



**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⁺ 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 III

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

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

27.06.2025

I. 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 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**).

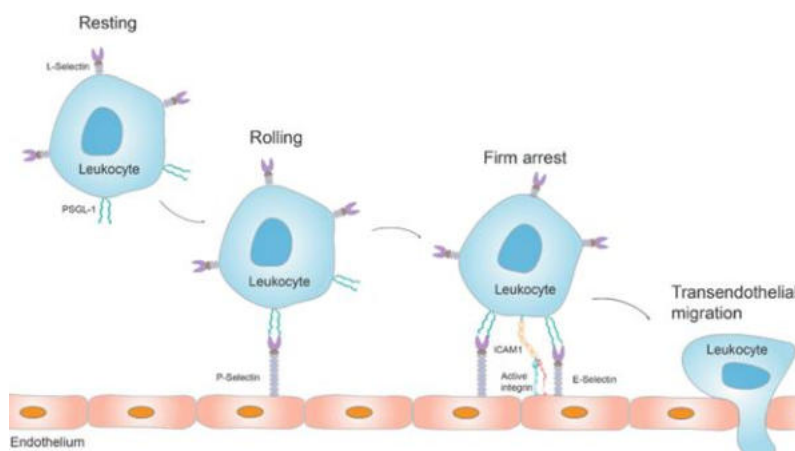


Fig. 1. Cascada de adeziune leucocitară: implicarea selectinelor și integrinelor în extravazare (preluat din Tong & Zou, 2019).

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 α I**IIb** β 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, α I**IIb** β 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 α I**IIb** β 3 are loc în reticulul endoplasmic, din monomerii α I**IIb** și β 3. Mutațiile care afectează sinteza oricăreia dintre aceste subunități duc la o expresie redusă a α I**IIb** β 3, cauzând astfel trombostenia Glanzmann, o tulburare de sângerare autozomală. Pe de altă parte, agregarea plachetară mediată de α I**IIb** β 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).

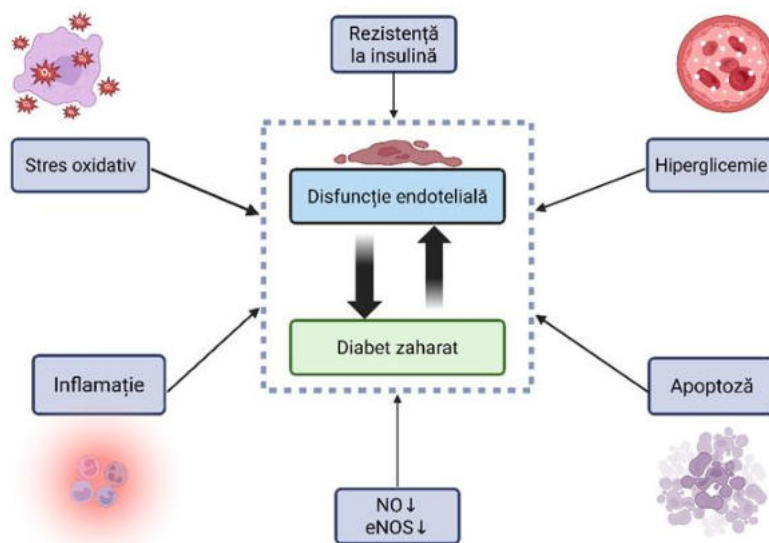


Fig. 2. Factorii care leagă diabetul zaharat de disfuncția endotelială.

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 glutatation 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 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).

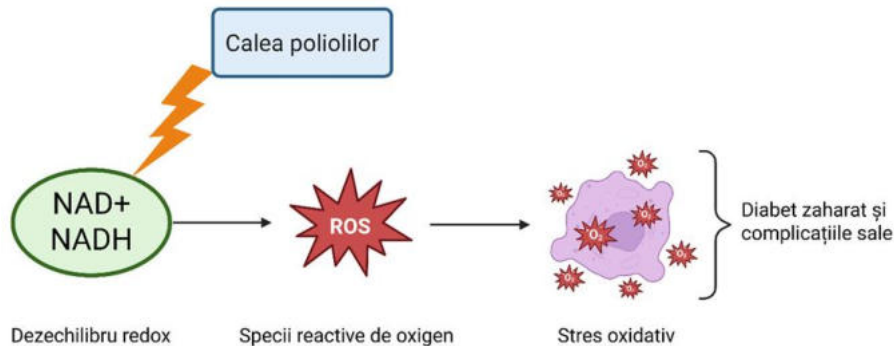


Fig. 3. Mecanismul de inducere a stresului oxidativ în diabet, mediat de calea polioliilor.

