

RECEPȚIONAT

Agenția Națională pentru Cercetare
și Dezvoltare _____
_____ 2024

AVIZAT

Secția AȘM _____
_____ 2024

RAPORT ȘTIINȚIFIC ANUAL 2024

privind implementarea proiectului din cadrul concursului

Tineri cercetători

Proiectul "*Elaborarea pansamentelor biologice pentru regenerarea plăgilor cutanate prin inginerie tisulară*"

Cifra proiectului **23.70105.8007.02T**

Prioritatea strategică **Sănătate**

Conducătorul proiectului

MACAGONOVA Olga _____

Rectorul USMF „Nicolae Testemițanu”

CEBAN Emil _____

Președintele Consiliului Științific

CHIHAI Jana _____

L.Ș.

Chișinău 2024

CUPRINS:

1. Scopul etapei 2024
2. Obiectivele etapei 2024
3. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor etapei 2024
4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor etapei 2024
5. Rezultatele obținute
6. Diseminarea rezultatelor la foruri științifice
7. Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului 2024
8. Colaborare la nivel național în cadrul implementării proiectului 2024
9. Colaborare la nivel internațional în cadrul implementării proiectului 2024
10. Dificultăți în realizarea proiectului: financiare, organizatorice, legate de resursele umane
11. Recomandări, propuneri
12. Lista lucrărilor științifice, științifico-metodice și didactice publicate în anul 2024 (Anexa 1)
13. Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect 2024 în limba română și în limba engleză (Anexa 2)
14. Executarea devizului de cheltuieli din contractul de finanțare pentru anul 2024 (Anexa 3)
15. Componența echipei conform contractului de finanțare pentru anul 2024 (Anexa 4)

1. **Scopul** etapei 2024 conform proiectului depus la concurs (obligatoriu)

Scopul acestui studiului este crearea pansamentelor biologice din țesuturilor aceluare folosind pielea de șobolan ca model *in vivo*.

2. **Obiectivele** etapei 2024 (obligatoriu)

Etapa I - Evaluarea *in vivo* a acțiunii terapeutice ale matricilor decelularizate asupra plăgilor cutanate

Obiectiv - Obținerea pansamentelor biologice ingineresti cu potențial terapeutic asupra plăgilor cutanate.

Etapa II - Amploarea acțiunii terapeutice asupra plăgilor prin utilizarea matricilor decelularizate funcționalizate cu antibiotice (Gentamicină), antisepticele (Povidonă-Iod), antiinflamatoare steroidiene (Valerat de Betametazonă) și nanoparticule de zinc.

Obiectiv - Crearea pansamentelor biologice aceluare și realizarea agenților terapeutici spre locul afectat.

3. **Acțiunile planificate** pentru realizarea scopului și obiectivelor etapei 2024 (obligatoriu)

Etapa I - Evaluarea *in vivo* a acțiunii terapeutice ale matricilor decelularizate asupra plăgilor cutanate

1. Matrici decelularizate din derm, mucoasa și submucoasa și țesut adipos porcine decelularizate vor fi utilizate în calitate de pansamente în tratamentul plăgilor modelate pe șobolani.
2. Estimarea proprietăților fizico-chimice ale țesuturilor aceluare (derm, mucoasa cu submucoasa din intestin subțire și țesut adipos porcine).
3. Analiza histologică cu hematoxilină-eosină și picrofuscina ale țesuturilor decelularizate din derm, mucoasa și submucoasa de intestinul subțire și țesutul adipos porcine.
4. Cuantificarea spectrofometrică al acidului dezoxiribonucleic (ADN) în țesuturile decelularizate.
5. Modelarea leziunilor de tip excizie pe șobolani și repartizarea lor în nouă grupe (n=8).

Etapa II - Amploarea acțiunii terapeutice asupra plăgilor prin utilizarea matricilor decelularizate funcționalizate cu antibiotice (gentamicină), antisepticele (povidonă-iod), antiinflamatoare steroidiene (Valerat de Betametazonă) și nanoparticule de zinc.

1. Imbibarea matricilor decelularizate cu antibiotice (Gentamicină), antisepticele (Povidonă-Iod), antiinflamatoare steroidiene (Valerat de Betametazonă) și nanoparticule de zinc.
2. Evaluarea acțiunii terapeutice ale biomaterialelor asupra rănilor prin calculul

contracției plăgilor.

3. Aprecierea proprietăților biodegradabile ale țesuturilor decelularizate.
4. Amploarea reepitelizării plăgilor prin prezența leucocitelor, celulelor polimorfonucleare fibroblastelor și vaselor nou formate în plagă pe șobolani.
5. Estimarea acțiunii terapeutice ale biomaterialelor funcționalizate prin investigații imunohistochimice cu anticorpii pentru cytokeratină (CK16), fibronectină, collagen 3 (COL-3) și collagen 1 (COL-1).

4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor etapei 2024 (obligatoriu)

1. S-a obținut biomateriale acelulare din derm, submucoasa intestinului subțire și țesut adipos porcine
2. S-au evaluat caracteristicile fizico-chimice ale țesuturilor acelulare și corelația: volumul, densitatea, porozitate și rata de umflare a țesuturilor decelularizate prin estimarea trecerii soluțiilor prin biomateriale și imbibarea lor cu lichide.
3. S-a efectuat estimarea prezenței celulelor nucleate și aprecierea organizării fibrelor de collagen în țesuturile decelularizate obținute din derm, submucoasa intestinului subțire, țesut adipos porcine utilizând examinarea histologică cu hematoxilină - eosină (H-E), microscopie electronică de scanare și colorația cu 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI).
4. S-a apreciat validitatea matricilor decelularizate pentru crearea biopansamentelor cuantificând ADN în biomateriale utilizând Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit.
5. Am apreciat biocompatibilitatea materialelor, folosind metoda cu bromura de 3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazoliu (MTT). A fost evaluată morfologie celulară prin analiza cu Calcein acetometoxi și integritatea celulelor care au intrat în contact cu materiale folosind Rhodamine Phalloidin – DAPI.
6. Am folosit șobolanii Wistar ca bi modele pentru aprecierea proprietăților regenerative ale biomaterialelor. S-a efectuat excizia pielii de toată grosimea pe spatele șobolanilor, aplicarea regenerării plăgilor - model prin fotografierea lor în mod regulat în zilele 1, 4, 7, 14 și 21, urmărind mărimea plăgii în raport cu dimensiunile originale (rata de vindecare a plăgii) și biodegradabilitatea biomaterialelor .

