



ACADEMIA ROMÂNĂ
Școala de Studii Avansate a Academiei Române
Institutul de Biologie și Patologie Celulară „Nicolae Simionescu”

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Strategii nanoterapeutice inovatoare pentru țintirea inflamației
vasculare în ateroscleroză.

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

Acad. ILEANA MÂNDUȚEANU

DOCTORAND:

MARIA FLORENTINA ANGHELACHE

2025

CUPRINS

LISTĂ ABREVIERI.....	6
I. INTRODUCERE	8
II. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	13
<i>II.1. Sistemul Cardiovascular: Organizare și Funcționalitate</i>	<i>14</i>
II.1.1. Componentele sistemului cardiovascular	14
II.1.1.1. Inima.....	14
II.1.1.2. Vasele de sânge	14
<i>II.2. Inflamația în Ateroscleroză.....</i>	<i>17</i>
II.2.1. Inflamația acută	18
II.2.2. Inflamația cronică.....	18
II.2.3. Mecanisme ale inflamației.....	19
II.2.4. Etapele formării plăcii aterosclerotice.....	21
II.2.4.1. Activarea celulelor endoteliale	21
II.2.4.2. Disfuncția endotelială și acumularea LDL.....	23
II.2.4.3. Amplificarea procesului inflamator	24
II.2.4.4. Formarea și stabilizarea plăcii aterosclerotice.....	26
II.2.4.5. Dezvoltarea miezului necrotic și ruptura plăcii aterosclerotice	27
<i>II.3. Rezoluția Inflamației în Ateroscleroză.....</i>	<i>29</i>
II.3.1. Mediatorii specializați pro-rezoluție (SPM).....	32
II.3.1.1. Biosinteza SPM și indicii de rezoluție	33
II.3.1.2. Principalele clase de SPM și rolul lor fiziologic	34
II.3.1.3. Interacțiunea SPM cu receptorii GPCR.....	40
II.3.2. Rolul macrofagelor în rezoluția inflamației plăcii aterosclerotice	45
<i>II.4. Abordări Curente în Tratatamentul Aterosclerozei</i>	<i>48</i>
II.4.1. Abordare non-farmacologică.....	48
II.4.2. Terapii de reducere a lipidelor	48
II.4.3. Terapii anti-trombotice.....	50
II.4.4. Terapii anti-inflamatoare	50
<i>II.5. Nanotehnologia în Terapia Aterosclerozei</i>	<i>53</i>
II.5.1. Tipuri de nanoparticule	53
II.5.1.1. Nanoparticule anorganice	53
II.5.1.2. Nanoparticule organice.....	55

II.5.2. Strategii de țintire a peretelui vascular	58
II.5.2.1. Țintire pasivă	59
II.5.2.2. Țintire activă.....	59
<i>II.6. Nanoterapia Aterosclerozei prin Promovarea Rezoluției Inflamației</i>	<i>67</i>
II.6.1. Agenți Farmacologici pentru Rezoluția Inflamației	67
II.6.1.1. Molecule sintetice și analogi ai SPM.....	67
II.6.1.2. Agenți care modulează indirect căile pro-rezoluție.....	68
II.6.2. Nanoplatforme pentru Livrarea Mediatorilor Specializați Pro-Rezoluție sau Analogilor Acestora	69
II.6.3. Studii Clinice.....	72
III. CONTRIBUȚII ORIGINALE	73
A. CARACTERIZAREA ȘI TESTAREA UNUI SISTEM DE NANOPARTICULE MAGNETICE ACOPERITE CU DEXTRAN ÎNCĂRCATE CU ACID PROTOCATEHUIC ÎN TERAPIA INFLAMAȚIEI VASCULARE	74
<i>III.A.1. Caracterizarea și evaluarea in vitro a nanoparticulelor magnetice acoperite cu dextran și încărcate cu acid protocatehuic</i>	<i>74</i>
III.A.1.1. Introducere și obiective	74
III.A.1.2. Protocoale experimentale și metode de analiză.....	76
III.A.1.2.1. Reactivi.....	76
III.A.1.2.2. Sinteza nanoparticulelor magnetice (MNP)	76
III.A.1.2.3. Sinteza MNP acoperite cu dextran (MNP-Dex)	77
III.A.1.2.4. Sinteza MNP acoperite cu dextran încărcate cu PCA (MNP-Dex/PCA)	77
III.A.1.2.5. Încărcarea PCA pe MNP-Dex	77
III.A.1.2.6. Analiza morfologică a MNP-Dex/PCA.....	78
III.A.1.2.7. Dimensiunea și Potențialul Zeta	78
III.A.1.2.8. Modelul celular <i>in vitro</i>	78
III.A.1.2.9. Teste de citotoxicitate celulară.....	79
III.A.1.2.10. Internalizarea nanoparticulelor magnetice.....	80
III.A.1.2.11. Testul de adeziune al monocitelor	80
III.A.1.3. Rezultate.....	83
III.A.1.3.1. Caracterizarea fizico-chimică a nanoparticulelor magnetice încărcate cu PCA.....	83
III.A.1.3.2. Evaluarea <i>in vitro</i> a citotoxicității nanoparticulelor magnetice încărcate cu PCA ..	86
III.A.1.3.3. Localizarea intracelulară a MNP-Dex/PCA	88

