

RECEPȚIONAT

Agenția Națională pentru Cercetare
și Dezvoltare

21 12 2021

AVIZAT

Secția AȘM

14/XII 2021

RAPORT ȘTIINȚIFIC ANUAL

privind implementarea proiectului din cadrul Proiectului bi/multilateral
PROPHYLACTIC AND THERAPEUTIC USE OF REGULATORY T CELL DERIVED
EXOSOMES IN MURINE MODELS OF MULTIPLE SCLEROSIS AND PSORIASIS
cifrul 21.80013.8007.2M

Prioritatea Strategică I

Conducătorul proiectului

COREȚCHI Ianoș



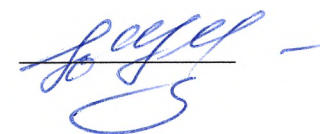
Rectorul USMF „Nicolae Testemițanu”

CEBAN Emil



Președintele Consiliului Științific

GROPPA Stanislav



Chișinău 2021

Remarcă:

Conform actelor de colaborare respective, perioada primului an de derulare a proiectului constituie 10 mai 2021 – 10 mai 2022. Din aceste considerente, la ziua de astăzi (începutul lunii noiembrie 2021), activitățile de cercetare planificate a fi efectuate sunt în desfășurare, nefiind finalizate.

1. Scopul etapei anuale conform proiectului depus la concurs.

General: evaluarea potențialului terapeutic și profilactic al exozomilor derivați din celule Treg la utilizarea pe modele murine ale sclerozei multiple și psoriazisului.

Specifice etapei:

1. Cultivarea celulelor T regatoare pentru izolarea și caracterizarea exozomilor.
2. Evaluarea potențialului terapeutic al exozomilor derivați din celule Treg la administrarea sistemică în encefalomielite experimentală autoimună indusă cu MOG35-55

2. Obiectivele etapei anuale

1. Expansiunea celulelor T regatoare (Treg) policlonale și izolarea exozomilor
2. Expansiunea antigen-specifică a celulelor Treg policlonale și izolarea exozomilor
3. Caracterizarea exozomilor prin microscopie electronică, analiză de urmărire a nanoparticulelor
4. Testarea tratamentului cu exosomi pe model de encefalomielite experimentală autoimună și scorarea EEA
5. Izolarea, cultivarea și caracterizarea celulelor stem mezenchimale
6. Izolarea, cultivarea și caracterizarea exozomilor obținuți din celulele stem mezenchimale

3. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor etapei anuale

1. Cultivarea celulelor Treg CD4+ și Foxp3+ din care se vor obține exosomi.
2. Stimularea cu antigeni specifici și cultivarea celulelor Treg stimulate pentru obținerea exozomilor.
3. Identificarea și caracterizarea exozomilor.
4. Determinarea eficacității utilizării exozomilor în tratamentul și profilaxia encefalomielitei experimentale autoimune.
5. Caracterizarea răspunsului imun în ganglionii limfatici drenanți Th1, Th17, celulele Treg CD8 și celulele B, microglie, neutrofile.
6. Caracterizarea celulelor imune în SNC la picul bolii: Th1, Th17, celulele Treg CD8 și celulele B, microglia, neutrofile citokine intracelulare.

7. Izolarea, cultivarea și caracterizarea celulelor stem mezenchimale.
 8. Izolarea, cultivarea și caracterizarea exosomilor obținuți din celulele stem mezenchimale.
4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor etapei anuale
1. A fost elaborat, coordonat și semnat *Umbrella agreement* și acordul de colaborare între partenerii proiectului
 2. A fost efectuată o întrunire online cu participarea partenerilor proiectului
 3. A fost efectuată sinteza literaturii de specialitate
 4. A fost optimizat protocolul de colectare a ganglionilor limfatici de la șoarecii Balb/c
 5. În proces de optimizare este protocolul de izolare a celulelor T reglatoare prin colectarea ganglionilor limfatici de la șoarecii Balb/c
 6. A fost pregătită cultura celulară din celule T reglatoare
 7. Se lucrează asupra optimizării protocolului de izolare a exosomilor din celulele T reglatoare.
5. Rezultatele obținute (descriere narativă 3-5 pagini)

Pentru primul an de activitate al proiectului (10 mai 2021 – 10 mai 2022) au fost stabilite o serie de obiective enumerate mai sus. Menționăm că la etapa raportării, activitățile de cercetare planificate pentru această perioadă sunt în plină desfășurare.

