

**ACADEMIA ROMANA
INSTITUTUL DE BIOLOGIE SI PATOLOGIE CELULARA
„NICOLAE SIMIONESCU”**

**MODULAREA EXPRESIEI SI FUNCTIEI UNOR MARKERI
INFLAMATORII ASOCIATI PATOLOGIEI CARDIOVASCULARE**

REZUMAT

Conducator stiintific:

Acad. MAYA SIMIONESCU

Doctorand:

GAN ANA-MARIA

**BUCURESTI
2012**

CUPRINS

Cuvant inainte

Introducere

Partea I

STADIUL ACTUAL AL CUNOSTINTELOR PRIVIND PROCESUL INFLAMATOR ASOCIAT PATOLOGIEI CARDIOVASCULARE

I. Caracteristici ale procesului inflamator asociat patologiei cardiovasculare

I. 1. Mecanisme inflamatorii in aterogeneza

I. 2. Rolul efectorilor imunitatii inascute si a sistemului imun adaptativ in procesul inflamator asociat aterosclerozei

I. 3. Receptori/mediatori ai procesului inflamator

I.3. 1. Pentraxinele imunomodulator in aterogeneza

I.3. 2. Toll-like receptor (TLR) implicati in inflamatia vasculara

I.3. 3. Receptorii citoplasmatici NOD (nucleotide-binding domain-like); asocierea sistemului inflamazom in sinteza de citokine inflamatorii

II. Rolul citokinelor in modularea inflamatiei vasculare; mecanisme de semnalizare induse de citokinele pro-inflamatoare

II. 1. TNF- α modulator al inflamatiei in celulele peretelui vascular

II. 2. Interleukinele familiei IL-1 exacerbeaza inflamatia vasculara

II. 3. Interleukina-6 (IL-6) factor de risc in boala cardiovasculara

II. 4. Rolul semnalizarii trans in inflamatia cardiovasculara

II. 5. Rezistina – rol in inflamatia asociata bolilor cardiovasculare

II. 6. STAT - mediator al semnalizarii induse de cross-talkul dintre IFN- γ si TLR in boala cardiovasculara

II. 7. Reglatorii semnalizarii induse de citokine

III. Chemokinele - mediatori ai interactiei celule vasculare-leucocite; markeri in boala cardiovasculara

III. 1. Inflamatia vasculara modulata prin axa chemokina/receptor *MCP-1* (CCL2)/ *CCR2*

III. 2. Axa CX3CL1/CX3CR1 - implicatie in “cross-talk-ul” dintre celulele vasculare-leucocite

IV. Diabetul – factor de risc cardiovascular

IV. 1. Mecanisme pro-aterogene asociate hiperglicemiei

Partea II CONTRIBUTII ORIGINALE

▪ Obiective

I. Glucoza crescuta induce expresia fractalkinei si „monocyte chemotactic protein-1” (MCP-1) in celulele musculare netede

I.1. Expresia chemokinelor MCP-1 si fractalkina in celulele musculare netede (CMN) umane activate de glucoza crescuta si rolul functional al acestora

- a. Introducere si obiective
- b. Materiale si metode
- c. Rezultate
- d. Discutii si concluzii

I.2. Caile de semnalizare prin care glucoza crescuta induce expresia chemokinelor MCP-1 si fractalkina in celulele musculare netede

- a. Introducere si obiective
- b. Materiale si metode
- c. Rezultate
- d. Discutii si concluzii

II. Axa *CX3CL1/CX3CR1* este implicata in dialogul dintre celulele musculare netede si monocite; exacerbarea expresiei de molecule pro-inflamatoare

II.1. Interactia dintre celule musculare netede umane si monocite implicata in amplificarea raspunsului inflamator

- a. Introducere si obiective
- b. Materiale si metode
- c. Rezultate
- d. Discutii si concluzii

II.2. Cai de semnalizare implicate in interactia CMN-monocit dependenta de axa *CX3CL1/CX3CR1*

- a. Introducere si obiective
- b. Materiale si metode
- c. Rezultate
- d. Discutii si concluzii

