

UNIVERSITATEA IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA  
FACULTATEA DE MEDICINĂ

**TEZĂ DE DOCTORAT**  
**- rezumat-**

**MODIFICĂRI ALE STATUSULUI IMUNOLOGIC CONSECINȚĂ A  
ÎMBĂTRÂNIRII FIZIOLOGICE**

**Conducător științific**  
**Prof. Dr. Victor Cristea**

**Doctorand**  
**Cristina-Sorina Cătană**

2011

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE.....</b>	<b>1</b>
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....</b>	<b>4</b>
AGING: Conceptul general de știință a vârstei.....	4
IMUNOSENESCENȚA: Paradoxul imunodeficienței și al inflamației cronice.....	5
Modificări hemato- și timopoietice, ale imunității nespecifice, umorale și celulare.....	7
Rolul citokinelor pro- și antiinflamatorii în aging.....	13
Rolul etiologic al hiperhomocisteinemiei în aging.....	17
Markeri genetici ai unui aging de succes.....	21
<b>CERCETĂRI PERSONALE.....</b>	<b>24</b>
1. OBIECTIVE GENERALE ȘI SPECIFICE.....	24
2. STUDIUL I: Evaluarea profilului citokinic în imunosenescență.....	25
I. OBIECTIVE.....	25
II. PACIENȚI ȘI METODE.....	25
III. REZULTATE.....	32
IV. DISCUȚII.....	43
V. CONCLUZII.....	46
3. STUDIUL II: Rolul Hiperhomocisteinemiei în Aging.....	48
I. OBIECTIVE.....	48
II. MATERIALE ȘI METODE.....	48
III. REZULTATE.....	53
IV. DISCUȚII.....	59
V. CONCLUZII.....	63
4. STUDIUL III: Mutații genetice implicate în aging-ul patologic și fiziologic.....	65
I. OBIECTIVE.....	65
II. PACIENȚI ȘI METODE.....	65
III. REZULTATE.....	75
IV. DISCUȚII.....	81
V. CONCLUZII.....	85
<b>DISCUȚII GENERALE.....</b>	<b>86</b>
<b>CONCLUZII GENERALE.....</b>	<b>90</b>
<b>ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE.....</b>	<b>91</b>
<b>ANEXE.....</b>	<b>92</b>
<b>REFERINȚE BIBLIOGRAFICE.....</b>	<b>96</b>

**Cuvinte- cheie:** aging, stres oxidativ, hiperhomocisteinemie, citokine

## **Introducere**

În ultimii ani, numărul de „seniori” tot mai mare presionează societatea și economia nu numai la nivel de individ sau familie, ci afectând întregul sistem de securitate socială care trebuie să suporte costuri suplimentare pentru îngrijirea acestora. Relevant mai ales în țările dezvoltate, aging-ul impune elaborarea unei adevărate strategii manageriale care să aibă ca obiective principale prelungirea vieții active, reducerea procentului de dizabilități, precum și stabilirea mecanismelor exacte ale involuției tisulare și organice legată de vârstă. În fața acestor probleme cu un impact medical semnificativ, se impune cunoașterea cât mai exactă a fenomenului în populația generală.

Imunosenescența este „cheia” aging- ului uman. Întreaga patologie asociată aging- ului se datorează inflamației cronice coordonată de stresul oxidativ și manifestată prin creșterea nivelului de citokine pro- inflamatorii, codate de gene activate de factorul de transcriere-kappa B, NF-kB (nuclear factor kappa B).

## **Scopul studiului**

În lucrarea de față ne-am propus studierea aging- ului în populația românească pornind de la trei puncte de „ control ”ale acestui proces și anume:

1. Inflamația, pasul inițial în dezvoltarea aterosclerozei, ATS [9].
2. Hiperhomocisteinemia, HHcy, ce apare cu vârsta, determinând modificări proinflamatorii și proaterosclerotice [10].
3. Polimorfismele genetice predictoare sau nu ale unui „aging de succes”[11].

## **Material și metodă**

S- au realizat trei studii de tip caz- control: două clinice și unul experimental pe animale:

- Studiul diagnostic de evaluare a profilului citokinic în imunosenescență a cuprins determinarea prin teste imunoenzimatic de tip ELISA (enzyme –linked imunoabsorbent assays) a nivelului seric de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 și IL-17 atât la pacienți cât și la martori.

- Modelul experimental de hiperhomocisteinemie a vizat stabilirea statusului oxidant și proinflamator la animalele vârstnice în comparație cu cele tinere, prin determinarea activității SOD (superoxid dismutazei), a GPx (glutation peroxidazei) prin tehnici biochimice specifice. Pentru evaluarea nivelului de IL-6 din ser s-a folosit tehnica imunoenzimatică ELISA.

- Ultimul studiu a constat în evaluarea markerilor genetici implicați în aging precum: polimorfismul I405V al proteinei de transfer a esterilor de colesterol, CETP (cholesteryl ester transfer protein), polimorfismul C677T al metilentetrahidrofolatreductazei, MTHFR și varianta funcțională a genei Klotho numită KL-VS. Genotiparea s- a realizat prin analiză moleculară,

folosind tehnica de digestie enzimatică a fragmentului amplificat, PCR-RFLP ( Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragments Length Polymorphism) ce presupus utilizarea enzimelor de restricție caracteristice. În general, valoarea markerilor inflamatori și a SNP (single nucleotide polymorphism) - urilor ca predictorii independenți ai procesului de ateroscleroză este controversată, iar variațiile lor trebuie interpretate în context clinic.

