

RECEȚIONAT:
Ministerul Educației, Culturii și Cercetării

la data: _____

RAPORT ȘTIINȚIFIC

**privind executarea proiectului de cercetări științifice
aplicative/fundamentale (insituționale)
pentru anii 2014-2019**

Proiectul (titlu): “Ingineria tisulară în crearea și restabilirea țesutului hepatic”

Cifrul Proiectului: 15.817.04.04 F

Direcția Strategică: Sănătate și Biomedicină

Termen de executare: 27 decembrie 2019

Directorul proiectului dr.hab.șt.med., prof.univ. Viorel Nacu _____

Rector USMF ”Nicolae Testemițanu” dr.hab.șt.med., prof.univ. Emil Ceban _____

Președintele Senatului Acad.al AȘM, dr.hab.șt.med., prof.univ. Ion Ababii _____

Chișinău 2019

CUPRINS :

1. Lista executorilor (Anexa nr.1)
2. Obiectivele și sarcinile proiectului (până la o pagină)
3. Rezultatele științifice ale cercetărilor efectuate în cadrul proiectului
4. Rezumat (până la o pagină)
5. Concluzii
6. Participarea în programe și proiecte internaționale (ORIZONT 2020, SCOPES, JOP, IRSIS, NATO, etc.), inclusiv propunerile prezentate/câștigate în cadrul concursurilor naționale/internaționale cu tangență la tematica cercetării proiectului realizat
7. Lista publicațiilor științifice ce țin de rezultatele obținute în cadrul proiectului (Anexa 2)
8. Fișa de prezentare a rezultatelor proiectului de cercetare (Anexa nr.3)

Lista executorilor (funcția în cadrul proiectului, titlul științific, semnătura)

Nr d/o	Numele/Prenumele	Titlul științific	Funcția în cadrul proiectului	Semnătura
1	Viorel Nacu	Dr.hab.șt.med	Director de proiect	
2	Ciobanu Pavel	Dr.hab.șt.med	Cercetător științific principal	
3	Cobzac Vitalie	f/grad, doctorand	Cercetător științific	
4	Cociug Adrian	Dr. Șt. Med.	Cercetător științific	
5	Macagonova Olga	f/grad, doctorand	Cercetător științific	
5	Țîmbalari Tatiana	f/grad, doctorand	Cercetător științific	
6	Moghildea Ivan	f/grad	Cercetător științific stagiar	
7	Samson Stella	f/grad	Cercetător științific stagiar	
8	Cojocari Ștefan	f/grad, doctorand	Cercetător științific stagiar	
9	Malcova Tatiana	f/grad, doctorand	Laborant	
10	Huștiuc Valentina	f/grad	Laborant	
11	Dogari Larisa	f/grad	Preparator	

2. Obiectivele și sarcinile proiectului (până la o pagină)

1. Elaborarea și perfecționarea metodelor de decelularizare a țesutului hepatic.
2. Obținerea *in vitro*, prin tehnologiile ingineriei tisulare a autocelelor, celulelor fetale și ombilico-placentare pentru recelularizarea ficatului.
3. Elaborarea tehnologiei de cultivare, pe scară largă, a hepatocitelor în bioreactor în cantitățile necesare pentru recelularizarea ficatului.
4. Elaborarea tehnologiilor de transplantare a celulelor și a structurilor bioingineresti obținute.
5. Inițierea testării clinice faza I – II.
6. Testarea *in vitro* și *in vivo* a matricilor hepatice decelularizate reticulate cu riboflavină, 1-ethyl-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimidă (EDC) + N-hydroxysuccinimide (N-HS) și tripolifosfat de sodiu (TPP).

3. Rezultatele științifice ale cercetărilor efectuate în cadrul proiectului

În calitate de obiect de studiu au servit șobolani linia Wistar cu masa 200 - 230g. Preliminar de izolarea ficatului de șobolani s-a efectuat eutanasierea în camera cu bioxid de carbon, la concentrația de 5 %, s-a fixat pe masa de lucru, s-a delimitat câmpul operator, s-a efectuat deschiderea cavității abdominale prin incizia liniei mediane a corpului, s-a identificat vena portă, s-a ligaturat la capătul proximal și s-a canulat cu cateter cu „fluturaș” (butterfly), cu lungimea acului de 2 cm.

Ficatul excizat au fost montate la sistemul de perfuzie și spălate cu 1-1,5 litri de apă distilată și ulterior s-a efectuat decelularizarea prin două metode: numai cu agent de decelularizare - SDS 0,25% și 0,5 % și cu soluție SDS 0,25% și 0,5 % și anticoagulant (citrát fosfat dextroză). Ulterior s-a continuat perfuzarea ficatului cu 1 -1,5 litri soluție PBS 1%, timp de 2 -3 ore.

Segmente ale ficatului intact, cât și decelularizat au fost fixate în formalină de 10 % și ulterior s-a efectuat prepararea și colorarea pieselor histologice cu H-E x 90.

Extracția acizilor nucleici s-a efectuat conform protocolului de extracție QIAamp Blood Mini Kit (2003). Ulterior fiecare probă a fost cuantificată la spectrofotometru (Nano Drop 200 C Thermo Scientific).

Conținutul de hidroxiprolină s-a determinat la spectrofotometru în baza oxidării hidroxiprolinei în pirol sub acțiunea cloraminei B.

Evaluarea macroscopică la începutul experimentului au arătat că după spălarea ficatului cu apă distilată în cazul primei metode și cu apă distilată și citrat fosfat dextroză a condus la eliminarea din ficat a unui perfuzat de culoare brună (Figura 1, 2). Totuși, vizual s-au observat diferențe ale intensității culorii perfuzatului: perfuzatul obținut după spălarea prin metoda în care s-a utilizat amestecul de apă distilată și anticoagulant fiind de o culoare brună mai intensă, ceea ce se explică prin eliminarea cheagurilor de sânge mai eficientă.



Figura 1. Perfuzia ficatului cu apă distilată.

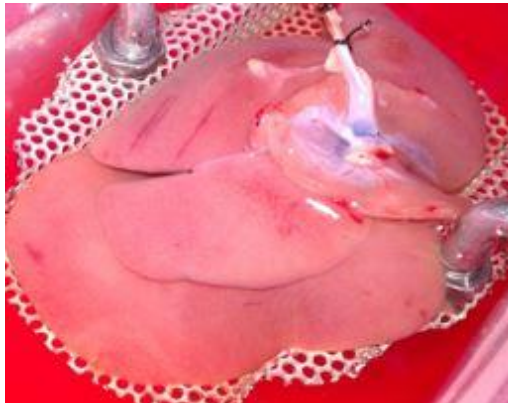


Figura 2. Ficat perfuzat cu apă distilată și anticoagulant

De asemenea, rezultatele macroscopice după decelularizare au arătat o decelularizare uniformă a ficatului și o culoare mai albă prin metoda în care s-a utilizat anticoagulant, comparativ cu metoda în care nu s-a utilizat unde se observă o culoare galbenă ceea ce denotă prezența rezidului celular (Figura 3).

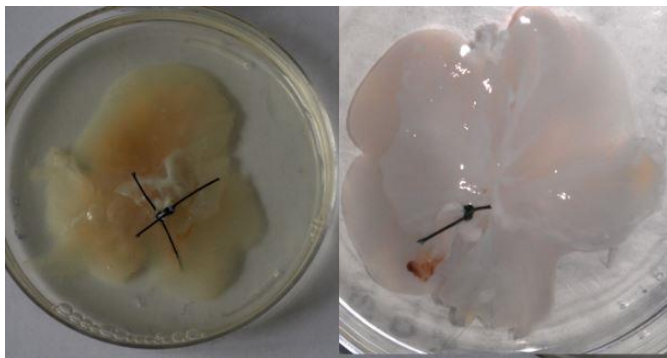


Figura 3. A- matrice extracelulară decelularizată prin metoda cu SDS și anticoagulant și matrice extracelulară obținută prin decelularizare cu SDS și spălare cu anticoagulant.

În baza analizei histologice a ficatului intact nu s-au observat modificări fiind vizualizate vasele centrolobulare, perilobulare și hepatocitele bine conturate (Figura 4).

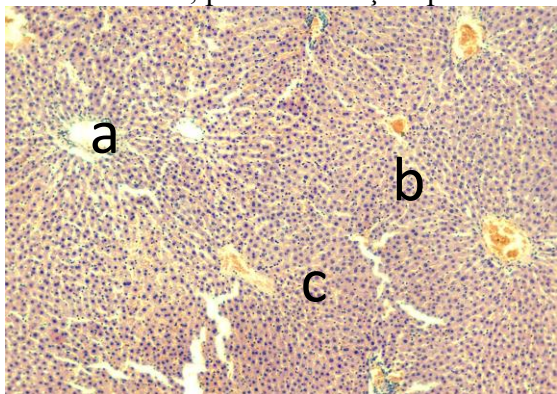


Figura 4. Ficat normal. Vena centrolobulară (a), artera hepatică perilobular congestionată (b), hepatocite conturate (c). H-E x 90.

În cazul biomatricilor hepatice decelularizate prin metoda cu soluție SDS am observat că sunt conglomerate celulare, detrit necrotic și celule autolizate, arhitectonica conjunctivă a ficatului este dezorganizată, peretele vascular pe alocuri cu întreruperea conturului și perivascular sunt elemente celulare autolizate (Figura 5).

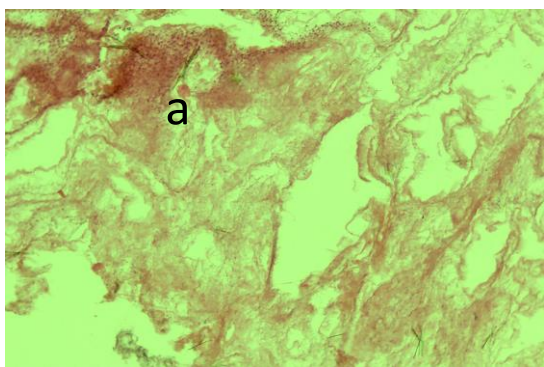


Figura 5. Ficat decelularizat cu SDS. Conglomerat de celule autolizate cu carioliză și plasmoliză (a), dezorganizarea arhitectonicii conjunctive a ficatului (b). H-E x 90.

Matricile decelularizate prin metoda cu SDS și anticoagulant au arătat histologic conturul peretelui vascular centrolobular și perilobular îngroșat, arhitectonica conjunctivă păstrată. Conturul îngroșat al peretelui vascular se lămurește prin prezența fibrelor colagenice (Figura 6).

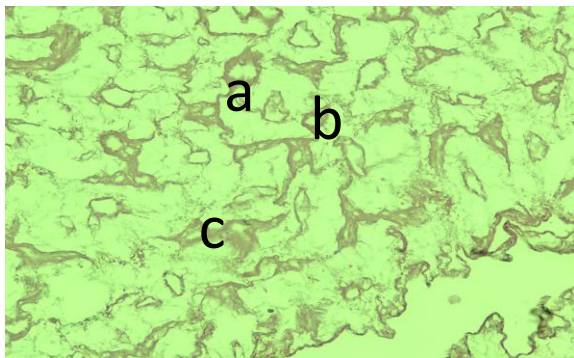


Figura 6. Ficat decelularizat cu SDS și anticoagulant. Vena centrolobulară cu contur îngroșat (a), carcasa triadei hepatice îngroșată (b), arhitectonica conjunctivă a ficatului păstrată (c). H-E x 90.

