

**"VICTOR BABEȘ" UNIVERSITY OF
MEDICINE AND PHARMACY TIMIȘOARA
DOCTORAL SCHOOL
PHARMACY DOMAIN**



HABILITATION THESIS
**Experimental Toxicology, Epigenetic Modulation and
Translational Applications in Environmental and
Biomedical Research**
REZUMAT

Associate Professor PhD Drăghici George Andrei

Timișoara

2026

Prezenta teză de abilitare, intitulată „**Experimental Toxicology, Epigenetic Modulation and Translational Applications in Environmental and Biomedical Research**”, sintetizează cele mai relevante realizări științifice, academice și profesionale dezvoltate pe parcursul activității mele de cercetare și didactice după finalizarea studiilor doctorale. Teza reflectă consolidarea progresivă a unei direcții științifice interdisciplinare situate la interfața dintre toxicologia experimentală, sănătatea mediului, biologia moleculară, epigenetica, cercetarea oncologică, știința biomaterialelor și aplicațiile biomedicale translaționale.

Activitatea științifică prezentată în această teză se concentrează în principal asupra efectelor biologice ale contaminanților de mediu, în special ale metalelor grele, precum și asupra mecanismelor moleculare și celulare implicate în răspunsurile toxicologice. O atenție deosebită a fost acordată toxicității cadmiului și cuprului, datorită relevanței lor ecologice majore și implicării în stresul oxidativ, dereglările metabolice, carcinogeneză și modificările epigenetice. Aceste direcții de cercetare au fost dezvoltate utilizând modele experimentale complementare, de la gastropode terestre utilizate în evaluarea ecotoxicologică până la linii celulare umane de carcinom colorectal, permițând astfel o înțelegere integrativă a efectelor toxice, de la expunerea ambientală până la răspunsurile celulare și moleculare.

Cadmiul reprezintă unul dintre cei mai periculoși poluanți de mediu datorită persistenței sale, proprietăților bioacumulative și toxicității ridicate atât pentru ecosisteme, cât și pentru sănătatea umană. Distribuția sa largă în sol și în lanțurile trofice, în principal ca rezultat al industrializării și contaminării antropice, a generat preocupări crescânde privind impactul său biologic pe termen lung. În acest context, gastropodele terestre, în special *Cantareus aspersus*, au fost utilizate ca modele experimentale bioindicatoare datorită capacității lor remarcabile de acumulare a metalelor grele și sensibilității la factorii de stres din mediu. Hepatopancreasul s-a dovedit a fi principalul organ de retenție și detoxifiere a metalelor, în timp ce parametrii conchologici au oferit informații complementare privind expunerea cronică și alterările structurale.

Studiile ecotoxicologice incluse în această teză au investigat cinetica acumulării cadmiului și cuprului în condiții de expunere semi-field și prin administrare alimentară, evidențiind tiparele de distribuție tisulară, dinamica supraviețuirii, parametrii de creștere

și integritatea cochiliei. Rezultatele au demonstrat că expunerea la cadmiu induce o bioacumulare semnificativă dependentă de doză și timp, în special la nivelul hepatopancreasului, în timp ce parametrii conchologici prezintă o sensibilitate comparativ mai redusă.

Condițiile de expunere repetată au amplificat răspunsurile toxice, afectând supraviețuirea, morfologia cochiliei și homeostazia fiziologică. Mai mult, perturbarea homeostaziei metalelor esențiale, inclusiv a cuprului, manganului și fierului, a evidențiat interacțiunile complexe dintre metalele toxice și cele esențiale în timpul expunerii de mediu.

Dincolo de evaluarea toxicologică clasică, o componentă importantă a activității de cercetare s-a concentrat asupra investigării mecanismelor epigenetice asociate expunerii la metale. Dovezi tot mai numeroase indică faptul că toxicanții de mediu pot interfera cu procesele de metilare ADN, modificând astfel expresia genică și fenotipul celular. În acest context, teza explorează atât metilarea globală a ADN-ului (5-metilcitozină, 5mC), cât și hidroximetilarea ADN-ului (5-hidroximetilcitozină, 5hmC) în hepatopancreasul speciei *Cantareus aspersus* după expunerea la cadmiu. Rezultatele obținute au demonstrat că acumularea cadmiului este asociată cu modificări epigenetice măsurabile, susținând ipoteza conform căreia mecanismele legate de metilarea ADN sunt implicate în răspunsurile adaptive și toxicologice la contaminanții de mediu.

