

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
Departamentul III Științe Funcționale**

AVRAM VLAD-FLORIAN



REZUMAT

**DISFUNCTIA MITOCONDRIALĂ ASOCIATĂ TERAPIEI CU
STATINE: NOI ASPECTE PATOGENICE ȘI ȚINTE
TERAPEUTICE**

Coordonator științific:

PROF. UNIV. DR. MUNTEAN MIRELA-DANINA

Coordonator științific în cotutelă:

PROF. UNIV. DR. TIMAR ROMULUS-ZORIN

**Timișoara
2021**

CUPRINS

LISTA PUBLICAȚIILOR	V
LISTA ABREVIERILOR	VI
INDEXUL FIGURILOR	VIII
INDEXUL TABELELOR.....	XII
MULȚUMIRI.....	XIII
INTRODUCERE.....	XV

PARTEA GENERALĂ – REVIEW AL LITERATURII

1. Mitocondriile.....	1
1.1. Structura și funcțiile mitocondriilor.....	1
1.2. Disfuncția mitocondrială.....	6
2. Statinele și mitocondriile	8
2.1. Mecanisme de acțiune.....	8
2.2. Efectele adverse induse de statine.....	9
2.3. Metabolismul statinelor	14
2.4. Disfuncția mitocondrială indusă de statine	16
3. Diabetul zaharat și mitocondriile	22
3.1. Fiziopatologia diabetului zaharat	22
3.2. Disfuncția mitocondrială indusă de diabet.....	23

PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚII PERSONALE

1. Caracteristicile studiului	28
1.1. Motivația tezei	28
1.2. Obiective	28
1.3. Material și metode.....	29
2. Efectele mitocondriale ale expunerii acute la statine și posibilități de tratament	36
2.1. Contribuții privind disfuncția mitocondrială indusă de statine la nivelul trombocitelor umane	36
2.2. Contribuții privind reducerea respirației mitocondriale NADH-linkate indusă de statine la nivelul trombocitelor umane.....	41
2.3. Ameliorarea disfuncției mitocondriale acute induse de statine la nivelul trombocitelor umane cu ajutorul succinatului permeabil celular.....	43
2.4. Ameliorarea disfuncției mitocondriale acute induse de statine la nivelul liniei celulare HepG2 cu ajutorul succinatului permeabil celular	49
2.5. Compararea disfuncției mitocondriale acute induse de statine la nivelul trombocitelor umane vs. linia celulară HepG2.....	58

2.6. Discuții privind efectele expunerii acute la statine asupra respirației mitocondriale	61
3. Efectele mitocondriale ale tratamentului cronic cu statine și posibilități noi de creștere a respirației mitocondriale la pacienții cu diabet zaharat	69
3.1. Efectele tratamentului cronic cu statine asupra respirației mitocondriale la nivelul trombocitelor intacte izolate de la pacienți cu diabet zaharat tip 2	69
3.2. Efectele tratamentului cronic cu statine asupra respirației mitocondriale la nivelul trombocitelor permeabilizate izolate de la pacienți cu diabet zaharat tip 2	75
3.3. Compararea parametrilor respirației mitocondriale trombocitare la pacienții cu diabet zaharat tip 2 vs voluntarii sănătoși	82
3.4. Îmbunătățirea parametrilor respirației mitocondriale la pacienții cu diabet zaharat tip 2 tratați cronic cu statine cu ajutorul un succinat permeabil celular.....	87
3.5. Discuții privind modificările respirației mitocondriale la pacienți cu diabet zaharat tip 2 tratați cronic cu statine	93
4. Discuții generale	97
CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE.....	99
REFERINȚE	102
ANEXE	I

Cuvinte cheie: disfuncție mitocondrială, trombocite, linia celulară HepG2, respirometrie de înaltă rezoluție, statine, succinat permeabil celular (NV118), diabet zaharat.

I. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Diabetul zaharat reprezintă un grup de afecțiuni metabolice care actual îmbracă un caracter de pandemie la nivel mondial. Federația Internațională de Diabet estima că anul 2019 existau în lume aproximativ jumătate de miliard de persoane diagnosticate cu diabet zaharat iar numărul acestora va crește cu 50% în următorii 25 de ani. Este important de precizat faptul că toate previziunile Federației Internaționale de Diabet legate de creșterea numărului de cazuri, în timp, au fost subestimate. Severitatea maladiei este legată de dublarea riscului cardiovascular în mare parte consecința prezenței constante la acești pacienți a unei dislipidemii intens aterogene caracterizată prin formarea particulelor de LDL-colesterol mici și dense.

Statinele reprezintă medicația hipolipemiantă de elecție, iar ghidurile actuale recomandă, în cazul pacienților diabetici, tratamentul cu statine potente în doza maximă permisă sau tolerată. Aderența la tratamentul cu statine este însă grevată, la unii pacienți, de riscul apariției la doze mari, a efectelor secundare, în special a simptomelor musculare asociate tratamentului cu statine, cea mai severă (dar rară) formă fiind rabdomioliza.

Disfuncția mitocondrială este unanim acceptată actual drept un mecanism fiziopatologic central deopotrivă al patogenezei diabetului zaharat (producția insulinei la nivelul celulelor β -pancreatice fiind strict dependentă de funcția mitocondrială) cât și a complicațiilor bolii și totodată a efectelor secundare ale terapiei cu statine. Una dintre principalele funcții mitocondriale alterate este cea respiratorie, reducerea respirației mitocondriale NADH-linkate, respectiv indusă prin disfuncția complexului I al lanțului respirator (NADH dehidrogenaza), fiind unul dintre cele mai frecvent incriminate.

Disfuncția mitocondrială respiratorie la nivelul elementelor figurate prelevate din sângele periferic, în principal trombocite, a devenit în ultimul deceniu un biomarker periferic capabil să reflecte disfuncția mitocondrială de organ în cadrul mai multor patologii acute și cronice.

Scopul studiului doctoral a constat în investigarea, cu ajutorul respirometriei de înaltă rezoluție, a efectelor acute (dependente de doză) ale statinelor asupra respirației mitocondriale la nivelul trombocitelor izolate de la voluntari sănătoși și respectiv, a celor cronice la nivelul trombocitelor prelevate de la pacienții cu diabet zaharat de tip 2 tratați cu statine. În ambele condiții, a fost evaluată proprietatea succinatului permeabil celular (NV118), un compus de tip „prodrug” (pus la dispoziție prin generozitatea Prof. Eskil Elmer de la Universitatea din Lund, Suedia), de a îmbunătăți respirația mitocondrială.

