

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„IULIU HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA  
FACULTATEA DE MEDICINĂ**



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA

# **Aplicații ale microscopiei electronice în cercetarea fundamentală și în cea clinică**

---

**Teză de abilitare**

**Conf. Dr. Adrian Florea**

**2019**

## 1. Rezumatul tezei de abilitare

### Rezumat

În teza de abilitare intitulată „*Aplicații ale microscopiei electronice în cercetarea fundamentală și în cea clinică*” am prezentat în mod succint principalele rezultate ale activității mele științifice, precum și cele mai relevante aspecte ale activității profesionale și academice derulate din anul 2003 când am susținut teza de doctorat cu titlul „*Efecte fiziologice și ultrastructurale ale veninului de albine la nivel sistemic*” la Facultatea de Biologie și Geologie, Universitatea “Babeș-Bolyai” din Cluj-Napoca.

În primul rând, am continuat să studiez efectele veninului de albine (VA), prin diferite metode de investigare, cele mai importante și frecvent utilizate fiind tehnicile de microscopie electronică. Pentru implementarea acestor studii, am obținut (prin concurs) suport financiar de la CNCSIS (grant cod CNCSIS 62/comisia 4/2004) și de la UMF „I. Hațieganu” (grant nr. 27020/49/15.11.2011). Această direcție de cercetare a fost materializată prin publicarea (ca autor principal) a 7 articole științifice în reviste de prestigiu (mai ales din domeniul microscopiei), dar continuă cu bune rezultate și în prezent. Am descris în premieră multe aspecte interesante referitoare la efecte specifice și nespecifice ale VA, pe baza utilizării câtorva modele experimentale: șobolani de laborator pentru testarea efectelor *in vivo*, mitocondrii izolate și linii celulare în cultură, pentru testarea efectelor *in vitro*. Prima direcție de cercetare științifică este preponderent una fundamentală, care s-a bazat pe explorarea interacțiunilor VA și a moleculelor sale cu structurile celulare și subcelulare, detaliate în monografia „*Veninul de albine – compus complex cu multiple efecte*”, publicată ca autor unic la Editura Apimondia, București, în anul 2004. Totuși, direcția aceasta de cercetare are și aplicații în anumite ramuri medicale.

- Astfel, VA a exercitat efecte importante asupra sistemului circulator. Am raportat modificările ultrastructurale produse la nivelul hematiilor (efect citolitic, cu descrierea ultrastructurală a modificărilor suferite în câteva variante experimentale) și asupra precursorilor eritrocitari din măduva hematopoietică, inclusiv un efect stimulator

al hematopoiezei. În vasele de sânge (de ex. aorta), VA a interacționat cu endoteliul, producând, în doze mari chiar denudarea peretelui vascular.

- VA a fost responsabil pentru modificări la nivel neuro-endocrin. VA a avut un efect neurostimulator specific, alături de cel citolitic, nespecific, producând modificări ale activității electrice cerebrale, pe fondul accelerării transmiterii influxului nervos, dar și a alterării structurale a multor neuroni. A modulat și activitatea secretorie a celulelor din glandele endocrine, pe termen lung accelerând secreția de hormon adrenocorticotrop din adenohipofiză; electronomicroscopic am evidențiat granulele de secreție numeroase, însă cu conținut hormonal redus. În glandele corticosuprarenale, cele mai semnificative efecte ale dozelor mari de VA le-am observat în mitocondrii, care și-au pierdut ultrastructura caracteristică. Acest efect direct al VA asupra ultrastructurii mitocondriale a fost confirmat și prin testările *in vitro*. Mai mult, am demonstrat faptul că ambele molecule importante ale VA, melitina (Mlt) și fosfolipaza A2 (FLA2) testate separat, au capacitatea de a modifica ultrastructura mitocondrială, cu posibile repercusiuni asupra sintezei ATP și hormonilor steroizi.

- La nivelul sistemului reproducător masculin, VA și moleculele sale principale au avut ca țintă principală celulele Sertoli; toxicitatea lor s-a propagat ulterior spre celulele din linia germinală.

- Atât VA, cât și Mlt au manifestat efecte citotoxice importante pe liniile celulare testate, în special datorită modificărilor declanșate prin interacțiunile cu membranele celulare. Efectele acestor substanțe au fost dependente de timpul de incubare, modificările ultrastructurale produse de Mlt fiind mai accentuate decât cele cauzate de VA. Dintre cele 3 linii de celule, una din liniile maligne a arătat sensibilitate mai mare decât celulele normale și decât cea de-a doua linie de celule tumorale testată.

