

## **ABSTRACT**

Prezenta teză de abilitare cuprinde două secțiuni principale: 1. realizările științifice ale candidatului și perspectivele viitoare privind evoluția și 2. dezvoltarea carierei academice, științifice și profesionale.

Prima secțiune este grupată în două capitole care se concentrează asupra rezultatelor candidatului în domeniul cercetării salivare și al biotehnologiei. Secțiunea este structurată după cum urmează:

Capitolul 1 - Saliva: fluid de diagnostic în afecțiunile orale și generale: (A) Funcțiile și compoziția salivei; (B) Biomarkeri salivari ai patologiilor orale și sistemice; (C) Rolurile antioxidante ale salivei: implicații în homeostazia cavității bucale. Materiale și metode: colectarea de salivă de la pacienți cu boli orale (ex. parodontopatii) sau patologii generale cum ar fi bolile inflamatorii cronice; analiza fluidelor biologice s-a efectuat prin metoda ELISA sau folosind senzori stocastici. Rezultatele obținute au demonstrat că markerii antioxidanți împreună cu markerii inflamatorii pot fi detectați și corelați în salivă. Astfel, biomarkeri de stres oxidativ, cum ar fi malondialdehidă, acid uric, capacitatea antioxidantă totală, glutathion peroxidaza, precum și markeri ai lizei osoase cum ar fi telopeptida C-terminală, metaloproteinaza-8, osteocalcina și adipokinele (leptina, PAI-1) și citokinele (IL-6) s-au corelat statistic cu severitatea și progresia afecțiunilor studiate. În plus, concentrațiile biomarkerilor salivari se corelează statistic cu nivelul acestor biomarkeri în alte fluide biologice cum ar fi ser, urină sau lichidul cefalorahidian, ducând la concluzia că saliva poate fi utilizată pentru monitorizarea și diagnosticarea diferitelor patologii și poate fi utilizată cu succes ca înlocuitor pentru alte fluide ale corpului.

Capitolul 2 - Biotehnologii: interacțiunea dintre țesuturile orale, substraturi specifice și nanoparticule - (A) Epiteliul oral normal și malign: generalități; (B) Keratinocite stem orale - markeri de caracterizare și izolare; (C) Celulele stem pluripotente; (D) Factori exogeni care induc mutații în keratinocite; (E) Căii moleculare responsabile de homeostazia keratinocitelor orale normale și a fracțiunii stem; (F) Interacțiunea dintre nanoparticule organice și țesuturile orale. Metodele de investigare au inclus: tehnici de cultură celulară și de separare a celulelor, teste ELISA, imunofluorescență și imunohistochimie. Studiile au vizat interacțiunea dintre diferite substraturi organice și fracțiuni celulare din țesuturile orale. O subpopulație a keratinocitelor stem orale a fost separată din mucoasa orală folosind o tehnică magnetică și doi markeri de suprafață: integrina  $\alpha 6\beta 4$  și markerul asociat proliferării CD71. Experimentele *in vitro* au arătat că celulele reacționează diferit în contact cu diferite substraturi și topografii. După două săptămâni în cultură pe substraturi acoperite cu polimeri organici, populația de celule stem a păstrat atributele cheie ale keratinocitelor stem izolate inițial, cum ar fi: cea mai mică dimensiune fizică a celulei, cea mai mare eficiență a formării coloniilor, pozitivă pentru anumiți markeri ai celulelor stem și în același timp negativă pentru markerii de diferențiere, prezența moleculelor de adeziune E-Cadherina și N-Cadherina. În afara keratinocitelor stem și alte tipuri celulare, cum ar fi celulele din pulpa dentară de la dinți definitivi, precum și celulele stem pulpare dentare, au fost evaluate pentru interacțiunea cu nanoparticule organice. Absorbția nanoparticulelor depinde de câțiva factori cum ar fi compoziția polimerului, timpul de incubare și concentrația particulelor.

A doua secțiune a tezei cuprinde Capitolul 3 care se axează pe viitoarele perspective academice

și științifice ale solicitantului și include o propunere de finanțare pentru un grant de cercetare. Este documentat faptul că aplicantul este membru a mai multor organizații de cercetare și academice de prestigiu și are colaborări pe termen lung cu experți naționali și internaționali. Această expunere contribuie la îmbunătățirea și actualizarea constantă a abilităților academice ale solicitantului și la asigurarea unei supravegheri reușite a viitorilor doctoranzi. Activitatea de cercetare a candidatului se va baza pe granturile obținute și pe articolele publicate și se va concentra pe granturile de cercetare naționale și internaționale și pe extinderea laboratorului de cercetare existent. Activitățile viitoare de cercetare vor continua urmând aceleași linii interdisciplinare: saliva și potențialul acesteia de a fi utilizat ca fluid de diagnostic în patologiile orale și sistemice; interacțiunile dintre țesuturile orale și nanoparticulele ca mijloc de eliberare a compușilor activi; cercetare dentară în domeniile biochimiei și biologiei moleculare.