Obiectivele cercetării au fost următoarele:

- 1. Caracterizarea efectului administrării acute a diferite statine asupra respirației mitocondriale la nivelul trombocitelor prelevate de la voluntari sănătoși precum și la nivelul unei linii celulare de hepatocite.**
- 2. Evaluarea capacității succinatului permeabil celular de a ameliora disfuncția mitocondrială respiratorie acută indusă la nivel plachetar prin expunerea la concentrații progresiv crescătoare de statine.**
- 3. Caracterizarea disfuncției mitocondriale respiratorii la nivelul trombocitelor izolate de la pacienții cu diabet zaharat de tip 2 tratați cronic cu statine.**

4. **Evaluarea capacității succinatului permeabil celular de a îmbunătăți respirația mitocondrială a trombocitelor izolate de la pacienții cu diabet zaharat tip 2 și tratați cu statine**, ca metodă inovativă potențială de a ameliora disfuncția mitocondrială în context clinic.

II. Caracterizarea disfuncției mitocondriale *acute* induse de statine la nivelul trombocitelor umane

Efectele administrării acute *in vitro* asupra respirației mitocondriale a trombocitelor izolate de la voluntari sănătoși, a trei statine, simvastatină, atorvastatină și cerivastatină (ultima retrasă de pe piață datorită toxicității musculare) au fost evaluate prin tehnica respirometriei de înaltă rezoluție. Inițial, statinele s-au titrat în concentrații progresiv crescătoare *vs* volumul corespunzător de solvent (DMSO) și s-a determinat consumul de oxigen, cu evidențierea alterării dependente de doză a respirației mitocondriale (Fig. 1A). Pentru a localiza defectul indus de cele trei statine la nivelul lanțului respirator mitocondrial, într-un alt set de experimente, trombocitele au fost permeabilizate (cu digitonină) și expuse la 3 concentrații diferite (40, 80 și 160 μM) de statine (*vs* DMSO ca și control). Cele trei statine scad capacitatea totală fosforilantă (OXPHOS, Fig. 1B), capacitatea totală a transportului de electroni (ET - electron transport, Fig. 1C), în principal prin scăderea respirației dependente de NADH - complexul I (CI) al lanțului respirator (Fig. 1D). Simvastatina determină, în plus față de atorvastatină și cerivastatină și afectarea respirației mitocondriale dependente de succinat, respectiv de complexul II (CII) respirator (Fig. 1E).

Pe lângă efectul direct de inhibiție a sistemului transportor de electroni (a fosforilării oxidative notate OXPHOS), atorvastatina și cerivastatina (dar nu și simvastatina) interferează cu producția de ATP prin creșterea respirației nonfosforilante (notată cu LEAK, Fig. 1F). Pentru a confirma încă o dată (indirect) interferarea cu producția de ATP de către cele 3 statine, au fost calculate 2 rapoarte: eficiența capacității de fosforilare (Fig. 1G) și respectiv, eficiența de cuplare a sistemului transportor de electroni (Fig. 1H), ambele fiind semnificativ scăzute pentru atorvastatină și cerivastatină chiar și pentru cea mai mică doză aplicată (40 μM).

III. Caracterizarea alterării acute a respirației mitocondriale dependente de NADH indusă de statine la nivelul trombocitelor umane

Având în vedere că toate cele trei statine studiate au indus o scădere a respirației mitocondriale dependente de complexul I, am analizat în continuare pe mitocondrii permeabilizate (cu alameticină) răspunsul NADH-dehidrogenazei în prezența celor trei statine (în concentrația de 160 μM) și a substratului specific (NADH), înainte și respectiv, după adiția statinei. După cum se observă în Fig. 2A, adiția de simvastatină și atorvastatină au redus consumul de oxigen de la $18,7 \pm 1,1$ la $10,9 \pm 3,3$ și respectiv, de la $18,7 \pm 1,1$ la $12,5 \pm 1,4$ *vs.* solventul DMSO; în mod surprinzător, adiția de cerivastatină a crescut ușor consumul mitocondrial de oxigen față de solvent ($19,8 \pm 2,5$ *vs.* $18,7 \pm 1,1$). Pentru a confirma acest efect s-a calculat raportul consumului de oxigen între cele două adiții de NADH, raportul fiind scăzut pentru primele două statine și respectiv, crescut în mod paradoxal, pentru cerivastatină (Fig. 2B).