III.A.1.3.4. Efectul anti-inflamator al MNP-Dex/PCA	89
III.A.1.4. Discuții și concluzii parțiale.....	96
B. DEZVOLTAREA UNUI SISTEM DE LIVRARE DE MEDICAMENTE BAZAT PE O STRATEGIE BIOMIMETICĂ PENTRU PROMOVAREA PROCESULUI DE REZOLUȚIE A INFLAMAȚIEI ÎN ATEROSCLEROZĂ	100
<i>III.B.1. Sinteza și caracterizarea nanocărbușilor încărcate cu mediatori pro-rezoluție pentru tratamentul aterosclerozei</i>	<i>100</i>
III.B.1.1. Introducere și obiective	100
III.B.1.2. Protocoale experimentale și metode de analiză.....	102
III.B.1.2.1. Reactivi	102
III.B.1.2.2. Culturi celulare.....	102
III.B.1.2.3. Izolarea membranelor macrofagelor.....	103
III.B.1.2.4. Prepararea nanoemulsiilor lipidice (LN) încărcate cu SPM (LN/SPM).....	103
III.B.1.2.5. Prepararea nanoemulsiilor lipidice biomimetice încărcate cu SPM (Bio-LN/SPM)	104
III.B.1.2.6. Determinarea dimensiunii și a potențialului Zeta.....	104
III.B.1.2.7. Microscopie electronică de transmisie cu colorație negativă (TEM).....	105
III.B.1.2.8. Determinarea încorporării SPM în nanoemulsii.....	105
III.B.1.2.9. Detectarea proteinelor membranare ale macrofagelor în Bio-LN/SPM prin imunoblotting.....	106
III.B.1.3. Rezultate.....	108
III.B.1.3.1. Strategia de sinteză a nanoparticulelor biomimetice (Bio-LN/SPM)	108
III.B.1.3.2. Bio-LN/SPM prezintă în compoziția lor proteine membranare provenite de la macrofage.....	110
III.B.1.3.3. Bio-LN/SPM reprezintă o platformă eficientă pentru menținerea stabilității SPM	111
III.B.1.3.4. Bio-LN/SPM prezintă stabilitate ridicată pe termen lung	113
III.B.1.4. Discuții și concluzii parțiale	114
<i>III.B.2. Utilizarea nanocărbușilor pentru transportul mediatorilor pro-rezoluție in vitro, la nivelul celulelor vasculare și imune implicate in evoluția ateromului.</i>	<i>116</i>
III.B.2.1. Introducere și obiective	116
III.B.2.2. Protocoale experimentale și metode de analiză.....	117
III.B.2.2.1. Sinteza nanoparticulelor biomimetice (Bio-LN/SPM).....	117

III.B.2.2.2. Modelul celular <i>in vitro</i>	117
III.B.2.3. Rezultate.....	123
III.B.2.3.1. Viabilitatea celulară și internalizarea Bio-LN/SPM de către celule endoteliale, celule musculare netede și macrofage.....	123
III.B.2.3.2. Legarea Bio-LN/SPM la suprafața celulelor endoteliale, celulelor musculare netede și macrofagelor; rolul receptorilor SPM	126
III.B.2.3.3. Bio-LN/SPM au un rol funcțional în inhibarea adeziunii monocitelor și transmigrării acestora către/prin celulele endoteliale activate	130
III.B.2.3.4. Expunerea la Bio-LN/SPM crește activitatea fagocitară a macrofagelor.....	132
III.B.2.3.5. Expunerea la Bio-LN/SPM reduce expresia proteinelor asociate cu procesul inflamator în celulele endoteliale, celulele musculare netede și macrofage.....	133
III.B.2.4. Discuții și concluzii parțiale	135
<i>III.B.3. Utilizarea nanocărbușilor pentru transportul direcționat al mediatorilor pro-rezoluție la nivelul plăcilor aterosclerotice în modelul murin ApoE^{-/-} în scopul rezoluției inflamației.....</i>	<i>138</i>
III.B.3.1. Introducere și Obiective	138
III.B.3.2. Protocoale experimentale și metode de analiză.....	140
III.B.3.2.1. Modelul animal de ateroscleroză	140
III.B.3.2.2. Testul de hemocompatibilitate	140
III.B.3.2.3. Evaluarea funcției hepatice și renale	141
III.B.3.2.4. Mouse cytokine array.....	141
III.B.3.2.5. Evaluarea celulelor imune	142
III.B.3.2.6. Imagistica <i>ex vivo</i> a biodistribuției nanoparticulelor biomimetice	142
III.B.3.2.7. Colorația Oil Red O (ORO)	143
III.B.3.2.8. Analiza statistică	143
III.B.3.3. Rezultate.....	144
III.B.3.3.1. Bio-LN/SPM pot fi administrate <i>in vivo</i> fără a induce efecte secundare acute.....	144
III.B.3.3.2. Bio-LN/SPM se acumulează în leziunile aterosclerotice ale șoarecilor ApoE ^{-/-} ..	148
III.B.3.4. Discuții și concluzii parțiale	151
<i>III.B.4. Evaluarea efectului terapeutic al nanocărbușilor biomimetici încărcăți cu mediatorii pro-rezoluție asupra dezvoltării plăcii aterosclerotice</i>	<i>154</i>
III.B.4.1. Introducere și obiective	154
III.B.4.2. Protocoale experimentale și metode de analiză.....	157

III.B.4.2.1. Sinteza și caracterizarea nanoemulsiilor lipidice biomimetice încărcate cu SPMs (Bio-LN/SPMs)	157
III.B.4.2.2. Model animal de ateroscleroză și strategie de tratament	158
III.B.4.2.3. Prelevarea și procesarea țesuturilor.....	159
III.B.4.2.4. Investigații plasmatice.....	159
III.B.4.2.5. Investigații prin citometrie în flux.....	160
III.B.4.2.6. Investigații asupra aortei	161
III.B.4.2.7. Analiza statistică	166
III.B.4.3. Rezultate.....	167
III.B.4.3.1. Prepararea și caracterizarea Bio-LN/SPM.....	167
III.B.4.3.2. Administrarea in vivo a Bio-LN/SPMs îmbunătățește metabolismul lipidic și funcția renală și nu prezintă toxicitate hepatică detectabilă	168
III.B.4.3.3. Bio-LN/SPMs reduc producția de proteine plasmatice asociate cu activarea complementului și inflamației.....	170
III.B.4.3.4. Bio-LN/SPMs induc un profil anti-inflamator în monocitele circulatorii	171
III.B.4.3.5. Bio-LN/SPMs promovează rezoluția inflamației prin reducerea expresiei MCP-1 și a monocitelor infiltrate în arterele șoarecilor	174
III.B.4.3.6. Bio-LN/SPMs facilitează rezoluția inflamației prin exercitarea unui efect anti-inflamator în aorta șoarecilor ApoE ^{-/-}	176
III.B.4.3.7. Bio-LN/SPM promovează rezoluția inflamației în placa aterosclerotică prin polarizarea macrofagelor către un fenotip reparator de tip M2	177
III.B.4.3.8. Tratamentul cu Bio-LN/SPM atenuează inflamația și stimulează rezoluția acesteia în leziunile de la nivelul rădăcinii aortice.	179
III.B.4.3.9. Tratamentul cu Bio-LN/SPM reduce depozitele de lipide în plăcile aterosclerotice ale șoarecilor ApoE ^{-/-}	181
III.B.4.4. Discuții și concluzii parțiale	183
IV. CONCLUZII GENERALE	189
V. BIBLIOGRAFIE	192

REZUMAT

Cuvinte cheie: ateroscleroză, inflamație vasculară, rezoluția inflamației, mediatori specializați pro-rezoluție, nanoterapie, nanoparticule biomimetice, celule endoteliale, celule musculare netede vasculare, macrofage.