Astfel, în această perioadă s-a reușit consolidarea grupului de lucru, coordonarea și semnarea acordului de colaborare între partenerii proiectului. Au fost petrecute un șir de evenimente, inclusiv ședințe de coordonare, planificare și evaluare a desfășurării proiectului. Două ședințe s-au desfășurat cu participarea tuturor partenerilor. Prima dintre acestea s-a desfășurat online. Echipa proiectului din Republica Moldova a avut parte de o întrevvedere în cadrul vizitei de lucru a coordonatorului echipei din Federația Rusă, profesorul Peter Timășev, Director, Institutului de Medicină Reconstructivă, Universitatea de Stat de Medicină Secenov, Moscova, Federația Rusă, aflat în vizită la universitatea noastră în perioada 29 – 30 Octombrie 2021. În cadrul vizitei, la întrunirea online, care a reunit toți partenerii proiectului, au fost discutate și analizate sarcinile planificate, mersul lucrărilor, discutate problemele apărute pe parcurs, inclusiv cele determinate de procesul de achiziție a celor necesare pentru asigurarea procesului de cercetare.

Împreună cu partenerii noștri s-a lucrat asupra protocoalelor de cercetare în vederea cultivării celulelor Treg CD4+ și Foxp3+, din care ulterior vor fi obținuți exosomii, care, în primul model de studiu, urmează să fie administrați sistemic la modelul de șobolan MOG35-55 al encefalitei autoimune experimentale (*MOG35-55 peptide-Induced EAE mouse model*) pentru tratamentul sclerozei multiple (SM).

Scleroza multiplă este o boală demielinizantă cronică inflamatorie a sistemului nervos central, cu un curs recurent-remisiv sau progresiv. Encefalomielite autoimună experimentală (EAE), un model animal de SM, este o boală paralizantă și adesea demielinizantă a sistemului nervos central, indusă prin imunizarea animalelor susceptibile cu antigene sau peptide de mielină (proteină proteolipidă

(PLP), proteină bazică mielină (MBP), glicoproteina oligendocitară a mielinelor (MOG) 35-55) sau prin transferul adoptiv cu celule T activate cu mielină activată. EAE a fost utilizat pe scară largă pentru a explora mecanismele patologice care stau la baza MS. Generarea de celule T reactive cu proteină mielină este un semn distinctiv imunologic al EAE și SM și este necesar pentru exprimarea bolii în EAE.

De asemenea, în proces de optimizare este protocolul de colectare a ganglionilor limfatici de la șoarecii Balb/c, dar și protocolul de izolare a celulelor T reglatoare.

6. Diseminarea rezultatelor obținute în proiect în formă de publicații

A demarat procesul de pregătire spre publicare a unei lucrări comune, cu implicarea tuturor partenerilor.

7. Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului

Impactul științific constă în acumularea de date științifice și dezvoltarea noilor metode de tratament a unor boli autoimune, creșterea vizibilității activității de cercetare: articole publicate, participări la conferințe științifice.

Ca impact economic, rezultatele obținute în cadrul proiectului vor contribui în perspectivă la apariția unor noi preparate medicamentoase pentru tratamentul sclerozei multiple și a psoriazisului.

Ca impact social proiectul contribuie la dezvoltarea și calificarea resurselor umane, prin atragerea și implicarea tinerilor cercetători în activități de cercetare complexe, interdisciplinare și internaționale.

8. Infrastructura de cercetare utilizată în cadrul proiectului

Pompă cu vid cu piston rotativ EVD-12, PH metru ph150M, Microscop inversat cu contrast de fază Olympus, Hotă cu flux laminar de aer Nuve LN 090, Ultracongelator ULUF 450-2M, Purificator de Aer portativ FK03C, Autoclav Phoenix Blu, automat, 22 L, Baie de apă, BAE-2, Bidistilator BS, Sheiker Incubator Orbital Biosan ES-20, Sistem de liofilizare VaCo 5-II, Agitator magnetic MS-H-Pro+, Liofilizator UNICRYO, Baie Ultrasonora Multifuncțională, Dispozitiv universal pentru mărunțirea țesuturilor biologice moi, PowerLab, Cromatograf de gaze GC (Shimadzu GC 2014A, Flaucitometru BD FACS Via™, Termostat INE 400, Analizatorul hematologic Mythic-22, 5 Diff, SRL,, Orphee”, Analizatorul imunologic BioScreen MS-500, Analizatorul imuno-biochimic MC-15, Șeiker S-3 ELMI, Spectrofotometru - NanoDrop 2000 C, centrifugi (ex. centrifugă cu sistem de răcire - MPW 260R, centrifugă CPV-2 - biosan pentru plăci de reacție PCR din plastic, centrifugă eppendorf-5412, etc), vortex, baie de apă programabilă, pipete automate, sistem de achiziție și prelucrare a datelor de înaltă performanță PowerLab 4/35.