### **Infrastructura de cercetare**

1. Laboratorul de Genomică Funcțională, Proteomică și Patologie Experimentală al Institutului Oncologic, Cluj- Napoca- determinarea citokinelor serice prin metoda ELISA și a mutațiilor genetice prin PCR- RFLP. 2. Laboratorul de Analize Medicale al Clinicii Medicale III- determinări biochimice ale parametrilor serici. 3. Catedra de Biochimie Medicală- dozări enzimatică. 4. Catedra de Farmacologie Clinică- studiul experimental pe animale. 5. Laboratorul de Analize Medicale al Institutului Inimii.

### **Rezultate**

#### ***Profilul citokinic în imunosenescență***

Există diferențe semnificative statistic între cele două grupuri (pacienți și martori) în ceea ce privește nivelul seric de citokine pro- și anti- inflamatorii determinate și anume:

- Nivelul de IL- 17, de fosfatază alcalină, PAL și de colesterol Col este crescut semnificativ la pacienți față de martori;
- concentrația de IL- 17 este semnificativ crescută în prezența patologiei neuro- sau cardiovasculare, IL- 17 putând fi un biomarker pentru ATS; terapia cu anticitokine ar putea avea un rol deosebit în primele faze ale acestui proces;
- concentrațiile serice de IL- 1 $\beta$  și IL- 6 sunt crescute semnificativ la martori față de pacienți, fiind markeri ai „ Inflamm- Aging- ului ”;
- concentrația de IL- 10 este crescută semnificativ în lotul de control, ca dovadă a rolului antiaterogen.
- S- a stabilit o corelație moderată pozitivă între IL- 17 și PAL, corelație prezentă și în bolile autoimune precum spondilita ankilopoietică și ciroza biliară primitivă și o corelație negativă între IL- 1 $\beta$ , citokină proinflamatorie, proaterogenă și IL- 10, citokină antiinflamatorie și antiaterogenă.

▫ Nivelul de IL- 17 este crescut semnificativ la femei, între cele două grupe de vârstă (65- 75 și 75+) neremarcându- se diferențe.

▫ Concentrația de IL- 6 este scăzută semnificativ în prezența patologiei neuro- sau cardiovasculare, un rol având și patologia autoimună nediagnosticată;

### ***Rolul Hiperhomocisteiniei in Aging***

Rezultatele obținute indică faptul că există o asocierie clară între hiperhomocisteinemie, statusul proinflamator și stresul oxidativ, evidențiată direct prin dependența activității enzimatică a GPx și SOD de aging.

▫ Procesul inflamator generat de administrarea homocisteinei, Hcy a creat condițiile apariției stresului oxidativ. Hcy administrată exogen a indus o scădere semnificativă a concentrației de IL-6 la șobolani vârstnici, printr-un mecanism necunoscut. La tineri, nivelul de IL-6 a crescut, comparativ cu lotul martor, dar ne semnificativ statistic.

▫ Activitatea GPx a scăzut la ambele grupe de vârstă după administrarea Hcy, considerată a fi un mesager proinflamator eficient care poate activa diferite citokine prin creșterea stresului oxidativ, la șobolani tineri și vârstnici.

▫ Activitatea SOD eritocitară, marker al stresului oxidativ, a scăzut în ambele grupuri (tineri și vârstnici) după administrarea de Hcy chiar și după o durată de expunere scurtă. După cum ne-am așteptat, HHcy a modificat balanța antioxidantă prin generarea ROS, enzima fiind ținta anionului superoxid produs în exces.

### **Mutații genetice implicate în aging-ul fiziologic și patologic**

La vârstnicii din populația românească, prezența alelei T are efecte benefice, purtătorii heterozigoți ai alelei mutante fiind protejați de MI; mutația C677T nu a reprezentat un factor de risc pentru bolile coronariene, CHD și infarctul de miocard, MI în grupurile investigate și în altele similare.

▫ Genotipurile *CETP* pentru polimorfismul I405V au fost asociate cu o scădere ușoară a riscului de MI, purtătorii heterozigoți ai alelei mutante fiind protejați față de această patologie; homozigoții pentru alela normală dezvoltă mai ușor această patologie.

▫ Ar fi necesare studii care să stabilească valoarea (gradul) inhibiției *CETP* sau al *MTHFR* în scopul prevenirii bolilor coronariene.

▫ La etnicii caucazieni din zona Transilvaniei, cu vârsta cuprinsă între 65 și 90 ani, nu s-a stabilit nici o asocieră între varianta polimorfică a genei Klotho, KL- VS și CHD; se remarcă absența genotipului homozigot pentru alela mutantă în populația românească.

▫ Acest studiu antrenează nevoia de realizare a unor studii mai ample, realizate pe familii, pentru a demonstra impactul pe care SNP-urile le au asupra unei patologii atât de grave.