Studiul histologic comparativ al ficatelor decelularizate denotă o eficacitate mai mare a decelularizării prin metoda cu SDS și anticoagulant (citrăt fosfat dextroză) deoarece se păstrează arhitectonica conjunctivă și sunt prezente fibrele colagenice.

Dacă comparăm concentrația ADN-lui obținut din material biologic din ficat supus decelularizării prin ambele metode cu concentrația ADN-lui obținut din țesut hepatic intact observăm că aceasta este mai mică (Tabelul 1). În probele obținute prin decelularizare cu SDS, care au fost spălate și cu anticoagulant concentrația ADN o constituie $1,04 \pm \text{ng}/\mu\text{l}$, ceea ce constituie de 5 ori mai puțin reziduu celular decât în probele decelularizate cu SDS și spălate preliminar numai cu apă distilată la care concentrația este de $5,2 \pm$. Acest fapt poate fi explicat prin ceea ce anticoagulantul utilizat a permis eliminarea mai eficientă a cheagurilor sanguine, astfel permițând ca agentul de decelularizare anionic să treacă prin toată suprafața ficatului pentru a produce liza celulară și eliminarea acestora.

Deoarece conservarea matricei extracelulare obținute după decelularizare este o condiție necesară pentru ulterioara recelularizare *in vitro* cu celule, am determinat conținutul de hidroxiprolină liberă care este direct proporțională cu conținutul de collagen în materialul biologic analizat. Prin urmare, am obținut o cantitate de hidroxiprolină de $0,256 \pm 0,07 \text{ mM}/\text{la g}$ de țesut uscat din material biologic intact care este mult mai mică comparativ cu cantitățile de hidroxiprolină din probele decelularizate care sunt de $2,035 \pm 1,255 \text{ mM}$ la g de țesut uscat prin metoda în care nu s-a utilizat anticoagulant și $4,62 \pm 0,33$ prin metoda care s-a utilizat anticoagulant. Cantitatea mai mică de hidroxiprolină în țesut intact se explică prin prezența celulelor, adică în aceeași cantitate de material luat pentru cercetare a țesutului intact se găsesc componente celulare, cât și componenta de țesut conjunctiv a matricei extracelulare, iar în țesutul decelularizat predomină mai mult componentele țesutului conjunctiv. Faptul că prin metoda în care s-a utilizat anticoagulant este o mai mare cantitate de hidroxiprolină determină o decelularizare mai eficientă și prezența unei cantități mai mici de reziduu celular.

Tabelul 1

Conținutul de ADN și hidroxiprolină în ficatele intacte și decelularizate

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul martor* $p < 0,05$

Varianta materialului biologic	Concentrația ADN-ului (ng/ μl)	Conținutul de hidroxiprolină mM la g de țesut uscat
Țesut hepatic intact	$93,3 \pm$	$0,256 \pm 0,07$
Țesut hepatic rezidual după decelularizare prin metoda cu SDS	$5,2 \pm$	$2,035 \pm 1,255$
Țesut hepatic rezidual după decelularizare prin metoda cu SDS și anticoagulant	$1,04 \pm$	$4,62 \pm 0,33$

Pentru a analiza păstrarea integrității vaselor hepatice am administrat albastru de tripan prin vena portă, iar acesta s-a distribuit prin toate vasele hepatice ceea ce a evidențiat faptul că vasele sunt intacte și că detergentul anionic nu a provocat distrugerea mecanică a acestora (Figura 7).

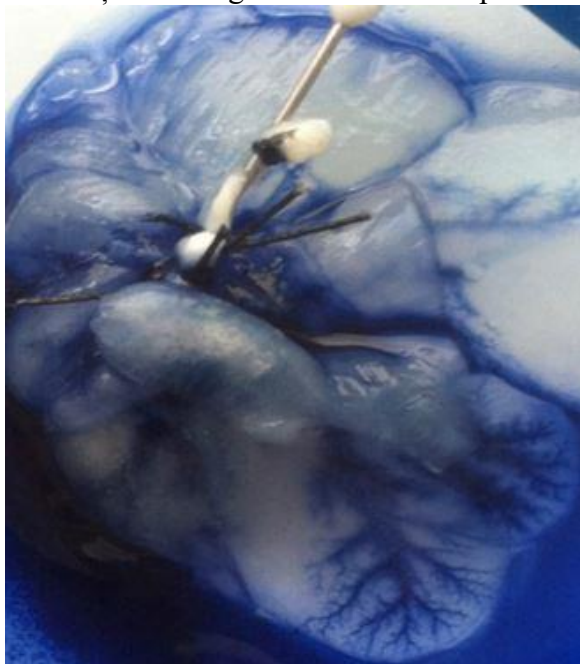


Figura 7. Contrast cu tripan albastru a patului vascular hepatic

O altă etapă destul de importantă a constituit procesul de izolare a hepatocitelor care a fost efectuat pe ficat de șobolan adult Wistar cu masa corporală de $274,66 \pm 2,52$ g din care au fost extrase hepatocitele. Înainte de izolarea hepatocitelor a fost pregătit substratul pentru aderare, astfel placa de cultură cu godee sau flaconul de cultură cu minimum 3-4 ore înainte de inițierea experimentului s-a acoperit în strat subțire cu soluție de collagen tip I într-o concentrație de $40 \mu\text{g/ml}$. După care s-a spălat cu HBSS fără calciu și Mg și s-a lăsat să se usuce în hota cu flux laminar Nuve 090 sub acțiunea razelor UV. Hepatocitele au fost izolate prin perfuzarea prin vena cavă superioară cu collagenază de tip II 0,05% (Sigma Aldrich), dispază 1U/ml (HiMedia) și Hank's cu 0,9 mM MgCl_2 , 0,5 mM EDTA și 25 mM HEPES (HiMedia), după spălarea vaselor sangvine intrahepatice de sânge (soluția Bufer I). Înainte de inițierea procesului de izolare a hepatocitelor Soluțiile Bufer I și II s-au încălzit la baia de apă la 42°C . Suprafața de lucru s-a sterilizat cu alcool 70% după care s-a lăsat sub raze UV minimum 15 min. Totodată de asupra suprafeței de lucru s-a fixat o lampă de lumină incandescentă necesară pentru a crește temperatura externă cu scop de a evita moartea hepatocitelor. De asemenea, la baia de apă s-a pus și un flacon de 500 ml cu sol. NaCl 0,9% și s-a pregătit o seringă de 20 ml cu scop de a umezi continuu suprafața ficatului cu o soluție caldă în timpul perfuzării pentru a evita uscarea acestuia și a înlătura particulele nedorite ce pot precipita din aer. Hepatocitele izolate au fost numărate în hemocitometru cu albastru de tripan și au fost determinați anumiți parametri biochimici ca ALAT, glucoza, proteina totală și glucozo-6-fosfataza cu kitul Elitech.

Izolarea hepatocitelor din ficat de șobolan adult sunt necesare pentru studierea procesului de recelularizare a ficatului *in vitro*. Noi descriem o metodă de izolare a hepatocitelor din ficatul de șobolan adult linia Wistar după principiul de perfuzie în două etape a combinației de collagenază / dispază. Preliminar de a efectua sacrificare animalului s-a injectat intraperitoneal 5000 UI heparină. S-a făcut anestezie generală cu Ketamină 60 mg/kg și xylazină 5 mg/kg, blana s-a înlăturat cu un trimer, s-a prelucrat cu alcool de 70%. Cu o foarfecă sterilă s-a înlăturat peretele toracoabdominal și cu un cateter din plastic 18 G s-a canulat porțiunea suprahepatică a venei cave inferioare, atît timp cît erau contracții cardiace. Dacă contracțiile se opresc înainte de inițierea perfuziei experimentul se oprește și se aduce alt șobolan. Aceasta este necesar pentru a păstra hepatocitele vii. Perfuzarea ficatului s-a efectuat prin vena cavă superioară soluția Bufer I (Hank's cu 0,9 mM MgCl_2 , 0,5 mM EDTA și 25 mM HEPES) printr-un filtru de $0,22 \mu\text{m}$ timp de 4-5 minute cu viteza de 15-20 ml/min. În același timp s-a ligaturat vena cavă inferioară, iar porta s-a secționă și fiecare 2 minute s-a clamat și s-a eliberat pentru

decompresie. Această procedură se repetă de 6-8 ori. Viteza de perfuzie s-a mărit pînă la viteza de 25-30 ml/min și s-a perfuzat pînă ce ficatul a devenit de culoare pală, adică pînă nu s-a spălat de sînge timp de aproximativ 30-40 minute (Figura 8). Apoi s-a pornit perfuzia cu soluția Bufer II (colagenază de tip II /dispază tip I). Ficatul s-a perfuzat cu viteza de 25-30 ml/min pînă ce acesta a devenit flasc timp de aproximativ 10 - 12 minute, cu clamparea și eliberarea venei porte fiecare 2-3 min. Ulterior ficatul s-a extras din cavitatea abdominală fiind supus dezagregării mecanice pentru eliberarea hepatocitelor (Figura 9). Acesta s-a introdus sub hota cu flux laminar într-o cutie Petri, cu soluție nutritivă William E cu 5% FBS amplasat pe gheață pentru 5 min, în care cu un foarfece și o pincetă s-a înlăturat capsula ficatului și s-au eliberat hepatocitele prin agitare și o spatulă. Cu o pipetă s-au colectat celulele eliberate și s-au filtrat de bucățile de țesut restate printr-un streiner de 70 sau 100 μ m aplasat pe o eprubetă de 50 ml.

După izolare, celulele au fost utilizate pentru studii pe termen scurt pentru determinarea viabilității celulare, a parametrilor biochimici, iar o parte au fost conservate pentru a fi utilizate la recelularizarea matricilor hepatice decelularizate.

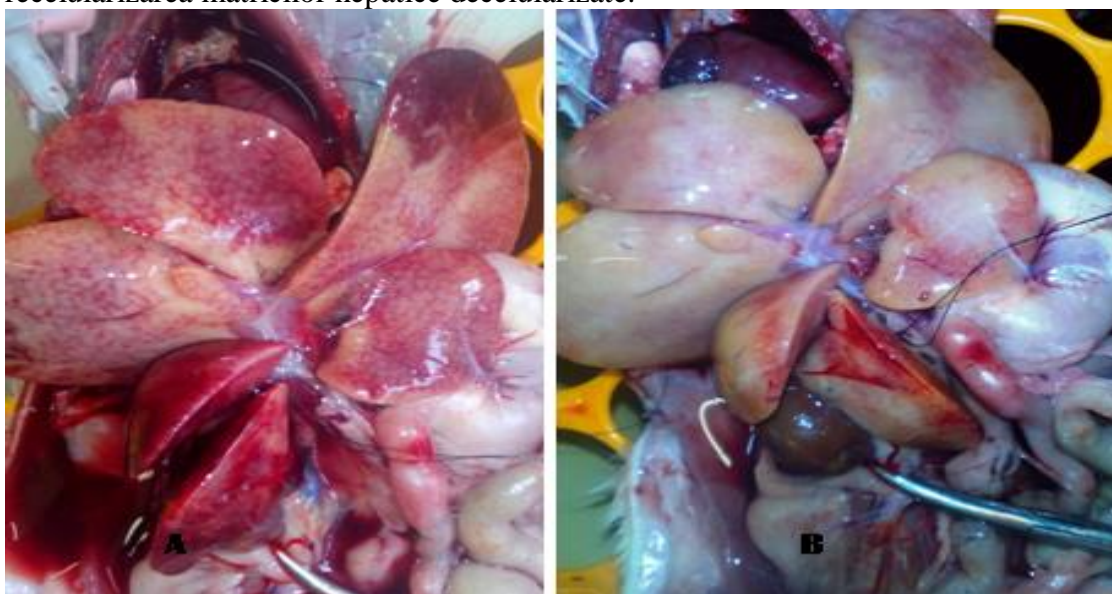


Figura 8. Perfuzarea ficatului prin vena cavă superioară A – cu soluție Hank's cu 0,9 mM MgCl₂, 0,5 mM EDTA și 25 mM HEPES cu viteza de 15-20 ml/min, B – cu soluție Hank's și colagenază de tip II/ dispază tip I cu viteza de 25 ml/min.