III. Efectul inflamator al rezistinei in celulele musculare netede; modularea expresiei de fractalkina/*CX3CR1* prin implicarea TLR4 si calea de semnalizare dependenta de proteinele Gi

III.1. Rezistina moduleaza expresia *CX3CL1/CX3CR1* in celulele musculare netede dependent de factorii de transcripție NF- κ B, AP-1 si STAT

- a. Introducere si obiective
- b. Materiale si metode
- c. Rezultate
- d. Discutii si concluzii

III.2. Modularea expresiei unor supresori ai semnalizării citokinice (SOCS) induse de rezistina în celulele musculare netede

- a. Introducere și obiective
- b. Materiale și metode
- c. Rezultate
- d. Discuții și concluzii

IV. Investigarea mecanismelor moleculare implicate în reglarea expresiei fractalkinei asociată proceselor aterosclerotice

IV.1. Analiza *in silico* și clonarea promotorului genic al fractalkinei; factori de transcripție implicați în reglarea promotorului genic de fractalkina

- a. Introducere și obiective
- b. Materiale și metode
- c. Rezultate
- d. Discuții și concluzii

Concluzii generale

Rezumat teza

Bibliografie

Lista lucrărilor publicate

Lista lucrărilor prezentate la manifestări științifice

Granturi

Cuvinte cheie: boli cardiovasculare, ateroscleroza, inflamatie, markeri ai inflamatiei, citokine, chemokine, diabet, rezistina, fractalkina, MCP-1, celule musculare netede vasculare umane, monocite, comunicare inter-celulara, MAPK-kinaze, factori de transcriptie inflamatori, promotor.

Bolile cardiovasculare alaturi de aliatul principal, disfunctia metabolica, reprezinta principala problema socio-medicala din tarile dezvoltate. Numarul pacientilor cu boli cardiovasculare este in continua crestere, ceea ce impune imbunatatirea algoritmului de prognostic prezent prin identificarea unor factori de risc moleculari strans corelati cu statusul bolii si elucidarea mecanismelor celulare si moleculare asociate acestora, precum si identificarea unor noi strategii terapeutice. Factorii de risc traditionali implicati in dezvoltarea patologiilor cardiovasculare sunt diabetul, hiperlipidemia, obezitatea, hipertensiunea iar de curand, procesele inflamatorii au fost si ele asociate.

Procesul patologic fundamental si principala cauza a bolilor cardiovasculare este **ateroscleroza**. Ateroscleroza este boala multifactoriala a carei patogeneza nu este inca deplin inteleasa, insa inflamatia si procesele sale celulare complexe joacă un rol important in progresia leziunii. Ateroscleroza implica interactii complexe intre celulele inflamatorii (neutrofile, limfocite, monocite/macrofage) si celulele vasculare (celulele endoteliale, celulele musculare netede). Inflamatia este factor de risc independent pentru procesle aterosclerotice dar mecanismele implicate sunt inca necunoscute.

Mecanismele imuno-inflamatoare sunt direct implicate in initierea si progresia bolilor cardiovasculare (CV) de la stadiul incipient asimptomatic de *injurie vasculara*, la manifestarile clinice de *disfunctie si remodelare vasculara*. Deoarece injuria vasculara este in parte reversibila identificarea fenotipului inflamator este esentiala pentru suprimarea proceselor inflamatorii, precum si in dezvoltarea noilor strategii terapeutice. Procesul inflamator din leziunea aterosclerotica implica participarea unor *efectori moleculari* (receptori "pattern recognition", molecule inflamatorii bioactive) si a unor *efectori celulari* (monocite/macrofage, limfocite, celule prezentatoare de antigen si celule dendritice). Mai mult, mediatorii implicati in modularea proceselor inflamatoare pot fi **markeri ai proceselor inflamatorii vasculare**, dar si potentiale tinte terapeutice. Prin tehnologiile avansate de proteomica, metabolomica si genetica s-au: i) identificat biomarkeri prezumtivi sau factori de risc; ii) dezvoltat tinte terapeutice, iii) imbogatit eficienta terapiile dezvoltate anterior; astfel ca, unii biomarkeri sunt etalon experimental, strans corelati cu statusul bolii. Evidentierea mecanismelor moleculare de semnalizare specifice implicate in expresia si actiunea acestor markeri in celulele peretelui vascular nu au fost inca elucidate.