Identificarea semnalelor de 5hmC în țesuturile gastropodelor reprezintă o contribuție importantă la înțelegerea reglării epigenetice în modelele de nevertebrate, domeniu insuficient explorat în toxicologia mediului. Modificarea observată a tiparelor globale de metilare ADN susține suplimentar relevanța biomarkerilor epigenetici ca indicatori sensibili ai expunerii toxice subletale. Aceste rezultate contribuie la dezvoltarea unor abordări ecotoxicologice integrative capabile să coreleze contaminarea mediului cu alterările la nivel molecular.

O altă direcție majoră de cercetare abordată în această teză privește investigarea efectelor induse de metalele grele în modele celulare canceroase, în special în celulele de adenocarcinom colorectal uman HT-29. Cancerul colorectal reprezintă una dintre principalele cauze de mortalitate asociată cancerului la nivel mondial, iar expunerea ambientală la metale toxice este din ce în ce mai recunoscută ca factor implicat în

carcinogeneză și progresia tumorală. Prin urmare, înțelegerea consecințelor moleculare și celulare ale expunerii la cadmiu și cupru în celulele canceroase colorectale reprezintă un pas important în elucidarea mecanismelor oncogene mediate de factorii de mediu.

Studiile in vitro au demonstrat că clorura de cadmiu și sulfatul de cupru induc efecte citotoxice dependente de doză, caracterizate prin reducerea viabilității celulare, modificări morfologice, afectarea capacității migratorii și dereglări epigenetice. Un accent deosebit a fost pus pe modularea expresiei genelor familiei ADN metiltransferazelor (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B), care joacă roluri esențiale în stabilirea și menținerea tiparelor de metilare ADN. Rezultatele au evidențiat răspunsuri epigenetice distincte în funcție de tipul metalului expus, cadmiul inducând predominant downreglarea DNMT-urilor, în timp ce cuprul a stimulat supraexpresia acestora. Aceste constatări evidențiază capacitatea metalelor de mediu de a influența comportamentul celulelor canceroase prin mecanisme atât citotoxice, cât și epigenetice.

În paralel cu investigațiile toxicologice și moleculare, teza include și cercetări axate pe compuși bioactivi cu potențial anticancerigen. O atenție particulară a fost acordată compușilor capabili să moduleze funcția mitocondrială, apoptoza, stresul oxidativ și reglarea epigenetică în celulele tumorale. Aceste studii au explorat potențialul terapeutic al butiratului de sodiu, al moleculelor bioactive de origine naturală și al unor derivați sintetici noi cu posibile aplicații în terapia cancerului colorectal. Datele obținute susțin conceptul conform căruia compușii biologic activi pot acționa ca modulatori ai metabolismului tumoral și ai semnalizării epigenetice, deschizând noi perspective pentru strategiile terapeutice țintite.

O direcție interdisciplinară suplimentară dezvoltată pe parcursul activității științifice prezentate implică biomaterialele și medicina dentară. Teza include investigații privind biocompatibilitatea și profilul de biosecuritate al materialelor dentare, potențialul antimicrobian al terapiilor adjuvante împotriva biofilmelor orale și aplicațiile biomedicale ale hidroxiapatitei derivate din cochilii. Aceste studii reflectă aplicabilitatea translațională a cercetării toxicologice și a biomaterialelor în științele sănătății orale și medicina regenerativă.

Activitatea științifică s-a extins și către investigații clinice și epidemiologice privind modificările cardiovasculare la pacienții cu COVID-19, profilele fiziologice asociate

fumatului și patologiiile ortopedice implicând leziuni meniscale și condropatii. Deși distincte de domeniul toxicologiei experimentale, aceste studii au contribuit la dezvoltarea competențelor de cercetare clinică multidisciplinară și au consolidat dimensiunea translațională a activității științifice.

Rezultatele obținute după finalizarea studiilor doctorale sunt reflectate într-o activitate științifică susținută, concretizată prin articole indexate ISI, prezentări la conferințe, granturi de cercetare, capitole de carte și proiecte interdisciplinare collaborative. Activitatea de cercetare a fost susținută prin participarea la granturi naționale și instituționale și prin colaborări stabilite cu echipe multidisciplinare din domeniul biomedical, farmaceutic și al științelor mediului.

Teza de abilitare este structurată în mai multe secțiuni majore. Primul capitol este dedicat realizărilor științifice și prezintă principalele modele experimentale, metodologii și rezultate obținute în domeniile ecotoxicologiei, epigeneticii, biologiei cancerului și cercetării biomedicale translaționale. Capitole suplimentare sintetizează activitatea didactică, dezvoltarea profesională, responsabilitățile administrative și implicarea academică în mediul universitar. Secțiunea finală prezintă perspectivele viitoare de cercetare și dezvoltare academică, orientate către dezvoltarea unor modele experimentale avansate, identificarea unor biomarkeri epigenetici noi, aplicații translaționale în oncologie și sănătatea mediului și integrarea toxicologiei moleculare în cercetarea biomedicală interdisciplinară.