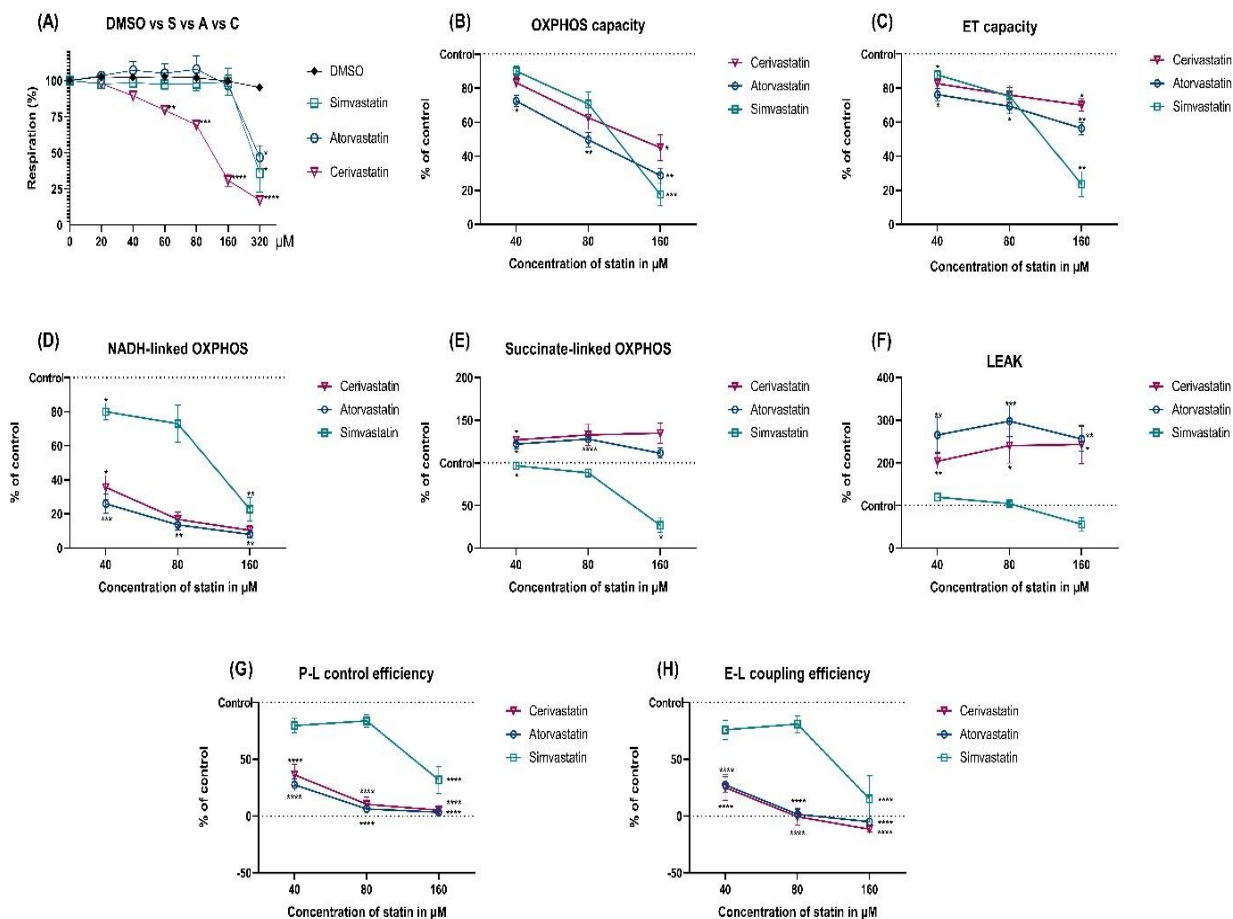


Figura 1. Efectul acut al statinelor asupra respirației mitocondriale la nivelul trombocitelor umane.

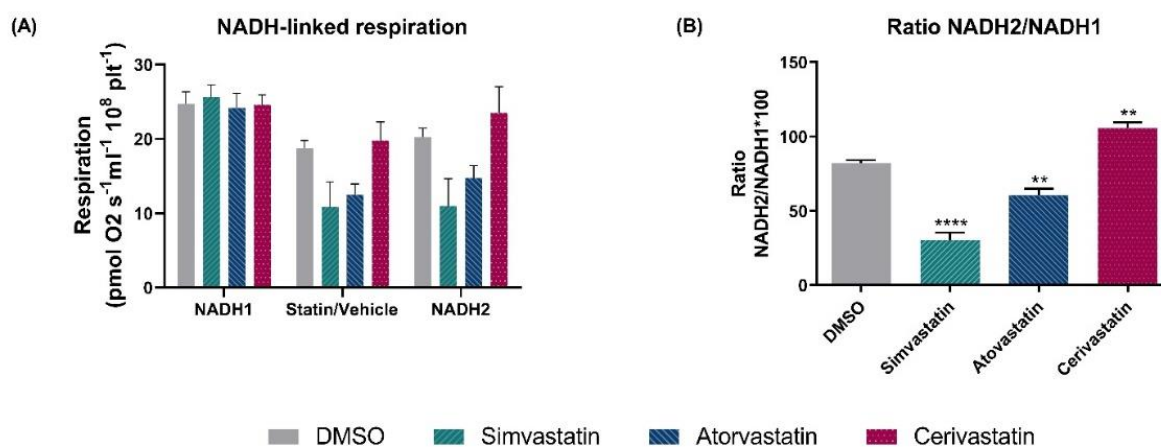


Figura 2. Efectul acut al statinelor asupra respirației mitocondriale dependente de NADH.

IV. Corectarea disfuncției mitocondriale indusă de administrarea acută de statine cu ajutorul succinatului permeabil celular (compusul NV118) la nivelul trombocitelor umane

Având în vedere că două dintre statine (atorvastatina și cerivastatina) au determinat disfuncție mitocondrială prin reducerea semnificativă a respirației dependente de CI, am ipotezat că administrarea unui compus care să susțină respirația pornind de la CII al lanțului respirator ar fi un demers terapeutic rațional. Substratul CII este succinatul care, în mod normal nu poate pătrunde prin membrana celulelor intacte; de aceea, am utilizat un compus de tip prodrug, denumit succinat permeabil celular (NV118) produs de către echipa de cercetători din Lund.

Pentru a testa efectul NV118, trombocitele izolate au fost expuse unei concentrații toxice (80 μ M) de cerivastatină și respectiv, atorvastatină, după care s-a măsurat consumul de oxigen în prezența NV118 sau a solventului acestuia (DMSO); ca o măsură suplimentară de control, trombocitele au fost expuse doar la DMSO (în locul statinei).

NV118 a crescut consumul de oxigen în condiții bazale (Fig.3A și B) pentru ambele statine. De asemenea, a îmbunătățit capacitatea totală de transport de electroni (Fig.3C și D) atât pentru cerivastatină cât și pentru atorvastatină. Pentru a evalua dacă această creștere de consum de oxigen este eficientă la nivel celular, s-a calculat respirația bazală netă (prin scăderea respirației non-fosforilante); se observă că NV118 a crescut respirația generatoare de ATP pentru trombocitele expuse la cerivastatină ($3,21 \pm 1,02$ vs. $5,82 \pm 1,51$) și respectiv, pentru cele expuse la atorvastatină ($2,62 \pm 0,25$ vs. $4,76 \pm 0,19$, $p < 0,0001$) - Fig.3E și F.

Pentru a demonstra că NV118 funcționează prin creșterea respirației dependente de succinat, s-a măsurat consumul de oxigen după inhibiția complexului I cu rotenonă. În cazul expunerii la cerivastatină (Fig.3G), NV118 a crescut consumul de oxigen după inhibiția complexului I de la $0,1 \pm 0,04$ la $3,31 \pm 0,21$ ($p < 0,0001$), iar în cazul expunerii la atorvastatină (Fig.3H), de la $0,1 \pm 0,06$ la $2,25 \pm 0,12$ ($p < 0,0001$).