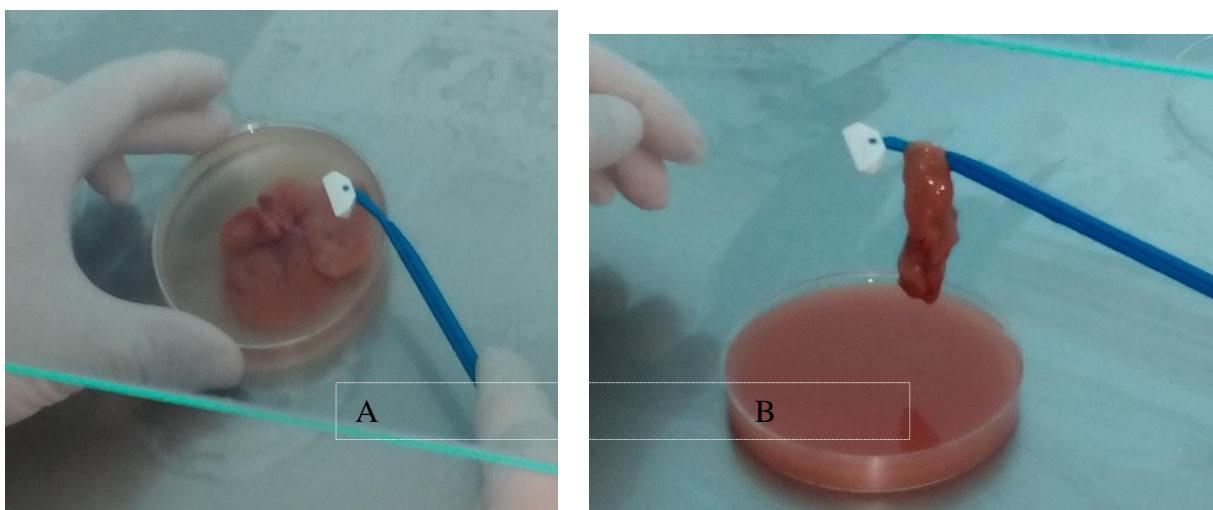


Figura 9. Dezagregarea mecanică a ficatului(A), carcasa ficatului după izolarea hepatocitelor (B)

Celulele au fost numărate cu tripan albastru 0,25% în hemocitometru, determinată viabilitatea și au fost cultivate în mediu William E (HiMedia, India) cu 2 mM L-glutamină, 5% ser fetal bovin (Lonza, Belgia), soluție antibiotic antimicotic (HiMedia, India), 100 nM dezametazonă și 100 nM insulină, a cîte 2,5 x 10⁵ celule per godeu în plăci cu 12 godeuri. În urma izolării hepatocitelor au fost

obținute un număr total de $324,48 \times 10^6 \pm 1,25$, celule cu o viabilitate de $94,7 \pm 0,9$, % ceea ce denotă un randament înalt de celule viabile (Figura 10).

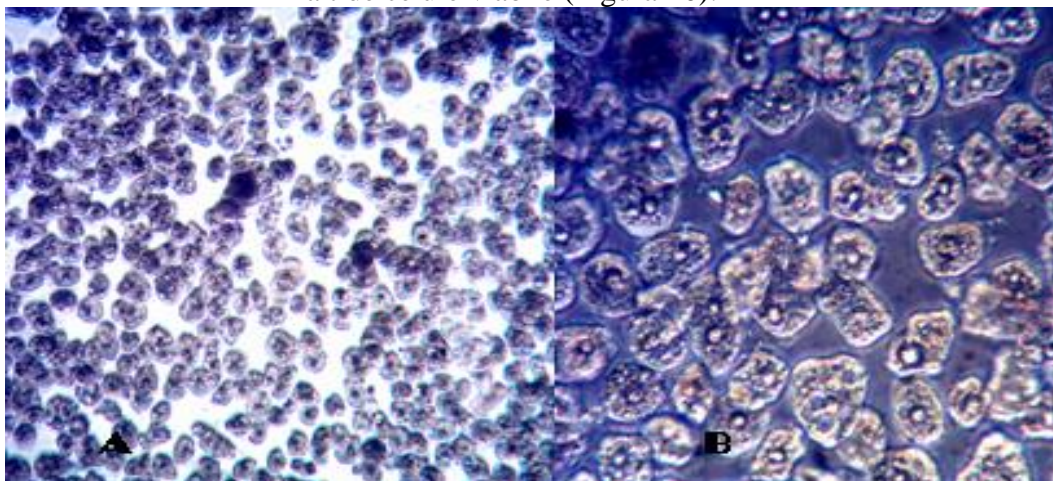


Figura 10. Celule hepatice vizualizate la microscopul inversat cu contrast de fază
KZD: A – x 10, B – x 40.

Pentru cultivarea hepatocitelor cu scop de a le utiliza în teste este necesară o viabilitate $>85\%$, la care celulele după aderare vor prezenta o confluență de aproximativ 60 - 70 % ceea ce permite ca dimensiunile hepatocitelor să crească ca să se ajungă la o confluență de 90 - 95%. Celulele s-au diluat cu mediu de cultură la temperatura camerei pînă la o concentrație de 25 mii celule/ml. Înainte de a introduce celulele în incubator acestea au fost ținute sub hotă timp de 30 minute.

În timpul izolării hepatocitelor este necesar de obținut un număr maximal de celule și de a păstra morfologia și funcționalitatea acestora. Parametrii biochimici ai hepatocitelor care au fost analizați corespund procesului de gluconeogeneză, glucozo-6-fosfataza, care se găsește numai în hepatocite și alaninaminotransferaza, de asemenea, s-au determinat conținuturile de glucoză și proteină totală (tabelul 1).

Tabelul 1. Proprietăți funcțional - metabolice ale hepatocitelor izolate cu colagenază/ dispază

Parametri biochimici	Activitatea catalitică
ALAT, u/L	$17,83 \pm 1,06$
Glucozo-6-fosfataza, u/L	$3,41 \pm 0,46$
Parametri biochimici	Concentrația
Glucoza, mM/L	$4,16 \pm 0,10$
Proteina totală, g/L	$61,86 \pm 2,09$

Etape de recelularizare a matricilor hepatice decelularizate a constat în injectarea în matricile hepatice decelularizate a celulelor hepatice extrase în 5 ml de suspensie celulară a cîte 2×10^7 .

Ulterior, ficatul matricile hepatice recelularizate au fost introduse în incubator la 37°C, 10% CO₂ și conectate la sistema de perfuzie, iar mediul de nutriție a fost oxigenat și pompat prin ficat cu viteza de 2,5 ml/min (Figura 11, 12).

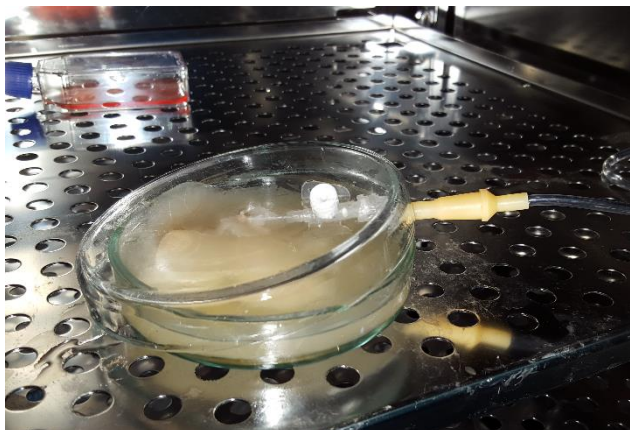


Fig.11 Introducerea ficatului recelularizat în incubator la 37°C, 10%CO₂ și conectarea lui la sistemă de perfuzie.



Fig.12 Oxigenarea mediului de nutriție și pomparea acestuia prin ficat cu viteza de 2,5 ml/min.

La 12 ore de recelularizare matrice hepatica își schimbă aspectul exterior (Figura.13).



Fig.13 Ficat la 12 ore după recelularizare

Ulterior s-a efectuat reticularea matricilor hepatice decelularizate de șobolani cu riboflavină, 1-ethyl-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimidă (EDC) + N-hydroxysuccinimide (N-HS) și tripolifosfat de sodiu (TPP). La reticularea cu riboflavină ficatul decelularizat s-a perfuzat și reperfuzat cu 100 ml de soluție apoasă de riboflavină de 0,25 mM sub acțiunea razelor UV timp de 24 ore, după care s-a spălat continuu cu apă distilată timp de 24 de ore. La reticularea cu 1-ethyl-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimidă (EDC) + N-hydroxysuccinimide (N-HS) ficatul decelularizat s-a perfuzat și reperfuzat cu 100 ml soluție apoasă de EDAC + N-HS timp de 24 de ore cu o ulterioară spălare cu apă distilată timp de 24 de ore. La reticularea cu tripolifosfat de sodiu (TPP) s-a perfuzat și reperfuzat ficatul decelularizat cu 0,25 % de soluție apoasă de TPP și s-au spălat cu apă distilată timp de 24 de ore. După spălare țesuturile hepatice reticulate cu riboflavină, 1-ethyl-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimidă (EDC) + N-hydroxysuccinimide (N-HS) și tripolifosfat de sodiu (TPP) și martor au fost liofilizate timp de 30 de ore la presiunea de 0,06μBar. Din fiecare ficat reticulat au fost prelevate probe în 3 repetiții care au fost supuse degradării enzimatică cu soluție de colagenază de 0,1 % în termostat la 37 ° C. La 2,

24, 48, 72 de ore și o săptămână s-au prelevat câte 200 μl de soluție enzimatică cu proteină degradată de la fiecare probă (Figura 14), cu adăugarea înapoi de soluție enzimatică proaspătă.