Direcțiile viitoare de cercetare propuse în cadrul acestei teze de abilitare urmăresc extinderea investigațiilor privind mecanismele epigenetice induse de contaminanții de mediu, explorarea unor noi strategii terapeutice care vizează căile moleculare și mitocondriale implicate în cancer și dezvoltarea unor aplicații translaționale bazate pe toxicologia experimentală și știința biomaterialelor. Un accent deosebit va continua să fie pus pe colaborarea interdisciplinară, inovația științifică și integrarea abordărilor experimentale și clinice în cercetarea biomedicală.

Întreaga activitate academică și științifică prezentată în această teză reflectă dezvoltarea progresivă a unui profil de cercetare multidisciplinar bazat pe rigoare experimentală, aplicabilitate translațională și integrarea continuă a toxicologiei, biologiei moleculare, epigeneticii, oncologiei și științelor biomedicale.

**"VICTOR BABEȘ" UNIVERSITY OF
MEDICINE AND PHARMACY TIMIȘOARA
DOCTORAL SCHOOL
PHARMACY DOMAIN**



HABILITATION THESIS
**Experimental Toxicology, Epigenetic Modulation and
Translational Applications in Environmental and
Biomedical Research**
ABSTRACT

Associate Professor PhD Drăghici George Andrei

Timișoara

2026

The current habilitation thesis, entitled “**Experimental Toxicology, Epigenetic Modulation and Translational Applications in Environmental and Biomedical Research**”, summarizes the most relevant scientific, academic, and professional achievements developed throughout my research and teaching career following the completion of my doctoral studies. The thesis reflects the progressive consolidation of an interdisciplinary scientific direction situated at the interface between experimental toxicology, environmental health, molecular biology, epigenetics, cancer research, biomaterials science, and translational biomedical applications.

The scientific activity presented in this thesis focuses primarily on the biological effects of environmental contaminants, especially heavy metals, and on the molecular and cellular mechanisms involved in toxicological responses. Particular attention has been directed toward cadmium and copper toxicity, due to their major ecological relevance and their implication in oxidative stress, metabolic dysregulation, carcinogenesis, and epigenetic alterations. These research directions were developed using complementary experimental models, ranging from terrestrial gastropods employed in ecotoxicological assessment to in vitro human colorectal carcinoma cell lines, thereby enabling an integrative understanding of toxic effects from environmental exposure to cellular and molecular responses.

Cadmium represents one of the most hazardous environmental pollutants due to its persistence, bioaccumulative properties, and high toxicity for both ecosystems and human health. Its widespread distribution in soil and food chains, mainly as a consequence of industrialization and anthropogenic contamination, has generated increasing concern regarding its long-term biological impact. In this context, terrestrial gastropods, especially *Cantareus aspersus*, were employed as experimental bioindicator models because of their remarkable capacity to accumulate heavy metals and their sensitivity to environmental stressors. The hepatopancreas was demonstrated to act as the principal organ of metal retention and detoxification, while shell-related parameters provided complementary information regarding chronic exposure and structural alterations.

The ecotoxicological studies included in this thesis investigated the kinetics of cadmium and copper accumulation under semi-field and dietary exposure conditions,

emphasizing tissue-specific distribution patterns, survival dynamics, growth parameters, and shell integrity. The results demonstrated that cadmium exposure induces significant dose- and time-dependent bioaccumulation, particularly within the hepatopancreas, while conchological endpoints exhibit comparatively lower sensitivity. Repeated exposure conditions amplified toxic responses, affecting survival, shell morphology, and physiological homeostasis. Moreover, the disruption of essential trace metal homeostasis, including copper, manganese, and iron, highlighted the complex interactions between toxic and essential metals during environmental exposure.

Beyond classical toxicological assessment, an important component of the research activity focused on the investigation of epigenetic mechanisms associated with metal exposure. Increasing evidence indicates that environmental toxicants can interfere with DNA methylation processes, thereby altering gene expression and cellular phenotype. In this context, the thesis explores both genome-wide DNA methylation (5-methylcytosine, 5mC) and DNA hydroxymethylation (5-hydroxymethylcytosine, 5hmC) in the hepatopancreas of *Cantareus aspersus* following cadmium exposure. The obtained results demonstrated that cadmium accumulation is associated with measurable epigenetic alterations, supporting the hypothesis that DNA methylation-related mechanisms are involved in adaptive and toxicological responses to environmental contaminants.