1. Rezultatele obținute (descriere narativă 3-5 pagini) (obligatoriu)

Ingineria tisulară este un domeniu științific care utilizează principiile științelor sănătății și ingineriei pentru a dezvolta biomateriale care pot imita structura unui organ, conțin factori de

creștere, asigură controlul asupra creșterii celulelor și generează țesuturi pentru restaurarea, întreținerea sau îmbunătățirea funcției ale organului afectat.

Proiectul prezintă un studiu științific aplicativ care implementează tehnici de elaborare prin inginerie tisulară a biomaterialelor din țesuturi de origine xenogenă, investigații experimentale ce caracterizează biomaterialele în scopul creării pansamentelor biologice în tratamentul plăgilor cutanate model pe șobolani.

În anul 2024 conform obiectivelor trasate în proiect au fost obținute biomateriale aceluare (arătat în Figura 1) din derm (a), submucoasa intestinului subțire (SIS) (b) și țesutul adipos (c) de origine porcină. Metoda de preparare a membranei extracelulare (ECM) s-a bazat pe obținerea unui țesut aceluare prin procesarea fizico-chimică a țesuturilor și îndepărtarea tuturor celulelor vii, păstrând în același timp matricea bioactivă rămasă. Această metodă a inclus tratamentul fizic pentru îndepărtarea celulelor de pe schele și excluderea reacției imune după aplicare. În studiul nostru, am procesat separat piele, submucoasa intestinului subțire și țesutul adipos creând biomaterialele membranoase bazate pe ECM care sunt un instrument util pentru replicarea pansamentelor biologice pentru studiul științific și testarea terapeutică

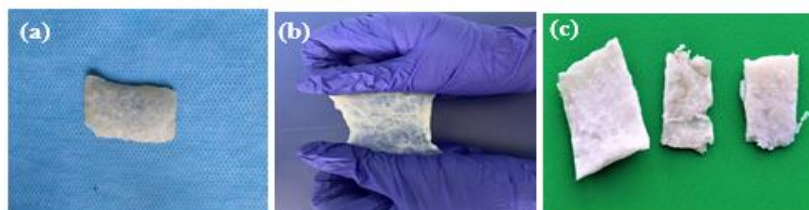


Fig. 1 (a) Piele porcină; (b) submucoasa intestinului subțire porcine; (c) țesutul adipos porcine.

Evaluarea caracteristicilor fizice. Analiza porozității țesuturilor s-a efectuat prin metoda de trecerea etanolului de 20 % prin țesut, utilizând formula:

$$\text{Porozitatea (\%)} = \frac{V_1 - V_3}{V_2 - V_3} \times 100$$

unde, V_1 – volumul cunoscut de etanol în care grefa a fost imersată, V_2 – volumul de etanol cu țesutul îmbibat cu lichid, V_3 – volumul de lichid atunci când este țesutul imersat a fost îndepărtat.

Rata de umflare (%) a țesuturilor decelularizate a fost estimată prin raportul dintre diferența de greutatea inițială a țesutului uscat și greutatea materialului complet umflat împărțită la greutatea inițială a țesutului uscat, utilizând formula:

$$\text{SR (\%)} = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100$$

Analiza densității grefelor decelularizate a fost realizat conform ecuației:

$$d = W / (V_2 - V_3)$$

unde W – greutatea grefei imersate în lichid, V_2 – volum de lichid cu țesutul imersat în lichid, V_3 – volum de lichid când țesutul umed a fost îndepărtat.

Valorile medii ale proprietăților fizice ale grefelor (suprafață, volum, densitate, porozitate, rata de umflare), au fost colectate în Tabelul 1.

Tabelul 1. Distribuția caracteristicilor fizice ale dermului acelar porcin

Caracteristici	Dermul porcin (n=10)
Suprafața (cm ²)	3.06±0.05
Volumul (ml)	1.05±0.05
Densitatea (mg/ml)	379.9±0.83
Porozitatea (%)	53±0.031
Rata de umflare (%)	650.4±0.65

Calcularea indicelui Bravais-Pearson a arătat corelație pozitivă între densitate și rata de umflare fiind de 0,33, care înseamnă că pe măsură ce rata de umflare va crește, densitatea poate crește. O corelație de -0,43 a fost prezentată între porozitate și rata de umflare al dermului porcin decelularizat, ceea ce indică faptul că pe măsură ce porozitatea va crește, rata de umflare tinde să scadă, ceea ce prezintă o corelație negativă.

Membrană este cea mai obișnuită forma al biomaterialului obținut din ECM. Țesutul decelularizat este alb translucid, cu o grosime de aproximativ 0,1 - 3 mm, cu câteva linii de fibre pe suprafața (Figura 2 a, 3 a, 4 a), cu ultrastructura cu porozitatea diferită în funcție de proveniența țesutului analizat prin microscopie electronică de scanare (SEM) (Figura 2 b, 3 b, 4 b).

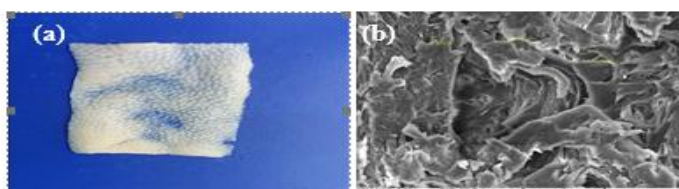


Fig. 2. (a) Imagine macroscopică a dermului decelularizat; (b) imaginea SEM a dermului acelar. Bară de scară: 20 μm.