Număr total de pagini – 237

Număr de figuri în Partea I – 12

Număr de tabele în Partea I – 1

Număr de figuri în Partea II – 41

Număr de tabele în Partea II – 8

Referințe bibliografice – 400

Lucrări publicate în reviste indexate ISI în perioada stagiului de doctorat – 12 (5 autor principal)

Rezumate publicate în reviste indexate ISI – 4 (1 autor principal)

Postere prezentate la manifestări științifice internaționale – 5 (autor principal)

Comunicări orale susținute la manifestări științifice internaționale – 3 (autor principal)

Brevete – 1

Burse obținute pe durata programului doctoral – 2

Specializări și cursuri efectuate – 3

Premii – 3

Participarea în proiecte de cercetare – 5

A. Introducere și obiective

Bolile cardiovasculare (BCV) reprezintă principala cauză de mortalitate în România, responsabile pentru peste 55% dintre decesele anuale (Institutul Național de Sănătate Publică, 2024). În acest context, ateroscleroza (AS), o afecțiune cronică inflamatoare a peretelui vascular, joacă un rol central în dezvoltarea complicațiilor cardiovasculare acute, precum infarctul miocardic sau accidentul vascular cerebral. Deși terapiile convenționale, cum ar fi statinele și agenții antitrombotici, reduc incidența evenimentelor cardiovasculare, acestea nu reușesc să abordeze eficient inflamația vasculară persistentă, o componentă esențială a progresiei plăcii aterosclerotice (d'Aiello et al., 2024).

În mod particular, s-a demonstrat că eșecul rezoluției inflamației, proces fiziologic activ și coordonat, contribuie semnificativ la instabilitatea plăcilor și progresia bolii (Fredman, 2019). În acest context, mediatori specializați pro-rezoluție (SPM) precum resolvinele sau lipoxinele, reprezintă o clasă emergentă de molecule capabile să restabilească homeostazia vasculară prin inducerea activă a rezoluției inflamației. Cu toate acestea, utilizarea terapeutică a SPM este limitată de stabilitatea lor redusă în circulație și de biodisponibilitatea scăzută la locul leziunii aterosclerotice (Fredman & Serhan, 2024).

În paralel, compuși naturali precum acidul protocatehuic (PCA), cu rol anti-inflamator și antioxidant, au fost propuși ca adjuvanți în combaterea inflamației endoteliale și macrofagice. Totuși, eficacitatea lor terapeutică este limitată de biodisponibilitatea redusă și țintirea nespecifică (Cory et al., 2018). Nanotehnologia oferă o soluție inovatoare pentru aceste provocări, facilitând livrarea țintită și protejarea compușilor de interes în forme farmaceutice stabile (Ahmad et al., 2022).

Pornind de la aceste premise, **scopul principal al acestei teze de doctorat** a fost dezvoltarea și caracterizarea unor **platforme nanoterapeutice inovatoare** pentru combaterea inflamației vasculare în AS, având ca mecanisme complementare: (1) inducerea activă a rezoluției inflamației prin livrarea de SPM sau (2) inhibarea căilor inflamatoare pro-aterogene prin livrarea de PCA.

Au fost propuse și realizate următoarele **obiective specifice**:

1. Caracterizarea și testarea unor nanoparticule magnetice acoperite cu dextran și încărcate cu acid protocatehuic (MNP-Dex/PCA), cu scopul de a inhiba inflamația

- vasculară prin reducerea expresiei citokinelor pro-inflamatoare și a adeziunii monocitelor la celulele endoteliale (CE) activate, în modele celulare *in vitro*.
2. Dezvoltarea și caracterizarea unor nanoparticule biomimetice încărcate cu SPM (Bio-LN/SPM) și testarea efectului acestora *in vitro* asupra fenotipului inflamator al CE, macrofagelor (Mφ) și celulelor musculare netede (CMN) implicate în patogeniza AS.
 3. Evaluarea biodistribuției și a efectelor acute ale nanoparticulelor Bio-LN/SPM în modelul murin de AS (șoareci ApoE ^{-/-} hiperlipidemici), prin analizarea acumulării la nivelul aortei, a modificărilor în compoziția celulelor imune circulante și a profilului de citokine inflamatoare, la 24 de ore de la administrare.
 4. Validarea eficacității preclinice a strategiei nanoterapeutice pro-rezolutive în AS, în modelul murin ApoE ^{-/-}, prin demonstrarea efectului terapeutic al nanoparticulelor Bio-LN/SPM asupra leziunilor aterosclerotice aflate în două stadii de progresie a plăcii, cu accent pe reducerea inflamației vasculare și acumulării lipidice în aortă și rădăcina aortică.

B. Structura tezei

Teza de doctorat este structurată în două părți majore:

Partea I – Stadiul actual al cunoașterii cuprinde o analiză a literaturii de specialitate privind rolul inflamației în ateroscleroză (AS), mecanismele moleculare implicate în rezoluția acesteia și strategiile nanoterapeutice emergente, care pot influența pozitiv cursul bolii. Această parte este alcătuită din șase capitole, care oferă o bază teoretică solidă pentru dezvoltarea celor două direcții experimentale.

În **capitolul 1** este prezentată organizarea structurală și funcțională a sistemului cardiovascular, cu accent pe arhitectura peretelui arterial și pe rolul critic al celulelor endoteliale în menținerea homeostaziei vasculare. Sunt discutate dezechilibrele care pot perturba funcția endotelială și care contribuie la declanșarea patologiilor vasculare, precum AS.

Capitolul 2, „Inflamația în Ateroscleroză”, detaliază în mod sistematic etapele progresiei leziunilor aterosclerotice, pornind de la activarea endotelială și acumularea

LDL în spațiul subendotelial, până la formarea celulelor spumoase, a miezului necrotic și ruperea plăcii. Sunt evidențiate procesele inflamatoare care amplifică vulnerabilitatea plăcii și sunt discutate elementele celulare implicate.

