonstrează faptul că Mt se glichează iar determină creșterea masei moleculare a complexului proteic mitocondrial.



**Fig. 8** Analiza SDS-PAGE a mitocondriilor supuse testelor de glicare *in vitro* cu monozaharide respectiv aldehydă formică, *gold-standardul* carbonilic în reacțiile de glicare glucid-proteină. Ordinea probelor încărcate: marker de greutate moleculară (-), BSA (1), citocrom C (2), mitocondrii control (3), mitocondrii + glucoză (4), mitocondrii + galactoză (5), mitocondrii + riboză (6), mitocondrii + aldehydă formică (7).

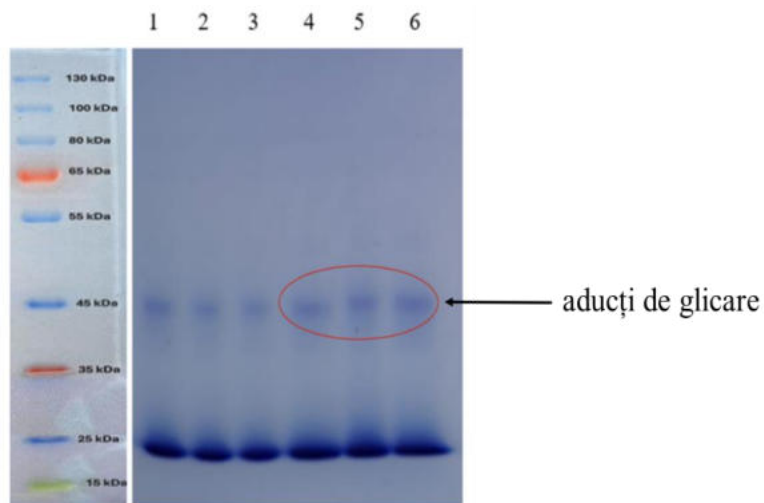
Aceste reacții biochimice parțial reversibile (**Fig. 9**) conduc la rolul des menționat al Mt în etiopatologia diabetului zaharat.



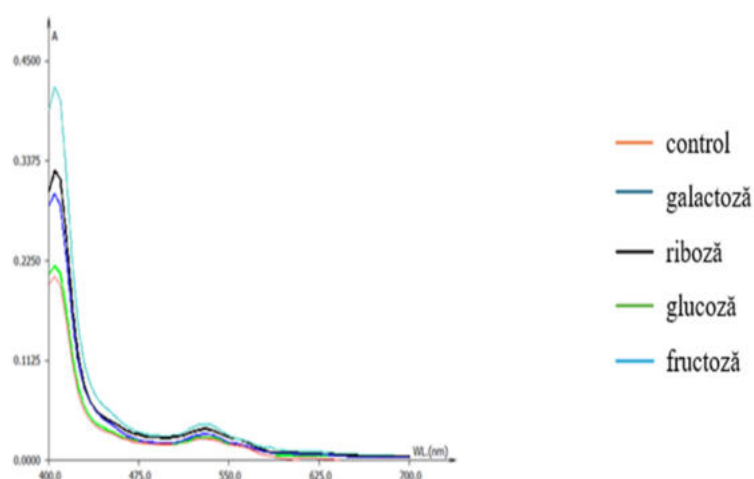
**Fig. 9** Sumarizarea proceselor de glicare/deglicare la nivel celular pe baza datelor noastre experimentale în concordanță cu literatura de specialitate. În condiții fiziologice, deglicarea prin acțiunea fructoamin-3-kinazi (FN3K) respectiv fosfataza magneziu-dependentă 1 (MDP-1) determină normalizarea proteinelor după contactul cu monoglucide. Dacă însă contactul cu concentrații mari de monoglucide este prelungit, enzimele contraglicării nu reușesc să mențină proteinele neglicate iar procesul rămâne definitiv.