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 β -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**).

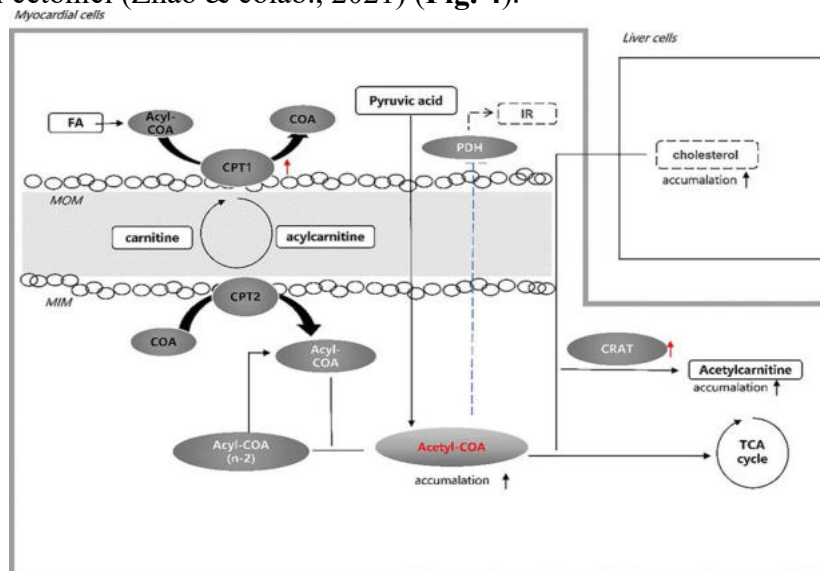


Fig. 4. Metabolismul acetilcarnitinei. CPT1, CPT2- carnitin palmitoil transferaza 1, 2; CRAT- carnitin acetiltransferaza; FA- acizi grași; IR- rezistență la insulină; MIM- membrana mitocondrială internă; MOM- membrana mitocondrială externă; PDH- piruvat dehidrogenază; TCA- acizi tricarboxilici (preluat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

II. ACTIVITATEA EXPERIMENTALĂ ETAPA 3

1. 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.

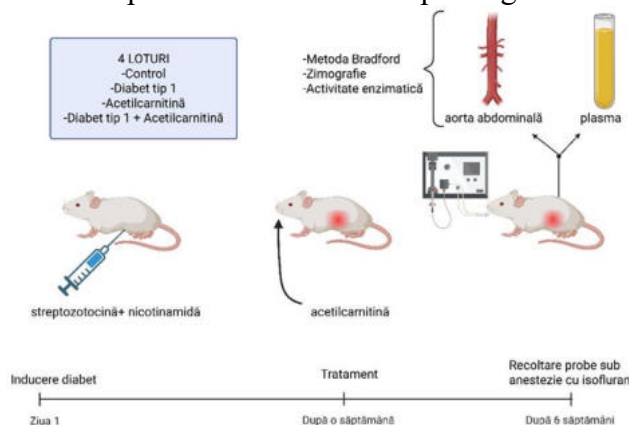
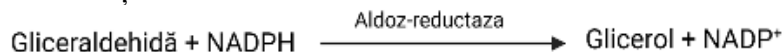


Fig. 5. Designul experimental al studiului in vivo.

1.2. Dozarea aldoz-reductazei din aortă și efectele aceticarnitinei

După cum a fost prezentat în secțiunea dedicată căii poliolilor, enzimele implicate în această cale sunt aldoz-reductaza (AR) și sorbitol-dehidrogenaza (SD). Experimental, a fost evaluată activitatea enzimatică a celor două enzime, în probele de plasmă și aortă recoltate din cele 4 loturi de șobolani. Aldoz-reductaza este prima și, de multe ori, enzima limitatoare de viteză în calea poliolilor. Catalizează reducerea aldozelor, precum glucoza și galactoza, în polioli, cum ar fi sorbitolul, folosind NADPH ca și cofactor.