In incercarea de a aduce noi date care sa contribuie la descifrarea mecanismelor inflamatorii asociate aterosclerozei, lucrarea de fata isi propune sa identifice mecanismele moleculare implicate in modularea raspunsului inflamator din celulele peretelui vascular. Identificarea mecanismelor moleculare inflamatorii este necesara pentru “screeningul” timpuriu al pacientilor cu boala cardiovasculara, in monitorizarea terapiei anti-inflamatoare prin cuantificarea biomarkerilor inflamatori dar si in dezvoltarea unor terapii tintite.

In prima parte a tezei „ Stadiul actual al cunostintelor”, sunt prezentate pe parcursul a patru capitole diferite caracteristici ale procesului inflamator asociat patologiei cardiovasculare.

Capitolul I descrie mecanismele inflamatorii asociate aterogenezei precum si rolul efectorilor imunitatii inascute si a sistemului imun adaptativ in procesul inflamator. Mecanismele imunitatii inascute au rol central in initierea aterosclerozei prin activarea receptorilor “pattern-recognition” (PRR) care favorizeaza raspunsul inflamator. Ca raspuns al legarii si activarii PRR sunt eliberati *efectori ai imunitatii inascute* precum *peptide* (CRP, sistemul complement), *oxidul nitric* (NO), *eicosanoizii* (prostaglandine si leucotriene) si *molecule inflamatoare* (citokine, chemokine). De asemenea, studii multiple indica si rolul important al raspunsului *antigen-specific* in procesul aterosclerotic modulat prin efectori ai imunitatii adaptative. Astfel, sistemul imun adaptativ poate influenta procesele aterogene pe trei cai diferite: i) *interactii celula-celula* intre celula prezentatoare de antigen, macrofage, limf B sau CD si limf T; ii) *eliberare de citokine* prin limf T activate care mediaza activarea macrofagelor si a altor celule din placa; iii) *secretie anticorpi* prin limf B dependent /independent de limf T.

Capitolul al-II-lea prezinta rolul citokinelor in modularea inflamatiei vasculare si mecanismele de semnalizare induse de citokinele pro-inflamatoare. Nivelul crescut de citokine mentine statusul inflamator asociat disfunctiei vasculare in boli precum ateroscleroza, hipertensiune, aneurismul aortic abdominal si vene varicoase. Efectele biologice ale citokinelor pro-inflamatoare TNF- α , IL-1 si IL-6 se reflecta in mecanismele inflamatorii asociate aterosclerozei.

Capitolul al-III-lea descrie **chemokinele** ca mediatori in interactia celulelor vasculare-leucocite. Chemokinele sunt modulatori chemoattractanti pentru diferitele subpopulatii de leucocite dar si pentru celulele nonhematopoetice (CMN), ca raspuns la stimuli activatori. Chemokinele si receptorii specifici alcatuiesc un sistem chemokinic complex, care atrage subseturi leucocitare specifice in fiecare etapa a procesului aterogen. Recrutarea subseturilor leucocitare la situsul inflamator implica diverse chemokine, angajate in interactii heterofile favorizate de proteoglicani. Studii recente au aratat ca nivelul circulant al chemokinelor poate fi asociat diverselor boli inflamatorii precum iar **MCP-1** este factor de prognostic independent in sindromul coronar acut. Inflamatie vasculara poate fi modulata prin axa chemokina/receptor **MCP-1(CCL2)/CCR2** iar strategii precum terapia genica (*mutant de deletie a genei MCP-1*) sau tintirea farmacologica diminueaza raspunsul inflamator astfel, MCP-1 poate fi atat **marker de prognostic** cat si **tinta**