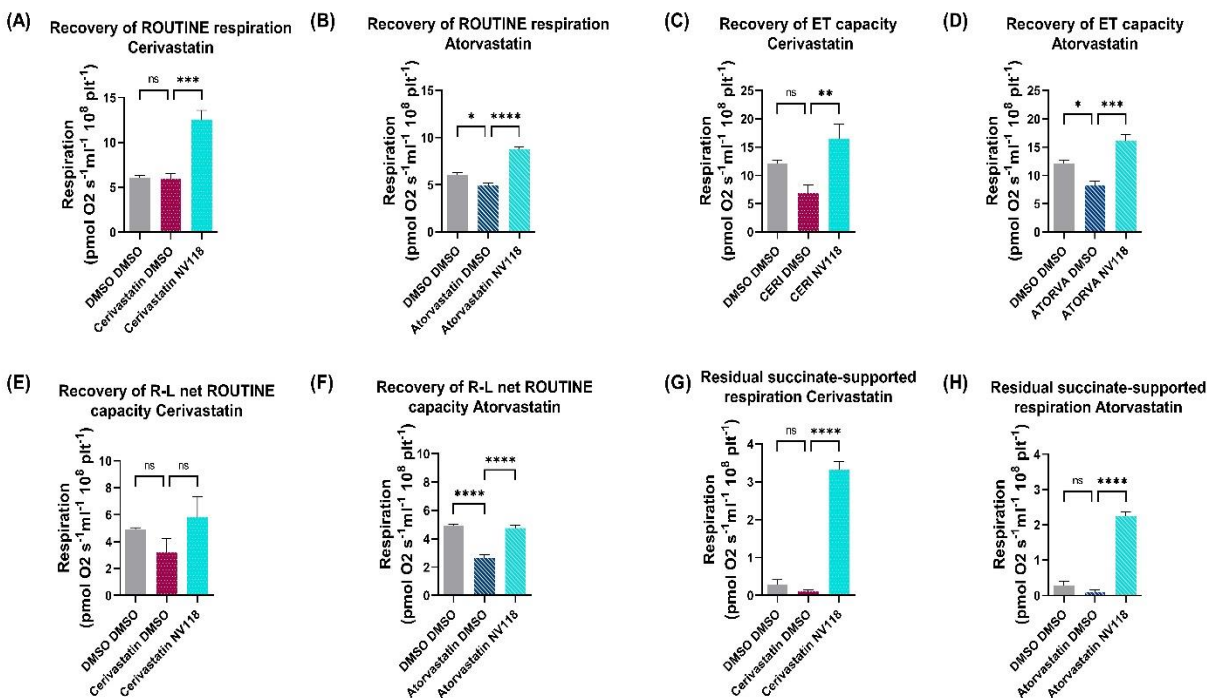


Figura 3. Succinatul permeabil celular corectează disfuncția mitocondrială acută indusă de statine pe trombocite umane izolate.

V. Corectarea disfuncției mitocondriale indusă de administrarea acută de statine cu ajutorul succinatului permeabil celular (compusul NV118) la nivelul liniei celulare HepG2

Pentru a verifica posibilitatea replicării rezultatelor cu privire la efectele NV118 și pe alte celule, experimentele efectuate pe trombocite umane au fost repetate pentru atorvastatină, utilizând o linie celulară de hepatocite HepG2 (celule hepatice umane de origine malignă).

În Fig.4A se observă același tip de inhibiție a respirației mitocondriale, dependentă de concentrație. Similar cu rezultatele obținute pe trombocite umane, NV118 îmbunătățește respirația bazală (Fig.4B), capacitatea totală de transport de electroni (Fig.4C), în condițiile unui sistem transportor de electroni mai eficient (Fig.4D și respectiv, prin creșterea respirației dependente de succinat (Fig.4F) la nivelul liniei celulare HepG2.

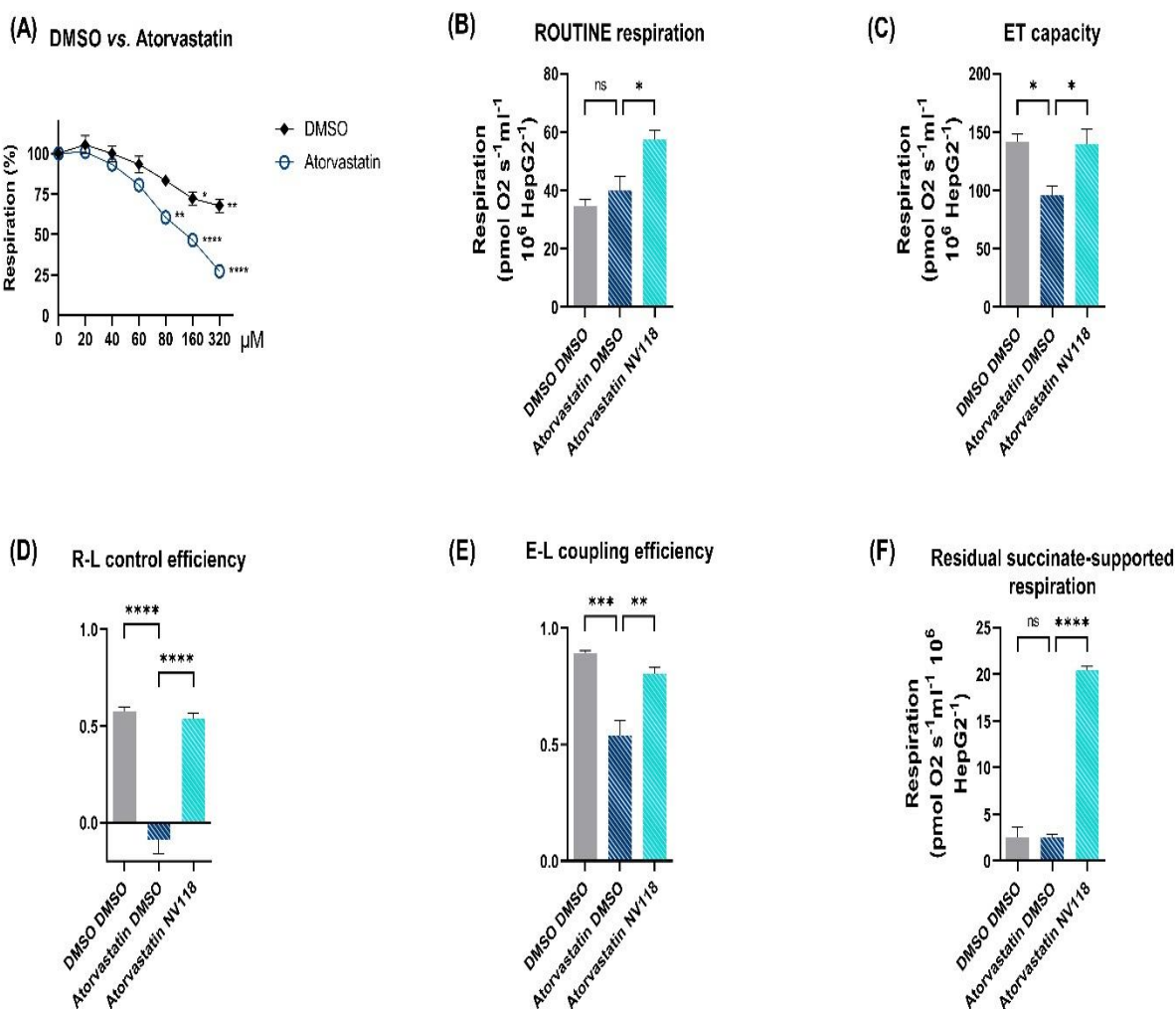


Figura 4. Succinatul permeabil celular corectează disfuncția mitocondrială respiratorie acută indusă de statine și în cazul celulelor HepG2.