Analiza începe prin prepararea soluțiilor stoc ce vor alcătui amestecul de reacție: tampon fosfat 200 mM, 100 mL; 2-mercaptoetanol 200 mM, 20 mL; sulfat de litiu 1 M, 50 mL; gliceraldehidă 50 mM, 10 mL și NADPH 1 mM, 10 mL. Tamponul fosfat este alcătuit din fosfat monosodic și fosfat disodic, aceștia alcătuiind sistemul tampon, cu rol în menținerea constantă a pH-ului la o valoare optimă de 6. Mercaptoetanolul este un agent reducător cu rol în menținerea grupărilor tiol, ale enzimelor în stare redusă, prevenind astfel formarea punților disulfidice și asigurând stabilitatea și activitatea optimă a enzimelor. Sulfatul de litiu este inclus pentru a asigura o anumită forță ionică în soluție și poate servi la stabilizarea enzimelor. Gliceraldehida este substratul specific pentru AR, NADPH fiind cofactorul esențial și donatorul de electroni. Următoarea etapă este reprezentată de pregătirea amestecului de reacție, prin utilizarea soluțiilor de lucru, după cum urmează: tampon fosfat 50 mM, 2-mercaptoetanol 5 mM, sulfat de litiu 0,4 M, gliceraldehidă 10 mM și NADPH 0,1 mM. Soluția finală are un volum total de 0,9 mL. Reacția este inițiată de introducerea NADPH în mix, urmată imediat de introducerea a 0,1 mL probă de analizat, aceasta reprezentând sursa de enzimă. Proba a fost introdusă imediat în spectrofotometru, cu ajutorul căruia s-au analizat fluctuațiile absorbției timp de 5 minute, la o lungime de undă $\lambda=340$ nm, aceasta fiind lungimea de undă la care NADPH absoarbe lumina cel mai bine.

După trecerea celor 5 minute, în funcție de variațiile absorbției, se calculează activitatea AR ($\mu\text{Moli}/\text{min}/\text{litru}$) pe baza formulei $[\text{NADPH}]_{\text{oxidat}}/\text{min}$ la 37°C . S-au efectuat aceiași pași pentru fiecare lot de **aortă (Fig. 6)** și **plasmă (Fig. 7)** în duplicat, pentru o mai bună acuratețe a rezultatelor. După spectrofotometrare, s-a calculat activitatea enzimatică pentru ambele enzime, conform formulelor respective, iar valorile (în UI/dL) au fost introduse în GraphPad 8, unde au fost supuse unui test One-Way ANOVA, alături de un post-test Bonferroni, cu ajutorul căruia am putut identifica dacă există diferențe semnificative între cele 4 loturi, cu ajutorul valorii P.

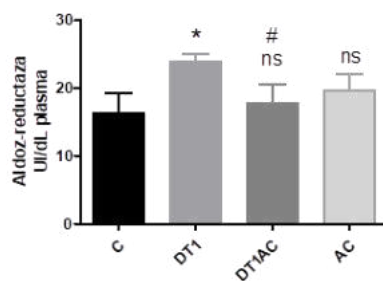


Fig. 6. Nivelurile de aldoz-reductază din plasmă. C- Control; DT1- Diabet tip 1; DT1 + AC-Diabet tip 1 + Acetilcarnitină; AC- Acetilcarnitină.