9. Colaborare la nivel național în cadrul implementării proiectului

Subdiviziunile de cercetare din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu” Centrul Științific al Medicamentului, laboratorul de genetică, laboratorul de alergologie și imunologie, laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare.

10. Colaborare la nivel internațional în cadrul implementării proiectului

Erciyes University, Betül Ziya Erden Genome and Stem Cell Research Center (GENKÖK), Turcia

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University)

11. Dificultățile în realizarea proiectului

Financiare, organizatorice, legate de resursele umane etc.

Creșterea prețului la reactivi (prețul estimat la aplicarea proiectului cu mult mai mic comparativ cu ofertele recente). Resurse insuficiente pentru salarizarea echipei proiectului, lipsa ofertelor pentru procurarea celor necesare. Dificultăți în planificarea și efectuarea deplasărilor din cauza pandemiei COVID-19.

12. Diseminarea rezultatelor obținute **în proiect** în formă de prezentări la foruri științifice (comunicări, postere – pentru cazurile când nu au fost publicate în materialele conferințelor, reflectate în p. 6)

Din motiv că proiectul a fost demarat acum câteva luni, nu au fost încă obținute rezultate care ar putea fi prezentate la foruri științifice.

13. Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect .

Pentru primul an de activitate (10 mai 2021 – 10 mai 2022) proiectul are ca obiective Expansiunea celulelor T reglatoare (Treg) policlonale și izolarea exosomilor; Expansiunea antigen-specifică a celulelor Treg policlonale și izolarea exosomilor; Caracterizarea exosomilor prin microscopie electronică, analiză de urmărire a nanoparticulelor; Testarea tratamentului cu exosomi pe model de encefalomieloită experimentală autoimună și scorarea EEA; Izolarea, cultivarea și caracterizarea celulelor stem mezenchimale; Izolarea, cultivarea și caracterizarea exosomilor obținuți din celulele stem mezenchimale. Menționăm că la etapa raportării, activitățile de cercetare planificate pentru această perioadă sunt în plină desfășurare.

Astfel, în această perioadă s-a reușit consolidarea grupului de lucru, coordonarea și semnarea acordului de colaborare între partenerii proiectului. Au fost petrecute un șir de evenimente, inclusiv ședințe de coordonare, planificare și evaluare a desfășurării proiectului. Echipa proiectului din Republica Moldova a avut parte de o întrevedere cu coordonatorul echipei din Federația Rusă, profesorul Peter Timășev, Director, Institutul de Medicină Reconstructivă, Universitatea de Stat de Medicină Secenov, Moscova, Federația Rusă.

Împreună cu partenerii noștri s-a lucrat asupra protocoalelor de cercetare în vederea cultivării celulelor Treg CD4+ și Foxp3+, din care ulterior vor fi obținuți exosomii, care, în primul

model de studiu, urmează să fie administrați sistemic la modelul de șobolan MOG35-55 al encefalitei autoimune experimental (*MOG35-55 peptide-Induced EAE mouse model*) pentru tratamentul sclerozei multiple (SM).

De asemenea, în proces de optimizare este protocolul de colectare a ganglionilor limfatici de la șoarecii Balb/c, dar și protocolul de izolare a celulelor T reglatoare.

Summary

For the first year of activity (May 10, 2021 - May 10, 2022) the project has as objectives Polyclonal regulatory T cell expansion (Treg) and exosome isolation; Antigen-specific expansion of polyclonal Treg cells and exosome isolation; Characterization of exosomes by electron microscopy, nanoparticle tracking analysis; Exosome treatment testing on model of experimental autoimmune encephalomyelitis and EEA scoring; Isolation, culture and characterization of mesenchymal stem cells; Isolation, culture and characterization of exosomes obtained from mesenchymal stem cells. It is to be noted that at the reporting stage, the research activities planned for this period are in full swing.

Thus, during this period it was possible to consolidate the working group, coordinate and sign the collaboration agreement between the project partners. A number of events took place, including coordination, planning and project evaluation meetings. The project team from the Republic of Moldova had a meeting with the team coordinator from the Russian Federation, Professor Peter Timasev, Director, Institute of Reconstructive Medicine, Secenov State University of Medicine, Moscow, Russian Federation.