Citocromul c (Cyt c) are un rol dublu în celulele  $\beta$  pancreatice: la nivel fiziologic contribuie la lanțul respirator mitocondrial și la reciclarea speciilor reactive de oxigen, iar în condiții de stres mitocondrial este un declanșator central al căii intrinseci de apoptoză. Eliberarea citocromului c din spațiul intermembranar mitocondrial în citoplasmă activează caspaza-9 și cascada caspazelor, ceea ce conduce la moartea programată a celulelor  $\beta$  — mecanism demonstrat în modele experimentale de stres glucotoxic și citokinic (Pasdois și colab., 2011). În diabetul de tip 2, stresul oxidativ cronic și disfuncția mitocondrială determină pierderea integrității membranei mitocondriale și facilitarea translocației Bax/VDAC, cu eliberare ulterioară din nou a citocromului c și apoptoza celulelor  $\beta$ , contribuind astfel la scăderea masei celulare și declinul funcției secretorii. Studii recente raportează corelații între modificări ale componentelor complexe respiratorii și fenomene pro-apoptotice mediate de citocrom c în izolele pancreatice (Shao și colab., 2024). În diabetul de tip 1, mecanismele autoimune (citokine, NO, stres oxidativ) promovează semnalizarea intrinsecă a apoptozei în  $\beta$ -cell, iar eliberarea citocromului c este unul din pașii biochimici comuni care leagă stresul intra-celular de activarea caspazelor. Totuși, există și date care arată că în anumite modele experimentale (ex. STZ) calea mediată de citocrom c poate fi parțial redundantă, sugerând heterogenitate mecanistică între modelele de boală (Tomita, 2017). Astfel, citocromul c este un nod mitocondrial cheie care leagă disfuncția oxidativă de pierderea celulelor  $\beta$  în ambele forme de diabet; în același timp, importanța sa relativă poate varia în funcție de mecanismul inițial (autoimun vs. metabolic) și modelul experimental utilizat după cum descrie Skuratovskaia și colab. (2020).

Pe baza acestor date din literatură, am mers și noi mai departe în explorarea glicărilor mitocondriale. Am recurs la izolarea CytC în studiu, astfel, am incubat CytC cu aceleași concentrații și aceleași monoglucide cu care am incubat mitocondriile. Reacția a avut la loc la 37°C, timp de 5 zile. După acest interval, CytC a fost supus întâi analizei electroforetice SDS-PAGE (**Fig. 10**) și analizei UV-vis (**Fig. 11**).

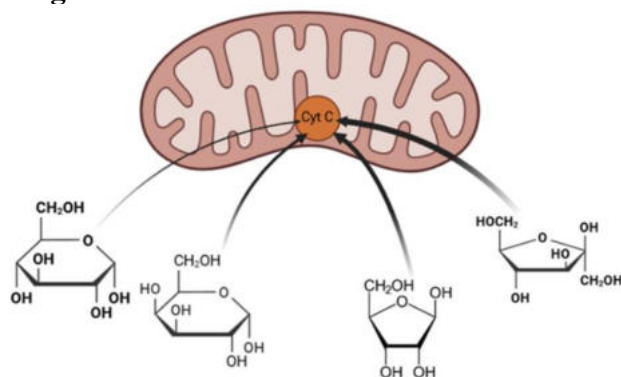


**Fig. 10** Analiza citocromului c supus testelor de glicare *in vitro* cu monozaharide. Ordinea probelor încărcate: citocrom c (1-2), citocrom c + glucoză (3), citocrom c + galactoză (4), citocrom c + riboză (5), citocrom c + fructoză (6).



**Fig. 11** Spectrele de absorbție UV-VIS ale citocromului c incubat cu monozaharide în concentrații specifice prediabetului (20 mM)

Datele noastre experimentale demonstrează că nu numai complexul proteic mitocondrial, dar și simplul CytC, se glichează, fapt evidențiat atât de creșterea semnalului pe sportul electroforetic (**Fig. 10**) cât și prin modificare semnalului UV-vis (**Fig. 11**) prin creșterea semnalului formei *met-* a CytC în funcție de glucidul la care a fost expus. Se remarcă op deosebită vulnerabilitate a CytC în fața fructozei și ribozei, ambele venind de pe căi metabolice active în prediabet (vezi calea polioliilor, **Fig. 3** + **Raportul de etapă III** respectiv **Fig. 9** din prezentul **Raport IV**). O reprezentare schematică a acestei interacțiuni biochimice demonstrate, este redată în **Fig. 12**.



**Fig. 12.** Reprezentarea schematică a interacțiunii dintre Cyt c și monozaharide. Figură realizată cu ajutorul platformei BioRender ([www.biorender.com](http://www.biorender.com)).