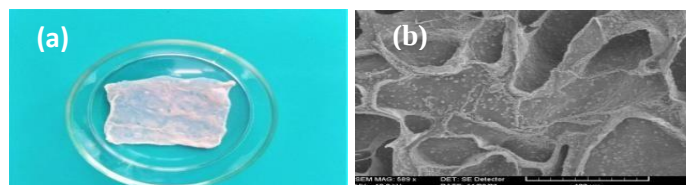


Fig. 3. (a) Imaginea macroscopică a SIS acelar și (b) imaginea SEM a SIS decelularizat; Bară de scară: 100 μm.

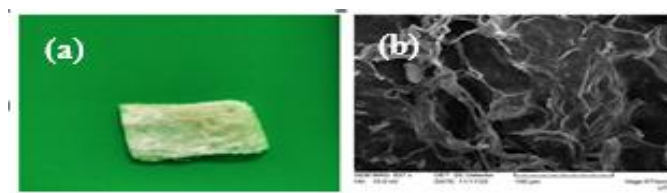


Fig. 4. (a) Imaginea macroscopică al țesutului adipos acelar și (b) imaginea SEM a țesutului adipos decelularizat; Bară de scară: 100 μm.

De când decelularizarea a fost raportată pentru prima dată în 1948, tehnologiile dedecelularizare s-au dezvoltat rapid în ultimele decenii. Îndepărtarea completă a componentelor nucleare și citoplasmatică este dificilă, iar resturile celulare de ECM decelularizate pot provoca un răspuns inflamator la locurile de implantare și, în cele din urmă, pot duce la eșecul regenerării țesutului. Evaluările calitative a decelularizării au fost efectuate folosind vizualizarea prin imunofluorescență a țesuturilor colorate cu 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) arătat în Figura 5 (a, b). Colorarea prin imunofluorescență folosind DAPI a fost utilizată pentru a observa existența nucleelor evidente și a resturilor celulare constitutive. După cum se arată în Figura 5 (a), celulele fluorescente din derma intactă au fost îndepărtate după decelularizare comparativ cu țesutul intact Figura 5 (b).

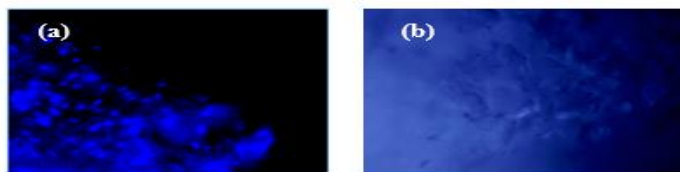


Fig. 5 (a) Imagine DAPI a dermului natural, prezentând celule fluorescente; (b) imagine DAPI a dermului decelularizat, aproape lipsit de celule.

Figura 6 prezintă imagini de colorare cu hematoxină-eozină și imagini de SEM înainte și după decelularizarea dermului. Prin SEM, este vizibilă o structură de rețea 3D liberă, care va fi folosită ca material de schelă.

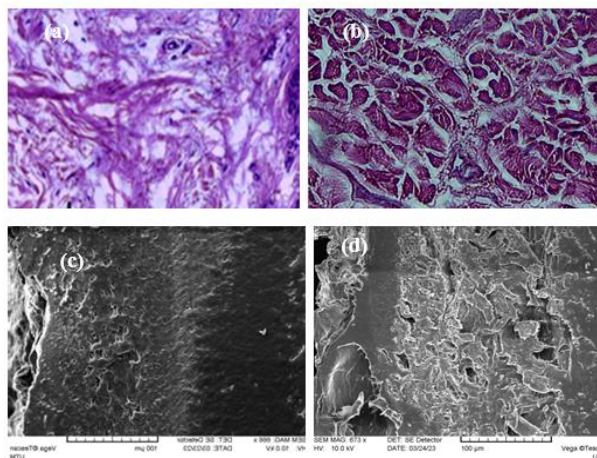


Figura 6. (a) Imagine H-E al dermului fără decelularizare, prezentând mulți nuclei albaștri; (b) Imagine H-E a dermului decelularizat, aproape fără semne nucleare; (c) imaginea SEM a dermului nedecelularizat a arătat țesut gros, dens, neporos; (d) imaginea SEM al dermului acelar fiind de un patrn reticular interstițial mai pronunțat.

Colorația cu H-E (Figura 7 (a, b)), SEM (Figura 7 (c, d)) și colorarea DAPI (Figura 7 (e, f)) prezintă imagini ale SIS și după decelularizare utilizate pentru a testa prezența sau absența de nucleu celular.

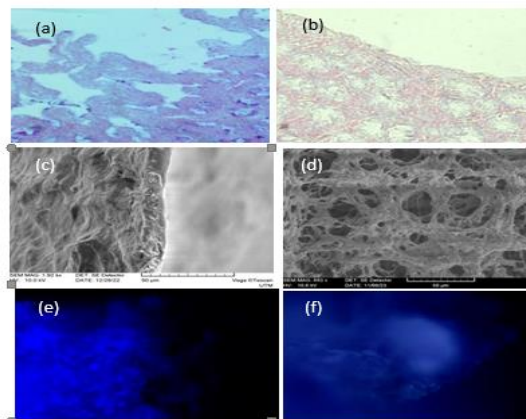


Fig. 7. (a) Imagine H-E a SIS netratat cu detergenți decelularizanti, indicând multe nuclee albastre, H-E $\times 140$; (b) evaluarea H-E a SIS acelar descrie reducerea semnificativă a nucleelor, H-E $\times 140$; (c) imaginea SEM arată SIS netratat, este neporos și dens; (d) evaluarea SEM a SIS tratat indică un cadru 3D poros; Bară de scară: 50 μm ; (e) imagine DAPI a SIS natural, care arată celule fluorescente; (f) Imagine DAPI a SIS decelularizat, aproape fără celule.