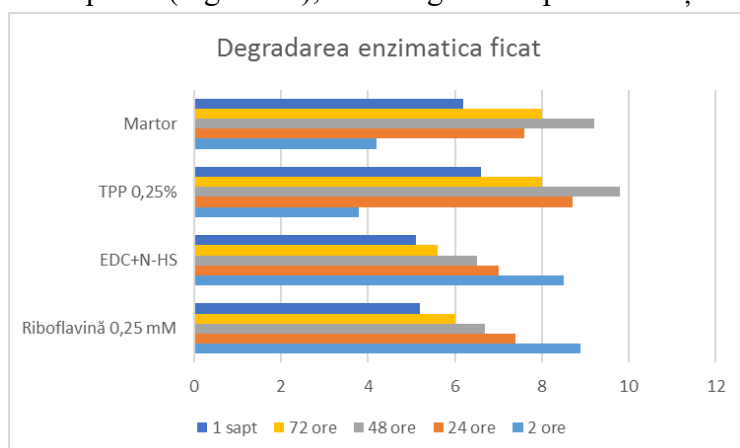


Figura 14. Degradarea enzimatică a ficatului reticulat cu agenții de reticulare.

Apoi cu ajutorul curbei etalon determinată cu glicină (Figura 15), s-a apreciat concentrația de aminoacizi obținuți după degradarea enzimatică cu soluție colagenază din cele 200 μl soluție prelevate de la probele testate.

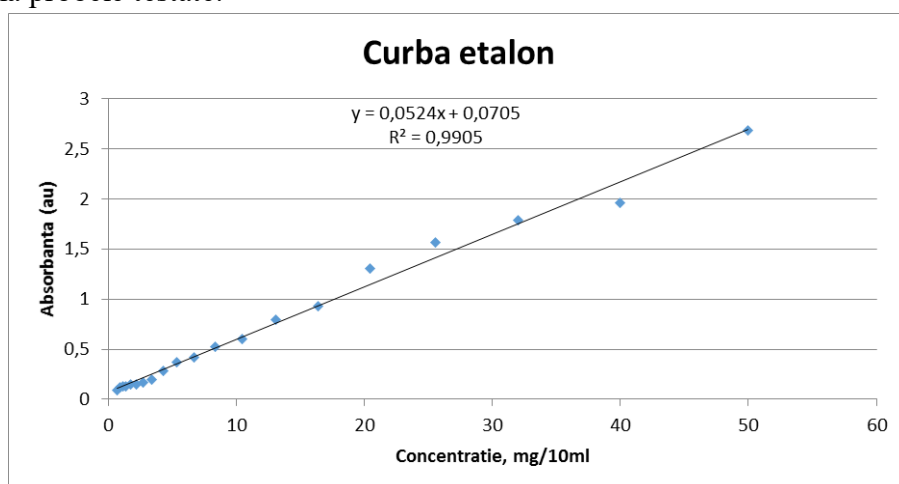


Figura 15. Curba standart pentru aprecierea concentrației de proteină degradată.

Din ficatele reticulate și martor, după liofilizare s-au secționat câte 3 bucăți de matrice cu un cuțit circular, urmat de sterilizarea acestora cu soluție alcool 70% sub hota de flux laminar timp de 3 ore, apoi probele au fost spălate cu PBS și lăsate peste noapte în mediu de cultură celulară steril fâsă ser fetal bovin. În aceeași zi în plăci cu 48 de godee s-au introdus celule stem mezenchimale din măduva osoasă (CSM), câte $5 \times 10^3 / 0,5$ ml/godeu. Plăcile s-au incubat peste noapte după care, ziua următoare în ele s-au introdus probele pentru cercetare. La 24, 48 și 73 de ore s-au apreciat viabilitatea celulelor la contact cu greșa prin utilizarea MTT și aprecierea rezultatelor prin spectrofotometrie la 570 nm (Figura 16).

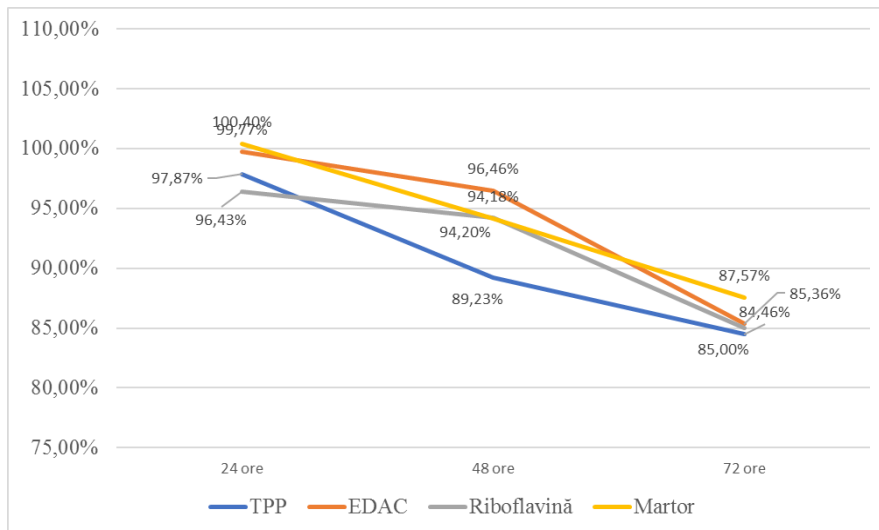


Figura 16. Viabilitatea celulară cu MTT.

Popularea celulară a ficatelor decelularizate, reticulate și liofilizate s-a efectuat de asemenea cu CSM. Probele, de asemenea, au fost sterilizate cu alcool sub hota cu flux laminar, spălate cu PBS și ținute în mediu de nutriție celulară fără ser fetal bovin. Cu o zi înainte de începerea testului probele au fost incubate în plăci de 96 godee cu mediu complet de nutriție celulară. Apoi, ziua următoare, mediul a fost înlăturat și în locul lui s-au turnat 1×10^4 CSM/200 μ l mediu de nutriție/godeu, după care placa s-a incubat peste noapte la 37°C cu 5% CO₂. Ziua următoare în godeele cu probe s-au mai adăugat 200 μ l mediu de nutriție, iar peste 24 ore probele s-au mutat într-o placa de 24 godee cu 1 ml de mediu/godeu. Mediul se schimba fiecare 2 zile pînă la 8 zile, mediul s-a înlăturat, iar probele au fost fixate în soluție de glutaraldehidă de 2,5%. După care probele au fost colorate cu DAPI și examinate prin microscopie fluorescentă. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 2.

Tabelul 2. Rezultate colorării cu DAPI a probelor populate cu CSM.

Proba	Colorare DAPI	Proba	Colorare DAPI
Martor		EDAC+N-HS	
TPP		Riboflavină	

4. Rezumat (pînă la o pagină)

Rezultatele cercetării noastre obținute în premieră în Republica Moldova constituie un pas important în soluționarea deficitului de organe necesare pentru transplantare avînd un impact social, economic și științific major. Obținerea în condiții de laborator a unui ficat decelularizat și ulterioara lui recelularizare reprezintă un pas important în dezvoltarea transplantologiei naționale. Procesele complicate implementate în cadrul proiectului și-au regăsit implementare nu doar în bioingineria țesutului hepatic. Experiența practică din obținerea de matrici hepatice decelularizate ne-a permis inițierea procesului de obținere și a altor matrici biologice decelularizate, iar izolarea mai multor tipuri de celule și utilizarea acestora în teste de laborator pentru determinarea asupra lor a efectului toxic ale unor substanțe și materiale ne-a deschis căi de colaborare în interiorul țării și peste hotare, dar și dezvoltare a conceptului de "afinitate celulară". Cercetările efectuate în cadrul proiectului au cuprins:

- 1) S-a realizat izolarea segmentelor ficatului și s-a elaborat protocolul de izolare a țesutului hepatic.
- 2) În premieră în Republica Moldova au fost obținute matrici decelularizate ale ficatului cu diverși agenți de decelularizare. Importanța decelularizării ficatului se exprimă prin faptul că poate fi creat *in vitro* prin tehnicile ingineriei tisulare un ficat funcțional care ulterior va putea fi utilizat pentru transplantare, acesta fiind un obiectiv pe termen lung al nostru. Anume, optimizarea procesului de decelularizare este o condiție prioritară pentru a spori acceptarea grefei celulare, de aceea a fost evaluat gradul de decelularizare a matricelor hepatice obținute prin intermediul analizelor genetice a conținutului de acizi nucleici, determinarea numărului de hepatocite, studiului histologic cu hematoxilină-eozină, cît și a celor biochimice de dozare a cantității de colagen, în scopul determinării nivelului de conservare a arhitectonicii conjunctive.
- 3) S-a elaborat dispozitivul pentru decelularizarea ficatului și s-a optimizat metoda de decelularizare a ficatului.
- 4) Au fost extrase hepatocite din ficate de șobolani de linia Winstar și s-a analizat viabilitatea celulară cu albastru de tripan la microscopul inversat cu contrast de fază la 1, 3, 5, 7 zi de la izolare. Au fost obținute, cultivate, tripsinizate, numărate și crioconservate autocelulele din măduvă osoasă.
- 5) A fost evaluat metabolismul hepatocitelor extrase și cultivate, care au ervit la recelularizarea *in vitro* a matricilor decelularizate.
- 6) Au fost efectuate mai multe anastomoze microvasculare ale vaselor hepatice și tentative de revascularizare a ficatului decelularizat.
- 7) Au fost efectuate teste *in vitro* și *in vivo* asupra matricilor hepatice decelularizate reticulate cu riboflavină, 1-ethyl-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimidă (EDC) + N-hydroxysuccinimide (N-HS) și tripolifosfat de sodiu (TPP).
- 8) Au fost izolate hepatocite, autocelule din măduvă osoasă, celulelor fetale, ombilico-placentare cu scop de recelularizare *in vitro* a ficatului. Viabilitatea înaltă determinată a celulelor izolate constituie un factor important în procesul de recelularizare, asigurînd un număr mare de celule care vor fi perfuzate prin vena cavă superioară. Au fost efectuate încercări de transplantare ectopică prin tehnici microchirurgicale a unui ficat sănătos la alt șobolan.

În baza rezultatelor obținute în cadrul proiectului au fost publicate: 4 articole indexate Scopus, 2 articole în reviste recenzate categoria B+, 4 publicații în culegeri naționale, 7 comunicări la manifestări științifice naționale, 4 teze la manifestări științifice naționale, 5 rezumate ale comunicărilor la manifestări naționale cu participare internațională, 9 teze ale comunicărilor la congrese, conferințe, simpozioane, în culegeri internaționale, 1 articol științific apărut în reviste de specialitate din străinătate, 1 publicație electronică în străinătate, 2 postere la manifestări internaționale, 1 poster la manifestări naționale, 1 inovație, 12 brevete de invenție, 1 hotărîre de brevet de invenție.

5. Concluzii

1. Evaluarea numărului de hepatocite după decelularizare în raport cu țesutul intact, de asemenea, păstrarea arhitectonicii conjunctive și a fibrelor colagenice, conținutul de hidroxiprolină mai ridicat acordă prioritate metodei de decelularizare a ficatului cu SDS și citrat fosfat dextroză. Prin urmare, fezabilitatea repopulării matricei hepatice date cu celule stem induse este mult mai mare și poate permite obținerea de structuri bioingineresti dorite.
2. Viabilitatea ridicată a hepatocitelor în dinamică este prioritară și creșterea susținută a hepatocitelor este determinată de adăugarea suplimentelor necesare respirației celulare eficiente în mediul de cultură celulară utilizat.
3. Metoda de izolare a hepatocitelor prin perfuzia ficatului cu combinație de colagenază-dispază este una fezabilă pentru obținerea unei cantități mari de hepatocite funcționale destinate recelularizării *in vitro* a matricilor hepatice decelularizate.
4. Randamentul și viabilitatea celulelor hepatice au crescut prin digestia enzimatică a țesutului hepatic rezultată la utilizarea combinației de dispază – colagenază din cauza efectului mai puțin citotoxic.