## REFERINȚE:

- Bennett, J. S. (2017).  $\alpha$  IIb  $\beta$  3 (GPIIb/IIIa) structure and function. *Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders: Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update*, 99-112.
- Garg, S. S., & Gupta, J. (2022). Polyol pathway and redox balance in diabetes. *Pharmacological Research*, 182, 106326.
- Hughes, R. C. (2012). *Glycoproteins*. Springer Science & Business Media.
- Loghmani, H., & Conway, E. M. (2018). Exploring traditional and nontraditional roles for thrombomodulin. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 132(2), 148-158.
- McEver, R. P. (2015). Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall. *Cardiovascular research*, 107(3), 331-339.
- Parvanova, A., Trillini, M., Podestà, M. A., Iliev, I. P., Aparicio, C., Perna, A., ... & Warnock, D. G. (2018). Blood pressure and metabolic effects of acetyl-L-carnitine in type 2 diabetes: DIABASI randomized controlled trial. *Journal of the Endocrine Society*, 2(5), 420-436.
- Pasdois, P., Parker, J. E., Griffiths, E. J., & Halestrap, A. P. (2011). The role of oxidized cytochrome c in regulating mitochondrial reactive oxygen species production and its perturbation in ischaemia. *Biochemical Journal*, 436(2), 493-505.
- Quach, M. E. (2022). GPIb-IX-V and platelet clearance. *Platelets*, 33(6), 817-822.
- Shao, L., Kong, X., Lv, S., Shu, X., Ma, X., Ai, X., ... & Ying, Y. (2024). FXR-regulated COX6A2 triggers mitochondrial apoptosis of pancreatic  $\beta$ -cell in type 2 diabetes. *Cell Death & Disease*, 15(12), 920.
- Singh, V., Kaur, R., Kumari, P., Pasricha, C., & Singh, R. (2023). ICAM-1 and VCAM-1: Gatekeepers in various inflammatory and cardiovascular disorders. *Clinica Chimica Acta*, 548, 117487.
- Skuratovskaia, D., Komar, A., Vulf, M., & Litvinova, L. (2020). Mitochondrial destiny in type 2 diabetes: the effects of oxidative stress on the dynamics and biogenesis of mitochondria. *PeerJ*, 8, e9741.
- Tomita, T. (2017). Apoptosis of pancreatic  $\beta$ -cells in Type 1 diabetes. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 17(3), 183.
- Traina, G. (2016). The neurobiology of acetyl-L-carnitine. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 21(7), 1314-1329.
- Zhao, S., Liu, M. L., Huang, B., Zhao, F. R., Li, Y., Cui, X. T., & Lin, R. (2021). Acetylcarnitine is associated with cardiovascular disease risk in type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 806819

## IV. PROCEDURĂ IMPLEMENTATĂ PENTRU IZOLAREA ADNMT ȘI SECVENȚAREA ACESTUIA

### 1. Pregătirea probei și izolarea fracției mitocondriale

Pornind de la Mt izolate, se păstrează materialul pe gheață pentru a preveni degradarea. Obiectele de lucru (tuburi, rotor centrifugă, homogenizator) se răcesc preventiv. Se utilizează un tampon izotonic de liză celulară manitol-BSA, inedit dar în acord cu literatura, pentru a fragiliza resturile membranele plasmatică fără a distruge mitocondriile. Pelletul mitocondrial — acesta reprezintă fracția îmbogățită în mitocondrii.

### 2. Liză mitocondrială și extracția mtDNA

După obținerea pelletului mitocondrial, se efectuează liza prin adăugarea unui tampon de liză ce conține SDS și proteinază K, pentru a distruge membranele mitocondriale și proteinele asociate. Aceasta va elibera ADNmt. Metode clasice descriu folosirea DNase-ilor pentru a digestia eventualului ADN nuclear rezidual, când extracția mitocondriilor nu este perfectă dar noi vom

utiliza un kit performant de la Quiagen care realizează extracția ADNmt prin purificare cu perle magnetice.

### 3. Purificare finală și verificare a calității

După extracție, se precipită ADN-ul (cu izopropanol), se spală pelletul și se resuspendă în tampon adecvat Tris-etanolamină, apoi se eluează ADNmt conform protocolului. Se verifică puritatea și integritatea mtDNA: prin PCR cu primeri specifici pentru gene mitocondriale și electroforeză pe gel de agaroză. Pentru secvențiere, se recurge la amplificare selectivă prin long-range PCR în acord cu protocolul de lucru al Laboratorului partener, *Universitatea din Cambridge, Marea Britanie*.

## V. ACCESUL ÎN BAZA DE DATE MITOMAP ȘI ÎNCĂRCAREA REZULTATELOR

Accesarea și încărcarea datelor în baza de date MITOMAP reprezintă un proces care combină elemente de bioinformatică, management al datelor genetice și interpretare funcțională a variantelor din genomul mitocondrial. MITOMAP este o resursă dedicată adunării, organizării și validării variantelor ADN mitocondrial uman, oferind informații despre localizarea mutațiilor, frecvența lor populațională, asocierile clinice și posibilele implicații funcționale. La intrarea în platformă, se remarcă mai multe secțiuni principale: tabele de mutații punctiforme, mutații în secvențele de ARN și proteine, informații despre deleții și inserții, date haplogenetice, precum și pagini dedicate bolilor mitocondriale documentate. Pentru a accesa în mod eficient aceste resurse, este esențială cunoașterea structurii genomului mitocondrial (izolat și secvențiat anterior) și a sistemului de numere de poziționare utilizat în MITOMAP, care se bazează pe secvența de referință rCRS (*revised Cambridge Reference Sequence*). Înainte de a încărca sau compara propriile date cu baza MITOMAP, trebuie să pregătim fișierele corespunzătoare.