The identification of 5hmC signals in gastropod tissues represents an important contribution to the understanding of epigenetic regulation in invertebrate models, an area that remains insufficiently explored in environmental toxicology. The observed modulation of global DNA methylation patterns further supports the relevance of epigenetic biomarkers as sensitive indicators of sublethal toxic exposure. These findings contribute to the development of integrative ecotoxicological approaches capable of linking environmental contamination with molecular-level alterations.

Another major research direction addressed in this thesis concerns the investigation of heavy metal-induced effects in cancer cell models, particularly in human colorectal adenocarcinoma HT-29 cells. Colorectal cancer remains one of the leading causes of cancer-related mortality worldwide, while environmental exposure to toxic metals is increasingly recognized as a contributing factor in carcinogenesis and tumor

progression. Therefore, understanding the molecular and cellular consequences of cadmium and copper exposure in colorectal cancer cells represents an important step toward elucidating environmentally mediated oncogenic mechanisms.

The in vitro studies demonstrated that cadmium chloride and copper sulfate induce dose-dependent cytotoxic effects characterized by reduced cellular viability, altered morphology, impaired migratory capacity, and epigenetic dysregulation. Particular emphasis was placed on the modulation of DNA methyltransferase family genes (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B), which play essential roles in the establishment and maintenance of DNA methylation patterns. The results revealed distinct epigenetic responses depending on the type of metal exposure, with cadmium predominantly inducing DNMT downregulation and copper stimulating DNMT overexpression. These findings highlight the capacity of environmental metals to influence cancer cell behavior through both cytotoxic and epigenetic pathways.

In parallel with toxicological and molecular investigations, the thesis also includes research focused on bioactive compounds with potential anticancer activity. Particular attention was directed toward compounds capable of modulating mitochondrial function, apoptosis, oxidative stress, and epigenetic regulation in tumor cells. These studies explored the therapeutic potential of sodium butyrate, naturally derived bioactive molecules, and novel synthetic derivatives with possible applications in colorectal cancer therapy. The obtained data support the concept that biologically active compounds may act as modulators of tumor cell metabolism and epigenetic signaling, opening new perspectives for targeted anticancer strategies.

An additional interdisciplinary research direction developed throughout the presented scientific activity involves biomaterials and dental medicine. The thesis includes investigations regarding the biocompatibility and biosecurity profile of dental materials, the antimicrobial potential of adjunctive therapies against oral biofilms, and the biomedical applications of shell-derived hydroxyapatite. These studies reflect the translational applicability of toxicological and biomaterial research in oral health sciences and regenerative medicine.

The scientific activity also extended toward clinical and epidemiological investigations addressing cardiovascular alterations in COVID-19 patients, smoking-

associated physiological profiles, and orthopedic pathologies involving meniscal injuries and chondral lesions. Although distinct from the experimental toxicology domain, these studies contributed to the development of multidisciplinary clinical research skills and strengthened the translational dimension of the scientific activity.

The results obtained after the completion of the doctoral studies are reflected in a sustained scientific output consisting of ISI-indexed articles, conference presentations, research grants, book chapters, and collaborative interdisciplinary projects. The research activity was supported by participation in national and institutional research grants and by collaborations established with multidisciplinary research teams from biomedical, pharmaceutical, and environmental sciences.

The habilitation thesis is structured into several major sections. The first chapter is dedicated to scientific achievements and presents the principal experimental models, methodologies, and research results obtained in the fields of ecotoxicology, epigenetics, cancer biology, and translational biomedical research. Additional chapters summarize the didactic activity, professional development, administrative responsibilities, and academic involvement within the university environment. The final section outlines future scientific and academic perspectives focused on the development of advanced experimental models, identification of novel epigenetic biomarkers, translational applications in oncology and environmental health, and the integration of molecular toxicology into interdisciplinary biomedical research.

The future research directions proposed within this habilitation framework aim to expand the investigation of epigenetic mechanisms induced by environmental contaminants, to explore novel therapeutic strategies targeting molecular and mitochondrial pathways in cancer, and to develop translational applications based on experimental toxicology and biomaterials science. Particular emphasis will continue to be placed on interdisciplinary collaboration, scientific innovation, and the integration of experimental and clinical approaches in biomedical research.

The entire academic and scientific activity presented in this thesis reflects the progressive development of a multidisciplinary research profile based on experimental rigor, translational applicability, and continuous integration of toxicology, molecular biology, epigenetics, oncology, and biomedical sciences.