Pentru cuantificarea ADN am folosit Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit, folosind spectrofotometrie pe o microplacă de cititor la o lungime de undă de 260/280 nm (NANODROP 2000C).

Cantitatea de ADN în dermul acelar a constituit $0,48 \pm 0,17 \text{ ng}/\mu\text{l}$, fiind semnificativ față de valorile de referințe a ADN genomic cuantificat în țesutul nedecelularizat $17,43 \pm 3,4 \text{ ng}/\mu\text{l}$.

Matricea spongioasă obținută pe bază de submucoasa intestinului șubțire decelularizată (Figura 8 (a)) este flexibilă, elastică, plastică, iar structura sa are pori interconectați, vizualizați prin SEM (Figura 8 (b)).

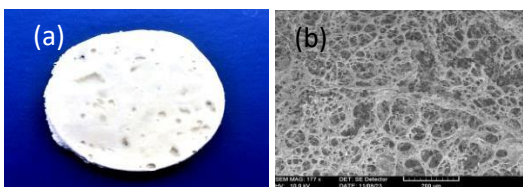


Fig. 8. (a) Imaginea macroscopică a matricii bazate pe SIS ECM arată o spongie moale, fină; (b) imaginea SEM a spongiei bazate pe SIS ECM; Bară de scară: 200 μm .

SIS a fost transformat într-o matricea polimerică pe bază de collagen porcine. Hidrogelurile sunt cele mai potrivite materiale pentru umplerea defectelor tisulare, datorită vâscozității și comportamentului lor hidrofili (Figura 9). Hidrogelul este un fluid bun și poate fi introdus în plăgă folosind o seringă.



Fig. 9. Imaginea hidrogelului din tub.

Biocompatibilitate. Biocompatibilitatea este termenul folosit pentru a descrie capacitatea biomaterialului care există într-un mediu fiziologic, rezistent la aderenta celulara, fără să fie toxic și să afecteze semnificativ zona de implantare. Biocompatibilitatea biomateralelor a fost evaluată printr-un test de viabilitate celulară folosind metoda cu 3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)- 2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT). Fibroblastele sunt celulele predominante din structura pielii, având un rol esențial pe tot parcursul procesului de regenerarea a plăgilor. Pentru realizarea testului de citocompatibilitate celulară au fost utilizate fibroblaste dermice umane normale (linia celulară NHDF).

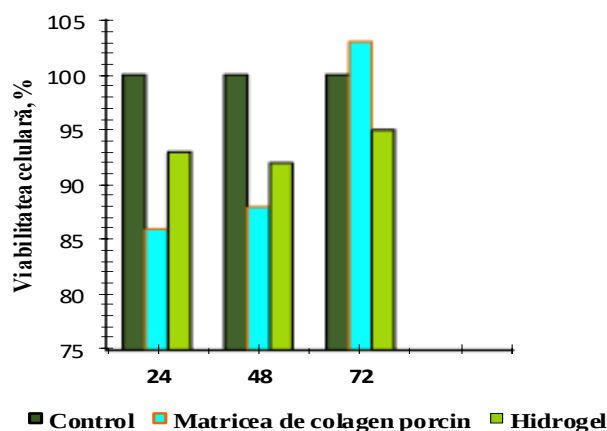


Fig. 10. Viabilitatea celulară (%), măsurată prin tehnica MTT, pentru matricele testate după 24, 48 și 72 de ore de experiment.

După 72 de ore de experiment, fibroblastele dermice umane care au intrat în contact direct cu matricele de collagen au proliferat semnificativ (valori de 103%), comparativ cu valoarea de control. Influența matricei polimerice pe bază de collagen porcine este ușor redusă față de cealaltă, dar valoarea viabilității celulare rămâne ridicată după 72 de ore de experiment, fiind de 93% (așa cum se arată în Figura 10).

Pentru a susține datele obținute în urma testului de compatibilitate MTT, celulele care au intrat în contact direct cu matricele polimerice au fost analizate folosind două tehnici distincte de colorare, și anume cu Calcein AM și DAPI-Rhodamine Phalloidin (așa cum se arată în Fig. 11). Imaginile, realizate cu un obiectiv x10, demonstrează prezența celulelor viabile în godeuri în momentul fixării/colorării. Celulele prezintă integritate morfologică, fiind aderente la substrat, demonstrând forma specifică fibroblastelor dermice umane normale, fiind alungite, fusiforme. Totodată, s-a dovedit că nucleul celular nu a suferit modificări, fapt demonstrat prin legarea reactivului DAPI, colorant care se leagă la nivelul lanțului de ADN care nu a fost modificat ulterior.

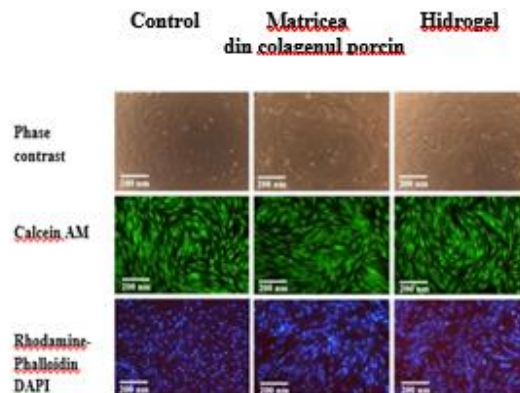


Fig. 11. Imagini de contrast de fază și microscopie cu fluorescență ale celulelor după contactul cu materialele testate. Imaginile realizate arată informații despre morfologia celulei după 72 de ore de experiment.

Model beneficiar de materiale în calitate de pansamente (Figura 12, a) au fost șobolanii Wistar (Figura 12, b) cu plăgi reproduse chirurgical. Experimentul a fost aprobat de Comitetul de Etică Instituțional a IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova (Decizia nr. 4 din 24.03.2023 de autorizare sanitar-veterinară a proiectelor care implică utilizarea animalelor în scopuri experimentale sau alte scopuri științifice).