VI. Comparația disfuncției mitocondriale indusă de statine în trombocite umane vs. celule HepG2

Deoarece protocolul de evaluare al NV118 în prezența atorvastatinei (80 μ M) a fost efectuat atât pe trombocite umane cât și pe celule HepG2, am comparat efectele atorvastatinei asupra consumului mitocondrial de oxigen pentru cele două tipuri celulare. Consumul mitocondrial de oxigen al celor două tipuri celulare fiind inerent diferit, rezultatele au fost exprimate ca și procent din control.

În Fig. 5 se observă că atorvastatina determină o reducere comparabilă a capacității totale de transport de electroni (Fig.5A), a capacității nete de transport de electroni (Fig.5C), precum și o respirație nonfosforilantă relativ similară (Fig.5B) în ambele tipuri celulare. Ceea ce se observă în Fig.5D este că atorvastatina determină o scădere a eficienței de cuplare a sistemului transportor de electroni mai pronunțată la nivelul celulelor HepG2 comparativ cu trombocitele ($p < 0,05$).

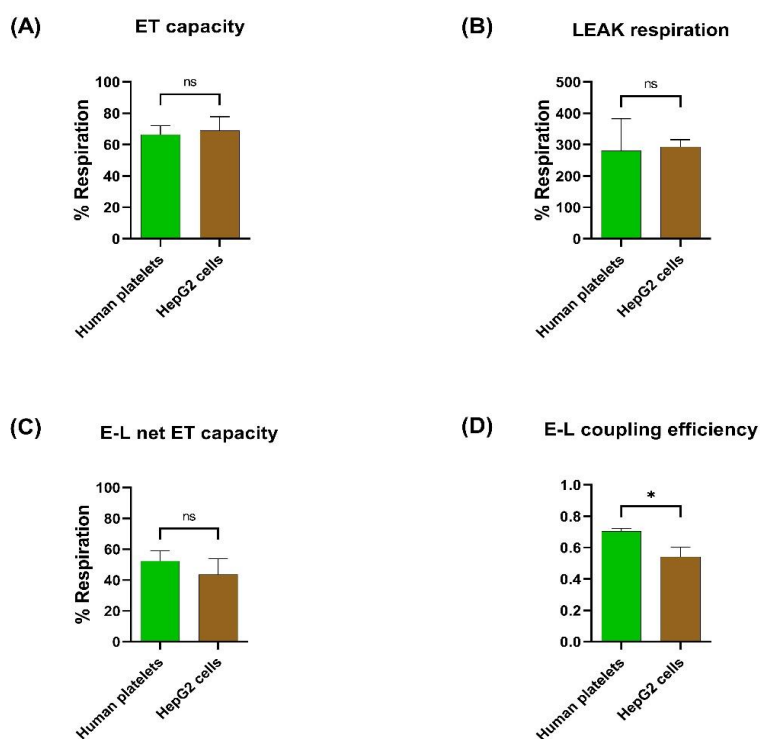


Figura 5. Comparația disfuncției mitocondriale induse de statine pe trombocite umane vs. celulele HepG2.

VII. Caracterizarea efectelor tratamentului cronic cu atorvastatină asupra respirației mitocondriale a trombocitelor *intacte* la pacienții cu diabet zaharat tip 2

Pornind de la rezultatele studiului ce a investigat efectele expunerii acute la statine a trombocitelor izolate de la voluntari sănătoși, în cadrul celui de-al doilea studiu am evaluat efectul tratamentului cronic cu statine asupra respirației mitocondriale plachetare. În acest scop, pacienții cu diabet zaharat tip 2 au fost încadrați în trei loturi: tratați cu atorvastatină (DM+Atorvastatin), tratați cu rosuvastatină (DM+Rosuvastatin) și respectiv, netratați cu statină (DM). Parametrii respirației

mitocondriale au fost evaluați pentru fiecare dintre acești pacienți inițial la nivelul trombocitelor intacte. În Fig. 6 se poate observa că tratamentul cronic cu atorvastatină sau rosuvastatină nu modifică parametrii respiratori la nivelul trombocitelor intacte.