Capitolul 3 este dedicat conceptului de „Rezoluție a inflamației” ca proces activ și cu mecanisme de reglare complexe, diferit de inhibarea clasică a inflamației. Este prezentat un cadru conceptual complet privind mediatorii specializați pro-rezoluție (SPM), precum lipoxinele, resolvinele, maresinele și protectinele, accentuând rolul lor în restabilirea homeostaziei tisulare. O sinteză extinsă a claselor, funcțiilor, mecanismelor de acțiune și receptorilor acestor mediatori a fost detaliată în cadrul acestui capitol, constituind baza teoretică pentru strategiile farmacologice pro-rezolvative propuse ulterior în partea experimentală a tezei.

Capitolul 4 evidențiază limitările terapiilor convenționale actuale, care vizează în principal scăderea nivelului lipidelor sau suprimarea răspunsului inflamator. Se argumentează că aceste strategii nu reușesc să prevină progresia leziunilor aterosclerotice și nu abordează cauza persistenței inflamației. Astfel, este justificată necesitatea unor intervenții terapeutice inovatoare, capabile nu doar să inhibe inflamația, ci și să activeze mecanismele fiziologice de rezoluție, promovând restaurarea homeostaziei vasculare.

Capitolul 5 introduce domeniul nanomedicinii, cu accent pe nanoterapia aplicată în bolile cardiovasculare. Sunt detaliate tipurile de nanoparticule utilizate în acest context, punându-se accent pe avantajele livrării direcționate și pe strategiile de funcționalizare menite să crească eficiența terapeutică. De asemenea, este prezentat conceptul de nanoparticule biomimetice, cu evidențierea potențialului acestora de a imita componente celulare naturale pentru a facilita recunoașterea specifică a țesuturilor inflamate și a îmbunătăți distribuția țintită a agenților terapeutici.

Capitolul 6 explorează aplicațiile directe ale SPM și ale analogilor lor sintetici în inflamația cronică și în AS. Sunt descrise studii preclinice și potențiale direcții de cercetare în care SPM sunt considerați terapii promițătoare, cu mecanisme complementare față de medicamentele anti-inflamatoare tradiționale.

Partea a II-a – Contribuții originale este dedicată studiilor experimentale realizate, împărțite în două direcții nanoterapeutice distincte:

Capitolul 1 descrie dezvoltarea, caracterizarea și evaluarea *in vitro* a nanoparticulelor magnetice acoperite cu dextran și încărcate cu acid protocatehuic (MNP-Dex/PCA). Studiul demonstrează eficiența acestor nanoparticule în reducerea expresiei citokinelor pro-inflamatoare în celulele endoteliale și în macrofagele de tip M1. De asemenea, MNP-Dex/PCA inhibă căile de semnalizare NF- κ B și MAPK și reduc adeziunea monocitelor la endoteliul activat, susținând potențialul acestora în terapia inflamației vasculare.

Capitolul 2 este dedicat unui studiu amplu ce cuprinde secțiuni experimentale care vizează promovarea activă a rezoluției inflamației prin utilizarea de nanoparticule biomimetice încărcate cu mediatori specializați pro-rezoluție (Bio-LN/SPM).

- Secțiunea 1 prezintă procesul de sinteză și caracterizare fizico-chimică a nanoparticulelor biomimetice, inclusiv evaluarea compoziției, dimensiunii și potențialului zeta.
- Secțiunea 2 analizează efectele *in vitro* ale acestor nanoparticule asupra liniilor celulare relevante pentru AS (CE, M ϕ și SMC). S-a constatat o scădere semnificativă a expresiei markerilor inflamatori și promovarea unui fenotip anti-inflamator.
- Secțiunea 3 se concentrează pe testarea *in vivo* a Bio-LN/SPM în modelul murin ApoE^{-/-}, la 24 de ore post-injectare. Au fost evaluate distribuția nanoparticulelor și efectele acute asupra profilului imun.
- Secțiunea 4 investighează impactul terapeutic al Bio-LN/SPM asupra leziunilor aterosclerotice ale șoarecilor ApoE^{-/-} aflate în două stadii diferite de progresie (4 săptămâni și 8 săptămâni de dietă bogată în grăsimi), evidențiind reducerea inflamației sistemice și locale și a acumulării de lipide, precum și inducerea unui fenotip pro-rezolutiv al macrofagelor de la nivelul plăcii aterosclerotice.

Astfel, structura tezei reflectă o abordare integrată și progresivă, de la înțelegerea detaliată a patologiei AS și a proceselor moleculare implicate în inflamație și rezoluție, până la dezvoltarea și validarea experimentală a unor soluții terapeutice inovatoare. Fiecare capitol contribuie logic și științific la consolidarea ipotezei de cercetare și la demonstrarea aplicabilității nanomedicinei în tratamentul personalizat al inflamației vasculare asociate AS.

C. Principalele rezultate și concluzii:

1. Obținerea nanoparticulelor magnetice MNP-Dex/PCA care pot fi folosite ca vehicule teranostice ce combină diagnosticul și terapia într-o singură platformă

- Au fost obținute nanoparticule stabile coloidal în care PCA a fost eficient adsorbit pe suprafața nanoparticulelor și menținut în formă activă.
- MNP-Dex/PCA au fost preluate eficient de celulele endoteliale și de macrofagele pro-inflamatoare M1, fără efecte citotoxice la concentrații < 100 μg/mL.
- Tratatamentul cu MNP-Dex/PCA a determinat:
 - Inhibarea căilor de semnalizare inflamatorii NF-κB și MAPK cu reducerea expresiei IL-1β, TNF-α, IL-6, MCP-1, p38 și ERK1/2.
 - Diminuarea adeziunii monocitelor la endoteliul activat.

Aceste date confirmă potențialul acestor nanoparticule de a inhiba răspunsul inflamator vascular, deschizând posibilitatea utilizării lor în prevenția progresiei plăcii aterosclerotice.