terapeutica. De asemenea *axa CX3CL1/CX3CR1* poate fi implicata in dialogul dintre celulele vasculare-leucocite, studii imunohistochimice au confirmat prezenta axei CX3CL1/CX3CR1 la nivelul placii aterosclerotice coronare (monocite/macrofage, CE, CMN). Celulele musculare netede (CMN) din neointima placii aterosclerotice exprima CX3CR1 ceea ce demonstreaza ca, CMN migreaza din media datorita CX3CR1, dependent de gradientul de CX3CL1 din intima. Axa CX3CL1/CX3CR1 mediaza ancorarea monocitelor/macrofage la CMN din placa ceea ce sustine capacitatea de tintire terapeutica a acestei cai pro-inflamatorii in boala cardiovasculara. In concluzie, *sistemul Fk/CX3CR1* poate fi considerat cea mai promitatoare tinta pro-inflamatoare pentru interventia terapeutica in procesul aterosclerotic iar mecanismele de semnalizare intracelulara trebuie pe deplin intelese pentru a dezvolta o noua clasa de agenti anti-inflamatori.

Capitolul al-IV-lea prezinta diabetul ca factor de risc cardiovascular major independent, asociat complicatiilor micro/macrovasculare prin accelerarea proceselor aterosclerotice. Atat diabetul cat si ateroscleroza sunt conditii multifactoriale care par sa aiba o baza inflamatoare comuna, deoarece in ambele patologii sunt eliberati *markeri inflamatori de faza acuta* (CRP, IL-6 acid sialic, amiloid A, cortizon) specifici imunitatii inascute. Mecanismele pro-aterogene asociate hiperglicemiei din celulele peretelui vascular sunt detaliate pe larg in acest capitol.

In incercarea de a descifra atat mecanismele celulare si moleculare ale inflamatiei asociata proceselor aterosclerotice, cat si a elabora o strategie terapeutica care sa diminueze acest process cu rol important in initierea ulterioara a bolii cardiovasculare, lucrarea de fata s-a concentrat in cadrul partii a II-a a tezei "Contributii originale" pe urmatoarele obiective principale:

I. Rolul concentratiei crescute de glucoza in exacerbarea inflamatiei in celulele musculare netede; efectul fibratilor (activatori de PPAR α) in modularea expresiei si functiei de chemokine (MCP-1 si fractalkina)

II. Evidentierea cailor de semnalizare celulare prin care glucoza regleaza expresia chemokinelor MCP-1 si fractalkina in celulele musculare netede

III. Studiul interactiei dintre celulele musculare netede si monocite in modularea expresiei moleculelor pro-aterogene; evidentierea rolului axei CX3CL1-CX3CR1 in medierea interactiei celulare

IV. Cai de semnalizare implicate in interactia CMN-monocit dependent de axa CX3CL1/CX3CR1

V. Rolul rezistinei in modularea fenotipului celulelor musculare netede; mecanisme moleculare implicate in actiunea rezistinei la nivelul celulelor musculare netede vasculare.

VI. Caracterizarea promotorului functional de fractalkina

In **capitolul I** am inclus studiile cu privire la efectele concentratiei crescute de glucoza in modularea expresiei de fractalkina si MCP-1 in celulele musculare netede si rolul functional al acestor chemokine, si anume, adeziunea si chemotaxia monocitelor la celule activate de glucoza

crescuta. In plus, am urmarit efectul activatorilor de PPAR α (fenofibrat si clofibrat) asupra expresiei de fractalkina si MCP-1 in celulele musculare netede umane expuse la concentratie crescuta de glucoza dar si mecanismele de semnalizare implicate in actiunea glucozei crescute in aceste celule.