## **Concluzii**

1. IL- 17 ar putea fi considerată un nou biomarker proaterogenic
2. IL- 10 își confirmă încă o dată rolul antiaterogen
3. Hcy este un mesager proinflamator eficient care crează condițiile apariției stresului oxidativ, ilustrat direct prin dependența activităților enzimatică ale GPx și SOD de procesul de îmbătrânire.
4. Datele obținute ne permit să precizăm faptul că aging- ul este legat direct de stresul oxidativ și procesul inflamator.
5. La vârstnicii din populația românească, purtătorii heterozigoți ai alelelor mutante T pentru *MTHFR* și V pentru *CETP* au fost asociate cu scăderea ușoară a riscului pentru MI.
6. Conturarea unor noi biomarkeri precum și elucidarea mecanismelor implicate în aging vor permite dezvoltarea unor metode de investigare și intervenționale bazate pe imunogenomică și biologie celulară.

## **CURRICULUM VITAE**

Nume, prenume:	<b><i>Cătană Cristina-Sorina</i></b>
Data, locul nașterii:	20.11.1976, Tg-Jiu, România
Cetățenie:	română
Nationalité:	română
Stare civilă:	căsătorită
Adresa personală	407062 Suceag, 3/A, Baci, Cluj, România
Mobil:	0040 744 450 723
E-mail:	<a href="mailto:kristymed@yahoo.com">kristymed@yahoo.com</a>

### ***Ocupația actuală:***

Martie 2009- : Asistent Universitar la Disciplina de Biochimie Medicală, Dept.de Științe Moleculare, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hatieganu", Cluj-Napoca.

### **FORMARE :**

Octombrie 2010: Diploma de Medic Specialist Medicină de Laborator

26 februarie 2010: Stagiul *Séquencage et corrélations génotype-phénotype chez les patients roumains atteints de maladies lysosomales*, Institut Cochin, Paris, France susținut de AuF (Agenția Universitară a Francofoniei)

Noiembrie 2006- prezent : Doctorand în Imunopatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie “Iuliu Hatieganu”, Cluj-Napoca

3-14 april 2006: Stagiul *Outils Moléculaires et Epidémiologie de la Tuberculose*, Institut Pasteur, Paris, France

Februarie 2005- octombrie 2010: medic rezident în Medicină de Laborator, Spitalul Municipal, Cluj- Napoca

2003-2004: medic stagiar, Spitalul Județean Cluj-Napoca

2002-2003: Master în Farmacologie Clinică, Universitatea de Medicină și Farmacie “Iuliu Hatieganu”, Cluj-Napoca

1996-2002: Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie “Iuliu Hatieganu”, Cluj-Napoca

1991-1995: Liceul teoretic “Tudor Vladimirescu”, secția biologie-chimie, Tg-Jiu

## **COMPETENȚE LINGVISTICE**

Franceză: DALF

Engleză: B2

## **ACTIVITATE DE VOLUNTARIAT**

1998-1999: Paramedic activ II, Serviciul Mobil de Urgență și Reanimare (SMURD), Cluj-Napoca

## **ȘCOLI DE VARĂ**

2- 12 iulie 2006: Școala de Vară Națională. Genomica funcțională în terapia și biologia cancerului” Cluj-Napoca, România

5- 10 septembrie 2007: ”Allergy Summer School”, Cluj- Napoca, România

## **PROIECTE, CURSURI POSTUNIVERSITARE**

2007- 2010: Formator în cadrul programelor de formare- dezvoltare continuă a personalului didactic din învățământul preuniversitar:

◦ *Magister I : Consiliere și Orientare- Dezvoltarea Cognitiv- Emoțională și Prevenția Tulburărilor de Comportament la Elevi și Preșcolari*

◦ *Magister II: Intervenții Corective și de Optimizare a Competențelor de Control Cognitiv- Emoțional și de Orientare Vocațională a Elevului și Preșcolarului*

desfășurate prin Catedra de Psihologie a Universității ” Babeș- Bolyai”, Cluj- Napoca.

## ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ

### CONFERINȚE ȘI WORKSHOP- URI

**Cristina-Sorina POPESCU**, Radu POPP: ”Rezistența la antibiotice a tulpinilor bacteriene izolate din plăgi în Institutul Oncologic Cluj-Napoca în perioada iunie 1996- 1997”, Cluj-Napoca, 1997

Maria STOENOIU, **Cristina-Sorina POPESCU**: ”Bolile coronariene la femei”, Germania, 1997

Cristina SERSEA, **Cristina-Sorina POPESCU**: “Acțiunea cromoglicatului disodic în ulcerările rezerpinice gastrice acute la șobolani”, Cluj-Napoca, România, 2000

Emilian DOBRIN, **Cristina-Sorina POPESCU**: “Influența estradiolului asupra unor parametri morfometrici la șobolani”, Cluj-Napoca, România, 2000

**Cristina-Sorina POPESCU**: “The effect of beta2- adrenergic drugs in experimental hypertrophy”, Timisoara, 2002

**Cristina-Sorina CĂTANĂ**: “Specii bacteriene netuberculoase izolate pe perioada unui an din prelevatele patologice la pacienții cu boli pleuro- pulmonare”, Cluj-Napoca, 2005

**Cristina-Sorina CĂTANĂ**: “Rezistența la antibiotice a tulpinilor de Pseudomonas aeruginosa izolate din prelevatele patologice în laboratorul de pneumoftiziologie pe perioada unui an”, Cluj-Napoca, Roumanie, 2005

19- 21 mai 2005: Conferința națională de geriatrie și gerontologie: ”Îmbătrânire biologică- Îmbătrânire patologică”

**Cristina-Sorina CĂTANĂ**: Modifications of immunologic status as a consequence of the physiological aging process. Workshop: Functional Genomics and Proteomics. Goteborg, Sweden, 2008

Cristina Drugan, **Cristina-Sorina CĂTANĂ**, Tudor Drugan, Paula Grigorescu-Sido, Catherine Caillaud. Mutation analysis in Romanian Gaucher disease patients. J Inherit Metab Dis 2010; 33 (suppl): S1- S197 (abstract), Turkey

**Cătană CS**, Crăciun EC, Șandor V, Dronca M, Dronca E, Moldovan C, Berindan Neagoe I, Cristea V. The effect of acute homocysteine administration on superoxide dismutase activity in young and aged rats. International Conference on Food Chemistry, Engineering & Technology, Timișoara, 2011.