Am abordat în paralel, ca urmare a unor solicitări de colaborare, și o a doua direcție importantă de cercetare care a implicat studii de ultrastructură patologică cu relevanță clinică. Această direcție de cercetare s-a materializat doar cu 2 publicații (la una am fost autor principal), fapt ce nu reflectă foarte obiectiv volumul mare de muncă depusă (analize ultrastructurale efectuate pentru un număr de peste 100 pacienți).

- Rezultatele electrono-microscopice obținute pentru câțiva pacienți tineri

suspectați (și) pentru sindromul cililor immobili au confirmat acest diagnostic. Datele de la unul dintre acești pacienți analizați de noi au făcut obiectul unei prezentări de caz (publicată într-o revistă de laborator clinic). Am descris, pe lângă evaluarea clinică adecvată, absența bilaterală a brațelor de dineină, dar și dezorganizarea totală a modelului specific al microtubulilor în axonemă.

- Din numărul mare de biopsii analizate la peste 40 pacienți am selectat pentru această teză o prezentare a 3 pacienți cu ihtioză congenitală (studiu publicat într-o revistă de laborator clinic). Examinarea secțiunilor prin biopsii cu microscopul electronic de transmisie a arătat la ce 3 pacienți trăsături ultrastructurale specifice bolii respective. Observațiile noastre au completat rezultatele obținute prin celelalte metode de investigare pentru stabilirea diagnosticului.

Colaborările cu alți colegi, inclusiv ca membru în echipele de cercetare a 13 granturi naționale, mi-au permis dezvoltarea abilităților de cercetător. Ca director a 2 proiecte am probat capacitatea de planifica și obține finanțare pentru activitățile de cercetare. Toate acestea au avut ca rezultat concret publicarea, după susținerea tezei de doctorat, a 55 articole științifice (multe cu doctoranzi) în reviste indexate în Web of Sciences (19 în calitate de autor principal). Rezultatele științifice menționate sunt sumarizate în următoarele cifre: 448 citări în 385 articole (medie 8,15 citări/articol), indice Hirsch 12 (conform Web of Science la data de 12.06.2019).

Pe plan profesional, după susținerea tezei de doctorat în 2003, am fost Șef de lucrări (2006-2013) și din 2013 sunt Conferențiar universitar la Disciplina de Biologie celulară și moleculară, Departamentul 3 – Științe moleculare din cadrul Facultății de Medicină. În aceste funcții, activitățile didactice au inclus cursuri și lucrări practice de Biologie celulară și moleculară cu studenții de la Facultățile de Medicină și Medicină Dentară (la liniile de predare în limbile română, engleză și franceză), și cursuri cu studenții de la programul de master „Cercetări avansate în investigația criminalistică și în medicina legală”. Am fost responsabil pentru activități de tutoriat (2012-prezent). Am coordonat 11 lucrări de licență și 5 stagii de cercetare ale unor doctoranzi străini.

Strategiile pentru viitoarea mea carieră de cercetare și academică vor fi orientate spre implicarea mai multor studenți și doctoranzi în proiectele mele, spre

obținerea de fonduri pentru implementarea acestor proiecte, și spre îndeplinirea cerințelor pentru ocuparea postului de profesor universitar.

### Abstract

In the habilitation thesis entitled „*Applications of electron microscopy in the basic and clinical research*” I briefly showed the main results of my scientific activity, as well as the most relevant aspects of my professional and academic work carried out since 2003, when I defended the PhD thesis entitled „*Efecte Physiological and ultrastructural effects of the bee venom at systemic level*” in Faculty of Biology and Geology, “Babeș-Bolyai” University, Cluj-Napoca.

First of all, I continued to study the effects of bee venom (BV), by employing different methods of investigation, the most important and more frequent used being techniques of electron microscopy. In order to implement these studies, I received (by competition) financial support from NCSRHE (grant NCSRHE 62/comission 4/2004), and from „I. Hațieganu” UMP (grant no. 27020/49/15.11.2011). This research line materialized through publication (as main author) of 7 scientific papers in prestigious journals (mostly in the field of microscopy), but it also has been continued with good results. I described for the first time many interesting aspects concerning the specific and unspecific effects of BV, based on several experimental models: laboratory rats for testing the *in vivo* effects, isolated mitochondria and cell lines in culture, for testing the *in vitro* effects. The first research line is mainly a basic one, founded on the exploration of BV and its molecules interactions with cellular and subcellular structures, as detailed in the monograph „*Bee venom – complex compound with multiple effects*”, published as unique author in Editura Apimondia, București, in 2004. However, this research line also has applications in certain medical branches.