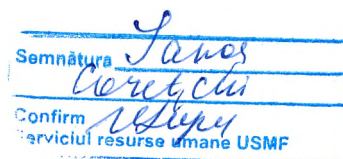
Together with our partners, we worked on research protocols for culturing Treg CD4 + and Foxp3 + cells, from which exosomes will later be obtained, which, in the first study model, will be administered systemically in the MOG35-55 rat model of autoimmune encephalitis. experimental (*MOG35-55 peptide-Induced EAE mouse model*) for the treatment of multiple sclerosis (MS).

Also, the protocol for collecting lymph nodes from Balb / c mice is in the process of optimization, as well as the protocol for isolating regulatory T cells.

Conducătorul de proiect  Corețchi Ianoș

Data: 01.12.2021


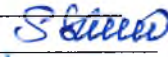

LS



Executarea devizului de cheltuieli, conform anexei nr. 2.3 din contractul de finanțare
Cifrul proiectului: 21.80013.8007.2M

Denumirea articolelor	Codul economic	Total	Anul de gestiune		
			Aprobat	Modificat +/-	Precizat
Cheltuieli	2	9,4	9,4		9,4
Cheltuieli de personal	21				
Remunerarea muncii	211				
Remunerarea muncii angaj. conf. statelor	2111				
Remunerarea muncii angaj. conf. statelor	211180				
Contribuții și prime de asigurări obligatorii	212				
Contribuții de asigurări sociale de stat oblig.	212100				
Prime de asigurare obligatorie de asistență medicală	212200				
Bunuri si servicii	22	9,4	9,4		9,4
Deplasări	2227	9,4	9,4		9,4
Deplasări de serviciu peste hotare	222720	9,4	9,4		9,4
Servicii	2229				
Stocuri de materiale circulante	33	315,8	315,8		315,8
Stocuri de materiale circulante	331				
Procurarea materialelor pentru scopuri didactice, științifice și alte scopuri	335110	315,8	315,8		315,8
Total		325,2	325,2		325,2

Rector
 Economist șef
 Conducătorul de proiect


CEBAN Emil

LUPAȘCO Svetlana

COREȚCHI Ianoș

Data 04.02.2021



Componența echipei proiectului

Cifrul proiectului 21.80013.8007.2M

Echipa proiectului conform contractului de finanțare (la semnarea contractului)						
Nr	Nume, prenume (conform contractului de finanțare)	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării	Data eliberării
1.	Corețchi Ianoș	1984	Dr.șt.med.	Fără remunerație	-	-
2.	Todiraș Mihail	1966	Dr.hab.șt.med	Fără remunerație	-	-
3.	Vorojbit Valentina	1964	Dr.șt.med.	Fără remunerație	-	-
4.	Galea-Abdușa Daniela	1988	Dr.șt.biol.	Fără remunerație	-	-
5.	Ulinici Mariana	1987	-	Fără remunerație	-	-
6.	Toma Alina	1992	-	Fără remunerație	-	-
7.	Malcova Tatiana	1992	-	Fără remunerație	-	-

Pondereea tinerilor (%) din numărul total al executorilor conform contractului de finanțare	57 procente
---	-------------

Pondereea tinerilor (%) din numărul total al executorilor la data raportării	57 procente
--	-------------

Rector
Economist șef
Conducătorul de proiect

CEBAN Emil
LUPAȘCO Svetlana
COREȚCHI IANOS

E. Ceban

Svetlana

Ianos

Data: 06/12.2021





EXTRAS DIN DECIZIE

30.11.2021

nr. 9/3

Cu privire la aprobarea rapoartelor științifice anuale pentru anul 2021, ale proiectelor multilaterale din cadrul apelului ERA.Net RUS Plus 2019 pentru perioada (2021-2023)

În conformitate cu prevederile Ordinului Agenției Naționale pentru Cercetare și Dezvoltare nr. 99 din 5 noiembrie 2020 *cu privire la aprobarea Instrucțiunii privind raportarea anuală a implementării proiectelor din domeniile cercetării și inovării*, precum și în rezultatul audierii publice a rapoartelor anuale de implementare ale proiectelor, Consiliul științific

A DECIS:

A aproba raportul științific pentru anul 2021 al proiectului 21.80013.8007.2M „*Prophylactic and Therapeutic Use of Regulatory T Cell Derived Exosomes in Murine Models of Multiple Sclerosis and Psoriasis*”, din cadrul proiectelor multilaterale din cadrul apelului ERA.Net RUS Plus 2019 pentru perioada (2021-2023), responsabil de proiect Corețchi Ianoș, dr. șt. med., conferențiar universitar.

Secretar științific,
dr. șt. med., conf. univ.

Diana Calaraș