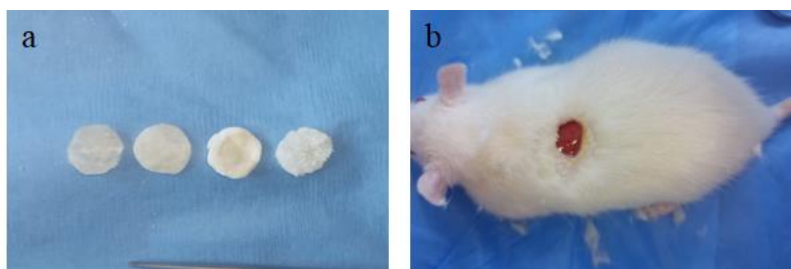


Fig. 12. (a) Biopansamente; (b) șobolanul Wistar cu plagă excizată chirurgical.

Metoda de colectarea datelor a fost observarea închiderii plăgii în timp. Folosind plăgile pe modele animale, procesul de regenerare am clasificat în următoarele faze: stadiul inflamator cuprinzând stabilirea hemostazei și inflamației; stadiul proliferativ constând în granulație, contracție și epitelizare și stadiul de remodelare, care implică aspectul țesutului restabilit, utilizând noi abordări terapeutice: grupul I - martor, soluție salină normală 0,9 %, grupul II – pansamentul format din pielea porcine decelularizată combinată cu Gentamicină (n=8) (Figura 13, a); grupul III - submucoasa intestinului subțire aceluilară combinată cu Povidon-iod 0,01 % (Figura 13, b).

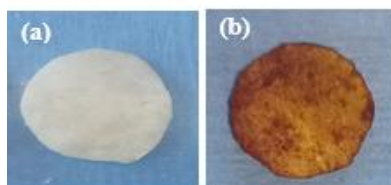


Fig. 13. (a) Pansamentele biologice formate din pielea porcine decelularizată combinată cu Gentamicină ; (b) submucpoasa intestinului subțire porcine combinat cu soluție de Polividon iod.

Pielea rozătoarelor este unică prin faptul că are un strat de panicul carnosus (un strat muscular subțire care se găsește doar în platismă gâtului la om), care produce o contracție rapidă a plăgii în urma exciziei. Marginile pielii nefiind suturate împreună. Zona plăgii a fost posibil să fotografiem în mod regulat în zilele 1, 4, 7, 14 și 21, iar închiderea plăgii a fost calculată pe baza diametrului plăgii în raport cu dimensiunile originale (rata de vindecare a plăgii) (Figura 14).

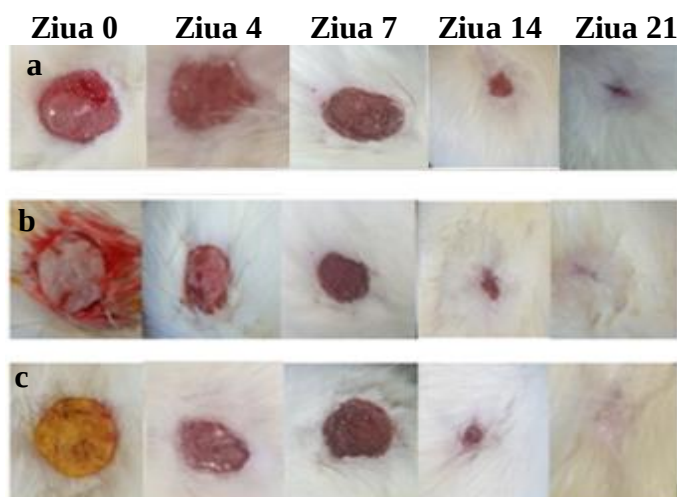


Fig. 14. Imagini reprezentative ale diferitelor modele experimentale de vindecare a plăgilor pe spatule șobolanilor, care arată utilizarea diferitelor tipuri de pansamente biologice: (a) grupul control tratat cu soluție salină normală 0,9 %; (b) pielea porcine acelulară combinată cu Gentamicină; (c) submucoasa intestinului subțire porcine decelularizat combinată cu Polividon -iod 0,01%; și urmărirea regulată: ziua 0 - imediat după excizia plăgii, ziua 4 - faza de inflamație; ziua 7 - proliferare; și ziua 14 și 21 – remodelare.

Ratele de contracție a plăgii au fost semnificativ mai mari în grupul II decât în grupul I și III la a șaptea zi după excizie ($p < 0,05$), și formarea semnificativă a țesutului de granulație în grupul I decât în grupul I și III.

Analiza macroscopică a defectelor cutanate la 21 de zile de la intervenție a arătat că în exciziile cutanate tratate cu pansamentele biologice formate din pielea porcine decelularizată combinată cu Gentamicină și submucpoasa intestinului subțire porcine combinat cu soluție de Polividon - iod de 0,01 %, vindecarea este completă, structurile pilosebacee și mușchiul panicul

carnosus sunt complet formate față de plăgile din grupul control tratate cu soluție salină normală 0,9 %.

Pentru analiza histologică, animalele au fost anesteziate local și biopsiile fiind colectate, procesate și examinate atât pentru decalajul epitelial (distanța cuantificabilă dintre marginile plăgii epiteliale), cât și pentru caracteristicile patului de granulație, și organizarea colagenului.

2. Diseminarea rezultatelor la foruri științifice (obligatoriu)

Teze ale conferințelor științifice

MACAGONOVA, Olga, COCIUG, Adrian, ȚĂRĂLUNGĂ, Tatiana, CIOBANU, Vladimir, BRANIȘTE, Tudor, BUZA-ZUEVA, Anastasia, NACU, Viorel. [Submucoasa intestinului subțire porcin – o sursă pentru crearea unui biomaterial prin inginerie tisulară](http://repository.utm.md/handle/5014/27262). In: *Patrimoniul cultural de ieri – implicații în dezvoltarea societății durabile de mâine* [online], Ed. 8, 8-9 februarie 2024, Chișinău. Iași – Chișinău-Lviv: 2024, Ediția 9, pp. 208-210. ISSN 2558 – 894X. Disponibil: <http://repository.utm.md/handle/5014/27262>

MACAGONOVA, Olga, COCIUG, Adrian, TARALUNGA, Tatiana, CIOBANU, Vladimir, BRANISTE, Tudor, NACU, Viorel. [Dermatologia la interfața cu ingineria tisulară. Cursul Educational „Actualități și perspective în inginerie tisulară și transplantarea celulară”](#) în cadrul Conferinței științifice anuale "Cercetarea în biomedicină și sănătate „Calitate, Excelență și Performanță", 16-18 octombrie, 2024.