**Cătană CS**, Iancu M, Dronca E, Cristea V, Berindan Neagoe I. The polymorphism I405V, marker of a successful aging among the Romanian population. Conferința Națională de Imunologie, Timișoara, 2011.

2007- prezent: Membră a Academiei de Alergologie și Imunologie Clinică, EAACI ( European Academy of Allergy and Clinical Immunology).



## ARTICOLE PUBLICATE

**Cătană C**, Popa R, Trîmbițaș S, Mesyaros I, Krausz LT, Sandor V. Inefficacy of Butoxamine in Cardiac Hypertrophy by Isoprenaline in Mice. *Timișoara Medical Journal* 2008; 58: 141- 146.

Popa R, Goșa D, **Cătană C**, Sandor V. Gadopentetate Interactions with Sodium Glutamate in Centrogenic Arrhythmia in Rats. *Timișoara Medical Journal* 2008; 58: 225-257.

Șandor C, Cristea V, **Cătană C**, Schiotis R, Șandor V. Interferențe molecule de adeziune-fumarați. *Medicina Modernă* 2009; vol 16 (suppl.1): 182- 183.

Palaghiță- Baniás L, Major Z, **Cătană C**, Krausz TL, Șandor V. Terapia cu fumarați în scleroza multiplă. *Medicina Modernă* 2009; vol 16 (suppl.1): 182- 183.

**Cătană CS**, Cristea V. Modificări ale statusului imunologic la vârstnici. *Clujul Medical* 2009; 82(2):177- 180.

**Cătană CS**, Berindan Neagoe I, Cristea V. Cytokine Profile in Immunosenescence. *Biology and Therapy of Cancer Cell*. 2009; 1: 36- 44.

**Cătană CS**, Crăciun EC, Dronca M, Cristea V, Gherman C, Krausz TL et al. Inflammation and Oxidative Stress in Young and Aged Rats after Acute Homocysteine Administration. *Applied Medical Informatics* 2011; 28 ( 2 ): 15- 21.

**Cătană CS**, Crăciun EC, Șandor V, Dronca M, Dronca E, Moldovan C, Berindan Neagoe I, Cristea V. The effect of acute homocysteine administration on superoxide dismutase activity in young and aged rats. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, in press.

**Cătană CS**, Cristea V, Miron N, Berindan Neagoe I. Is Interleukin -17 a Proatherogenic Biomarker? *Romanian Archives of Microbiology and Immunology*, in press.

**Cătană CS**, Drugan C, Spânu C, Puech JP, Catherine Caillaud C. Identification of three novel mutations in Romanian patients with Fabry disease. *Revista Română de Medicină de Laborator*, in press.

### Cărți publicate la edituri acreditate CNCS:

1. **Cătană CS**, Olteanu I. Receptorii nucleari și reglarea transcrierii. Editura Academică Brâncuși. Târgu- Jiu 2011
2. **Cătană CS**, Berindan-Neagoe I, Cristea V. Aging- ul Sistemului Imun. Editura Academică Brâncuși. Târgu- Jiu 2011
3. **Cătană CS**, Berindan- Neagoe I, Cristea V. Aging and Immunity. Lambert Academic Publishing. Saarbrücken, Germany, in press.

2007- present: Membră a Academiei de Alergologie și Imunologie Clinică, EAACI ( European Academy of Allergology and Clinical Immunology).

## Memoriu de activitate

Subsemnata **Cătană Cristina- Sorina** mi- am început studiile doctorale în 2006 sub conducerea Prof. Univ. Dr. Victor Cristea, Disciplina de Imunologie, Clinica Medicală III și a doamnei Șef de Lucrări Dr Ioana Berindan Neagoe, Laboratorul de Genomică Funcțională, Proteomică și Patologie Experimentală al Institutului Oncologic, Cluj- Napoca unde mi-am desfășurat cea mai mare parte a activității de cercetare. Am beneficiat de sprijinul domnului Prof. Dr. Vlaicu Șandor și a domnului Șef de Lucrări Dr. Tibor Ludovic Krausz din cadrul Disciplinei de Farmacologie Clinică. Nu în ultimul rând, în activitatea de cercetare m-au ajutat doi colegi deosebiți din cadrul Disciplinei de Biochimie Farmaceutică, doamna Șef de Lucrări Dr. Cristina Crăciun, iar din partea Disciplinei de Genetică Medicală Asist. Univ. Eleonora Dronca. În legătură cu studiul de genetică, doresc să amintesc numele domnului Dr Mihai Aldica, șeful Laboratorului de Analize Medicale al Institutului Inimii, fără de care cercetarea nu ar fi fost posibilă. Partea de statistică a beneficiat de sprijinul domnului Conf. Dr. Tudor Drugan și al doamnei Asist. Univ. Mihaela Iancu de la Disciplina de Bioinformatică. Alți colaboratori au fost: doamna Conf.Dr. Cristina Drugan, doamna Șef de Lucrări Dr Lucia Procopciuc, doamna Conf. Dr. Maria Dronca de la Disciplina de Biochimie Medicală.