Datele pentru *variant calling* trebuie să fie extrase din secvențierea ADN-ului mitocondrial, fie prin NGS (Next Generation Sequencing) fie prin metode tradiționale precum Sanger. Noi vom aplica Sanger. Formatul cel mai utilizat pentru încărcarea informațiilor în instrumentele de analiză asociate MITOMAP este fișierul VCF (*Variant Call Format*), care conține pozițiile mutațiilor, tipul substituțiilor și eventualele adnotări preliminare. Însă MITOMAP nu este o bază de date în care se încarcă direct fișiere în scopul publicării, ci mai degrabă una în care datele pot fi încărcate într-un instrument adiacent, numit *Mitomaster*, care oferă o analiză comparativă și ulterior generează un raport compatibil cu structurile MITOMAP. Procedura de încărcare presupune, așadar, mai întâi accesarea platformei Mitomaster, disponibilă din meniul principal. Aceasta permite introducerea datelor fie prin upload direct al fișierului VCF, fie prin copierea secvenței brute în fereastra de text, dacă se utilizează o secvență completă în format FASTA. În cazul încărcării unui fișier VCF, trebuie să ne asigurăm că pozițiile variantelor sunt raportate la rCRS, deoarece orice neconcordanță va rezulta în erori de aliniere sau în generarea unui raport incorect. După selectarea fișierului, sistemul oferă posibilitatea stabilirii unor parametri suplimentari, cum ar fi tipul eșantionului, prezența heteroplaziei sau setarea nivelului minim de acoperire.

*Mitomaster* procesează datele imediat, iar procedura de analiză implică alinierea secvenței introduse la rCRS, identificarea variantelor, determinarea haplogrupului și compararea fiecărei variante cu informațiile existente în MITOMAP. Raportul generat cuprinde detalii despre poziția mutației, natura substituției, efectul asupra codonului sau ARN-ului, frecvențele populaționale cunoscute, articolele asociate și eventualele implicații clinice documentate. *Astfel, din perspectiva încărcării datelor, MITOMAP funcționează ca un sistem de verificare și contextualizare a datelor, nu ca un depozit în care fiecare poate contribui direct. În schimb, datele provenite din publicații științifice ajung în MITOMAP care integrează articole publicate, rezultate validate și date reproduse experimental. După obținerea raportului*

Accesul la tabelele de mutații permite verificarea unor aspecte esențiale cum ar fi numărul studiilor în care apare varianta, tipul populațiilor în care a fost raportată, gradul de conservare

evolutivă, eventualele date despre patogenitate și corelația cu fenotipuri clinice precum neuropatii, miopatii, encefalopatii sau sindroame multisistemice.

MITOMAP distinge variantele genice „potențial patogene”, „patogene confirmate” și „benigne”, pe baza unor criterii ce includ replicarea independentă, date biochimice și modele animale precum cele utilizate de noi. În situațiile în care utilizatorul dorește să compare datele cu haplogrupuri, MITOMAP oferă acces la pagina Phylotree, care conține arbori haplogenetici actualizați ai ADN-ului mitocondrial. Această resursă permite evaluarea coerenței între haplogrupul atribuit automat de Mitomaster și așteptările filogenetice. Dacă există discrepanțe, se pot examina manual mutațiile definitorii ale haplogrupului, verificând dacă secvența testată corespunde structurii filogenetice cunoscute. În practică, acest proces este important deoarece unele variante genice pot fi interpretate diferit în funcție de contextul haplogrupului.

Procedura completă de lucru devine astfel ciclică: accesare MITOMAP, încărcare date în Mitomaster, generare raport, re-analiză în MITOMAP și integrarea concluziilor în interpretarea finală. Atunci când datele sunt destinate unei publicații, se recomandă compararea lor cu ultimele versiuni MITOMAP, deoarece actualizările sunt frecvente și pot schimba statutul unei variante genice sau se pot adăuga informații esențiale despre patogenitate.