Comunicare orală

MACAGONOVA Olga, COCIUG Adrian, TARALUNGA Tatiana, BRANISTE Tudor, VERESTIUC Liliana, NACU, Viorel. Xenogeneic Small Intestine Submucosa Surface Modification during Processing for Tissue Engineering. In: *Proceeding of the 12 th International Conference on E-Health and Bioengineering - EHB 2024, November 14-15, 2024, Iasi, Romania*.

Participarea la Expoziții

Participarea la Expoziția Europeană de Creativitate și Inovație - EUROINVENT, ediția 16, 8-10 Mai - 2024, Iasi, Romania. cu invenție, Methods of obtaining biological dressings from porcine dermis collagen". Diploma, Silver Medal.

3. Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului (obligatoriu)

Acest studiu va contribui la obținerea unor rezultate științifice și tehnologice competitive la nivel național, menite să mărească prestigiul internațional al cercetării din Republica Moldova și, în consecință, să genereze noi parteneriate cu alte țări ale UE.

Dezvoltarea pansamentelor biologice cu acțiunea regenerativă modelatoare,

antiinflamatoare și antimicrobiană asupra plăgilor cutanate sunt menite să îmbunătățească calitatea serviciilor medicale, calitatea vieții pacienților, reduce necesitatea și durata de spitalizare.

Existența opțiunilor de alternativă de aplicarea în clinică a pansamentelor biologice aceluare de origine xenogenă va favoriza accesul de îngrijire în sănătate și reduce presiunea asupra sistemului sanitar, costul și cheltuielile în sănătate și reincadrarea rapidă al pacientului în câmpul muncii și, în consecință menținerea economiei naționale.

4. **Colaborare la nivel național** în cadrul implementării proiectului s-a realizat cu Banca de Țesuturi Umane, Spitalul de Traumatologie și Ortopedie privind prepararea biomaterialelor pentru restabilirea țesuturilor lezate, crearea modelelor de plagă pentru activizarea proceselor de regenerare. Specialiștii din Centrul Național de Studiu și Testare a Materialelor, din Universitatea Tehnică a Moldovei au contribuit la studiu porozității și conexiunilor interporoase ale biomaterialelor obținute în cadrul proiectului, folosind microscopie electronică de scanare. Specialiștii din laboratorul de Genetică Umană a IP USMF „Nicolae Testemițanu” au participat la cuantificarea ADN folosind Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit și aprecierea antigenității biomaterialelor în scopul evitării rejecției biopansamentelor utilizate în plaga-model.
5. **Colaborare la nivel internațional** în cadrul implementării proiectului s-a realizat cu Departamentul de Științe Biomedicale, Facultatea de Bioinginerie Medicală Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, și s-au obținut rezultatele privind citocompatibilitatea biomaterialelor obținute, folosind metoda cu bromura de de 3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazoliu (MTT). A fost evaluată morfologie celulară prin analiza cu Calcein acetometoxi și ADN celulelor care au intrat în contact cu materiale prin vizualizare folosind Rhodamine Phalloidin – DAPI.
6. **Dificultățile în realizarea proiectului:** financiare, organizatorice, legate de resursele umane etc. (opțional)

Dificultățile în realizarea proiectului au fost de ordin practicilor aplicate în realizarea obiectivelor proiectului și a constituit controlul dificil asupra dimensiunilor și adâncimei plăgii, ce influențează o reprezentare exactă, reproducerea a modelului de plăgi, de asemenea a fost greu de controlat răspunsul imun al animalelor care este diferit de cel uman.
7. **Recomandări, propuneri** (opțional).

Conducătorul de proiect _____ / Macagonova Olga

Data: _____

L.Ș.

**Lista lucrărilor științifice, științifico-metodice și didactice
publicate în anul 2024 în cadrul proiectului**

"Elaborarea pansamentelor biologice pentru regenerarea plăgilor cutanate prin inginerie tisulară"

1. Articole în culegeri științifice naționale/internaționale

1.1. culegeri de lucrări științifice editate peste hotare

MACAGONOVA, Olga, COCIUG, Adrian, TARALUNGA, Tatiana, BRANISTE, Tudor, NACU Viorel. [Dermis surface modification in tissue engineering](#). In: *International scientific peer-reviewed journal «Modern engineering and innovative technologies»* [online]. Germania. 2024, No. 34-02, p. 140-152. ISSN (Online): 2567-5273.

2. Articole în materiale ale conferințelor științifice

2.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

MACAGONOVA Olga, COCIUG Adrian, TARALUNGA Tatiana, BRANISTE Tudor, VERESTIUC Liliana, NACU, Viorel. Xenogeneic Small Intestine Submucosa Surface Modification during Processing for Tissue Engineering. In: *Proceeding of the [12 th International Conference on E-Health and Bioengineering - EHB 2024, November 14-15, 2024, Iasi, Romania](#)*. in press.