Primul an de cercetare a avut ca studiu imunosenescența concretizată prin prezentarea unei lucrări la un workshop de genomică funcțională în Goteborg, Suedia. Tot acum s-a început constituirea loturilor de studiu în vederea realizării studiilor de stabilire a profilului citokinic și a polimorfismelor genetice în populația românească. În anul al doilea apar două articole despre aging-ul fiziologic și patologic și se concretizează studiul experimental pe animale. În ultimul an se finalizează celelate două studii de dozare a citokinelor și de evidențiere a polimorfismelor genetice la vârstnici, iar o parte din rezultatele obținute sunt prezentate sub forma a două postere în cadrul unei conferințe internaționale și a uneia naționale de Imunologie. Anul se încheie cu finalizarea tezei de doctorat.

Rezultatele activității de cercetare s-au concretizat cu apariția a cinci articole publicate în extenso și a două cărți dintre care una apărută la o editură recunoscută CNCS și a doua în curs de publicare la o editură germană.

IULIU HAȚIEGANU UNIVERSITY  
CLUJ-NAPOCA  
FACULTY OF MEDICINE

**DOCTORAL THESIS**  
**- summary -**

**CHANGES OF THE IMMUNOLOGIC STATUS, A CONSEQUENCE OF THE  
PHYSIOLOGICAL AGEING**

**Scientific coordinator**  
**Prof. Dr. Victor Cristea**

**Ph.D. candidate**  
**Cristina-Sorina Cătană**

2011

# CONTENT

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>CURRENT KNOWLEDGE STATUS.....</b>	<b>4</b>
AGING: The general concept of age science.....	4
IMMUNOSENESCENCE:	
The paradox of immunodeficiency and of the chronic inflammation.....	5
Hemato- and thymopoietic changes of the non-specific, humoral and cellular immunity.....	7
The role of pro- and anti-inflammatory cytokines in aging.....	13
The etiologic role of hyperhomocysteinemia in aging.....	17
Genetic markers of a successful aging.....	21
<b>PERSONAL RESEARCHES.....</b>	<b>24</b>
5. GENERAL AND SPECIFIC OBJECTIVES.....	24
6. STUDY I: The evaluation of the cytokine profile in immunosenescence.....	25
I. OBJECTIVES.....	25
II. PATIENTS AND METHODS.....	25
III. RESULTS.....	32
IV. DISCUSSIONS.....	43
V. CONCLUSIONS.....	46
7. STUDY II: The role of Hyperhomocysteinemia in Aging.....	48
I. OBJECTIVES.....	48
II. MATERIALS AND METHODS.....	48
III. RESULTS.....	53
IV. DISCUSSIONS.....	59
V. CONCLUSIONS.....	63
8. STUDY III:	
Genetic mutations implied in the pathological and physiological aging.....	65
I. OBJECTIVES.....	65
II. PATIENTS AND METHODS.....	65
III. RESULTS.....	75
IV. DISCUSSIONS.....	81
V. CONCLUSIONS.....	85
<b>GENERAL DISCUSSIONS.....</b>	<b>86</b>
<b>GENERAL CONCLUSIONS.....</b>	<b>90</b>
<b>THE ORIGINALITY AND THE INNOVATIVE CONTRIBUTIONS.....</b>	<b>91</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>92</b>
<b>BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES.....</b>	<b>96</b>

**Key-words:** ageing, oxidative stress, hyperhomocysteinemia, cytokines

## **Introduction**

In the past years, the ever larger number of “seniors” have beseted the society and the economy not only at individual or family level, but also affecting the entire social security system which has to bear supplemental costs for their care. The ageing, relevant especially within developed countries, imposes the elaboration of a real managerial strategy with main objectives aiming at the prolongation of the active life, the reduction of the disabilities percentage, as well as the establishing of the exact mechanisms of the age related tissular and organic involution. Facing these problems with significant medical impact, one requires to know the phenomenon, as exactly as possible, among the general population.

The immunosenescence is the “key” of the human ageing. The entire ageing associated pathology is caused by the chronic inflammation coordinated by the oxidative stress and manifested by the increase of the level of pro-inflammatory cytokines, coded by genes activated by the kappa B, NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B) transcription factor.

## **The Purpose of the Study**

We aim, within the present work, to study the ageing among the Romanian population starting from three “control” points of this process, namely:

4. The inflammation, the initial step in the development of atherosclerosis, ATS [9].
5. The hyperhomocysteinemia, HHcy, which appears with age, determining pro-inflammatory and proatherosclerotic changes [10].
6. The genetic polymorphisms predictive or non-predictive of a “successful ageing” [11].

## **Material and Method**

One elaborated three case-control type studies: two clinical ones and an experimental one on animals:

- The diagnosis study of evaluating the cytokine profile in immunosenescence comprised the determination, through ELISA (enzyme –linked immunoabsorbent assays) type immunoenzymatic tests of the serum level of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 and IL-17 both with patients and with witnesses.