Grupul cu diabet prezintă o creștere semnificativă statistic față de lotul de Control, prezentând o valoare $p < 0,05$ (*). Această creștere indică o activare a căii poliolor în condiții diabetice. Când această cale este supra-activată, se acumulează sorbitolul și fructoza în celule (care nu pot difuza ușor), ceea ce duce la stres osmotic și disfuncție celulară. Activitatea crescută a AR și supra-activarea căii poliolor sunt recunoscute ca factori majori în patogeniza complicațiilor diabetice microvasculare, cum ar fi neuropatia diabetică, nefropatia diabetică, retinopatia diabetică. De asemenea, contribuie la stresul oxidativ prin epuizarea NADPH, esențial pentru regenerarea glutationului, care este un antioxidant cheie. Această ipoteză este susținută de multiple surse din literatură (Dunlop, 2000). Lotul DT1AC nu prezintă diferențe semnificative față de C, așadar prezintă o valoare $p > 0,05$ (ns), însă prezintă o scădere semnificativă statistic față de lotul DT1, deci o valoare $p < 0,05$ (#), indicând că tratamentul cu acetilcarnitină reușește să normalizeze activitatea aldoz-reductazei la niveluri similare cu cele ale subiecților sănătoși. Acetilcarnitina reduce stresul oxidativ și inflamația cronică, ambele fiind legate de activarea căii poliolor și de supraexpresia aldoz-reductazei în diabet. Prin diminuarea radicalilor liberi și a proceselor inflamatorii, acetilcarnitina inhibă stimulii care duc la creșterea acestei enzime. Această acțiune de reducere a aldoz-reductazei reprezintă un mecanism cheie prin care acetilcarnitina, deja un tratament studiat în neuropatia diabetică, protejează structurile nervoase (Di Stefano & colab., 2019) și, implicit, sugerează potențialul său terapeutic în prevenirea sau tratarea complicațiilor diabetice mediate de calea poliolor. Grupul AC prezintă o creștere nesemnificativă față de C, având o valoare $p > 0,05$ (ns), indicând că acetilcarnitina, în absența diabetului, nu influențează semnificativ nivelul acestei enzime în plasmă. În probele de aortă, comparativ cu cele de plasmă, s-a observat o activitate foarte slabă pentru ambele enzime analizate (Fig. 7 și 8). Nivelurile de aldoz-reductază din aortă. C- Control; DT1- Diabet tip 1; DT1 + AC-Diabet tip 1 + Acetilcarnitină; AC- Acetilcarnitină (creat în GraphPad). Grupul DT1 arată o creștere extrem de semnificativă față de C, demonstrată cu o valoare $p < 0,001$, (***)). Acest lucru sugerează că Diabetul de Tip 1 crește semnificativ activitatea aldoz-reductazei în aortă, aspect recunoscut în contextul diabetului, contribuind la disfuncția și deteriorarea vaselor mari, cum ar fi aorta, prin acumularea de sorbitol și stres oxidativ.

Este un factor cheie în patogeniza complicațiilor macrovasculare. Lotul DT1AC prezintă o creștere mică, dar nesemnificativă față de lotul C, acest lucru fiind indicat de valoarea $p > 0,05$ (ns).

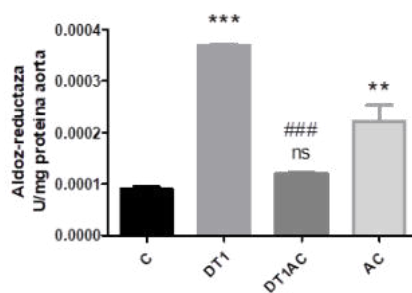
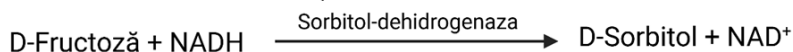


Fig. 7. Nivelurile de aldoz-reductază din aortă. C- Control; DT1- Diabet tip 1; DT1 + AC- Diabet tip 1 + Acetilcarnitină; AC- Acetilcarnitină.

AR prezintă o scădere extrem de semnificativă față de DT1, cu o valoare $p < 0,001$ (###). Acest lucru demonstrează că acetilcarnitina este eficientă în a contracara creșterea activității aldohidrolazei indusă de diabet specific în țesutul aortic. Această descoperire este deosebit de relevantă pentru protecția cardiovasculară în diabet, sugerând un potențial benefic al acetilcarnitinei în prevenirea sau atenuarea aterosclerozei și a rigidității arteriale asociate diabetului. Lotul AC arată o creștere foarte semnificativă față de C, adică o valoare $p < 0,01$ (**). Deși acetilcarnitina este clar benefică în condiții de diabet, efectul său în absența bolii necesită o investigație aprofundată pentru a înțelege mecanismele de bază și a exclude orice potențial efect negativ neintenționat, chiar dacă intensitatea efectului este mult mai mică decât cea indusă de diabet.

1.3. Dozarea sorbitol-dehidrogenazei din aorta și efectele acetilcarnitinei

Sorbitol-dehidrogenaza este a doua enzimă din calea poliolor. Catalizează oxidarea sorbitolului la fructoză, folosind NADH ca și cofactor.