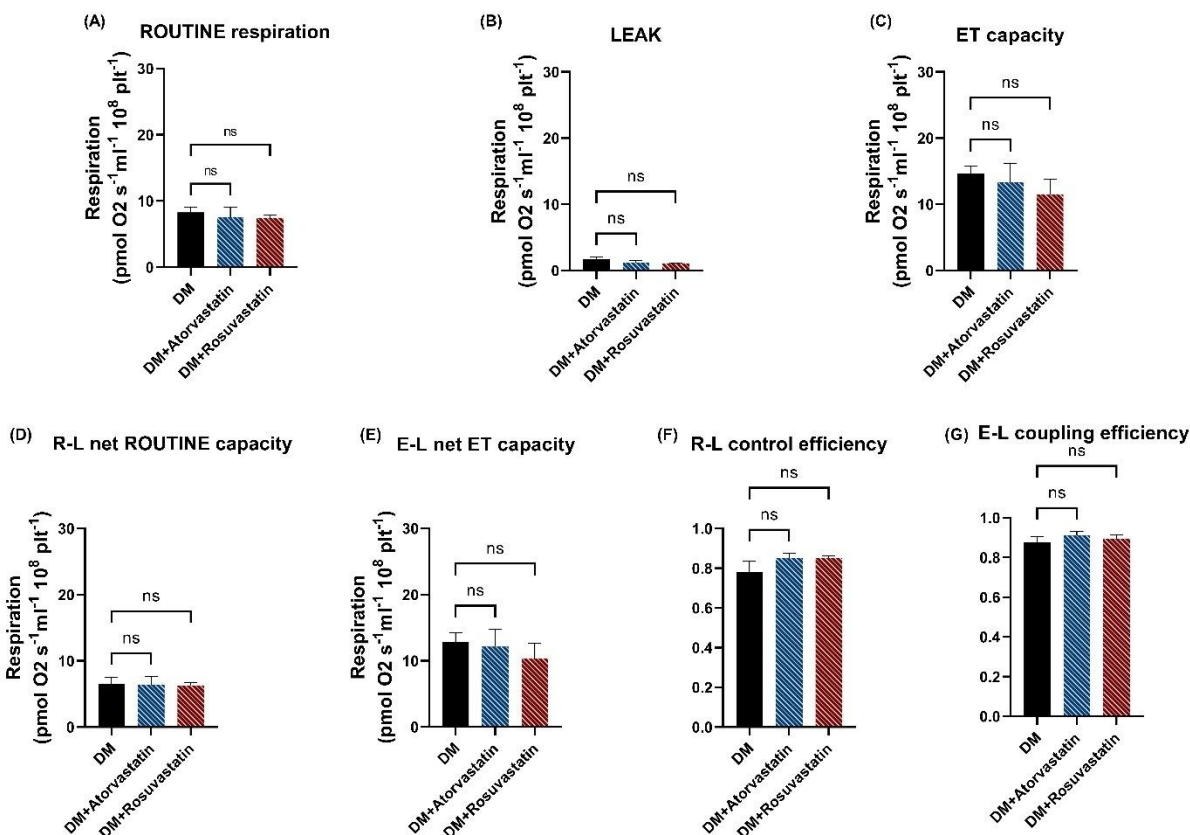


Figura 6. Efectele tratamentului cronic cu statine asupra respirației mitocondriale a trombocitelor intacte la pacienții cu diabet zaharat tip 2.

VIII. Caracterizarea efectelor tratamentului cronic cu atorvastatină asupra respirației mitocondriale a trombocitelor *permeabilizate* la pacienții cu diabet zaharat tip 2

Pentru a identifica eventualele modificări ale respirației mitocondriale, în condițiile accesului statinelor la nivel mitocondrial (ceea ce este posibil pentru cele lipofile de tipul atorvastatinei în administrare cronică) parametrii respiratori măsurați pe trombocite intacte au fost măsurați și pe cele permeabilizate, la pacienții din loturile DM și DM+Atorvastatin (Fig.7). Interesant, la nivelul trombocitelor permeabilizate izolate de la pacienții cu diabet zaharat tratați cu atorvastatină s-a înregistrat o creștere a capacității totale fosforilante (Fig.7A, $p<0,001$), a capacității fosforilante NADH-linkate (Fig.7B, $p<0,01$), a capacității totale de transport a electronilor (Fig.7D, $p<0,01$) și a capacității totale de transport de electroni succinat-linkate (Fig.7E, $p<0,01$). Trebuie totuși menționat că a crescut și respirația nonfosforilantă (Fig. 7C, $p<0,05$), dar aceasta nu pare să afecteze producția de ATP având în vedere că eficiența cuplării sistemul transportor de electroni nu este afectată (Fig.7F și G).

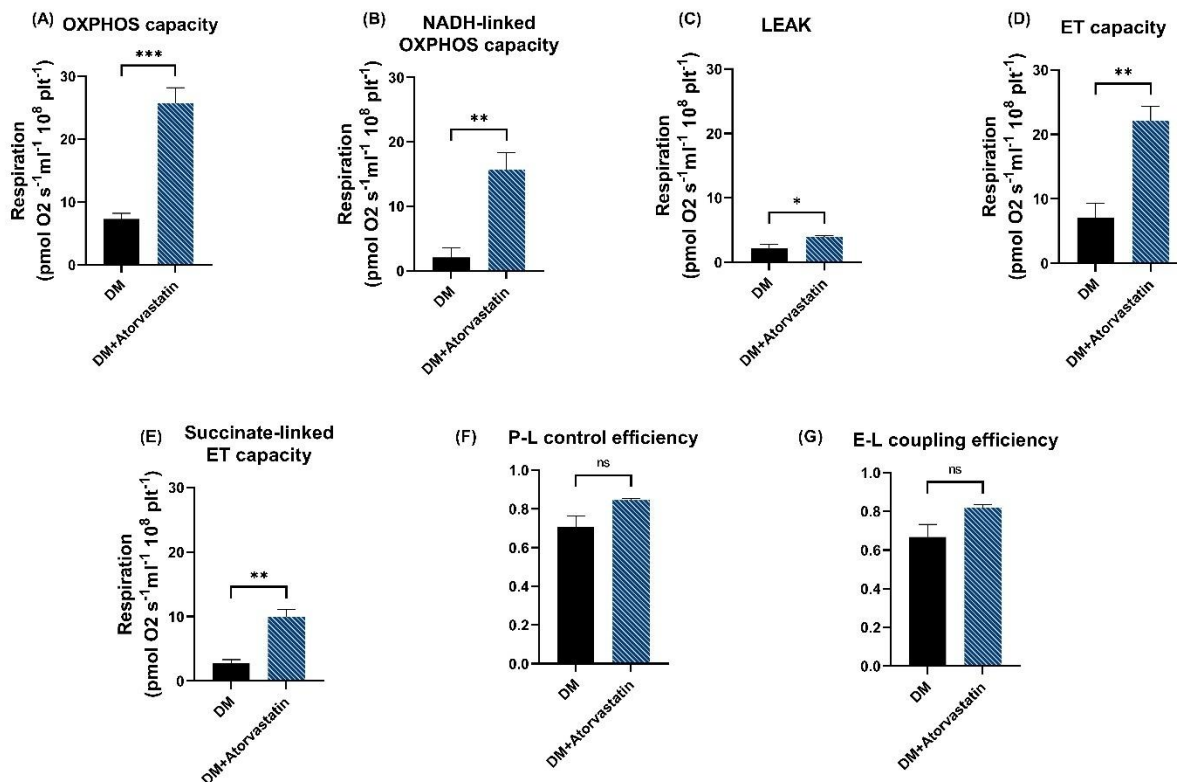


Figura 7. Efectele tratamentului cronic cu atorvastatină asupra respirației mitocondriale a trombocitelor permeabilizate la pacienții cu diabet zaharat tip 2.

IX. Caracterizarea disfuncției respiratorii mitocondriale plachetare la pacienții cu diabet zaharat tip 2

În cazul unei set suplimentar de experimente, am comparat parametrii respirației mitocondriale plachetare la lotul de pacienți cu diabet zaharat de tip 2 fără tratament cu cei obținuți pe trombocite izolate de la voluntari sănătoși. După cum se observă în Fig. 8, la diabetici există o disfuncție mitocondrială respiratorie globală caracterizată prin scăderea tuturor parametrilor respiratori: capacitatea totală fosforilantă ($p < 0,0001$), fosforilarea oxidativă dependentă de NADH ($p < 0,0001$), respirația non-fosforilantă ($p < 0,05$), capacitatea totală de transport a electronilor ($p < 0,01$) și capacitatea totală a transportului de electroni succinat-linkată ($p < 0,01$) și cu o tendință de scădere și a eficienței de fosforilare (Fig.8F) și respectiv, a celei de cuplare a sistemului transportor de electroni (Fig.8G).