## **ABSTRACT**

The present Habilitation Thesis is comprised on two main sections: scientific achievements of the candidate and future perspectives on the evolution and development of academic, scientific and professional career of the candidate.

The first section is grouped in two chapters focusing candidate's results in the field of salivary research and biotechnology. Chapter 1 - Saliva: a modern diagnostic fluid in oral and general diseases : (A) Saliva functions and composition; (B) Oral and general disease biomarkers in saliva; (C) Antioxidant attributes of saliva: involvement in oral diseases. The materials and methods employed were saliva collection from patients with oral diseases such as periodontitis or general pathologies such as chronic inflammatory diseases; enzyme linked immuosorbent assays and stochastic sensing. Results demonstrated that the antioxidant markers together with inflammatory markers can be reliably detected in saliva. Thus oxidative stress biomarkers such as 8-hidroxy-desoxguanosine, malondialdehyde, uric acid, total antioxidant capacity, glutathione peroxidase as well as bone loss markers such as C-terminal telopeptide of type I collagen, matrix metalloproteinases-8, osteocalcin and 25-hydroxy vitamin D<sub>3</sub> adipokines (leptin, PAI-1) and cytokines (IL-6) correlated well with the severity and progression of diseases. Moreover salivary biomarker levels correlate statistically with serum, urine or cerebrospinal fluid concentrations pointing to the conclusion that saliva can be used for monitoring and diagnosing various pathologies and can be successfully used as a replacement for other body fluids. Chapter 2 - Biotechnology: interaction between oral tissues, specific substrates and nanoparticles; (A) Normal and malignant oral epithelium: generalities; (B) Oral keratinocytes stem cells -

characterization and isolation markers; (C) Induced pluripotent stem cells; (D) Exogenous factors inducing mutations in keratinocytes; (E) Different pathways responsible for oral keratinocytes and keratinocyte stem cells maintenance; (F) Organic nanoparticles interactions with oral tissues. The methods of investigation included: cell culture and cell separation techniques, enzyme linked immunosorbent assays, immunofluorescence and immunohistochemistry, poly(lactic acid), poly(glycolic acid), poly(lactic-co-glycolic acid), poly(caprolactone) polymer synthesis and polymer patterning (done together with our collaborators). Studies focused on the interaction between various organic substrates and different cells isolated from oral tissues. A sub-population of oral keratinocyte stem cells was separated from oral mucosa using a magnetic technique and two surface markers: integrin  $\alpha 6\beta 4$  and proliferation related marker CD7. *In vitro* experiments have shown that cells react differently when plated on various surfaces and topographies. Following two weeks culture on MAPLE-coated substrates with organic polymers the stem cell population preserved key stem attributes such as: smallest cell size, highest colony forming efficiency, positive for certain stem cell markers while at the same time negative for differentiation markers, positive for surface adhesion markers such as E-cadherin. Together with oral keratinocyte stem cells, other cell types such as deciduous and adult dental pulp cells as well as dental pulp stem cells were assessed following their interaction with poly(lactic-co-glycolic acid) organic nanoparticles. Nanoparticle uptake depends on several factors such as the composition of the polymer, incubation time and particle concentration.

The second section of the thesis includes Chapter 3 which focuses on the future academic and scientific perspectives of the applicant and includes a grant proposal (A) General background; (B) Grant Proposal; (C) Schedule and milestones; (D) Importance and impact. It is documented

that the candidate is a member of several prestigious research and academic organizations and has long term collaborations with national and international experts. This exposure helps in constantly improving and updating the academic skills of the applicant and will ensure a successful supervision of future PhD students. The research activity of the candidate will build on the existing obtained grants and published articles and will focus on applying for international UE and national funding and on expanding the existing research laboratory. Future research activities will continue following the same interdisciplinary lines: saliva and its potential of being used as a diagnostic fluid in oral and systemic pathologies; interactions between oral tissues and nanoparticles as a means of delivering active compounds; dental research in the fields of biochemistry and molecular biology.