LISTA

lucrărilor publicate în cadrul proiectului de cercetare

- **Articole indexate ISI/SCOPUS:**

1. BRANISTE, T.; COBZAC, V.; ABABII, P.; PLESCO, I.; RAEVSCHI, S.; DIDENCU, A.; MANIUC, M.; NACU, V.; ABABII, I.; TIGINYANU, I. The influence of semiconductor nanoparticles upon the activity of mesenchymal stem cells. *IFMBE Proceedings. 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering*. 2019, **77** (1), 607-611. ISBN 978-3-030-31865-9. DOI: doi.org/10.1007/978-3-030-31866-6_108.
2. JIAN, M.; COBZAC, V.; MOSTOVEI, A.; NACU, V. The procedure of bone cells obtaining, culture and identification. *IFMBE Proceedings. 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering*. 2019, **77** (1), 595-599. ISBN 978-3-030-31865-9. DOI: doi.org/10.1007/978-3-030-31866-6_108.
3. MALCOVA, T.; GLOBALA, L.; VASCAN, A.; ȚUGUI, E.; STOIAN, A.; NACU, V. Mechanical and morphological characterization of decellularized umbilical vessels as tissue engineering scaffolds. *IFMBE Proceedings. 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering*. 2019, **77** (1), 589-594. ISBN 978-3-030-31865-9. DOI: doi.org/10.1007/978-3-030-31866-6_108.
4. TIMBALARI, T.; CODREANU, I.; LOZAN, O.; NACU, V. Assessment of human tissue transplantation activities in the Republic of Moldova. *IFMBE Proceedings. 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering*. 2019, **77** (1), 621-626. ISBN 978-3-030-31865-9. DOI: doi.org/10.1007/978-3-030-31866-6_108.

Publicații naționale:- **culegeri**

1. JIAN, M.; URUSU, A.; MACAGONOVA, O.; IGNATOV, O.; COCIUG, A.; SARMANIUC, V. Aspecte ale decelularizării țesutului hepatic. In: Culegere de rezumate științifice ale studenților, rezidenților și tinerilor cercetători. Ch.: CEP „Medicina”, 2015. 64 p. ISBN 978-9975-82-002-8.
2. JIAN, M.; COBZAC, V.; MACAGONOVA, O. Izolarea hepatocitelor de la șobolani adulți pentru recelularizarea ficatului in vitro. In: Culegere de rezumate științifice ale studenților, rezidenților și tinerilor cercetători. IP USMF ”Nicolae Testemițanu”, Chișinău, 2016, p.41. ISBN 978-9975-82-029-5.
3. JIAN, M.; URUSU, A.; POPESCU, V.; MACAGONOVA, O.; COBZAC, V.; COCIUG, A.; NACU, V. Obținerea matricilor tridimensionale extracelulare ale ficatului. In: *Arta Medica, Conferința științifică „Nicolae Anestiade-nume etern al chirurgiei Basarabiei”*, Chișinău, 26 august 2016, p.15. ISSN 1810-1852.
4. JIAN, M.; MOGHILDEA, I.; COBZAC, V.; SAREV, V. Metabolismul hepatocitelor izolate de la șobolani, destinate ingineriei tisulare. In: Culegere de rezumate științifice ale studenților, rezidenților și tinerilor cercetători. IP USMF ”Nicolae Testemițanu”, Chișinău, 2017, p.46. ISBN 978-9975-82-064-6.61:378.661(478-25)(082)=135.1=111.

Articole în reviste de profil naționale recenzate:

- Categoria B+:

1. COBZAC, V.; MOSTOVEI, A.; JIAN, M.; NACU, V. An efficient procedure of isolation, cultivation and identification of bone marrow mesenchymal stem cells. *MoldMedJournal*. 2019, nr.1, 35-41. ISSN 2537-6373.
2. JIAN, M.; COBZAC, V.; VARTIC, V.; NACU, V. Hepatocytes isolation from adult rats for liver recellularization. *MoldMedJournal*. 2019, nr.1, 13-17. ISSN 2537-6373.

Comunicări la manifestări științifice naționale:

1. BRANISTE, T.; COBZAC, V.; ABABII, P.; PLESCO, I.; RAEVSCHI, S.; DIDENCU, A.; MANIUC, M.; NACU, V. ; ABABII, I.; TIGINYANU, I. The Influence of Semiconductor Nanoparticles Upon the Activity of Mesenchymal Stem Cells. *The 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering. Program and Abstract book*. 18-21 September 2019, Chisinau, Moldova. p. 27.
2. COBZAC, V.; VERESTIUC, L.; JIAN, M.; COȘCIUG, S.; NACU, V. Matrixuri tridimensionale în ingineria tisulară. Conferința științifică anuală a USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova 16-20 octombrie 2017. p.31.
3. JIAN, M.; COBZAC, V.; MOSTOVEI, A.; NACU, V. The procedure of bone cells obtaining, culture and identification. *The 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering. Program and Abstract book*. 18-21 September 2019, Chisinau, Moldova. p. 22.
4. MALCOVA, T.; GLOBA, L.; VASCAN, A.; ȚUGUI, E.; STOIAN, A.; NACU, V. Mechanical and morphological characterization of decellularized umbilical vessels as tissue engineering scaffolds. *The 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering. Program and Abstract book*. 18-21 September 2019, Chisinau, Moldova. p. 22.
5. NACU, V.; JIAN, M.; COBZAC, V.; MACAGONOVA, O. Izolarea hepatocitelor de la șobolani adulți pentru recelularizarea in vitro a ficatului. Conferința științifică anuală a USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova 18-21 octombrie 2016. p.36.
6. NACU, V.; JIAN, M.; URSU, A.; MACAGONOVA, O.; IGNATOV, O.; COCIUG, A.; SARMANIUC, V. Metode de decelularizare a ficatului. Conferința științifică anuală a USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova 16-20 octombrie 2015. p.31.
7. TIMBALARI, T.; CODREANU, I.; LOZAN, O.; NACU, V. Assessment of human tissue transplantation activities in the Republic of Moldova. *The 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering. Program and Abstract book*. 18-21 September 2019, Chisinau, Moldova. p. 25.

- Rapoarte publicate / Teze ale comunicărilor la congrese, conferințe, simpozioane, în culegeri naționale

1. COBZAC, V.; JIAN, M.; CROITOR, G.; NACU, V. Suport celular pentru ingineria tisulară. In: *Arta Medica, Conferința științifică „Nicolae Anestiade-nume etern al chirurgiei Basarabiei”*, Chișinău, 26 august 2016, p. 9. ISSN 1810-1852.
2. COBZAC, V.; JIAN, M.; MADAN, V.; CROITOR, G.; NACU, V. Collagen/Chitosan hybrid sponge as a scaffold for cell culture. In: *Maedica, Editie speciala: Al VIII-lea congres national de*

ortopedie si traumatologie cu participare internationala, Chişinău, Republic of Moldova, 12-14 october 2016. p. 47. ISSN 1810-1852.

3. JIAN, M.; URUSU, A.; POPESCU, V.; MACAGONOVA, O.; COBZAC, V.; COCIUG, A.; NACU, V. Obținerea matricilor tridimensionale extracelulare ale ficatului. In: *Arta Medica, Conferința științifică „Nicolae Anestiade-nume etern al chirurgiei Basarabiei”*, Chişinău, 26 august 2016, p.15. ISSN 1810-1852.

4. JIAN, M.; URUSU, A.; POPESCU, V.; MACAGONOVA, O.; COBZAC, V.; COCIUG, A.; NACU, V. Obținerea matricilor tridimensionale extracelulare ale ficatului. In: *Arta Medica, Conferința științifică „Nicolae Anestiade-nume etern al chirurgiei Basarabiei”*, Chişinău, 26 august 2016, p.15. ISSN 1810-1852.

Rezumate ale comunicărilor la manifestări naționale cu participare internațională:

1. BRANISTE, T.; COBZAC, V.; ABABII, P.; PLESCO, I.; RAEVSCHI, S.; DIDENCU, A.; MANIUC, M.; NACU, V.; ABABII, I.; TIGINYANU, I. The influence of semiconductor nanoparticles upon the activity of mesenchymal stem cells. *ICNBME 2019. Prog. and abstr. book 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering.*, September 18-21, 2019, Chisinau, Moldova. p. 110.

2. JIAN, M.; COBZAC, V. Obtaining of a suitable osteochondral graft for articular cartilage engineering. In: *7 Th International medical congress for students and young doctors MedEspera 3-5 mai 2018. Ch.: „Editura Universul”, 2018. p. 202, ISBN 978-9975-47-174-9.*

3. JIAN, M.; COBZAC, V. Obtaining of a suitable osteochondral graft for articular cartilage engineering. In: *7 Th International medical congress for students and young doctors MedEspera 3-5 mai 2018. Ch.: „Editura Universul”, 2018. p. 202, ISBN 978-9975-47-174-9.*

4. JIAN, M.; COBZAC, V.; MOGHILDEA, I.; MACAGONOVA, O. The three-dimensional liver matrix for tissue engineering. In: *7 Th International medical congress for students and young doctors MedEspera 3-5 mai 2018. Ch.: „Editura Universul”, 2018. p. 201- 202, ISBN 978-9975-47-174-9.*

5. JIAN, M.; COBZAC, V.; MOSTOVEI, A.; NACU, V. The procedure of bone cells obtaining, culture and identification. *ICNBME 2019. Prog. And abstr. book 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering.*, September 18-21, 2019, Chisinau, Moldova. p. 145.

6. MALCOVA, T. Blood vessel decellularization-challenges and perspectives. In: *7 Th International medical congress for students and young doctors MedEspera 3-5 mai 2018. Ch.: „Editura Universul”, 2018. p. 204, ISBN 978-9975-47-174-9.*

7. MALCOVA, T.; GLOBA, L.; VASCAN, A.; ȚUGUI, E.; STOIAN, A.; NACU, V. Mechanical and morphological characterization of decellularized umbilical vessels as tissue engineering scaffolds. *ICNBME 2019. Prog. And abstr. book 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering.*, September 18-21, 2019, Chisinau, Moldova. p. 144.

8. TIMBALARI, T.; CODREANU, I.; LOZAN, O.; NACU, V. Assessment of human tissue transplantation activities in the Republic of Moldova. *ICNBME 2019. Prog. and abstr. book 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering.*, September 18-21, 2019, Chisinau, Moldova. p. 164.