3. Teze ale conferințelor științifice

3.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

MACAGONOVA, Olga, COCIUG, Adrian, ȚĂRĂLUNGĂ, Tatiana, CIOBANU, Vladimir, BRANIȘTE, Tudor, BUZA-ZUEVA, Anastasia, NACU, Viorel. [Submucoasa intestinului subțire porcin – o sursă pentru crearea unui biomaterial prin inginerie tisulară](#). In: *Patrimoniul cultural de ieri – implicații în dezvoltarea societății durabile de mâine* [online], Ed. 8, 8-9 februarie 2024, Chișinău. Iași – Chișinău-Lviv: 2024, Ediția 9, pp. 208-210. ISSN 2558 – 894X. Disponibil: <http://repository.utm.md/handle/5014/27262>

MACAGONOVA, Olga, COCIUG, Adrian, TARALUNGA, Tatiana, CIOBANU, Vladimir, BRANISTE, Tudor, NACU, Viorel. [Dermatologia la interfața cu ingineria tisulară](#). In: *Culegere de rezumate a Conferinței științifice anuale "Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță"* [online], 16-18 octombrie, 2024, p. 27. ISBN: 2345-1467. Disponibil: <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/28435>

3.2. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

MACAGONOVA, Olga, COCIUG, Adrian, TARALUNGA, Tatiana, CIOBANU, Vladimir, BRANISTE, Tudor, BUZA-ZUEVA, Anastasia, NACU Viorel. [Porcine dermis - a source of biomaterial modelling by tissue engineering](#). In: *The Materials of the National Scientific*

Conference with International Participation „Cells and tissues transplantation. Actualities and perspectives”, the 2nd edition [online], Chisinau, March 29-30th 2024, p. 26. ISBN: 978-9975-82-366-1.

4. Brevete de invenții și alte obiecte de proprietate intelectuală, materiale la saloanele de invenții

4.1. Hotărâri de acordare a brevetului de invenție de scurta durata

MACAGONOVA, Olga, NACU, Viorel, COCIUG, Adrian, Dispozitiv de decuplare a mucoasei cu submucoasă de pe intestinul subțire. Data depozit 2024.02.20. Hotărâre de acordarea BSD nr. 10537 din 2024.11.08

MACAGONOVA, Olga, NACU, Viorel, COCIUG, Adrian, Dispozitiv de dializă al suspensiei de colagen. Data depozit 2024.05.02. Hotărâre de acordarea BSD nr.10473 din 2024.07.09

Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect în anul 2024

Proiectul prezintă un studiu științific aplicativ care implementează tehnici de elaborare prin inginerie tisulară a biomaterialelor din țesuturi de origine xenogenă, investigații experimentale ce caracterizează biomaterialele în scopul creării pansamentelor biologice în tratamentul plăgilor cutanate model pe șobolani.

În acest studiu am conturat succesiunea pașilor de obținere a biomaterialelor, pentru a optimiza porozitatea, soliditatea fără a modifica integritatea și proprietățile fizice ale scheletului general al materialului pentru a îmbunătăți activitatea biologică a celulelor de la suprafață și pentru a satisface orice nevoie de îngrijire a pielii și de a se adapta la defectele țesuturilor și produce regenerarea plăgilor. Decelularizarea tesuturilor are un rol important, asigură reducerea antigenicitatii materialelor obtinute. Examenul histologic, testul MTT, tehnicile de colorare cu Calcein AM și DAPI-Rhodamine Phalloidin utilizate au fost metode fiabile în cercetare.

Model beneficiar de materiale în calitatea de pansamente au fost șobolani Wistar cu plăgi reproduse chirurgical. Experimentul a fost aprobat de Comitetul de Etică Instituțional a IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova (Decizia nr. 4 din 24.03.2023 de autorizare sanitar-veterinară a proiectelor care implică utilizarea animalelor în scopuri experimentale sau alte scopuri științifice).

Metoda de colectarea datelor a fost observarea închiderii plăgii în timp. Folosind plăgile pe modele animale, procesul de regenerare am clasificat în stadiul inflamator; stadiul proliferativ și stadiul de remodelare, utilizând noi abordări terapeutice: grupul I - martor, tratat cu soluție salină normală 0,9 %, grupul II – pansamentul format din pielea porcine decelularizată imbibată cu Gentamicină (n=8); grupul III - submucoasa intestinului subțire acelulară combinată cu Povidonă-iod.

Ratele de contracție a plăgii au fost semnificativ mai mari în grupul II decât în grupul I și III la a șaptea zi după excizie ($p < 0,05$). S-a descris formarea semnificativă a țesutului de granulație în grupul I decât în grupul I și III.

Analiza macroscopică a defectelor cutanate la 21 de zile de la intervenție a arătat că în exciziile cutanate tratate cu pansamentele biologice formate din pielea porcine decelularizată combinată cu Gentamicină și submucoasa intestinului subțire porcine combinat cu soluție de Polividon - Iod vindecarea este completă, structurile pilosebacee și mușchiul panicul carnosus sunt complet formate față de plăgile din grupul control tratate soluție salină normală 0,9 %.

Mediatizarea rezultatelor proiectului științific este una din modalitățile de a desemina a rezultatele obținute.

Ingineria tisulară este o ramură științifică interdisciplinară ce implică colaborarea cu alte domenii și combinarea metodelor care sunt indispensabile și oferă o mai bună acuratețe pentru cercetări pentru a îmbunătăți performanța biomaterialelor compozite rezultate.

ENGLISH

The project presents an applied scientific study that implements techniques for tissue engineering of biomaterials from tissues of xenogeneic origin, experimental investigations that characterize biomaterials in order to create biological dressings in the treatment of model skin wounds on rats.

In this study, we outlined the sequence of steps for obtaining biomaterials, to optimize porosity, solidity without modifying the integrity and physical properties of the general skeleton of the material in order to improve the biological activity of surface cells and to satisfy any need for skin care and to adapt to tissue defects and produce wound regeneration. Tissue decellularization plays an important role, ensuring the reduction of antigenicity of the obtained materials. Histological examination, MTT test, Calcein AM and DAPI-Rhodamine Phalloidin staining techniques used were reliable methods in the research.

The model beneficiary of materials as dressings were Wistar rats with surgically reproduced wounds. The experiment was approved by the Institutional Ethics Committee of the IP "Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy, Chișinău, Republic of Moldova (Decision no. 4 of 24.03.2023 on veterinary authorization of projects involving the use of animals for experimental or other scientific purposes).