În final, procedura de accesare și încărcare a datelor în MITOMAP (Fig. 13) este un proces integrat, care îmbină competențe digitale și capacitatea de interpretare a variantelor genice. Platforma nu doar facilitează analiza comparativă, ci oferă un cadru de validare științifică necesar pentru orice studiu asupra ADN-ului mitocondrial uman.

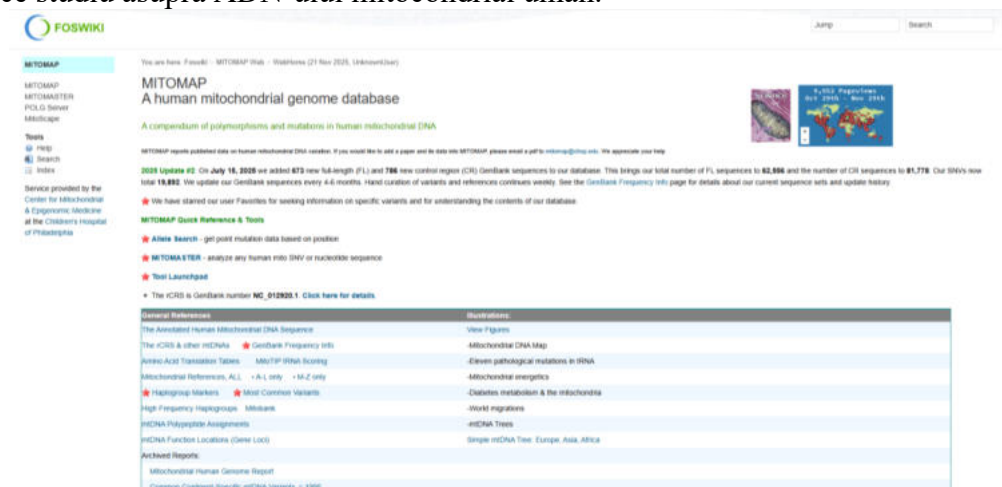


Fig. 13 Interfața platformei MITOMAP, cu regim gratuit pentru contributory.

## VI. PROCEDURĂ ȘI COMPONENTE ETICE PRIVIND TRIALUL CLINIC AFERENT PROIECTULUI

Pe baza tuturor datelor expuse, avem fluxul metodologic și științific optimizat, astfel, am recurs la implementarea ultimei etape din proiect, studiul clinic folosind celule și plasma de la pacient cu diabet tip 2, în acord de colaborare și sub acord etic și de confidențialitate cu Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj, Clinica de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice. Mai jos sunt redat actele aferente studiului clinic.

**FORMULAR DE CONSIMȚĂMÂNT INFORMAT ȘI DECIZIA DE A PARTICIPA ÎN STUDIU CLINIC**

**Titlul studiului:** *Profilul genomic mitocondrial al limfocitelor B CD19+ la pacientul cu diabet de tip 2 cu risc angiopatic și metabolismul celular al sorbitolului – inovare computațională, validare multisursă și găvire de noi ținte în prediagnostic*  
**Cod/studii:** CONDRIOM/ AOSR-TEAMS-III EDIȚIA 2024-2025  
**Cercetător principal:** Șef lucr. Dr. Vlad-Alexandru TOMA; **Coordonator studiu clinic:** Dr. Prof. Dr. Cornelia Bala  
**Instituția:** Institutul de Cercetări Biologice respectiv Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca, **Clinica de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice**  
**Data:** \_\_\_\_\_

Eu, subsemnatul(a), \_\_\_\_\_ (CNP / data nașterii: \_\_\_\_\_), domiciliat(ă) în \_\_\_\_\_,

declar pe propria răspundere:

**1. Informare generală**

Am fost informat(ă) în mod clar și detaliat despre natura, scopul și durata studiului clinic, precum și despre procedurile care vor fi efectuate. Mi s-au explicat în termeni pe înțelesul meu toate aspectele relevante pentru participare.

**2. Proceduri, beneficii și riscuri**

- Am înțeles procedurile implicate în studiu, vizitele, testele, investigațiile, tratamentele sau intervențiile, după caz.

- Mi s-au prezentat posibilele beneficii, precum și riscurile și disconforturile posibile.

- Am știut ce alternativă(s) exista înainte de a accepta să particip.

**3. Voluntaritate și drept de a refuza sau retrage consimțământul**

- Participarea mea în acest studiu este voluntară.

- Am dreptul să refuz participarea sau să mă retrag în orice moment, fără a oferi vreun motiv.

- Decizia de a nu participa sau de a mă retrage nu va afecta în niciun fel dreptul meu la îngrijire medicală, tratamente sau alte servicii pe care le primesc în mod normal.