- The hyperhomocysteinemia experimental model aimed at establishing the oxidant and pro-inflammatory status with old animals in comparison with the young ones, by determining the SOD (superoxide dismutase), GPx (glutathione peroxidase) activity by specific biochemistry

techniques. One used the ELISA immunoenzymatic technique in order to evaluate the level of IL-6 of the serum.

◦ The last study consisted in evaluating the genetic markers which are implied in ageing, such as: the I405V polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein (CETP), the C677T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR and the functional variant of the Klotho gene named KL-VS. The genotyping was performed by molecular analysis, one using the technique of enzymatic digestion of the amplified fragment PCR-RFLP ( Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragments Length Polymorphism) which implied using the characteristic restriction enzymes. Generally speaking, the value of the inflammatory markers and of SNPs (single nucleotide polymorphisms), as independent predictors of the atherosclerosis process, is controversial, and their variations must be interpreted within clinical context.

### **The Research Infrastructure**

1. The Laboratory of Functional Genomics, Proteomics and Experimental Pathology of the Oncological Institute, Cluj-Napoca – the determination of the serumal cytokins by ELISA method and of the genetic mutations by PCR- RFLP. 2. The Tests Laboratory of the Medical Clinic III – biochemical determinations of the serumal parametres. 3. The Medical Biochemistry Department – enzymatic dosings. 4. The Clinical Pharmacology Department – experimental study on animals.

### **Results:**

#### **The Cytokine Profile in Immunosenescence**

There are statistically significant differences between the two groups (patients and witnesses) as far as the serumal level of determined pro- and anti-inflammatory cytokins is regarded, namely:

▫ The IL-7 level of alkaline phosphatase, PAL and of cholesterol Col is significantly high with patients in comparison with the witnesses' one;

▫ the IL-7 concentration is significantly high in the presence of the neuro- or cardiovascular pathology, a context in which IL-7 can be a biomarker for ATS; the therapy with anticytokins could have a special role within the first phases of this process;

▫ the IL- 1 $\beta$  and IL- 6 serumal concentrations are significantly high with witnesses in comparison with the patients' ones, being markers of "Inflamm- Ageing";

▫ the IL-10 concentration is significantly high with the control group, as a proof of the antiatherogen role.

▫ One established a moderate positive correlation between IL-7 and PAL, a correlation which is present in the autoimmune diseases as well, such as ankylopoietic spondylitis and primitive billiary cirrhosis and a negative correlation between IL- 1 $\beta$ , pro-inflammatory cytokin and IL-10, anti-inflammatory and antiatherogen cytokin.

▫ The IL-17 level is significantly high with women, one observing no differences between the two age groups (65-75 and 75+).

▫ The IL-6 concentration is significantly low in the presence of the neuro- or cardiovascular pathology, the undiagnosed autoimmune pathology having a role as well;

### ***The Role of Hyperhomocysteinemia in Ageing***

The obtained results indicate the fact that there is a clear association between hyperhomocysteinemia, the pro-inflamamtory status and the oxidative stress, directly highlighted by the dependence of the enzymatic activity of GPx and SOD on ageing.

▫ The inflammatory process generated by the administration of homocysteine, Hcy created the conditions of the occurrence of the oxidative stress. Exogenously administered, Hcy caused a significant decrease of the IL-6 concentration with adult rats, by an unknown mechanism. With youths, the IL-6 level increased, in comparison with the one of the witness group, but statistically insignifiantly.

▫ The GPx activity dropped/decreased with both age groups after one administrated them Hcy, considered an efficient pro-inflammatory messenger which can activate different cytokins by the increase of the oxidative stress, with the young and adult rats.

▫ The eritrocitary SOD activity, marker of the oxidative stress, dropped/decreased within both groups (youths and adults) after the administration of Hcy, even after a duration of short exposure. As we expected, Hcy modified the antioxidant balance by generating ROS, the enzyme being the target of the superoxide anion produced excessively.

### **Genetic Mutations Implied in the Physiological and Pathological Ageing**

With the old people of the Romanian population, the presence of the T allele has beneficent effects, the heterozygote bearers of the mutant allele being protected by MI; the C677T mutation did not represent a risk factor for the coronary diseases, CHD and myocardial infarction, MI in the investigated groups and in other similar ones.

▫ The *CETP* genotypes for the I405V polymorphism were associated with a slight decrease of the MI risk, the heterozygote bearers of the mutant allele being protected against this pathology; the homozygotes for the normal allele develop this pathology more easily.

▫ Studies would be necessary in which one should establish the value (the degree) of the *CETP* or *MTHFR* inhibition with the purpose of preventing the coronary diseases.

▫ With the caucasian people of the Transilvania area, with the age between 65 and 90 years, one established no association between the polymorphic variant of the *Klotho*, *KL-VS* and CHD gene; one observes the absence of the homozygote genotype for the mutant allele with the Romanian population.

▫ This study involves the need of elaborating more ample studies on families, in order for one to demonstrate the impact that SNPs have on such a severe pathology.

## **Conclusions**

1. IL- 17 could be considered a new pro-atherogenic biomarker.
2. IL- 10 confirms the anti-atherogenic role once again.
3. Hcy is an efficient pro-inflammatory messenger which generates the conditions of the occurrence of the oxidative stress, directly illustrated by the dependence of the enzymatic activities of GPx and SOD on the ageing process.
4. The obtained data allow us to specify the fact that the ageing is directly related to the oxidative stress and the inflammatory process.
5. With the old people of the Romanian population, the heterozygote bearers of the T mutant alleles for *MTHFR* and V for *CETP* have been associated with the slight decrease of the risk for MI.
6. Outlining new biomarkers, as well as elucidating the mechanisms which are implied in the ageing will allow one to develop some investigation and interventional methods based on immunogenomics and cellular biology.