9. VASCAN, A.; LILIAN, G.; TIMBUR, M.; POCAZNOI, I.; NACU, V. Biomechanical proprieties of decellularized umbilical cord vessels. In: *The 6 th International Medical Congress for Students and Young Doctors. Med Espera. Abstracts book, Chişinău, Republic of Moldova, 12-14 may 2016. p.195-196. ISBN 978-9975-3028-3-8.*

Rapoarte publicate / Teze ale comunicărilor la congrese, conferințe, simpozioane, în culegeri internaționale:

1. JIAN, M.; COBZAC, V.; MOGHILDEA, I.; COCIUG, A.; NACU, V. The histological analysis of extracellular liver matrix. In: International biomedical congress. Sofia, Bulgaria, 17-19 november 2017. p.74.
2. MOGHILDEA, I.; JIAN, M.; COBZAC, V.; COCIUG, A.; NACU, V. Recellularization of liver matrix. In: International biomedical congress. Sofia, Bulgaria, 17-19 november 2017. p.72.
3. NACU, V.; COBZAC, V.; JIAN, M.; VERESTIUC, L. Decellularized-demineralized osteochondral allografts testing on rabbit model. Preliminary report. TERMIS Abstracts 2018. Kyoto, Japonia, September 5-7, 2018. p. 655.
4. NACU, V.; CROITOR, GH.; COSCIUG, S.; CIOBANU, P.; COBZAC, V. Regenerative medicine in bone nonunion treatment. Maedica (journal of Clinical Medicine), Supplement (Romania), p. 24.
5. NACU, V.; JIAN, M.; MOGHILDEA, I.; COBZAC, V.; NACU, L.; POPESCU, V. Liver Matrix Obtained by Decelularization procedure. TERMIS Abstracts 2018. Kyoto, Japonia, September 5-7, 2018. p. 2.
6. NACU, V.; TIMBALARI, T.; COCIUG, A.; VARTIC, V.; IGNATOV, O.; CODREANU, I. Tissue transplantation activities in the Republic of Moldova. 24 th Congress of the European Association of Tissue Banks. Book of abstracts. 1-3 October 2015. Split, Croatia. p.112.
7. NACU, V.; ȚIMBALARI, T.; COBZAC, V.; COȘCIUG, S.; COCIUG, A.. Tissue and cell transplantation in the Republik of Moldova. In: Матеріали Науково-практичної конференції з міжнародною участю. Актуальні питання травматології та остеоситезу. Чернівці, Україна, 2017 (19), 27-28 aprilie, p. 143.
8. NACU, V.; VARTIC, D.; JIAN, M.; CROITOR, G.; CIOBANU, P. Autologous bone marrow nucleated cells in bone non-union treatment. 24 th Congress of the European Association of Tissue Banks. Book of abstracts. 1-3 October 2015. Split, Croatia. p.51.
9. ȚIMBALARI, T. History of tissue transplantation in the Republic of Moldova. In: Performances and perspectives in the Pediatric Surgery Development. Chișinău, Moldova, 2017, 14-16 september, p.127.

Articole științifice apărute în reviste de specialitate din străinătate

- alte reviste

GLOBA, L.; NACU, V. Caracteristica imunohistochimică a celulelor stem mezenchimale din complexul ombilicoplacentar. Archives of the Balkan Medical Union. The conference materials dedicated to the anniversary of 60 years since the founding of the Institute of Emergency Medicine. Chisinau, Republic of Moldova, 2017, vol. 52, nr. 1, supl. 1 aprilie 2017. ISSN 0041-6940, p. 195.

Publicații electronice în străinătate:

NACU, V.; TIMBALARI, T.; CODREANU, I.; ROMANCIUC, G.; COCIUG, A. Development Of Tissue And Cell Transplantation In The Republic Of Moldova. In: 25 Congres of EATB 2016, (http://www.eatb2016.eu/_contxt/programme/default_session.asp?node=&day=thursday&sessionID=1)

Postere la manifestări internaționale:

1. NACU, V.; CROITOR, G.; COSCIUG, S.; COBZAC, V.; SAMSON, S. Bone non union treatment by autologous cells grafts. European Chapter Meeting of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society 2017. Davos, Switzerland, June 26–30, 2017. p. 73.
2. NACU, V.; JIAN, M.; MOGHILDEA, I.; COBZAC, V.; NACU, L.; POPESCU, V. Liver Matrix Obtained by Decellularization procedure. TERMIS 2018. Kyoto, Japonia, September 5-7, 2018.
3. NACU, V.; COBZAC, V.; JIAN, M.; VERESTIUC, L. Decellularized-demineralized osteochondral allografts testing on rabbit model. Preliminary report. TERMIS 2018. Kyoto, Japonia, September 5-7, 2018.

Postere la manifestări naționale:

1. MACAGONOVA, O.; MUȘET, G.; URȘU, A.; POPESCU, V.; COCIUG, A.; NACU, V. Metode de decelularizare a pielii. Conferința științifică anuală a USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova 16-20 octombrie 2017. p. 33.

Brevete de invenții:

1. COBZAC, V.; NACU, V.; GLAVAN, A.; JIAN, M.; SEDAIA, E.; ABABII, P. Dispozitiv pentru fixarea și celularizarea grefelor de dimensiuni mici. Brevet de invenție în curs de patentare s 2018 0067. 2018.07.02.
2. COBZAC, V.; NACU, V.; CROITOR, G.; COȘCIUG, S.; JIAN, M. Grefă pentru restabilirea defectului osteocondral. Brevet de invenție 1177 MD. 2017.08.31. *
3. COBZAC, V.; NACU, V.; JIAN, M.; COȘCIUG, S.; PALADI, C.; MACAGONOVA, O. Metodă de obținere a spongiei de colagen. Brevet de invenție 1169 MD. 2017.07.31. *
4. COBZAC, V.; NACU, V.; JIAN, M.; SAREV, V.; MACAGONOVA, O. Dispozitiv pentru reticularea spongiei de colagen cu vapori de glutaraldehidă. Brevet de invenție 1137 MD. 2017.04.30.*
5. COCIUG, A.; MACAGONOVA, O.; CAPROȘ, N.; NACU, V. Dispozitiv pentru secționarea țesurilor biologice. Brevet de invenție: MD 867 Y. 2015-01-31.*
6. JIAN, M.; NACU, V.; COBZAC, V.; PALADI, C.; PANTEA V. Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare. Brevet de invenție MD 1171 din 23.12.2016.
7. JIAN, M.; NACU, V.; COBZAC, V.; PALADI, C.; PANTEA V. Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare. Brevet de invenție MD 1171. 2017.07.31.*
8. MACAGONOVA, O.; NACU, V.; COCIUG, A. Dispozitiv pentru prepararea țesuturilor biologice. Brevet de invenție: MD 793 Z. 2015-02-28.*
9. MACAGONOVA, O.; NACU, V.; COCIUG, A. Dispozitiv pentru prepararea țesuturilor biologice. Brevet de invenție: MD 866 Y. 2015-01-31. *
10. MACAGONOVA, O.; NACU, V.; MUȘET, G.; COCIUG, A. Dispozitiv pentru fixarea pielii în procesul de decelularizare. Brevet de invenție MD 1132 Y. 2017-03-31.

11. MACAGONOVA, O.; NACU, V.; MUȘET, G.; COCIUG, A.; JIAN, M.; SAREV, V.; COBZAC, V. Dispozitiv pentru fixarea etajată a pielii în procesul de decelularizare. Brevet de invenție MD 1147 Y. 2017-05-31.
12. MACAGONOVA, O.; NACU, V.; MUȘET, G.; COCIUG, A.; JIAN, M.; SAREV, V.; COBZAC, V. Dispozitiv pentru fixarea etajată a pielii în procesul de decelularizare. Brevet de invenție MD 1148 Y. 2017-05-31.
13. URȘU, A.; NACU, V.; JIAN, M.; MACAGONOVA, O.; SARMANIUC, V. Metoda de decelularizare a ficatului. Brevet de invenție MD 1015. 2015-05-12.*
14. URȘU, A.; NACU, V.; MACAGONOVA, O.; JIAN, M.; SARMANIUC, V. Dispozitiv pentru decelularizarea ficatului. Brevet de invenție MD 939. 2015-04-17.*

Inovație:

1. PANTEA V., JIAN M. Metodă de determinare cantitativă a grupelor aminice libere ale colagenului. Certificat de inovator nr. 5502; 16.05.2016.

Hotărîre de acordare de brevet de invenție:

1. COBZAC, V.; NACU, V.; JIAN, M. procedeu de reticulare a matricei hepatice decelularizate prin perfuzie continuă cu riboflavină sub acțiunea razelor UV-A. Brevet de invenție în curs de patentare. s 0007 2019. 2019.02.02.

Lista distincțiilor de apreciere a rezultatelor cercetărilor și elaborărilor (ordine, medalii, titluri onorifice, diplome) obținute:

Trofee

1. COBZAC, V.; NACU V.; GLAVAN, A.; JIAN, M.; SEDAIA. E.; ABABII. P. Dispozitiv pentru fixarea și celularizarea grefelor de dimensiuni mici. Salonul Internațional de Invenții și Inovații "TRAIAN VUIA 2019", Timișoara, Romania, 14 iunie 2019, Diplomă de excelență și Premiul Special de la USAMVB din Timișoara.
2. COBZAC, V.; NACU V.; GLAVAN, A.; JIAN, M.; SEDAIA. E.; ABABII. P. Dispozitiv pentru fixarea și celularizarea grefelor de dimensiuni mici. Salonul Internațional de Invenții și Inovații "TRAIAN VUIA 2019", Timișoara, Romania, 14 iunie 2019, Diplomă și Premiul Special de la UMFT.
3. COBZAC, V.; NACU, V.; CROITOR, G.; COȘCIUG, S.; JIAN, M. Grefă pentru restabilirea defectului osteocondral. Expoziția internațională specializată Infoinvent 2017, Moldova, Chișinău, 15-18 noiembrie 2017, Diplomă și PREMIU SPECIAL TROFEU de la OSIM, București.
4. COBZAC, V.; NACU, V.; CROITOR, G.; COȘCIUG, S.; JIAN, M. Grefă pentru restabilirea defectului osteocondral. Expoziția internațională specializată Infoinvent 2017, Moldova, Chișinău, 15-18 noiembrie 2017, Diplomă și Medalia Honor Award 2017 de la Inventarium science, Portugalia.
5. COBZAC, V.; NACU, V.; CROITOR, G.; COȘCIUG, S.; JIAN, M. Grefă pentru restabilirea defectului osteocondral. Expoziția internațională specializată Euroinvent 2018, Romania, Iasi, mai 2018, Diplomă și Cupa de la Cadet INOVA 2018.
6. COBZAC, V.; NACU, V.; CROITOR, G.; COȘCIUG, S.; JIAN, M. Grefă pentru restabilirea defectului osteocondral. Expoziția internațională specializată Euroinvent 2018, Romania, Iasi, mai 2018, Diplomă și Trofeul de la UMF „Carol Davila” Bucuresti 2018.