2. Obținerea și validarea preclinică a nanoparticulelor biomimetice încărcate cu mediatori specializați pro-rezoluție într-un model murin de ateroscleroză

- S-au obținut nanoemulsii acoperite cu membrane celulare pentru a mima structura monocitelor circulante, având ca încărcătură activă SPM (Bio-LN/SPM).
- *In vitro*, Bio-LN/SPM:
 - Au redus expresia markerilor inflamatori (VCAM-1, MCP-1, NLRP3, IL-1β),
 - Au promovat un fenotip M2 pro-rezolutiv în macrofage (scăderea iNOS și creșterea capacității fagocitare),
 - Au diminuat adeziunea și transmigrarea monocitelor prin endoteliul activat.
- *In vivo* (șoareci ApoE^{-/-} hrăniți cu dietă bogată în grăsimi):
 - Administrarea intravenoasă a Bio-LN/SPM a dus, după 24 de ore, la:
 - Reducerea monocitelor și neutrofilelor circulante,
 - Scăderea nivelurilor plasmatice de citokine (IFN-γ, CXCL10, IL-16, TIMP-1 și TNF-α) și chemokine (MCP-1 și C5a),
 - Acumulare selectivă la nivelul aortei.

- Administrarea repetată în două stadii diferite de progresie a plăcii aterosclerotice a demonstrat:
 - Scăderea inflamației sistemice și modularea populațiilor imune circulante,
 - Reducerea inflamației locale și inducerea unui fenotip pro-rezolutiv de tip M2 în macrofagele aortice, evidențiată prin creșterea expresiei markerilor CD206 și MerTK, concomitent cu scăderea nivelului iNOS,
 - Reducerea acumulării lipidice în leziuni.

Aceste rezultate confirmă faptul că Bio-LN/SPM nu doar inhibă inflamația, ci promovează rezoluția acesteia, reprogramând fenotipul imun și micromediul aortic.

D. Contribuțiile originale ale tezei

1. Dezvoltarea a două platforme nanoterapeutice cu mecanisme complementare, validate *in vitro* sau *in vivo*, pentru combaterea inflamației vasculare:
 - a) MNP-Dex/PCA – efect anti-inflamator prin inhibarea NF- κ B și MAPK (Figura 1).

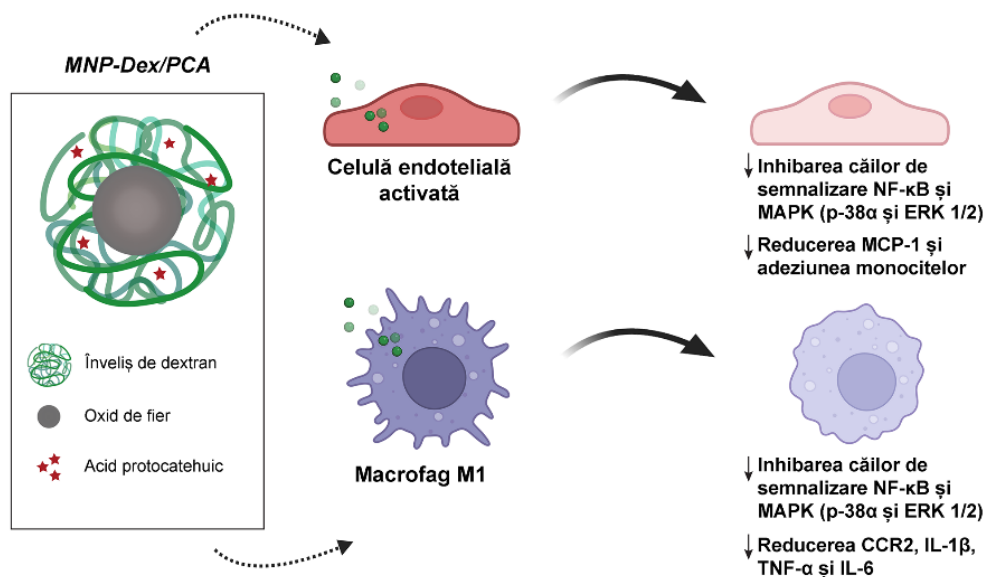


Figura 1. Strategia nanoterapeutică dezvoltată în cadrul primului studiu pentru combaterea inflamației vasculare asociate AS. Schema ilustrează mecanismul de acțiune al nanoparticulelor magnetice acoperite cu dextran și încărcate cu acid protocatehuic (MNP-Dex/PCA), care sunt internalizate de CE și MΦ de tip M1, determinând inhibarea căilor de semnalizare inflamatorii (NF- κ B și MAPK p38 α și ERK1/2) și limitarea adeziunii monocitelor.

- b) Bio-LN/SPM – efect pro-rezolutiv, prin inducerea unui fenotip M2 în macrofage, scăderea merkerilor inflamatori și reducerea depozitelor lipidice în placa aterosclerotică (Figura 2).