Pentru a asigura precizia și reproductibilitatea analizelor, se prepară în prealabil soluțiile stoc de fructoză 2,22M, 10 mL; NADH sodic 3mM, 10mL și trietanolamină 50mM, 50mL. Din soluțiile stoc, s-au preparat două soluții de lucru, gata de utilizare în testul enzimatic. Soluția 1 este alcătuită din 19 părți soluție stoc de trietanolamină și 1 parte soluție stoc de NADH. Această soluție pregătește mediul inițial de reacție, furnizând cofactorul esențial, NADH, și menținând pH-ul la o valoare optimă de 7,5 cu ajutorul trietanolaminei, care are rol de tampon fosfat. Soluția 2 este direct soluția stoc de fructoză, care reprezintă substratul acestei reacții. Concentrațiile de lucru finale sunt: fructoză 278 mM, NADH 95 μL și trietanolamină 50 mM. Următorul pas este reprezentat de pregătirea amestecului inițial, prin adăugarea în cuva spectrofotometrică a 0,5 mL soluție 1 și 0,2 mL ser, care reprezintă sursa de enzimă. Amestecul este apoi incubat timp de 5 minute. La sfârșitul perioadei de incubare, reacția se declanșează prin adăugarea a 0.1 mL de soluție 2, urmată de introducerea cuvei în spectrofotometru. S-au măsurat apoi valorile de absorbantă timp de 4 minute la o lungime de undă $\lambda=340$ nm sau 366 nm, acestea fiind lungimile de undă la care NADH absoarbe lumina. Activitatea enzimatică a SD ($\mu\text{Moli}/\text{min}/\text{litru}$) se calculează folosind modificarea absorbantei per minut ($\Delta E/\text{min}$) și un factor de conversie specific lungimii de undă: la 340nm, $UI = \Delta E/\text{min} \cdot 645 \mu\text{Moli}/\text{min}/\text{litru}$ la 25°C, iar la 366nm, $UI = \Delta E/\text{min} \times 1212 \mu\text{Moli}/\text{min}/\text{litru}$ la 25°C. S-au efectuat aceiași pași pentru fiecare lot de aortă și plasmă în duplicat, pentru o mai bună acuratețe a rezultatelor. Grupul cu Diabet tip 1 prezintă o creștere foarte semnificativă (**) față de Control, cu o valoare $p < 0,01$. O activitate crescută indică o supra-activare a căii poliolor, contribuind la stresul metabolic, stresul oxidativ și formarea produșilor finali de glicare avansată (PFGA), care deteriorează peretele aortic. Grupul cu diabet tratat nu prezintă diferențe semnificative față de Control, rezultând o valoare $p > 0,05$ (ns), dar se poate observa o diferență foarte semnificativă față de grupul cu diabet netratat, cu o valoare $p < 0,01$ (##). Aceasta arată că

aceticarnitina normalizează eficient activitatea SD în aortă, readucând-o la niveluri apropiate de cele fiziologice. Această normalizare a SD poate fi un efect direct al aceticarnitinei sau un efect indirect rezultat din reducerea substratului dacă aceticarnitina reduce și activitatea aldoz-reductazei. Normalizarea SD contribuie la reducerea fluxului prin calea polioliului și, implicit, la atenuarea efectelor sale dăunătoare asupra aortei. Grupul AC înregistrează o scădere extrem de semnificativă față de Control, întrucât prezintă o valoare $p < 0,001$ (***) , indicând faptul că aceticarnitina, în absența diabetului, pare să suprimă puternic activitatea SD în aortă, ducând-o sub nivelul bazal. Ipotezele privind această scădere sugerează fie o reglare metabolică fină a căii polioliilor, fie o influență asupra disponibilității cofactorilor enzimatici, fie un efect nepatologic al aceticarnitinei asupra homeostaziei celulare.

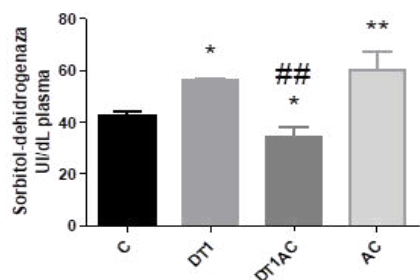


Fig. 8. Nivelurile de sorbitol-dehidrogenază din plasmă. C- Control; DT1- Diabet tip 1; DT1 + AC- Diabet tip 1 + Aceticarnitină; AC- Aceticarnitină.