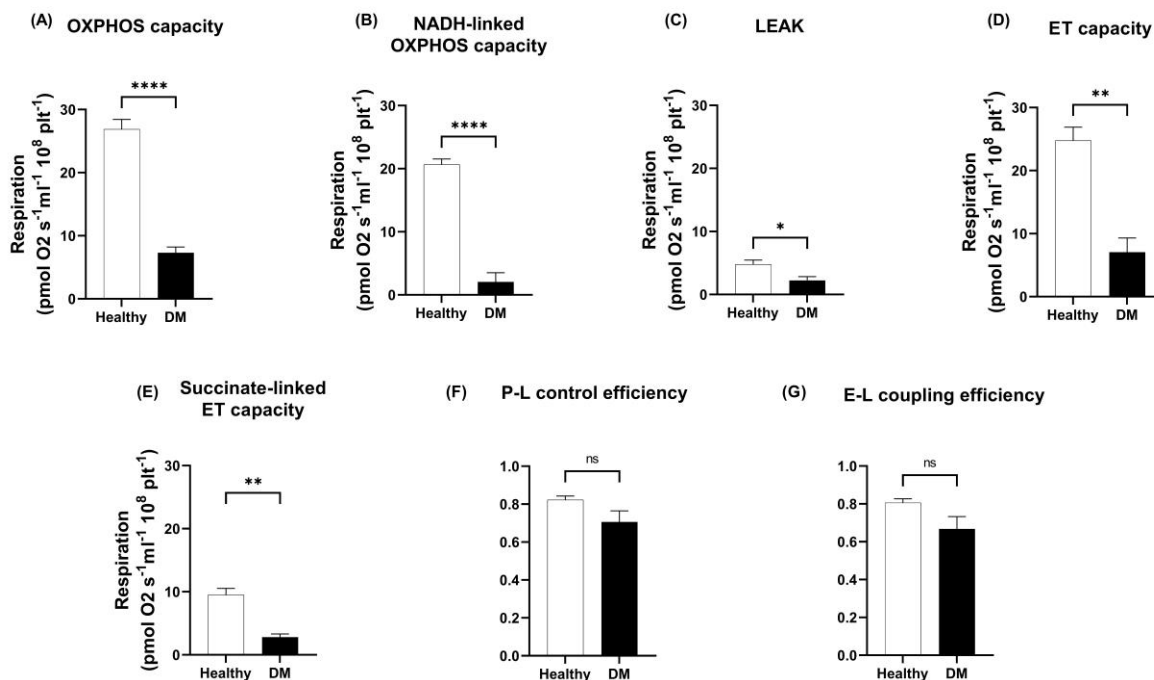


Figura 8. Caracterizarea disfuncției mitocondriale respiratorii a trombocitelor permeabilizate la pacienții cu diabet zaharat de tip 2.

X. Îmbunătățirea parametrilor respirației mitocondriale plachetare la pacienți cu diabet zaharat tip 2 sub tratament cronic cu statine cu ajutorul succinatului permeabil celular (compusul NV118)

Pentru a evalua utilitatea succinatului permeabil celular în tratamentul disfuncției mitocondriale la pacienții cu diabet zaharat tratați cu statine, s-a măsurat consumul de oxigen al trombocitelor intacte, izolate de la această categorie de pacienți atât în prezența NV118 cât și în prezența solventului acestuia (DMSO). În Fig. 9A observăm că DMSO-ul, solventul folosit ca și martor în experimente, nu a afectat respirația mitocondrială trombocitară. NV118 a crescut respirația mitocondrială bazală (Fig.9B, $p < 0,01$), și pe cea netă (Fig.9E, $p < 0,01$), capacitatea totală de transport de electroni (Fig.9D, $p < 0,0001$) și pe cea netă (Fig.9F, $p < 0,001$). Deși a crescut respirația nonfosforilantă în prezența NV118 (Fig.9C, $p < 0,01$), eficiența sistemului transportor de electroni nu a fost afectată (Fig.9G și H), sugerând că per global NV118 determină o creștere a respirației mitocondriale generatoare de ATP.