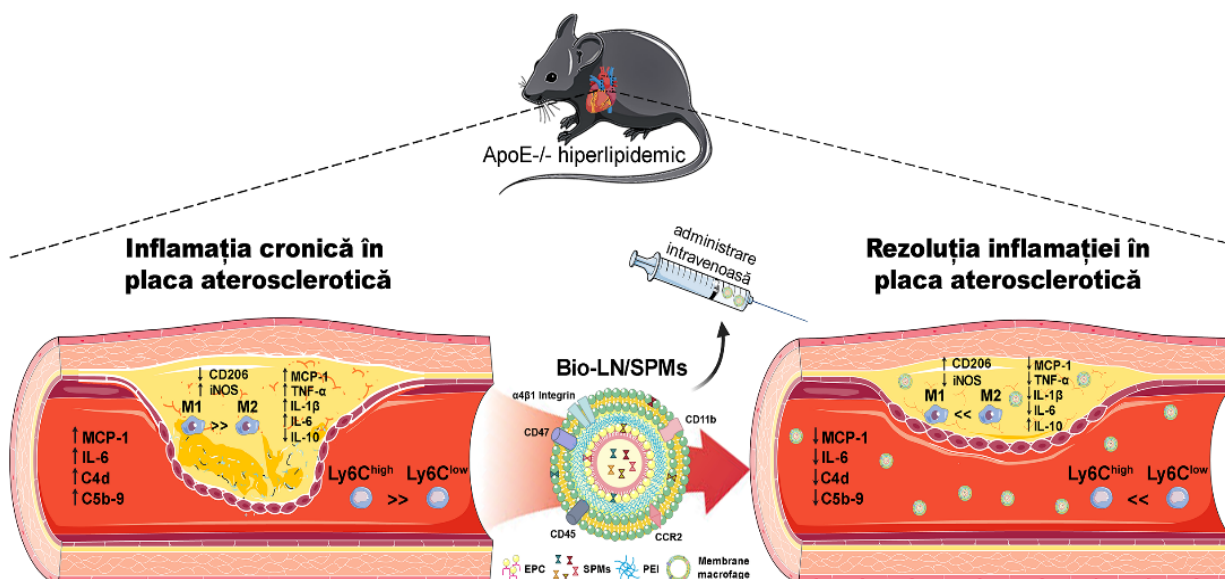


Figura 2. Reprezentare schematică a strategiei nanoterapeutice dezvoltate în cel de-al doilea studiu în vederea promovării rezoluției inflamației vasculare asociate AS. Este ilustrat efectul nanoparticulelor biomimetice încărcate cu mediatori specializați pro-rezoluție (Bio-LN/SPM) asupra CE, CMN vasculare și $M\Phi$ în modelul murin ApoE^{-/-} hiperlipidemic. Tratamentul cu Bio-LN/SPM determină reducerea expresiei markerilor inflamatori circulanți și locali, inducerea unui fenotip reparator în $M\Phi$ și diminuarea acumulării lipidice în leziunile aterosclerotice.

2. Confirmarea rolului rezoluției inflamatorii în controlul AS și validarea SPM ca agenți terapeutici viabili în nanomedicina cardiovasculară.

E. Concluzii generale

Această teză aduce o contribuție semnificativă la înțelegerea și tratarea inflamației vasculare cronice în contextul AS, propunând două abordări nanoterapeutice complementare. În timp ce MNP-Dex/PCA inhibă căile inflamatorii pro-aterogene, Bio-LN/SPM promovează activ rezoluția inflamației, un proces esențial, dar ignorat până recent în tratamentele actuale. Prin aceste strategii, lucrarea demonstrează aplicabilitatea nanomedicinei în terapia cardiovasculară personalizată, deschizând noi direcții pentru intervenția precoce și ținută în AS.

F. Bibliografie

1. Ahmad, M. Z., Bhatnagar, D., Ladhe, S., Kumar, D., Pathak, K., Das, R. J., Sarma, H., & Mustafa, G. (2022). Liposomes and Niosomes for Targeted Drug and Gene Delivery Systems. In *Nanotechnology in the Life Sciences*. https://doi.org/10.1007/978-3-031-12658-1_12
2. Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., & Mattei, J. (2018). The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review. In *Frontiers in Nutrition* (Vol. 5). <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00087>
3. d'Aiello, A., Filomia, S., Brecciaroli, M., Sanna, T., Pedicino, D., & Liuzzo, G. (2024). Targeting Inflammatory Pathways in Atherosclerosis: Exploring New Opportunities for Treatment. *Current Atherosclerosis Reports*, 26(12), 707–719. <https://doi.org/10.1007/s11883-024-01241-3>
4. Fredman, G. (2019). Can Inflammation-Resolution Provide Clues to Treat Patients According to Their Plaque Phenotype? *Frontiers in Pharmacology*, 10(MAR). <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00205>
5. Fredman, G., & Serhan, C. N. (2024). Specialized pro-resolving mediators in vascular inflammation and atherosclerotic cardiovascular disease. In *Nature Reviews Cardiology*. <https://doi.org/10.1038/s41569-023-00984-x>
6. Institutul Național de Sănătate Publică. (2024). *Analiză de situație privind problematica bolilor cardiovasculare*.

EFICIENȚA ȘI DISEMINAREA CERCETĂRILOR

Lucrări publicate în reviste internaționale cotate ISI (12 lucrări)

Autor principal (5):

1. **Anghelache, M.**, Turtoi, M., Petrovici, A.R., Fifere, A., Pinteala, M., Calin, M., 2021. Development of Dextran-Coated Magnetic Nanoparticles Loaded with Protocatechuic Acid for Vascular Inflammation Therapy. *Pharmaceutics* 13, 1414. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091414>. **Factor de impact la momentul publicării (2021): 4.9.**
2. Turtoi, M.#, **Anghelache, M.#**, Bucatariu, S.-M., Deleanu, M., Voicu, G., Safciuc, F., Manduteanu, I., Fundueanu, G., Simionescu, M., Calin, M., 2021. A novel platform for drug testing: Biomimetic three-dimensional hyaluronic acid-based scaffold seeded with human hepatocarcinoma cells. *International Journal of Biological Macromolecules* 185, 604–619. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.174>. **Factor de impact la momentul publicării (2021): 7.7.**
3. Movileanu, C.#, **Anghelache, M.#**, Turtoi, M., Voicu, G., Neacsu, I.A., Fikai, D., Trusca, R., Oprea, O., Fikai, A., Andronescu, E., Calin, M., 2022. Folic acid-decorated PEGylated magnetite nanoparticles as efficient drug carriers to tumor cells overexpressing folic acid receptor. *International Journal of Pharmaceutics* 625, 122064. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122064>. **Factor de impact la momentul publicării (2022): 5.3.**
4. **Anghelache, M.**, Voicu, G., Deleanu, M., Turtoi, M., Safciuc, F., Anton, R., Boteanu, D., Fenyo, I.M., Manduteanu, I., Simionescu, M., Calin, M., 2024. Biomimetic Nanocarriers of Pro-Resolving Lipid Mediators for Resolution of Inflammation in Atherosclerosis. *Adv Healthcare Materials* 13, 2302238. <https://doi.org/10.1002/adhm.202302238>. **Factor de impact la momentul publicării (2024): 10.**

5. **Anghelache, M.**, Voicu, G., Anton, R., Safciuc, F., Boteanu, D., Deleanu, M., Turtoi, M., Simionescu, M., Manduteanu, I., Calin, M., 2025. Inflammation resolution-based treatment of atherosclerosis using biomimetic nanocarriers loaded with specialized pro-resolving lipid mediators. *Materials Today Bio* 32, 101733. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2025.101733>. **Factor de impact la momentul publicării (2021): 8.7.**

- autori cu contribuție egală

Co-autor (7):