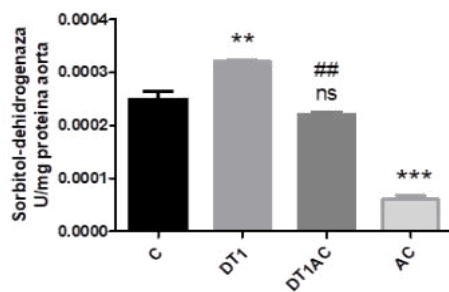


Fig. 9. Nivelurile de sorbitol-dehidrogenază din aortă. C- Control; DT1- Diabet tip 1; DT1 + AC- Diabet tip 1 + Aceticarnitină; AC- Aceticarnitină

Concluzia de etapă este că diabetul zaharat de tip 1 supra-activează calea polioliilor, iar aceticarnitina normalizează activitatea enzimelor cheie ale acestei căi, atenuând stresul metabolic. S-a constatat o creștere semnificativă a activității aldoz-reductazei și sorbitol-dehidrogenazei, atât în plasmă, cât și, în special, la nivelul aortei abdominale, la șobolanii diabetici. Tratamentul cu aceticarnitină a condus la o normalizare eficientă a activității AR și SD în ambele tipuri de probe, indicând o inhibare a fluxului prin calea polioliilor. Această acțiune contribuie la reducerea acumulării de metaboliți toxici și la ameliorarea stresului oxidativ, reprezentând un mecanism crucial prin care aceticarnitina protejează țesuturile vasculare.

Bibliografie:

- Hughes, R. C. (2012). Glycoproteins. Springer Science & Business Media.
 McEver, R. P. (2015). Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall. Cardiovascular research, 107(3), 331-339.
 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.
 Quach, M. E. (2022). GPIIb-IX-V and platelet clearance. Platelets, 33(6), 817-822.
 Bennett, J. S. (2017). α IIb β 3 (GPIIb/IIIa) structure and function. Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic

Disorders: Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update, 99-112.

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.

Garg, S. S., & Gupta, J. (2022). Polyol pathway and redox balance in diabetes. *Pharmacological Research*, 182, 106326.

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.

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.

Dunlop, M. (2000). Aldose reductase and the role of the polyol pathway in diabetic nephropathy. *Kidney international*, 58, S3-S12.

Di Stefano, G., Di Lionardo, A., Galosi, E., Truini, A., & Cruccu, G. (2019). Acetyl-L-carnitine in painful peripheral neuropathy: a systematic review. *Journal of pain research*, 1341-1351.

III. DISEMINAREA REZULTATELOR ETAPEI 3

a) articol publicat WoS cu menționarea grantului și afiliere (autor corespondent):

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.

b) comunicări la conferințe naționale (coordonare comunicări):

- prezentare orală la Congresul Societății Române de Fiziologie (mai 2025, Craiova), titlul comunicării: *New milestones in the glucose metabolism*

- prezentare de tip poster la Conferința Națională BioTA (mai 2025, Cluj-Napoca) coordonând următoarele comunicări: (i) Moldoveanu C.A., R. Moldovan, L. Bogos, C. Iuga, I. Roman, B. Sevastre, **V.A. Toma**, *Glycative Stress and Protein Functionality: New Aspects in Parkinson's Disease*, (ii) Rus D.D., C.A. Moldoveanu, V. Cojocaru, A. Filip, S. Iancu, **V.A. Toma**, *Haemoprotein glycation: the Achilles heel of carbohydrate metabolism in neurodegeneration?*.

c) comunicări la conferințe internaționale (coordonare comunicări):

- prezentare de tip poster: Rus D.D., C.A. Moldoveanu, **V.A. Toma**, *Proposed experimental design for unveiling glycation of small proteins in the nervous system*, Conferința BRAIN, Londra, martie 2025;

- prezentare de tip poster: Moldoveanu, C.-A., Negrea, G., Roman, I., Sevastre, B., Banciu, M., **Toma, V.A.**, *Bridging Blood and Brain: Early Biomarkers in Parkinson's Disease*, Conferința BRAIN, Londra, martie 2025;

ECHIPĂ DE CERCETARE:

Dr. Gabriel MARC

Dr. Mihai LUPU

Dr. Denisa HATHAZI