## **CURRICULUM VITAE**



Name, first name: **Cătană Cristina-Sorina**  
Birth date and place: the 20<sup>th</sup> of November 1976, Tg-Jiu, Romania  
Citizenship: Romanian  
Nationality: Romanian  
Conjugal status: Married  
Personal address: 407062 Suceag, 3/A, Baci, Cluj, Romania  
Mobile: 0040 744 450 723  
E-mail: [kristymed@yahoo.com](mailto:kristymed@yahoo.com)

***Current employment:***

March 2009- : Assistant lecturer of Medical Biochemistry Subject, Department of Molecular Medicine, “Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca.

**EDUCATION**

October 2010: Diploma of Laboratory Medicine Specialist Doctor

the 1<sup>st</sup>- the 26<sup>th</sup> of February 2010: Training course *Séquencage et corrélations génotype-phénotype chez les patients roumains atteints de maladies lysosomales*, Institute Cochin, Paris, France sustained by AuF

November 2006- : Ph.D. candidate in Immunopathology “Iuliu Hatieganu” University of Medicine and Pharmacy , Cluj-Napoca.

the 3<sup>rd</sup>-the 14<sup>th</sup> of April 2006 : Training Course *Outils Moléculaires et Epidémiologie de la Tuberculose*, Institut e Pasteur, Paris, France

February 2005- October 2010: resident physician in Laboratory Medicine, Municipal Hospital, Cluj- Napoca

2003-2004: junior doctor, County Hospital Cluj-Napoca

2002-2003: Master Degree in Clinical Pharmacology, “Iuliu Hatieganu” University of Medicine and Pharmacy , Cluj-Napoca.

1996-2002: Faculty of Medicine, “Iuliu Hatieganu” University of Medicine and Pharmacy , Cluj-Napoca.

1991-1995: Theoretical High-School “Tudor Vladimirescu”, Biology-chemistry section, Tg-Jiu

**LINGUISTIC PROFICIENCY**

French: DALF

English: B2

2007- Member of the Academy of Allergology and Clinical Immunology EAAC (European Academy of Allergology and Clinical Immunology).

**VOLUNTARIATE ACTIVITY**

1998-1999: Active Paramedic II, The Emergency and Reanimation Mobile Service (ERMS), Cluj-Napoca

## SUMMER SCHOOLS

the 19<sup>th</sup>-the 21<sup>st</sup> of May 2005: the national Conference of Geriatrics and Gerontology: "Biological ageing-Pathological ageing"

the 2<sup>nd</sup>-the 12<sup>th</sup> of July 2006: The National Summer School. The functional genomics in the therapy and the biology of cancer" Cluj-Napoca, Romania

the 5<sup>th</sup>- the 10<sup>th</sup> of September 2007: "Allergy Summer School", Cluj- Napoca, Romania

## PROJECTS, POSTUNIVERSITARY COURSES

2007- 2010: Formator within the formation programmes-continuous development of the didactic personnel of the preuniversity education:

- *Magister I : Counselling and Orientation-The Cognitive-Emotional Development and the Prevention of the Behaviour Disorders with Pupils and Children under school age*
- *Magister II: Corrective and Improvement Interventions of the Competences of Cognitive-Emotional and Vocational Orientation Control of the Pupil and of the Child under school age*

carried on through the Psychology Department of the " Babes- Bolyai" University, Cluj- Napoca.

## SCIENTIFIC ACTIVITY

### CONFERENCES AND WORKSHOPS

**Cristina-Sorina POPESCU**, Radu POPP:"Antibiotics resistance of the isolated bacterial strains from wounds within the Oncological Institute Cluj-Napoca during the period 1996-1997" , Cluj-Napoca, 1997

Maria STOENOIU, **Cristina-Sorina POPESCU**:"Coronary diseases with women", Germany, 1997

Cristina SERSEA, **Cristina-Sorina POPESCU**:" The action of the disodium cromoglycate in the acute gastric resection ulcerations with rats", Cluj-Napoca, Romania, 2000

Emilian DOBRIN, **Cristina-Sorina POPESCU**: "The influence of the estradiol on some morphometrical parameters with rats" Cluj-Napoca, Romania, 2000

**Cristina-Sorina POPESCU**: "The effect of beta2- adrenergic drugs in experimental hypertrophy", Timisoara, 2002

**Cristina-Sorina CĂTANĂ**: "Non-tuberculous bacterial species isolated for one year from the pathological samples drawn with patients with pleuro-pulmonary diseases" Cluj-Napoca, 2005

**Cristina-Sorina CĂȚANĂ:** “Antibiotics resistance of the Pseudomonas aeruginosa strains isolated from the pathological samples drawn within the pneumoftisiology laboratory for one year” Cluj-Napoca, Romania, 2005

**Cristina-Sorina CĂȚANĂ:** Changes of immunologic status as a consequence of the physiological ageing process. Workshop: Functional Genomics and Proteomics. Goteborg, Sweden, 2008

Cristina Drugan, **Cristina-Sorina CĂȚANĂ**, Tudor Drugan, Paula Grigorescu-Sido, Catherine Caillaud. Mutation analysis in Romanian Gaucher disease patients. J Inherit Metab Dis 2010; 33 (suppl): S1- S197 (abstract), Turkey

Cătană CS, Crăciun EC, Sandor V, Dronca M, Dronca E, Moldovan C, Berindan Neagoe I, Cristea V. The effect of acute homocysteine administration on superoxide dismutase activity in young and aged rats. International Conference on Food Chemistry, Engineering & Technology, Timisoara, 2011.