1. Turtoi, M., **Anghelache, M.**, Patrascu, A.A., Maxim, C., Manduteanu, I., Calin, M., Popescu, D.-L., 2021. Synthesis, Characterization, and In Vitro Insulin-Mimetic Activity Evaluation of Valine Schiff Base Coordination Compounds of Oxidovanadium(V). *Biomedicines* 9, 562. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9050562>. **Factor de impact la momentul publicării (2021): 3.9.**
2. Popescu, I., Turtoi, M., Suflet, D.M., Dinu, M.V., Darie-Nita, R.N., **Anghelache, M.**, Calin, M., Constantin, M., 2021. Alginate/poloxamer hydrogel obtained by thiol-acrylate photopolymerization for the alleviation of the inflammatory response of human keratinocytes. *International Journal of Biological Macromolecules* 180, 418–431. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.082>. **Factor de impact la momentul publicării (2021): 7.7.**
3. Fundueanu, G., Constantin, M., Turtoi, M., Bucatariu, S.-M., Cosman, B., **Anghelache, M.**, Voicu, G., Calin, M., 2022. Bio-Responsive Carriers for Controlled Delivery of Doxorubicin to Cancer Cells. *Pharmaceutics* 14, 865. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040865>. **Factor de impact la momentul publicării (2022): 4.9.**
4. Turtoi, M., **Anghelache, M.**, Patrascu, A.A., Deleanu, M., Voicu, G., Raduca, M., Safciuc, F., Manduteanu, I., Calin, M., Popescu, D.-L., 2022. Antitumor Properties of a New Macrocyclic Tetranuclear Oxidovanadium(V) Complex with 3-Methoxysalicylidenvalline Ligand. *Biomedicines* 10, 1217.

<https://doi.org/10.3390/biomedicines10061217>. **Factor de impact la momentul publicării (2022): 3.9.**

5. Voicu, G., Mocanu, C.A., Safciuc, F., **Anghelache, M.**, Deleanu, M., Cecoltan, S., Pinteala, M., Uritu, C.M., Droc, I., Simionescu, M., Manduteanu, I., Calin, M., 2023. Nanocarriers of shRNA-Runx2 directed to collagen IV as a nanotherapeutic system to target calcific aortic valve disease. *Materials Today Bio* 20, 100620. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100620>. **Factor de impact la momentul publicării (2023): 8.7.**
6. Voicu, G., Mocanu, C.A., Safciuc, F., Rebleanu, D., **Anghelache, M.**, Cecoltan, S., Droc, I., Simionescu, M., Manduteanu, I., Calin, M., 2024. VCAM-1 targeted nanocarriers of shRNA-Smad3 mitigate endothelial-to-mesenchymal transition triggered by high glucose concentrations and osteogenic factors in valvular endothelial cells. *International Journal of Biological Macromolecules* 281, 136355. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136355>. **Factor de impact la momentul publicării (2024): 7.7.**
7. Motelica, L., Voicu, G., Chircov, C., Surdu, A.V., Trusca, R.D., Vasile, B.S., Ficai, D., Oprea, O.C., Marta, D.S., Peteu, V.-E., **Anghelache, M.**, Ficai, A., Calin, M., 2025. Aspartic acid functionalized magnetic nanoparticles for enhanced internalization in tumoral cell. *J Aust Ceram Soc* 61, 265–283. <https://doi.org/10.1007/s41779-024-01102-x>. **Factor de impact la momentul publicării (2021): 1.8.**

Rezumate publicate în reviste cotate ISI – 4 (1 autor principal)

1. **Anghelache, M.**, Deleanu, M., Anton, R., Turtoi, M., Voicu, G., Mânduțeanu, I., Simionescu, M., Călin, M., 2023. Pro-resolving lipid mediator-loaded biomimetic nanoparticles as promising carriers for inflammation resolution in atherosclerosis. *Talks. FEBS Open Bio* 13, 2–60. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13645>.
2. Voicu, G., **Anghelache, M.**, Deleanu, M., Turtoi, M., Safciuc, F., Anton, R., Mânduțeanu, I., Simionescu, M., Călin, M., 2023. Dual targeting of resolvins-loaded nanoparticles to VCAM-1 and collagen IV assure their delivery to the aorta of

atherosclerotic mice, 2023. FEBS Open Bio 13, 61–258. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13646>

3. Boteanu, D., **Anghelache, M.**, Turtoi, M., Călin, M., 2025. Enhancing tumor drug delivery: targeting nucleolin with liposomes for improved therapeutic efficacy. SEE J Immunol 8, 067. <https://doi.org/10.3889/seejim.2025.6130>.
4. Turtoi, M., **Anghelache, M.**, Voicu, G., Safciuc, F., Deleanu, M., Călin, M., 2025. Innovative vanadium (V)-based drug: preliminary in vitro and in vivo antitumor investigations. SEE J Immunol 8, 078. <https://doi.org/10.3889/seejim.2025.6141>.

BREVETE ÎNREGISTRATE

1. Aplicație de patent nr. A/00388, cu data de depozit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci (OSIM) 20.07.2023 și titlul „Nanosisteme magnetice inteligente pentru vectorizarea celulară a compușilor bioactivi”, autori: Movileanu C., Fikai D., Fikai A., Călin M., **Anghelache M.**, Gafencu A., Fundueanu-Constantin G., Pinteală M., Simionescu M., Andronescu E.

(https://osim.ro/images/Publicatii/Inventii/2025/bopi_inv_01_2025.pdf).

COMUNICĂRI PREZENTATE LA MANIFESTĂRI ȘTIINȚIFICE INTERNAȚIONALE:

Prezentări orale (3):

1. **Maria Anghelache**, Preparation and characterization of macrophage-membrane coated nanoemulsions for delivery of specialized pro-resolving lipid mediators of inflammation, 38th Annual Scientific Session of The Romanian Society for Cell Biology, 4 November 2021.
2. **Maria Anghelache**, Pro-resolving Lipid Mediators-loaded Biomimetic Nanoparticles as Promising Carriers for Inflammation Resolution in Atherosclerosis, The 47th FEBS Congress, Oral presentation, Tours, France, 8-12 July 2023.
3. **Maria Anghelache**, Macrophage Membranes-Functionalized Lipid Nanoemulsions as Promising Carriers of Pro-Resolving Lipid Mediators to Atherosclerotic Lesions,

40th Annual Scientific Session of The Romanian Society for Cell Biology, Oral presentation, 16-17 November 2023.