Rezultatele acestui studiu au aratat ca nivelele crescute de glucoza induce expresia fractalkinei si a MCP-1 in celulele musculare netede umane direct proportional cu concentratia de glucoza. Rezultatele obtinute sustin studiile anterioare care au identificat prezenta fractalkinei in intima vaselor. Mai mult, activatorii PPAR α , *fenofibratul* si *clofibratul* reduc expresia genica si proteica a MCP-1 si fractalkinei in CMN activate de glucoza crescuta. Efectul glucozei asupra chemokinelor MCP-1 si fractalkina se reflecta la nivel functional prin numarul crescut de monocite aderate la CMN. Procesul de adeziune al monocitelor la CMN activate de glucoza este dependent de aceste chemokine, intrucat inhibarea semnalizarii cu *toxina pertussis* reduce numarul monocitelor aderate in conditii de flux laminar continuu. In particular, rolul MCP-1 si fractalkinei este subliniat de experimentele in care receptorii specifici ai acestor chemokine au fost blocati (prin incubare cu anticorpi specifici), ceea ce a condus la diminuarea numarului de monocite aderate.

Mecanismul de semnalizare implicat in supraexpresia MCP-1 si fractalkinei indusa de glucoza crescuta determina activarea protein kinazele ERK1/2 si p38MAPK si a factorilor de transcriere NF-kB si AP-1, dependent de speciile reactive de oxigen eliberate (ROS). Inhibarea speciilor reactive de oxigen cu *PDTC* si *DPI* reduce activarea ERK1/2 si p38 MAPK sugerand implicarea stresului oxidativ in activarea MAPK. De asemenea inhibarea kinazelor p38MAPK si a ERK1/2 cu inhibitori specifici (SB203580 sau PD98095), reduc complet fosforilarea *I κ B α* si a *c-jun* sugerand rolul p38MAPK si p42/44MAPK in activarea NF-kB, respectiv AP-1. Mai mult, am studiat rolul NF-kB si AP-1 in expresia fractalkinei si MCP-1, prin transfectia CMN cu oligodeoxinucleotide de competitie pentru p65 si c-Jun. Blocarea situsurilor de legare NF-kB si AP-1 reduce expresia proteica a MCP-1 si fractalkinei, sugerand implicarea factorilor de transcriere in modularea ambelor chemokine. Clofibratul si fenofibratul diminueaza fosforilarea/activarea kinazelor p38MAPK si ERK1/2, astfel ca este impiedicata translocarea factorilor de transcriere NF-kB si AP-1 respectiv eliberarea de MCP-1 si fractalkina.

In concluzie, studiile din acest capitol demonstreaza ca activarea CMN vasculare prin supraexpresia acestor chemokine, induce cresterea interactiilor adezive dintre monocite si CMN, studiu ce poate explica unul din mecanismele aterosclerozei accelerate indusa in conditii diabetice.

In **capitolul II** am investigat rolul axei *CX3CL1/CX3CR1* in dialogul dintre celulele musculare netede si monocite dar si implicarea acestei cai in exacerbarea expresiei de molecule proinflamatoare, bazandu-ne pe studii anterioare care atesta prezenta fractalkinei si receptorul sau la nivelul placii aterosclerotice coronare. Astfel am presupus ca interactia dintre CMN si monocite se

poate realiza prin intermediul *fractalkina-CX3CR1* ceea ce poate influenta fiecare tip celular prin modularea moleculelor inflamatoare cu rol important in progresia placii aterosclerotice.

Rezultatele obtinute demonstreaza arata ca interactia dintre CMN si monocite sau CMN si monocite activate cu LPS (lipopolizaharide) creste expresia moleculelor $TNF\alpha$, IL-1 β , IL-6, CX3CR1 si MMP-2,-9 in ambele tipuri celulare iar activarea suplimentara a monocitelor cu LPS exacerbeaza expresia $TNF\alpha$, CX3CR1 si MMP-9. Modularea expresiei $TNF\alpha$, CX3CR1 si MMP-9 este dependenta de *axa fractalkina-CX3CR1* pe cand expresia IL-6, IL-1 β si MMP-2 este independenta de legarea acestei perechi receptor-ligand. Interactia monocite-CMN activeaza kinaza p38MAPK care succesiv transduce factorii de transcriptie NF-kB si AP-1 care ulterior faciliteaza producerea moleculelor pro-aterogene (citokine si MMP). Comunicarea dintre CMN si monocite prin legarea fractalkinei la receptorul sau este dependenta de transductia factorului de transcriptie **AP-1** implicat in reglarea expresiei moleculelor pro-aterogene $TNF\alpha$, CX3CR1 si MMP9.