7. COBZAC, V.; NACU, V.; JIAN, M.; SAREV, V.; MACAGONOVA, O. Dispozitiv pentru reticularea spongiilor de colagen cu vapori de glutaraldehidă. EUROINVENT 16-18 MAI. Cupă de la SciEdTech.
8. COBZAC, V.; NACU, V.; CROITOR, G.; COȘCIUG, S.; JIAN, M. Graft for restoring the osteochondral defect. PRO INVENT Ediția XVII, 20-22 march 2019, Cluj-Napoca, Romania, Diploma and Special Award from Association of Polish Inventors and Rationalizers.
9. JIAN M.; COBZAC, V.; NACU, V.; PALADI, C.; PANTEA, V. Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare. Salonul Internațional de Inventică 2017, Romania, Iași, 28-30 Iunie 2017, Diploma, Trofeul INCDMTM.
10. JIAN M.; COBZAC, V.; NACU, V.; PALADI, C.; PANTEA, V. Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare. Expoziția internațională de Inovare și Tehnologii din Malaysia. Kuala Lumpur, Malaysia, 10-12 mai 2018, Diplomă și Trofeu pentru cea mai bună Invenție de la Asociația Mondială pentru Invenție și Proprietate Intelectuală.
11. JIAN, M.; NACU, V.; COBZAC, V.; PALADI, C.; PANTEA, V. Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare. PRO INVENT Ediția XVII, 20-22 martie 2019, Cluj-Napoca, Romania, Diplomă și Premiu Special de la USAMV București.
12. NACU, V.; ABABII, I.; MACAGONOVA, O.; COCIUG, A.; JIAN, M. Dispozitiv pentru separarea țesuturilor biologice. EIS „INFOINVENT” 2015. Diplomă de participare Medalie de aur, Premiul AGEPI”Cea mai bună invenție creată de un tânăr inventator”.

Medalii de aur

- în străinătate

1. COBZAC, V.; NACU V.; GLAVAN, A.; JIAN, M.; SEDAIA, E.; ABABII, P.; Device for fixation and cellularization of small sized grafts. The XIIIth International Exhibition of Inventions "INVENTICA 2019", Iasi, Romania, 26-28 June 2019, Diploma of excellence and Medal INVENTICA 2019
2. COBZAC, V.; NACU V.; GLAVAN, A.; JIAN, M.; SEDAIA, E.; ABABII, P. Dispozitiv pentru fixarea și celularizarea grefelor de dimensiuni mici. Salonul Internațional de Invenții și Inovații "TRAIAN VUIA 2019", Timișoara, Romania, 14 iunie 2019, Diplomă și Medalie de Aur de la Salon.
3. COBZAC, V.; NACU V.; JIAN, M.; COȘCIUG, S.; PALADI, C.; MACAGONOVA, O. Metodă de obținere a spongiei de colagen. Expoziția internațională specializată Euroinvent 2019, Iasi, Romania, 18 mai 2019, Diplomă și Medalie de Aur de la EUROINVENT.
4. COBZAC, V.; NACU V.; JIAN, M.; COȘCIUG, S.; PALADI, C.; MACAGONOVA, O. Metodă de obținere a spongiei de colagen. Expoziția internațională specializată Euroinvent 2019, Iasi, Romania, 18 mai 2019, Diplomă de excelență și Medalie de Aur de la Asociația Română de PTERIDOLOGIE.
5. COBZAC, V.; NACU V.; JIAN, M.; PALADI, C.; SAREV, V. Dispozitiv pentru reticularea spongiei de colagen cu vapori de glutaraldehidă. Expoziția internațională specializată Euroinvent 2019, Iasi, Romania, 18 mai 2019, Diplomă și Medalie de Aur de la EUROINVENT.
6. COBZAC, V.; NACU V.; JIAN, M.; PALADI, C.; SAREV, V. Dispozitiv pentru reticularea spongiei de colagen cu vapori de glutaraldehidă. The 4th edition of the International Student Innovation and Scientific Research Exhibition "Cadet INOVA'19", Sibiu, Romania, 11-13 April 2019, Diplomă și Medalie de Aur de la Stefan Cel Mare University of Suceava.
7. COBZAC, V.; NACU V.; JIAN, M.; PALADI, C.; SAREV, V. Dispozitiv pentru reticularea spongiei de colagen cu vapori de glutaraldehidă. Salonul Internațional de Invenții și Inovații "TRAIAN VUIA 2019", Timișoara, Romania, 14 iunie 2019, Diplomă și Medalie de Aur de la Salon.

8. COBZAC, V.; NACU, V.; CROITOR, G.; COȘCIUG, S.; JIAN, M. Grefă pentru restabilirea defectului osteocondral. Expoziția internațională specializată Euroinvent 2018, Romania, Iasi, mai 2018, Diplomă și Medalia de Aur Euroinvent 2018.
9. COBZAC, V.; NACU, V.; CROITOR, G.; COȘCIUG, S.; JIAN, M. Grefă pentru restabilirea defectului osteocondral. PRO INVENT Ediția XVII, 20-22 martie 2019, Cluj-Napoca, Romania,
10. COCIUG, A.; MARIN, I.; ZOTA, I.; CAPROȘ, N.; MACAGONOVA, O.; NACU, V.; BACIU, I. Dispozitiv pentru fixarea oaselor spongioase pentru prepararea grefei osoase. Salonul Internațional de Inventică 2016, Romania, Iași, 29 Iunie-1 Iulie 2016, Diploma, Medalie de Aur.
11. COCIUG, A.; NACU, V.; MACAGONOVA, O. Dispozitiv pentru secționarea corneei. Salonul Internațional de Inventică 2017, Romania, Iași, 28-30 Iunie 2017, Diploma, Medalie de Aur.
12. COCIUG, A.; NACU, V.; MACAGONOVA, O.; CAPROȘ, N.; ZOTA, I. Dispozitiv pentru curățirea măduvei osoase. Salonul Internațional de Inventică 2016, Romania, Iași, 29 Iunie-1 Iulie 2016, Diploma.
13. JIAN M.; COBZAC, V.; NACU, V.; PALADI, C.; PANTEA, V. Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare. Salonul Internațional de Inventică 2017, Romania, Iași, 28-30 Iunie 2017, Diploma, Medalie de Aur.
14. JIAN, M.; NACU, V.; COBZAC, V.; PALADI, C.; PANTEA, V. Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare. PRO INVENT Ediția XVII, 20-22 martie 2019, Cluj-Napoca, Romania, Diplomă și Medalia Euroinvent de la Forumul Inventatorilor Români.
15. JIAN, M.; NACU, V.; COBZAC, V.; PALADI, C.; PANTEA, V. Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare. PRO INVENT Ediția XVII, 20-22 martie 2019, Cluj-Napoca, Romania, Diplomă și Medalia Pro Invent.
16. MACAGONOVA, O.; ABABII, I.; NACU, V.; COCIUG, A.; JIAN, M.; IGNATOV, O. Dispozitiv pentru separarea țesuturilor biologice. Salonul Internațional de Inventică 2016, Romania, Iași, 29 Iunie-1 Iulie 2016, Diploma, Medalie de Aur.
17. NACU, V.; URUSU, A.; JIAN, M.; MACAGONOVA, O.; SARMANIUC, V. Metodă de decelularizare a ficatului. Salonul Internațional al Cercetării, Inovării și Inventicii, PRO INVENT, ediția 2016, Romania, Cluj-Napoca, 23-25 martie 2016, Diploma de excelență cu mențiune specială, Medalie de Aur.
18. NACU, V.; URUSU, A.; JIAN, M.; MACAGONOVA, O.; SARMANIUC, V. Metodă de decelularizare a ficatului. Salonul Internațional de Inventică 2016, Romania, Iași, 29 Iunie-1 Iulie 2016, Diploma, Medalie de Aur.
19. NACU, V.; URUSU, A.; MACAGONOVA, O.; JIAN, M.; COCIUG, A. Dispozitiv pentru decelularizarea ficatului. Salonul Internațional de Inventică 2016, Romania, Iași, 29 Iunie-1 Iulie 2016, Diploma, Medalie de Aur.

- în țară

1. COBZAC, V.; NACU, V.; JIAN, M.; PALADI, C.; SAREV, V.; MACAGONOVA, O. Metodă de obținere a spongiei de colagen. Expoziția internațională specializată Infoinvent 2017, Moldova, Chișinău, 15-18 noiembrie 2017, Diplomă și Medalie de Aur de la AGEPI.

2. MACAGONOVA, O.; NACU, V.; ABABII, I.; COCIUG, A.; JIAN, M.; IGNATOV, O. Dispozitiv pentru prepararea țesuturilor. Expoziția internațională specializată Infoinvent 2017, Moldova, Chișinău, 15-18 noiembrie 2017, Diplome pentru fiecare autor și Medalia de Aur de la Universitatea din Coreea.
3. MACAGONOVA, O.; NACU, V.; MUȘET, G.; COCIUG, A.; COBZAC, V.; JIAN, M.; SAREV, V. Dispozitive pentru fixarea pielii în procesul de decelularizare. Expoziția internațională specializată Infoinvent 2017, Moldova, Chișinău, 15-18 noiembrie 2017, Diplomă și Medalie de Aur de la AGEPI.
4. NACU, V.; URSU, A.; JIAN, M.; MACAGONOVA, O.; SARMANIUC, V. Metodă de decelularizare a ficatului. Noaptea cercetătorilor 2016, Moldova, Chișinău, 23 septembrie 2016, Diplomă de participare.
5. NACU, V.; URSU, A.; JIAN, M.; MACAGONOVA, O.; SARMANIUC, V. Metodă de decelularizare a ficatului. Expoziție internațională specializată de echipamente medicale, preparate farmaceutice și stomatologie, ediția a XXII-a Moldmedizin, Moldova, Chișinău 13-16 septembrie 2016, Diplomă de participare.

Medalii de argint

- în străinătate

1. COBZAC, V.; NACU, V.; CROITOR, G.; COȘCIUG, S.; JIAN, M. Grefă pentru restabilirea defectului osteocondral. Expoziția internațională specializată Cadet Inova 2018, Romania, Sibiu, aprilie 2018, Diplomă de Excelență și Medalie de Argint de la Salonul Cadet Inova.
2. COBZAC, V.; NACU, V.; JIAN, M.; PALADI, C.; SAREV, V.; MACAGONOVA, O. Metodă de obținere a spongiei de colagen. Expoziția internațională specializată Infoinvent 2017, Moldova, Chișinău, 15-18 noiembrie 2017, Diplomă de Excelență și Medalie de Argint de la Salonul Proinvent.
3. COBZAC, V.; NACU, V.; JIAN, M.; PALADI, C.; SAREV, V.; MACAGONOVA, O. Metodă de obținere a spongiei de colagen. Expoziția internațională specializată Cadet Inova 2018, Romania, Sibiu, aprilie 2018, Diplomă de Excelență și Medalie de Argint de la Salonul Cadet Inova.
4. JIAN M.; COBZAC, V.; NACU, V.; PALADI, C.; PANTEA, V. Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare. Expoziția internațională specializată Euroinvent 2018, Romania, Iasi, mai 2018, Diplomă și Medalia de Argint Euroinvent 2018.
5. MACAGONOVA, O.; NACU, V.; MUȘET, G.; COCIUG, A.; JIAN, M.; SAREV, V.; COBZAC, V. Dispozitiv pentru fixarea etajată a pielii în procesul de decelularizare. Expoziția internațională specializată Euroinvent 2018, Romania, Iasi, mai 2018, Diplomă și Medalia de Argint Euroinvent 2018.
6. NACU, V.; MACAGONOVA, O.; COBZAC, V.; MUȘET, G.; COCIUG, A.; JIAN, M.; SAREV, V. Metode și dispozitive noi pentru medicina regenerativă. / Expoziția Internațională a Creativității și Inovației Euroinvent, Iași, Romania, 25-27 mai 2017, Diplomă și Medalie de Argint.