- Thus, BV produced important effects on the circulatory system. I reported ultrastructural changes at the level of the red blood cells (cytolytic effect, with the ultrastructural description of changes undergone in several experimental conditions), and on red blood cells precursors in the hematopoietic bone marrow, including a simulatory effect of hematopoiesis. In the blood vessels (i.e. aorta), BV interacted with the endothelium, triggering in high doses the vessel wall denudation.

- BV was responsible for changes at neuro-endocrine level. BV had a specific neuro-stimulating effect, along with the cytolytic, nespecific one, producing changes in the cerebral electric activity, on the background of acceleration of the nervous influx transmission, and of structural alteration of many neurons as well. It also modulated the secretory activity of endocrine gland cells, accelerating for long term the adrenocorticotrophic hormone secretion from the anterior pituitary; we showed electron-microscopically numerous secretion granules, but with reduced hormone cargo. In the adrenal cortex, the most significant effects of the BV high doses were found in mitochondria, that lost their characteristic ultrastructure. This direct effect on the mitochondrial ultrastructure was also confirmed by *in vitro* testing. Moreover, I proved that the both important molecules of the BV, melittin (Mlt) and phospholipase A2 (PLA2) separately tested, possess the ability to modify the mitochondrial ultrastructure, with possible repercussions upon the ATP and steroid hormones synthesis.

- At the level of the male reproductive system, BV and its prevalent molecules targeted firstly Sertoli cells; their toxicity has propagated then towards the cells in the germinal line.

- Both BV and, Mlt showed important cytotoxic effects on the tested cells, mainly due to the changes triggered by their interactions with the cell membranes. The effects of these substances depended on the incubation time, the ultrastructural changes produced by Mlt being more prominent than those caused by the BV. Among the 3 lines of cells, one of the malignant lines displayed higher sensitivity than both the normal cells and the second line of tumor cells tested.

In parallel I approached, following some collaboration requests, a second important research line that involved studies of pathological ultrastructure with clinical relevance. This research line materialized in only 2 papers (main author in one), which does not reflect very objective the high volume of work done (ultrastructural analyses performed for over 100 patients).

- The electron microscopic results obtained for several young patients (also) suspected of primary ciliary dyskinesia confirmed this diagnosis. Data of one of those patients analysed by us represented the object of a case report (published into a journal

---

---

of clinical laboratory). We described, apart from the proper clinical evaluation, the bilateral absence of dynein arms, as well as the total disorganisation of the specific pattern of microtubules in the axoneme.

- From the large number of biopsies analysed for more than 40 patients I selected for this thesis a case report for 3 patients with congenital ichthyosis (paper published into a journal of clinical laboratory). Examination of sections through biopsies with the transmission electron microscope revealed in the 3 patients the specific ultrastructural features for that disease. Our findings completed the results obtained by other investigation methods in order to establish the diagnosis.

Collaboration with other colleagues, including as member in the research teams of 13 national grants, allowed me to develop researcher abilities. As manager of 2 projects I proved capacity to plan and obtain funding for the research activities. All these resulted into the publication of 55 scientific papers (many with PhD students) in Web of Sciences indexed journals (19 as main author) after defending my PhD thesis. The above mentioned scientific results are summarised in the following numbers: 448 citations in 385 scientific papers (average 8.15 citations/paper), Hirsch Index 12 (according to the Web of Science at 12.06.2019).

Professionally, after defending my PhD thesis, in 2003, I was senior lecturer (2006-2013), and from 2013 I am associate professor at the Discipline of Cell and molecular biology, Department 3 – Molecular sciences in the Faculty of Medicine. In these positions the teaching activities included lectures and practical works of Cell and molecular biology with students in Medicine, and Dental Medicine (in Romanian, English and French), and lectures with the students in the master programme „Advanced studies in forensic investigation and legal medicine”. I was responsible for tutoring activities (2012-present), and coordinated 11 bachelor theses and 5 research interships of foreign PhD students.

The strategies for the future development of my research and academic career will be oriented towards the implication of more students and PhD students into my projects, to obtain the funding for implementation of these projects, and to fulfill the requirements to occupy the position of professor.