Datele in acest studiu extind rolul cunoscut al fractalkinei si receptorului acesteia si sugereaza ca in placa aterosclerotica, comunicarea directa intre celulele musculare netede si monocite amplifica raspunsul inflamator prin *axa fractalkina-CX3CR1* care functioneaza ca indicator al unor molecule critice pentru progresia ateromului. Astfel, perechea CX3CL1-CX3CR1 poate constitui o noua tinta terapeutica pentru a reduce procesul inflamator asociat aterosclerozei.

In **capitolul III** am urmarit efectul inflamator al rezistinei in celulele musculare netede prin modularea expresiei de fractalkina si CX3CR1 dependent de receptorul TLR4.

Scopul acestui studiu a fost de a investiga rolul rezistinei ca modulator al fenotipului CMN respectiv, efectele pro-inflamatorii exercitate. Intrucat rezistina si fractalkina sunt prezente in leziunea aterosclerotica iar receptorul CX3CR1 este predominant asociat CMN am emis ipoteza ca rezistina poate fi inductor al expresiei de fractalkina (CX3CL1) si contribuie pe aceasta cale atat la modularea fontipica (pro-inflamatorie) a CMN cat si la intensificarea transmigrarii monocitelor.

Rezultatele arata ca rezistina poate induce semnificativ expresia CX3CL1 si CX3CR1 in CMN vasculare ceea ce demonstreaza ca, rezistina poate fi o citokina operatioanala in inducerea statusului pro-inflamator si contribuie astfel la dezvoltarea aterosclerozei. Intrucat receptorul rezistinei in celulele vasculare nu este inca cunoscut rezultatele experimentale din acest studiu demonstreaza ca la nivelul CMN vasculare atat anti-TLR4 cat si PTX inhiba expresia CX3CL1 si CX3CR1 indusa de rezistina, ceea ce sugereaza ca rezistina poate utiliza atat receptorii TLR4 cat si receptorii proteinelor-Gi in modularea acestor molecule.

Pe langa acestea, rezultatele acestui studiu arata ca rezistina activeaza p38MAPK si STAT3 dar nu ERK1/2. Inhibitorii farmacologici ai p38MAPK reduc semnificativ expresia CX3CL1 si CX3CR1 in CMN activate cu rezistina. Activarea p38MAPK de catre rezistina poate induce translocarea subunitatilor p65 si c-Jun a factorilor de transcriptie NF-kB si AP-1. Mai mult, inhibitorul *SP100030* (dublu inhibitor al NF-kB si AP-1) reduce fractalkina si CX3CR1,

demonstrand rolul NF-kB si AP-1 in reglarea lor. Silentierea p65 si c-Jun anterioara activarii cu rezistina, reduce semnificativ expresia celor doua molecule. Coroborate aceste rezultate indica ca NF-kB si AP-1 sunt implicate in actiunea rezistinei asupra expresiei de fractalkina si a receptorului specific la nivelul CMN vasculare. De asemenea, rezultatele arata ca blocarea caili JAK/STAT cu inhibitor specific *WP-1066* dar si silentierea STAT1/STAT3 cu ODN specifice, reduc expresia CX3CL1 si a receptorului sau, ceea ce demonstreaza ca factorii de transcriptie STAT sunt implicati in acest proces aditional la actiunea NF-kB si AP-1.

Experimentele de chemotaxie realizate prin sistemul xCELLigence demonstreaza ca fractalkina indusa de rezistina este functionala in transmigrarea monocitelor. Mediul conditionat colectat de la CMN activate cu rezistina confera un semnal chemoatractant puternic pentru monocite. Aditia anticorpului anti-CX3CL1 in mediul conditionat al CMN activate cu rezistina, reduce semnificativ numarul monocitelor transigrate. Toate aceste rezultate arata ca efectul chemotactic al fractalkinei solubile eliberate in mediul conditionat este dependent de expresia/interctia cu receptorul CX3CR1 de pe monocite.