Diplome:

1. COBZAC VITALIE din partea USMF „N. Testemițanu” pentru performanțe în activitatea inovatoare cu prilejul Zilei Inventatorului și Raționalizatorului pentru rezultate remarcabile în domeniul inovării, 29 iunie 2019, Chișinău, Republica Moldova.
2. COBZAC, V.; NACU V.; JIAN, M.; COȘCIUG, S.; PALADI, C.; MACAGONOVA, O. Metodă de obținere a spongiei de colagen. Expoziția internațională specializată Euroinvent 2019, Iasi, Romania, 18 mai 2019, Diplomă de excelență de la Forumul Inventatorilor din Irak.
3. COBZAC, V.; NACU, V.; JIAN, M.; PALADI, C.; SAREV, V. Dispozitiv pentru reticularea spongiei de colagen cu vapori de glutaraldehidă. Participare la expoziția internațională specializată Infoinvent 2017, 15-18 noiembrie 2017, Moldova, Chișinău – Diplomă de Excelență de la Universitatea de medicină veterinară, Timișoara.
4. JIAN MARIANA din partea USMF „N. Testemițanu” pentru performanțe în activitatea inovatoare cu prilejul Zilei Inventatorului și Raționalizatorului pentru rezultate remarcabile în domeniul inovării, 29 iunie 2019, Chișinău, Republica Moldova.
5. Laboratorului de Inginerie Tisulară și Culturi Celulare din partea USMF „N. Testemițanu” pentru performanțe în activitatea inovatoare cu prilejul Zilei Inventatorului și Raționalizatorului pentru rezultate remarcabile în domeniul inovării, 29 iunie 2019, Chișinău, Republica Moldova.

Participări la emisiuni radio și tv:

1. COBZAC, V. Ficat creat în laborator. Publika TV, știri 13.10.2016, ora 16:30.
2. COBZAC, V.; JIAN, M.; MACAGONOVA, O. Activitatea inovatoare din Moldova. Moldova Tară de minune, 26. 03 2017, 16:05.
3. NACU, V. Cît de solicitate sunt țesuturile umane în Republica Moldova? Sputnik, ATITUDINI, 28.01.2019.
4. NACU, V. Medicina regenerativă. Cine vine la noi? TRM. 19.01.2018.
5. NACU, V.; JIAN, M.; COBZAC, V. Revoluționar! Cercetătorii moldoveni creează primul ficat în condiții de laborator. Publika TV, știri 12.10.2016, ora 07:18.
6. NACU, V.; JIAN, M.; COBZAC, V.; MACAGONOVA, O.; SAREV, V.; PALADI, C. O nouă șansă pentru transplantul din țară. Cercetătorii moldoveni vor să creeze un ficat artificial. e-sanatate, 07.10.2016, 13:10.
7. NACU, V.; JIAN, M.; COBZAC, V.; MACAGONOVA, O.; SAREV, V.; PALADI, C. Cercetătorii din Moldova vor să creeze un ficat artificial! Dacă proiectul va fi de succes, acesta ar putea salva mii de vieți. Realitatea.md, 07.10. 2016, 14:07.
8. NACU,V. Centre noi de prelevare a organelor. Publika TV, online- report, 05.09.2016, ora 14:30.

Premii obținute:

9. JIAN, M. Decelularizarea ficatului. Premiul „Noaptea cercetătorilor europeni”.
10. MACAGONOVA, O. Cea mai activă femeie inventatoare 2018.
11. NACU, V. Diplomă cu ocazia Zilei Inventatorului și Raționalizatorului pentru cel mai activ inventator 2016.
12. NACU, V. Premiul în domeniul medicină “Constantin Țîbîrnă” ediția 201

Fișa de prezentare a rezultatelor proiectului de cercetare

I. Sumarul activităților proiectului realizate

	<i>Activități planificate</i>	<i>Activități realizate și rezultate noi obținute în cadrul proiectului (150 cuvinte)</i>
I.	1) Izolarea și decelularizarea ficatului cu diverși agenți de decelularizare 2) Cultivarea hepatocitelor în bioreactor 3) Recelularizarea <i>in vitro</i> a ficatului 4) Reticularea și testarea <i>in vitro</i> a matricilor hepatice decelularizate. Testarea <i>in vivo</i> a matricilor reticulate 5) Transplantarea ectopică a ficatului decelularizat.	<p>Au fost obținute matrici decelularizate ale ficatului prin utilizarea soluției de NaCl și D-glucoză cu osmolaritate înaltă cu ulterioara perfuzare cu detergenți Triton X100 și SDS.</p> <p>Au fost extrase hepatocite și ulterior au fost cultivate și utilizate la recelularizarea matricilor decelularizate obținute.</p> <p>Matricile hepatice decelularizate au fost reticulate cu riboflavină, 1-ethyl-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimidă (EDC) + N-hydroxysuccinimide (N-HS) și tripolifosfat de sodiu (TPP) și au fost testate <i>in vitro</i> rezistența matricilor hepatice decelularizate reticulate la degradarea enzimatică,</p> <p>Precum și citotoxicitatea celulară la contact cu matricea reticulată față de martor.</p> <p>Au fost popula matricile reticulate cu celule și au fost transplantate <i>in vivo</i> subcutanat la șobolani.</p> <p>Au fost efectuate la șobolani anastomoze microvasculare ale vaselor hepatice și tentative de revascularizare a ficatului decelularizat.</p> <p>Au fost efectuate încercări de transplantare ectopică de ficat normal la șobolan.</p> <p>Rezultatele obținute în urma decelularizării ficatelor de șobolani și obținerii matricilor hepatice decelularizate, izolării hepatocitelor și populării matricilor date au servit la instruirea studenților în cadrul cursului de medicină regenerativă. De asemenea, rezultatele activității de cercetare au fost diseminate în cadrul lecției publice „Inginerie tisulară și medicina regenerativă: provocări și realizări” consacrate Zilei Internaționale a Științei pentru Pace și Dezvoltare.</p> <p>Pe plan aplicativ au fost obținute mai multe contracte de colaborare cu Universitatea Tehnică a Moldovei, Institutul de Fizică Aplicată, Centrul științific al medicamentului. Hepatocitele izolate au fost utilizate pentru testarea <i>in vitro</i> a citotoxicității unor extracte din <i>Agremonium Herba</i> și <i>Cichorii</i>.</p> <p>Celule stem izolate și cultivate în cadrul laboratorului au fost utilizate pentru testarea citotoxicității unor nanoparticule și a unor materile din sticlă și hidroxiapatită.</p>

II. Relevanța rezultatelor științifice obținute (până la 200 de cuvinte)

Pe plan național au fost elaborate protocoale de izolare a celulelor stem mezenchimale și hepatocite care sunt implementate în practica de laborator pentru recelularizarea *in vitro* a matricii hepatice decelularizate. Rezultatele obținute în cadrul proiectului sunt foarte importante pentru practica de laborator, acestea permit la etapa preclinică de a efectua o selecție calitativă a substanțelor sau materialelor predestinate utilizării în clinică după nivelul de citotoxicitate. Utilizarea mai multor tipuri de celule ne-a permis testarea influenței diferitor substanțe și materiale asupra unei și aceleași concentrații de diferite celule, dezvoltând astfel ideea de afinitate celulară. În același sens rezultatele cercetării au fost materializate prin obținerea mai multor contracte de colaborare cu mai multe instituții de cercetare din Moldova substanțe în scopul determinării gradului de citotoxicitate a diferitor nanoparticule, substanțe chimice și medicamentoase.

Ca perspective de implementare a rezultatelor cercetării menționăm aplicarea în practica clinică a acestora prin intermediul Băncii de Țesuturi și Celule Umane din Republica Moldova pentru dezvoltarea transplantologiei naționale.

III. Volumul total al finanțării

<i>Finanțarea planificată (mii lei)</i>	<i>Executată (mii lei)</i>
2381,8	2381,8

IV. Volumul cofinanțării (mii lei)

816,0

V. Lista colaborărilor inițiate în cadrul proiectului

Pe parcursul desfășurării proiectului au fost inițiate colaborări cu: UMF "Gr.T.Popa" din Iași, România prin câștigarea a 2 burse de mobilitate doctorală "Eugen Ionescu" și Centrul de Inginerie a materialelor de la Universitatea Politehnică din București. Rezultatele colaborării cu UMF Gr.T.Popa au fost materializate prin publicarea unui articol în revistă indexată Scopus în cadrul Conferinței de la Salonul Euroinvent 2019. La moment se duc tratative pentru colaborare cu Institutul Național de Cercetare Dezvoltare pentru Fizică și Inginerie Nucleară „Horia Hulubei” de la Măgurele, România în privința sterilizării cu raze gama a grefelor obținute în cadrul proiectului

VI. Lista evenimentelor organizate / la care s-a participat în cadrul proiectului

În cadrul proiectului s-a participat la saloane naționale și internaționale de invenție și la conferințe internaționale după cum urmează:

- 1) Expoziția europeană a creativității și inovării EUROINVENT, Iași (România).
- 2) The International Student Innovation and Scientific Research Exhibition "Cadet INOVA", Sibiu, (Romania)
- 3) The International Exhibition of Inventions "INVENTICA", Iasi (Romania).
- 4) PRO INVENT, Cluj-Napoca (România).
- 5) Salonul Internațional de Invenții și Inovații "TRAIAN VUIA ", Timișoara, (Romania).
- 6) The 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering, September 18-21, 2019 in Chisinau, Republic of Moldova.
- 7) Congresul EATB 2019, Olanda, Leiden

VII. Lista mobilităților efectuate în cadrul proiectelor

- 1) Expoziția europeană a creativității și inovării EUROINVENT, Iași (România).
- 2) The International Student Innovation and Scientific Research Exhibition "Cadet INOVA", Sibiu, (Romania)
- 3) The International Exhibition of Inventions "INVENTICA", Iasi (Romania).
- 4) PRO INVENT, Cluj-Napoca (România).
- 5) Salonul Internațional de Invenții și Inovații "TRAIAN VUIA ", Timișoara, (Romania).
- 6) Congresul EATB 2019, Olanda, Leiden

VIII. Informații despre infrastructura utilizată în realizarea proiectului

În cadrul proiectului se utilizează echipament performant ca:

- 1) hotă cu flux laminar de aer Nuve LN 090,
- 2) incubator CO₂ cu sensor,
- 3) ultracongelator ULUF 450,
- 4) microscop inversat cu contrast de fază KZD,
- 5) purificator de aer,

- 6) sistem de liofilizare Zirbus,
- 7) autoclav Phoenix Blue,
- 8) imprimantă 3D Ultimaker,
- 9) cameră foto-video pentru microscop Moticam,
- 10) aparat de sigilare,
- 11) cameră electroforetică,
- 12) microcentrifugă,
- 13) ph-metru,
- 14) sheiker incubator orbital.

IX. Dificultăți/impedimente apărute pe parcursul realizării proiectului

În cadrul proiectului au fost obținute rezultate științifice care corespund obiectivelor trasate, iar devieri de la sarcinile propuse în decursul executării proiectului nu au fost înregistrate.

X. Beneficiarul (ministere, instituții de stat sau private, întreprinderi, etc.)
USMF “Nicolae Testemițanu”, Spitalul Clinic de Ortopedie și Traumatologie

Director proiectului
dr.hab.șt.med.,
prof.univ. Viorel Nacu _____

Șeful laboratorului
De Inginerie tisulară și culturi celulare
dr.hab.șt.med., prof.univ. Viorel Nacu _____