**4. Confidențialitatea datelor**

- Toate informațiile mele personale și datele colectate în cadrul studiului vor fi păstrate confidențial, în conformitate cu legislația în vigoare privind protecția datelor.

- Orice publicare sau prezentare a rezultatelor studiului se va face fără informații care să mă identifice direct.

**5. Drepturi ale participanților**

- Am dreptul să pun întrebări și să primesc răspunsuri clare înainte de semnarea acestui formular.

- Am dreptul la timp suficient pentru a reflecta asupra participării.

- Voi fi informat(ă) despre orice modificări importante ale protocolului care ar putea afecta decizia mea.

**Declarația Participantului**

Prin prezenta, declar:

- că am citit și am înțeles informațiile de mai sus;

- că toate întrebările mele au fost lămurite și am primit explicații satisfăcătoare;

- că particip voluntar în acest studiu;

- că înțeleg dreptul meu de a mă retrage în orice moment, fără niciun fel de penalizare;

- că toate datele mele vor fi tratate confidențial.

**Data:** \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

**Numele și prenumele participantului:** \_\_\_\_\_

**Semnătura participantului:** \_\_\_\_\_

**Declarația Cercetătorului**

Eu, subsemnat(ă) Dr. Vlad-Alexandru TOMA, cercetător responsabil în acest studiu, declar:

- că i-am explicat participantului toate aspectele relevante astfel încât să ia o decizie liberă și informată;

- că i-am oferit toate informațiile cerute și am răspuns la toate întrebările;

- că participantul a semnat acest formular în prezența mea, prin propria sa voință.

**Data:** \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

**Numele și prenumele cercetătorului:** Dr. Vlad-Alexandru Toma

**Semnătura cercetătorului:** \_\_\_\_\_

**Fig. 14.** Formular privind consimțământul pacientului pentru prelevarea probelor.

## PROTOCOL DE STUDIU PT MATERIALELE PRELEVATE

Probele care se vor utiliza în vederea derulării studiului clinic implică sânge recoltat pe anticoagulant destinat hemogramei care însă va putea fi utilizat de noi pentru izolarea celulelor mononucleare periferice, denumite în continuare PBMC. Procedura nu implică în mod obligatoriu recoltare specială pentru studiu, decât la recomandarea coordonatorului de studiu clinic, Prof. Dr. Cornelia Bala și responsabil studiului clinic Dr. Vlad-Alexandru Toma, din cadrul Spitalului Județean de Urgență Cluj-Napoca, Clinica de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice.

Sângele prelevat în tub cu dop mov sau verde (EDTA2K sau heparină) va fi preluat apoi, după efectuarea hemogramei de către Șef lucr. Dr. Vlad-Alexandru TOMA, Cercetătorul principal al studiului sau de către Dr. Mihai Lupu, cercetător științific și medic cardiolog în cadrul proiectului AOSR-TEAMS-2024-2025, proiect finanțat de către Academia Oamenilor de Știință din România, secția ȘTIINȚE MEDICALE. Probele astfel preluate vor fi prelucrate în Institutul de Cercetări Biologice Cluj-Napoca, Str. Republicii nr. 48, după cum sunt descrise etapele de lucru mai jos (punctele 1-7), protocol standard.

Izolarea PBMC-urilor din sânge integral:

Procedura Histopaque: Această procedură trebuie efectuată în hota de cultură celulară pentru a menține sterilitatea.

1. Într-un tub de centrifugare conic de 15 ml, adăugați 6,0 ml HISTOPAQUE®-1077 și aduceți la temperatura camerei.
2. Stratificați cu grijă 6,0 ml de sânge integral pe HISTOPAQUE®-1077. Centrifugați la 400 x g timp de exact 30 de minute la temperatura camerei. Centrifugarea la temperaturi mai scăzute, cum ar fi 4°C, poate duce la aglomerarea celulelor și la o recuperare slabă.
3. După centrifugare, aspirați cu grijă, cu o pipetă Pasteur, stratul superior până la o distanță de 0,5 cm de interfața opacă care conține celule mononucleare. Aruncați stratul superior.
4. Transferați cu grijă interfața opacă, cu o pipetă Pasteur, într-un tub de centrifugare conic curat.
5. Adăugați în acest tub (Pasul 4) 5 ml de soluție salină tamponată cu fosfat (PBS) sterilă și amestecați prin aspirare ușoară.
6. Centrifugați la 250 x g timp de 10 minute.
7. Aspirați supernatantul și aruncați-l.
8. Resuspendați peletul celular cu DMEM 10% cu P/S.