In **capitolul IV** am conceput experimente pentru a evidentia daca activitatea promotorului si expresia CX3CL1 este reglata prin mecanisme directe/indirecte de factorii de transcriptie NF-kB, AP-1 si STAT1/STAT3.

Analiza *in silico* a **promotorului uman CX3CL1** indica existenta elementelor promotor-specifice *TATA* si *CCAC box*. Additional, au fost identificate situsuri de legare relevante pentru fiziologia si patologia vasculara ce includ *NF-kB*, *AP-1*, *GAS* (STAT1/STAT3), *C/EBP*, *GATA*, si *GAGA*. Analiza mutantilor de deletie a CX3CL1 arata ca NF-kB, AP-1 si STAT1/STAT3 nu sunt esentiali in activitatea de baza a promotorului in CMN dar au rol in modularea CX3CL1 ca raspuns la stimuli inflamatori. Pentru a investiga functia elementelor NF-kB, AP-1 si GAS am analizat activitatea nucleara a factorilor de transcriptie prin tehnica ChIP in CMN tratate cu rezistina. Rezultatele arata ca secventele prevazute prin analiza *in silico* corespunzatoare AP-1, NF-kB si GAS formeaza complexe de legare cu c-Jun, p65 si STAT1/STAT3. Rezultatele obtinute arata numeroase interactii *non-canonice* intre proteinele p65/NF-kB, c-Jun/AP-1 si STAT1/STAT3.

In concluzie, aceste rezultate prezinta pentru prima data o caracterizare a promotorului CX3CL1uman. Rezultatele demonstreaza ca interactia complexa intre NF-kB, AP-1 sau STAT1/3 si caile asociate regleaza direct/indirect CX3CL1, mecanism ce poate fi responsabil de supraexpresia CX3CL1 in placa aterosclerotica umana. Acesti factori de transcriptie sunt esentiali pentru transducerea multor factori de risc cardiovascular iar modularea reglatorilor “up-stream” de promotorul CX3CL1 poate reprezenta o strategie farmacologica eficienta pentru a atenua actiunea puternic proinflamatorie a CX3CL1.

Coroborate toate aceste rezultate obtinute in partea “ Contributii originale”subliniaza importanta interactiilor complexe dintre factorii de transcriptie, coactivatori, si/sau corepresori in

supraexpresia fractalkinei. Inhibarea chimica a cailor kinazice “up-stream” (p38MAPK, JNK si JAK2) precum si suprimarea factorilor de transcriptie NF-kB, AP-1 si STAT1/3 prin tehnologia ARN de interferenta reduc expresia de fractalkina indusa dependent de rezistina sau glucoza crescuta. Toate aceste rezultate arata importanta cailor de semnalizare *NF-kB*, *AP-1* si *STAT1/3* in reglarea expresiei CX3CL1, ceea ce explica prezenta ei in leziunea umana aterosclerotica dependent de expresia rezistinei secretata la nivelul leziunii prin macrofage sau conditiile hiperglicemice din diabet.

Intrucat teza aceasta are un caracter predominant fundamental, scopul final al acestor studii este de natura aplicativa. Seria de experimente realizate pot contribui la elucidarea mecanismelor inflamatorii de la nivelul placii aterosclerotice, respectiv la optimizarea unor terapii care sa reduca dinamica proceselor inflamatorii.

Numar de figuri in prima parte - 27

Numar de figuri originale (partea a doua) - 34

Indicatii bibliografice - 373

Lucrari publicate in reviste internationale cotate ISI - 9

Lucrari publicate in reviste nationale recunoscute CNCSIS – 1

Prezentari orale la manifestari stiintifice internationale - 2

Rezumate ale lucrarilor prezentate la manifestari stiintifice internationale - 30

Rezumate ale lucrarilor prezentate la manifestari stiintifice nationale - 4

Specializari si cursuri efectuate – 5

Participarea la proiecte de cercetare - 4 nationale, 2 internationale