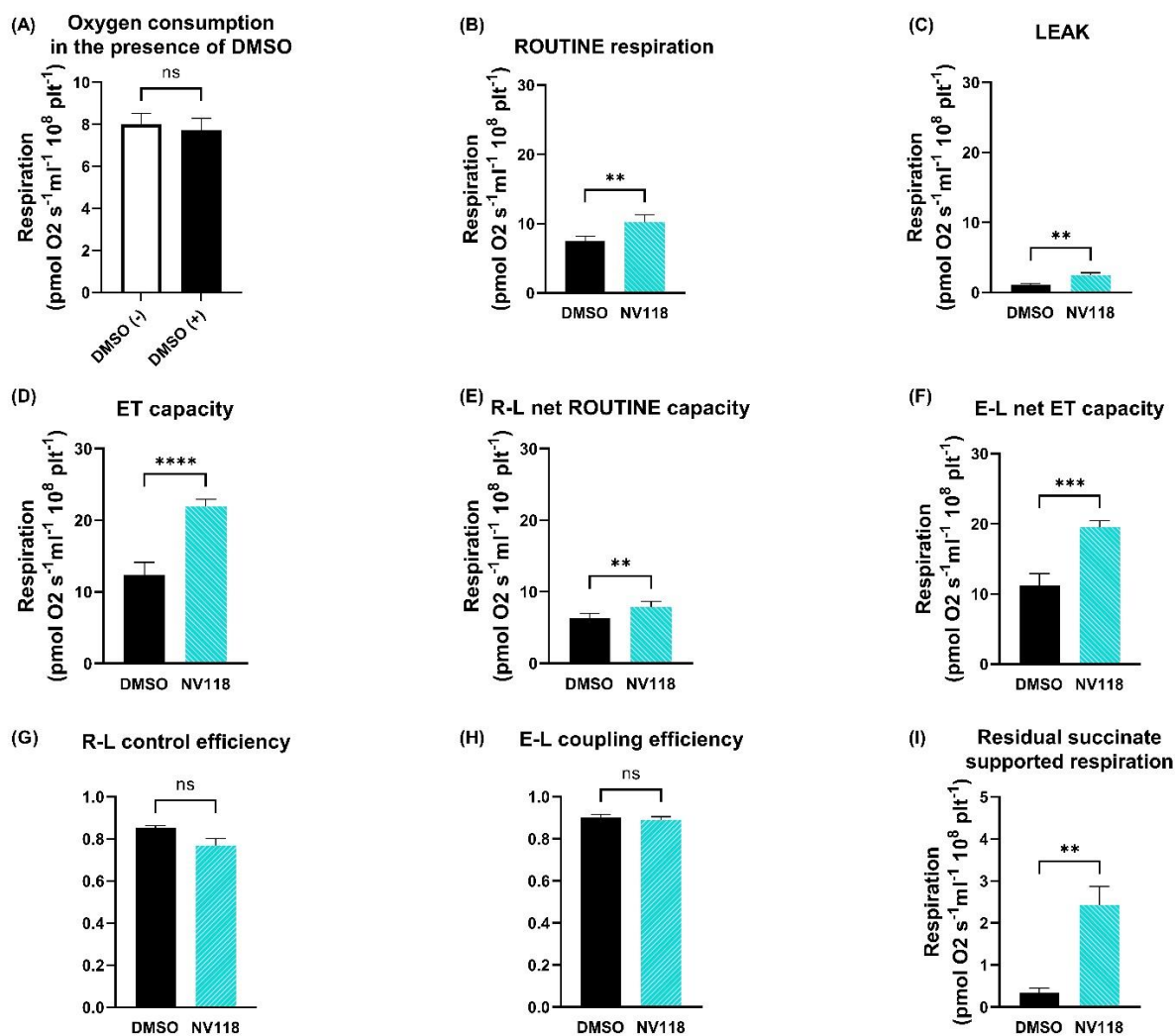


Figura 9. Succinatul permeabil celular (NV118) îmbunătățește parametrii respiratori ai trombocitelor intacte izolate de la pacienți cu diabet zaharat de tip 2 tratați cronic cu statine.

XI. CONCLUZII (sumar)

1. Simvastatina, atorvastatina și cerivastatina, în administrare acută *in vitro*, determină scăderea respirației mitocondriale dependente de complexul I al lanțului respirator la nivelul trombocitelor izolate de la voluntari sănătoși.
2. Simvastatina determină în plus și scăderea respirației mitocondriale dependente de complexul II al lanțului respirator la nivelul trombocitelor izolate de la voluntari sănătoși.
3. Toate cele trei statine determină, în condițiile administrării acute *in vitro*, reducerea dependentă de concentrație (doze micromolare) a capacității totale a transportului de electroni și a eficienței procesului de fosforilare.
4. Statinele alterează bioenergetica mitocondrială prin două mecanisme distincte: inhibiția transportului de electroni la nivelul lanțului respirator și decuplarea procesului de fosforilare (creșterea respirației non-fosforilante).
5. Cerivastatina (retrasă de pe piață), spre deosebire de atorvastatină și simvastatină, nu exercită un efect de inhibiție directă asupra complexului I respirator (NADH-dehidrogenaza).
6. Atorvastatina induce un profil similar de inhibiție a respirației mitocondriale atât la nivelul trombocitelor umane indemne cât și pe linia celulară de hepatocite umane maligne HepG2.
7. Un nou compus de tip prodrug, succinatul permeabil celular (NV118), poate fi folosit pentru a compensa reducerea respirației mitocondriale dependente de complexul I, indusă de statine.
8. Tratamentul cronic cu atorvastatină sau rosuvastatină nu afectează respirația mitocondrială a trombocitelor intacte izolate de la pacienții cu diabet zaharat de tip 2.
9. Tratamentul cronic cu atorvastatină crește respirația mitocondrială a trombocitelor permeabilizate izolate de la pacienții cu diabet zaharat de tip 2.
10. Pacienții cu diabet zaharat tip 2 prezintă disfuncție mitocondrială evidențiată la nivel trombocitar prin reducerea respirației mitocondriale dependente de complexe I și II ale lanțului respirator.
11. Compușii noi de tip succinat permeabil celular pot fi folosiți pentru a îmbunătăți bioenergetica mitocondrială la pacienții cu diabet zaharat, prin creșterea respirației dependente de complexul II.

XII. CONTRIBUȚII ORIGINALE

- Caracterizarea disfuncției mitocondriale respiratorii acute induse de simvastatină, atorvastatină și cerivastatină aplicate *in vitro* în diverse concentrații la nivelul trombocitelor intacte.
- Caracterizarea disfuncției mitocondriale respiratorii acute induse de atorvastatină pe linia HepG2.
- Investigarea mecanismului alterării acute a respirației mitocondriale dependente de complexul CI în prezența simvastatinei, atorvastatinei și cerivastatinei la nivelul trombocitelor permeabilizate.
- Demonstrarea posibilității de ameliorare a disfuncției mitocondriale acute induse de statine la nivelul trombocitelor umane și a celulelor HepG2 de către un compus nou, succinatul permeabil celular.
- Investigarea efectelor tratamentului cronic cu atorvastatină și rosuvastatină asupra respirației mitocondriale a trombocitelor izolate de la pacienți cu diabet zaharat tip 2.
- Caracterizarea disfuncției mitocondriale respiratorii la nivelul trombocitelor izolate de la pacienții cu diabet zaharat tip 2.
- Demonstrarea posibilității de îmbunătățire a bioenergeticii mitocondriale la nivelul trombocitelor izolate de pacienții cu diabet zaharat tip 2, cu ajutorul succinatului permeabil celular.

XIII. DIRECȚII VIITOARE DE CERCETARE

- Caracterizarea efectelor expunerii acute la statine asupra respirației mitocondriale trombocitare în combinație cu alte medicamente care determină disfuncție mitocondrială.
- Caracterizarea efectelor terapiei cronice cu statine asupra respirației mitocondriale trombocitare în alte patologii asociate cu disfuncție mitocondrială.
- Caracterizarea efectelor asupra respirației mitocondriale a altor compuși de tip succinat permeabil celular.
- Evaluarea potențialului de îmbunătățire a bioenergeticii mitocondriale cu ajutorul compușilor de tip succinat permeabil celular în alte patologii.
- Evaluarea altor molecule noi care ar putea ameliora disfuncția mitocondrială respiratorie în diabetul zaharat tip 2.

XIV. PUBLICAȚII ȘTIINȚIFICE

1. **Avram V.F.**, Chamkha I., Åsander-Frostner E., Ehinger J.K., Timar R. Z., Hansson M.J., Muntean D.M., Elmér E. *Cell-Permeable Succinate Rescues Mitochondrial Respiration in Cellular Models of Statin Toxicity*. **International Journal of Molecular Science** 2021, 22(1), 424. **FI = 4.556**
2. **Avram V.F.**, Bîna A.M., Sima A., Aburel O.M. Sturza A., Burlacu O., Timar R.Z, Muntean D.M., Elmér E., Crețu O.M. *Improvement of Platelet Respiration by Cell-Permeable Succinate in Diabetic Patients Treated with Statins*. **Life** 2021, 11(4), 288. **FI = 2.991**