După izolarea PBMC, se va extrage ADN mitocondrial din care urmează a fi efectuate analize genomice. Plasma rămasă va fi supusă unor determinări privind markerii de leziune/inflamație vasculară, tot în cadrul Inst. de Cercetări Biologice din Cluj-Napoca.

Director de proiect,  
Șef lucr. dr. Vlad-Alexandru TOMA

Coordonator studiu clinic,  
Prof. dr. Cornelia Bala

Responsabil studiu clinic,  
Dr. Vlad-Al. Toma

**Fig. 15.** Protocolul de recoltare, transport și condiționare a probelor clinice.



Nr. 40903/10 NOV 2025

Anexa 2

ACORD  
PRIVIND DESFĂȘURAREA STUDIULUI CLINIC

Prin prezentul document<sup>1</sup> precizăm acordul nostru privind desfășurarea, conform protocolului deșus, în cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca, Secția Diabet zaharat, nutriție și boli metabolice a studiului: Profilul genomic mitocondrial al limfocitului B CD19+ la pacientul cu diabet de tip 2 cu risc angiopatic și metabolismul celular al sorbitolului - inovare computațională, validare multisursă și găsire de noi ținte în prediagnostic în perioada: noiembrie 2025 - februarie 2026

Cercetător principal : S.L. dr. Vlad - Alexandru Toma

Investigator principal: Prof. Dr. Cornelia Bala

Date de contact

Cercetător principal (tel/ e-mail) : 0745362722, vlad.toma@icbcluj.ro

Investigator principal (tel/ e-mail) 0722605501, cbala@umfcluj.ro

Subinvestigator (tel/ e-mail: Conf. Dr. Adriana Rusu, Dr. Silvia Iancu

Sponsor: AOSR-TE-2024-2025

Partener contractual (dacă este cazul) Institutul de Cercetări Biologice Cluj-Napoca

Date de contact ale monitorului:

Nume și prenume: NU ESTE CAZUL

Telefon: NU ESTE CAZUL

E-mail: NU ESTE CAZUL

Adresă: NU ESTE CAZUL

Prezentul acord nu creează obligații între părțile implicate în desfășurarea studiului clinic (instituție, investigator, sponsor, monitor), acestea urmând a fi stipulate în contractul ferm încheiat ulterior.

Prelucrarea datelor cu caracter personal ale pacienților se va efectua în conformitate cu cerințele Regulamentului (UE) 679/2016 al Parlamentului și al Consiliului din 27.04.2016 privind protecția persoanelor fizice în ceea ce privește prelucrarea datelor cu caracter personal și privind libera circulație a acestor date, potrivit Articolului 9 - Prelucrarea de categorii speciale de date cu caracter personal - alineatele 2 și 3, păstrând confidențialitatea datelor și respectând drepturile persoanei vizate așa cum se află stipulate în cuprinsul regulamentului.

Manager,  
Prof. Dr. Claudia Gherman



Director medical,  
Șef lucr. Dr. Caius Breazu

Director financiar-contabil,  
Ec. Delia Dragomir

Vizat Juridic,  
Jr. Laura Nicoară



<sup>1</sup> Acordul privind desfășurarea studiului clinic se va completa în două exemplare.



Adresă: Strada Clinicilor, nr. 3-5, 400006, Cluj-Napoca  
Email: secretariat@scjucluj.ro; Tel: 0264-597.852, Fax: 0264-596.085  
Responsabil protecția datelor: dpo@scjucluj.ro  
Conform Legii nr. 169/2019, acest document este valabil fără ștampilă



Fig. 16 Acordul etic și de colaborare, semnat de SCJU Cluj.

## VII. DISEMINAREA REZULTATELOR (perioada septembrie - noiembrie 2025)

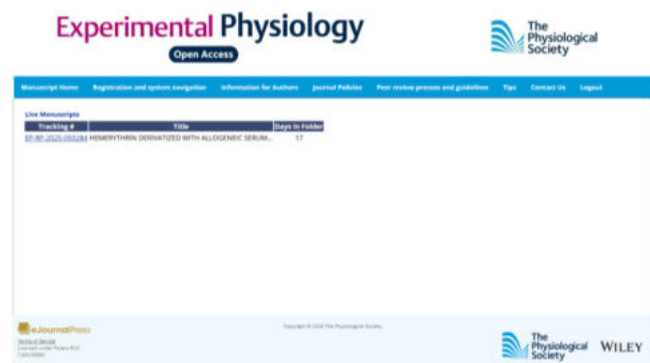
### Conferințe internaționale, coordonare lucrare:

1. Non-enzymatic sugar association leads to structural and functional modification in haemoproteins (Darius Daniel RUS, Claudia-Andreea MOLDOVEANU, Vlad COJOCARU, Alina FILIP, Stefania IANCU, Nino MARQUÉ, Vlad-Alexandru TOMA) - Congresul Societății Române de Biologie Celulară, 20-21.11.2025
2. Peroxidase activity of hemoglobin subjected to glycativ stress by measuring peroxidase activity and molecular changes in hemoproteins in a high-sugar concentration microenvironment (Nino MARQUÉ, Darius Daniel RUS, Claudia-Andreea MOLDOVEANU, Vlad-Alexandru TOMA) - Congresul Societății Române de Biologie Celulară, București, 20-21.11.2025
3. Matrix metalloproteinases as early biomarkers in Parkinson's disease (Claudia-Andreea MOLDOVEANU, Darius Daniel RUS, Vlad COJOCARU, Vlad-Alexandru TOMA) - Congresul Societății Române de Biologie Celulară, București, 20-21,11.2025
4. Structural insights into small protein glycation (Darius Daniel Rus, Claudia-Andreea Moldoveanu, Vlad Cojocar, Alina Filip, Stefania Iancu, Nino Marqué, Vlad-Alexandru Toma) – International Conference in Molecular Biology (ICMB) – Cluj-Napoca, 4-8.11.2025.
5. MMP-9: a promising early biomarker in Parkinson's disease (Claudia-Andreea Moldoveanu, Ioana Roman, Vlad-Alexandru Toma) – a 32-a Întâlnire a Federației de Laboratoare Clinice Balcanice, și cea de-a 16-a Conferință Națională a Asociației de Medicină de Laborator din România, Sinaia, 08 – 11 Octombrie 2025 – **lucrare premiată pe componenta CERCETARE** alături de alată lucrare pe componenta CLINICĂ (2 premii s-au acordat tuturor lucrărilor prezentate).

### Conferințe naționale:

1. Amplificatori mitocondriali ca agenți trofici la nivel vascular în diabetul de tip 1? Evidențe experimentale (Vlad-Alexandru TOMA, Claudia-Andreea MOLDOVEANU, Alina HAȘAȘ, Ioana ROMAN, Raffaele DAUBNER, Darius-Daniel RUS, Denisa HATHAZI, Mihai LUPU, Gabriel MARC, Norbert FARKAS, Georgeta INCEU) – Congresul Federației Române de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice, Cluj-Napoca, 5-8.11.2025.

### Articol under review:



Manuscript # EP-RP-2025-093284  
Current Revision # 0  
Submission Date 12-Nov-2025 08:23 p.m.  
Current Stage Under Review  
Journal: Experimental Physiology (Q2)  
Section: Vascular, Endocrinology and Metabolism

### Articol publicat:

Moldoveanu, C. A., Tomoaia-Cotisel, M., Sevastre-Berghian, A., Tomoaia, G., Mocanu, A., Pal-Racz, C., ... & Pop, L. C. (2024). A Review on Current Aspects of Curcumin-Based Effects in Relation to Neurodegenerative, Neuroinflammatory and Cerebrovascular Diseases. *Molecules*, 30(1), 43. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39795101/>

## Acord internship Erasmus + pe proiect:

Student master anul 1: Nino MARQUÉ, Rien, Franța, perioada septembrie 2025 – ianuarie 2026, acordul mai jos:

The image shows two pages of an Erasmus+ Learning Agreement for Student Mobility for Traineeships. The left page is the 'Annexe I' (Annex I) titled 'ERASMUS+ LEARNING AGREEMENT - STUDENT MOBILITY FOR TRAINEESHIPS' and 'CONTRAT PÉDAGOGIQUE - MOBILITÉ ETUDIANTE DE STAGE'. It contains a table with columns for 'Host Institution', 'Student', 'Supervisor', 'Academic Institution', 'Country', and 'Type'. The right page is titled 'BEFORE THE MOBILITY - AVANT LA MOBILITE' and contains a 'Table 1 - Traineeship Programme of the Mobility Organisation' with fields for 'Traineeship Programme', 'Traineeship Supervisor', 'Traineeship Location', 'Traineeship Start Date', 'Traineeship End Date', and 'Traineeship Description'.

Avizat,  
**DIRECTOR DE PROIECT:**  
**Dr. Vlad-Alexandru TOMA**

*[Handwritten signature in blue ink]*

**ECHIPĂ DE CERCETARE:**

**Dr. Gabriel MARC**

**Dr. Mihai LUPU**

**Dr. Denisa HATHAZI**

**Cluj-Napoca,**  
**28.11.2025**