Postere (5):

1. **Maria Anghelache**, Florentina Safciuc, Geanina Voicu, Mihaela Turtoi, Cornelia Ioana Ilie, Anton Fikai, Manuela Calin, Chitosan-coated iron oxide nanoparticles as a promising nanocarriers for gallic acid targeted delivery, “International Conferences & Exhibition on Nanotechnologies, Organic Electronics & Nanomedicine”, Thessaloniki, 06-09 July 2021.
2. **Maria Anghelache**, Mariana Deleanu, Mihaela Turtoi, Geanina Voicu, Manuela Calin, Preparation and physico-chemical characterization of specialized pro-resolving lipid mediators (SPMs)-loaded nanoemulsions as nanocarriers for inflammation resolution, “International Conferences & Exhibition on Nanotechnologies, Organic Electronics & Nanomedicine”, Thessaloniki, 06-09 July 2021.
3. **Maria Anghelache**, Mariana Deleanu, Mihaela Turtoi, Geanina Voicu, Manuela Calin, Development of Biomimetic Nanocarriers for delivery of Specialized Pro-Resolving Lipid Mediators (SPMs) to atherosclerotic plaque, “Materials, Methods & Technologies”, Burgas, Bulgaria, 19-22 August 2022.
4. **Maria Anghelache**, Mariana Deleanu, Ruxandra Anton, Mihaela Turtoi, Geanina Voicu, Ileana Manduteanu, Maya Simionescu, Manuela Calin, Development of Biomimetic Nanocarriers for Delivery of Pro-Resolving Mediators to Atherosclerotic Plaque, “The 39th Annual Scientific Session of The Romanian Society for Cell Biology”, 21-23 October 2022.
5. **Maria Anghelache**, Mariana Deleanu, Ruxandra Anton, Mihaela Turtoi, Geanina Voicu, Ileana Manduteanu, Maya Simionescu, Manuela Calin, Specialized pro-resolving mediators (SPMs)-loaded Nanoemulsions as promising biomimetic nanocarriers for inflammation resolution, The 47th FEBS Congress, Tours, France, 8-12 July 2023.

PREMII OBTINUTE PE PERIOADA PROGRAMULUI DOCTORAL

1. **Medalie de Aur** – „Smart nanoparticle systems for cellular internalization”, Autori: Movileanu C., Fikai D, Fikai A., Calin M., Anghelache M., Gafencu A., Fundueanu-Constantin G., Pinteala M., Simionescu M., Andronescu E.; *Salonul Internațional de Invenții și Inovații "Traian Vuia"*, 12-14 octombrie 2021, Timișoara, România.
2. **Medalie de Aur** – „Smart nanoparticle systems for cellular internalization”, Autori: Movileanu C., Fikai D., Fikai A., Calin M., Anghelache M., Gafencu A., Fundueanu-Constantin G., Pinteala M., Simionescu M., Andronescu E.; *Expoziția Internațională de Cercetare Științifică, Inovare și Invenții "PRO INVENT" – Ediția a XIX-a*, 20-22 octombrie 2021, Cluj-Napoca, România.
3. **Medalie de Aur** – Invenții, soiuri de plante, design industrial: „Smart nanoparticle systems for cellular internalization”, Autori: Movileanu C., Fikai D., Fikai A., Calin M., Anghelache M., Gafencu A., Fundueanu-Constantin G., Pinteala M., Simionescu M., Andronescu E.; *Expoziția Internațională Specializată "INFOINVENT 2021" – Ediția a XVII-a*, 17-20 noiembrie 2021, Chișinău, Republica Moldova.

SPECIALIZĂRI ȘI CURSURI REALIZATE PE PERIOADA PROGRAMULUI DOCTORAL

1. Cursul „**Flow Cytometry Training School**”. Asociația Română de Citometrie, București, 14–15 decembrie 2020.
2. Al 9-lea Curs Internațional privind Animalele de Laborator (**FELASA**), Creta, Heraklion, mai–iunie 2023.
3. **Stagiu de cercetare CARDIOSCOPE** – „Comprehensive and personalized assessment of acute coronary syndrome by multiomic approach and artificial intelligence strategy”, HORIZON-MSCA-2021-SE-01, Multimedica, Milano, 12 martie – 11 aprilie 2025.

BURSE OBTINUTE PE PERIOADA PROGRAMULUI DOCTORAL

1. Bursă de doctorat: Academia Română (SCOSAAR): 2020-2025
2. Bursă participare la congresul FEBS (2023)

COLABORĂRI ÎN PROIECTE DE CERCETARE

1. **PN-II-P4-ID-PCE-2020-2465** – „Terapie direcționată bazată pe nanocarrieri biomimetici pentru rezoluția inflamației în ateroscleroză (NANORES)”, director de proiect Dr. Manuela Călin.
2. **PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-0697** – „Terapii inteligente pentru boli non-comunicabile, bazate pe eliberarea controlată de compuși farmacologici din celule încapsulate după manipulare genetică sau bionanoparticule vectorizate (INTERA)”, director proiect: Acad. Maya Simionescu, coordonator proiect component 3 “Nanobioparticule inteligente concepute pentru vectorizarea compușilor bioactivi pentru terapia inflamației vasculare”: Dr. Manuela Călin.
3. **PNRR-III-C9-2022-I8-CF93** – „Noi strategii nanoterapeutice care țintesc mecanismele implicate în tranziția fibroblast-miofibroblast pentru tratamentul fibrozei cardiace (HeartCure)”, director de proiect Dr. Rostyslav Billy, responsabil științific instituția gazdă Dr. Manuela Călin
4. **ERANET-NANOTECMEC-Ctr. nr. 92/2025** – „Nanovehicule pentru transportul Ago/antagomiR utilizate pentru imunoreglare: o posibilă abordare în tratamentul cancerului și transplantului pulmonar (SAIL)”, director de proiect Dr. Rostyslav Billy.
5. **H2020-EU.1.2.-AMD-861878-17 (2025)** – „Dezvoltarea unor amplificatori „inteligenti” ai speciilor reactive de oxigen, specifici pentru neutrofilele polimorfonucleare aberante, pentru tratamentul bolilor inflamatoare și autoimune, al cancerului și al mieloablației. (NeutroCure)”, director de proiect Prof. Dr. Andriy Mokhir.