The data collection method was the observation of wound closure over time. Using wounds on animal models, we classified the regeneration process into the inflammatory stage; the proliferative stage and the remodeling stage, using new therapeutic approaches: group I - control, treated with 0.9% normal saline solution, group II - dressing consisting of decellularized porcine skin soaked with Gentamicin (n=8); group III - acellular small intestine submucosa combined with Povidone-iodine.

Wound contraction rates were significantly higher in group II than in groups I and III on the seventh day after excision ($p < 0.05$). Significant granulation tissue formation was described in group I than in groups I and III.

Macroscopic analysis of skin defects 21 days after the intervention showed that in skin excisions treated with biological dressings formed from decellularized porcine skin combined with Gentamicin and porcine small intestine submucosa combined with Povidone-Iodine solution, healing is complete, pilosebaceous structures and pannicle carnosus muscle are fully formed compared to wounds in the control group treated with 0.9% normal saline solution.

Mediating the results of the scientific project is one of the ways to disseminate the results obtained.

Tissue engineering is an interdisciplinary scientific branch that involves collaborating with other fields and combining methods that are indispensable and provide better accuracy for research to improve the performance of the resulting composite biomaterials.

Conducătorul de proiect _____ / Macagonova Olga

Data: _____

LȘ

**Executarea devizului de cheltuieli,
conform anexei nr. 2.3 din contractul de finanțare pentru anul 2024**

Cifrul proiectului: 23.70105.8007.02T

Cheltuieli, mii lei							
Denumirea	Cod			Anul de gestiune			
	Eco (k6)	Aprobat buget	Modificat buget +/-	Precizat buget	Aprobat cofinanțare	Modificat cofinanțare +/-	Precizat cofinanțare
Remunerarea muncii temporare	211200	74,5		74,5			
Contributii de asigurari sociale de stat obligatorii	212100	17,9		17,9			
Deplasări în interes de serviciu peste hotare	222720	23,6		23,6			
Servicii neatribuite altor aliniate	222999	0,0	+0,8	0,8			
Alte cheltuieli in baza de contracte cu persoane fizice	281600	47,9		47,9			
Cheltuieli curente neatribuite la alte categorii	281900	17,0	-3,2	13,8			
Procurarea materialelor pentru scopuri didactice, științifice și alte scopuri	335110	19,1	+2,4	21,5	40,0		40,0
Total		200,0	0,0	200,0	40,0		40,0

Conducătorul organizației CEBAN Emil _____

Economist șef LUPAȘCO Svetlana _____

Conducătorul de proiect MACAGONOVA Olga _____

Data: _____

LȘ

Anexa 4 (obligatoriu)**Componenta echipei conform contractului de finanțare 2024****Cifrul proiectului 23.70105.8007.02T**

Echipa proiectului conform contractului de finanțare (la semnarea contractului) pentru 2024						
Nr	Nume, prenume (conform contractului de finanțare)	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării	Data eliberării
1.	Macagonova Olga	1983	dr.șt.med.	0,5	02.01.2024	30.12.2024
2.	Țărălungă Tatiana	1987	doctorand	0,5	02.01.2024	30.10.2024
3.	Cociug Adrian	1977	dr. șt. med	0,5	01.03.2024	30.12.2024
4.	Pavlosvchi Elena	1987	doctorand	Fără remuneratione		
5.	Iacubițchi Vitalie	1987	doctorand	Fără remuneratione		

Modificări în componența echipei pe parcursul anului 2024					
Nr	Nume, prenume	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării

Conducătorul organizației _____ / Ceban Emil

Economist șef _____ / LUPAȘCO Svetlana

Conducătorul de proiect _____ / Macagonova Olga

Data: _____

LȘ

INFORMAȚIE SUPLIMENTARĂ

1. **Nu vor fi examinate rapoartele care sunt incomplete**, lipsesc toate semnăturile și parafa instituției sau nu respectă cerințele de tehnoredactare.
2. Rapoartele anuale privind implementarea proiectelor ce implică activități de cercetare **pe animale** vor fi însoțite de avizul Comitetului de etică național/instituțional în corespundere cu HG nr.318/2019 *privind aprobarea Regulamentului cu privire la organizarea și funcționarea Comitetului național de etică pentru protecția animalelor folosite în scopuri experimentale sau în alte scopuri științifice* (https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=115171&lang=ro).
3. Rapoartele anuale privind implementarea proiectelor ce implică activități de cercetare **cu implicarea subiecților umani** vor fi însoțite de avizul Comitetului instituțional de etică a cercetării, în corespundere cu prevederile *Convenției europene pentru protecția drepturilor omului și a demnității ființei umane față de aplicațiile biologiei și medicinei*, adoptată la Oviedo la 04.04.1997, semnată de către RM la 06.05.1997, **ratificată prin Legea nr. 1256-XV din 19.07.2002, în vigoare pentru RM din 01.03.2003**) și a protocoalelor adiționale.
4. **Nu pot fi prezentate informații identice în Rapoartele anuale ale mai multor proiecte.**
5. Se acceptă publicațiile în care expres sunt stipulate datele de identificare ale proiectului (denumire și/sau cifrul).
6. **Cerințe de tehnoredactare a Raportului:**
 - a) Se va exclude textul în culoare roșie din raport, întrucât reprezintă precizări referitor la informația solicitată.
 - b) Câmpurile cu mențiunea „*optional*” se completează dacă sunt rezultate ce se încadrează în activitățile respective. În absența rezultatelor, câmpurile rămân **necompletate (nu se exclud rubricile respective)**.
 - c) Raportul se completează cu caractere TNR – 12 pt, în tabelele referitor la buget și personal – 11 pt; interval 1,15 linii; margini: stânga – 3 cm, dreapta – 1,5 cm, sus/jos – 2 cm.
 - d) **Copertarea se va face după modelul european – spirală.**