Cătană CS, Iancu M, Dronca E, Cristea V, Berindan Neagoe I. The polymorphism I405V, marker of a successful ageing among the Romanian population. The National Immunology Conference, Timisoara, 2011.

## **PUBLISHED ARTICLES**

Cătană C, Popa R, Trîmbișas S, Mesyaros I, Krausz LT, Sandor V. Inefficacy of Butoxamine in Cardiac Hypertrophy by Isoprenaline in Mice. Timisoara Medical Journal 2008; 58: 141- 146.

Popa R, Gosa D, Cătană C, Sandor V. Gadopentetate Interactions with Sodium Glutamate in Centrogenic Arrhythmia in Rats. Timisoara Medical Journal 2008; 58: 225-257.

Sandor C, Cristea V, Cătană C, Schiotis R, Sandor V. Adhesions-fumarates molecules interferences. Modern Medicine 2009; vol 16 (suppl.1)182- 183.

Palaghiță- Baniás L, Major Z, Cătană C, Krausz TL, Sandor V. Fumarates therapy for multiple sclerosis. Modern Medicine 2009 ; vol 16 (suppl.1): 182- 183.

Cătană CS, Cristea V. Changes of the immunological status with the adults. The Medical Cluj 2009;82(2):177- 180.

Cătană CS, Berindan Neagoe I, Cristea V. Cytokine Profile in Immunosenescence. Biology and Therapy of Cancer Cell. 2009; 1: 36-44.

Cătană CS, Crăciun EC, Dronca M, Cristea V, Gherman C, Krausz TL et al. Inflammation and Oxidative Stress in Young and Aged Rats after Acute Homocysteine Administration. Applied Medical Informatics 2011; 28 ( 2 ): 15- 21.

Cătană CS, Crăciun EC, Sandor V, Dronca M, Dronca E, Moldovan C, Berindan Neagoe I, Cristea V. The effect of acute homocysteine administration on superoxide dismutase activity in young and aged rats. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, in press.

Cătană CS, Cristea V, Miron N, Berindan Neagoe I. Is Interleukin -17 a Proatherogenic Biomarker? Romanian Archives of Microbiology and Immunology, in press.

Cătană CS, Drugan C, Spânu C, Puech JP, Catherine Caillaud C. Identification of three novel mutations in Romanian patients with Fabry disease. The Romanian Magazine of Laboratory Medicine, in press.

### **Books published at NCSR (National Council of Scientific Research) accredited publishing houses**

1. Cătană CS, Olteanu I. The Nuclear Receptors and the Regulation of the Transcription. The Academical Publishing House Brâncuși. Târgu- Jiu 2011
2. Cătană CS, Berindan-Neagoe I, Cristea V. The Ageing of the Immune System. The Academical Publishing House Brâncuși. Târgu- Jiu 2011
3. Cătană CS, Berindan- Neagoe I, Cristea V. Ageing and Immunity. Lambert Academic Publishing. Saarbrücken, Germany, in press.

### **Activity report**

The undersigned, Cătană Cristina-Sorina, I began my doctoral studies in 2006 under the guidance of Prof. Dr. Victor Cristea, the Immunology Subject, Medical Clinic III and of Mrs. Dr. Ioana Berindan Neagoe, Head of Works, the Functional Genomics, Proteomics and Experimental Pahtology Laboratory of the Oncological Institute, Cluj-Napoca where I carried out most of my research activity. I benefited from the support of Prof. Dr. Vlaicu Sandor and of Mr. Dr. Tibor Ludovic Krausz, Head of Works, within the Clinical Pharmacology Subject. Last but not least, two special coleagues helped me with my research activity: Mrs. Dr. Cristina Crăciun, Head of Works, within the Subject of Pharmaceutic Biochemistry and Assistant Lecturer Eleonora Dronca within the Medical Genetics Subject. The part of statistics benefited from the support of Mr. Reader Dr. Tudor Drugan and of Mrs. Assistant Lecturer Mihaela Iancu within the Bioinformatics Subject. Others collaborators were: Mrs. Reader Dr. Cristina Drugan, Mrs. Dr. Lucia Procopciuc, Head of Works, Mrs. Reader Dr. Maria Dronca within the Medical Biochemistry Subject.

The first year of research studied the immunosenescence materialized by the presentation of a work within a workshop of functional genomics in Goteborg, Sweden. During the same year, one began the constitution of the work groups with the purpose of elaborating the studies of establishing the cytokine profile and the genetic polymorphisms within the Romanian population. One published two articles, within the second year of research, on the pshysiological and pathological ageing and one materialized the experimental study on animals. The other two studies on cytokines dosing and of highlighting the genetical polymorphisms with the adults ended in the last year, and part of the obtained results was presented under the form of two

posters within an international conference and a national one of Immunology. The year ended with finishing the doctoral thesis.

The results of the activity research materialized with five articles which were published in extenso and with two books one of which was published by a NCSR recognized publishing house and the second one is about to be published by a German publishing house.