

**RECEȚIONAT**

Agenția Națională pentru Cercetare  
și Dezvoltare \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ 2024

**AVIZAT**

Secția AȘM \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ 2024

## **RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL**

**privind implementarea proiectului din cadrul concursului  
ERA.Net RUS Plus 2019**

„Prophylactic and therapeutic use of regulatory T cell derived exosomes in murine models of multiple sclerosis and psoriasis.”

Cifrul proiectului 21.80013.8007.2M.

Prioritatea strategică Maladiile netransmisibile – monitorizare epidemiologică, prevenție, diagnostic și tratament

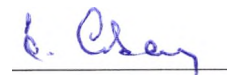
Conducătorul proiectului

**COREȚCHI IANOȘ**



Rectorul USMF „Nicolae Testemițanu”

**CEBAN Emil**



Președintele Consiliului Științific

**CHIHAI Jana**

  
  
L.S.

Chișinău 2024

## CUPRINS:

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

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

*Scopul proiectului constă în demonstrarea potențialului terapeutic al exosomilor derivați din celule T reglatoare (Treg) în tratamentul a două boli autoimune distincte, scleroza multiplă (modelul murin EAE) și psoriazisul (modelul murin indus de imiquimod). Prin administrarea sistemică și locală, se urmărește furnizarea unui concept inovator de tratament bazat pe exosomi, precum și investigarea schimbărilor microbiotei intestinale și cutanate asociate tratamentului.*

**2. Obiectivele (obligatoriu)**

1. Izolarea și caracterizarea exosomilor derivați din celule Treg policlonale și antigen-specifice
  - Sortarea celulelor CD4+Foxp3+ din șoareci raportori Foxp3 YFP.
  - Izolarea și caracterizarea exosomilor prin tehnici precum microscopie electronică și citometrie de flux.
2. Evaluarea eficacității terapeutice a exosomilor derivați din celule Treg
  - Administrarea profilactică și terapeutică a exosomilor în modele murine EAE pentru a evalua ameliorarea simptomelor bolii și procesul de demielinizare.
  - Testarea locală a exosomilor (topic și intradermic) în modelul de psoriazis indus de imiquimod pentru a evalua inflamația și regenerarea cutanată.
3. Analiza schimbărilor microbiotei asociate tratamentului cu exosomi
  - Caracterizarea microbiotei intestinale și cutanate la șoarecii tratați, utilizând tehnici de izolare a ADN-ului microbial și analize metagenomice.

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

1. Izolarea și caracterizarea exosomilor derivați din celule Treg policlonale și antigen-specifice
  - Izolarea celulelor CD4+Foxp3+ din ganglionii limfatici și splină de la șoareci raportori Foxp3 YFP.
  - Extinderea celulelor Treg prin incubare cu kitul de expansiune Miltenyi Treg.
  - Izolarea exosomilor din supernatantul culturilor de celule Treg activate și caracterizarea acestora prin microscopie electronică (SEM), citometrie de flux și analize proteice (Western Blot, Zetasizer).
2. Testarea eficacității terapeutice a exosomilor în modele murine de boli autoimune
  - Administrarea exosomilor în regim profilactic (înainte de debutul bolii) și terapeutic (după debutul bolii) în modelul murin de scleroză multiplă indusă de MOG35-55.
  - Evaluarea severității bolii prin scorarea clinică EAE, analiza demielinizării (colorație Luxol Fast Blue) și caracterizarea infiltratelor celulare din SNC prin citometrie de flux.
  - Aplicarea exosomilor topic și intradermic în modelul murin de psoriazis indus de imiquimod.
  - Evaluarea inflamației cutanate prin PASI, histopatologie, citometrie de flux și RT-PCR.
3. Investigarea modificărilor microbiotei asociate tratamentului cu exosomi
  - Colectarea probelor intestinale și dermice de la șoarecii tratați.

- Izolarea ADN-ului microbial și realizarea analizei metagenomice pentru caracterizarea microbiotei intestinale și cutanate.
- Corelarea modificărilor microbiotice cu efectele terapeutice observate.

#### 4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor proiectului (obligatoriu)

1. Izolarea și caracterizarea celulelor Treg și exosomilor derivați
  - Celulele CD4+FOXP3+ au fost izolate din ganglionii limfatici și splina șoarecilor raportori Foxp3YFP utilizând sortatorul FACS Aria III. Celulele au fost extinse și activate în plăci de 96 de godeuri acoperite cu CD3/CD28, iar exosomii au fost izolați din supernatant utilizând kitul ExoQuick-TC.
  - Caracterizarea exosomilor a fost realizată prin microscopie electronică cu scanare (SEM), analiză de urmărire a nanoparticulelor (NTA) și citometrie de flux pentru markerii specifici CD63, CD9 și CD81.
2. Testarea eficacității terapeutice a exosomilor
  - Exosomii au fost administrați în regim profilactic și terapeutic în modele murine de scleroză multiplă (EAE) și psoriazis indus de imiquimod.
  - În cazul modelului EAE, evoluția bolii a fost monitorizată prin scorarea clinică, evaluarea demielinizării (colorație Luxol Fast Blue) și analiza infiltratelor celulare din SNC prin citometrie de flux.
  - În modelul de psoriazis, severitatea leziunilor a fost evaluată utilizând indicii PASI, histopatologie și analize de expresie genică prin RT-PCR.
3. Evaluarea modificărilor microbiotei asociate utilizării exosomilor
  - Probe fecale și dermice au fost colectate de la șoarecii tratați. ADN-ul microbiotei a fost izolat utilizând kituri specifice (DNeasy® PowerSoil® Pro Kit), iar analiza metagenomică este în desfășurare.
4. Diseminarea rezultatelor
  - A fost publicat un articol în revistă cu IF 4.8
  - Sunt în curs de redactare pentru publicare în reviste indexate articole științifice în Web of Science și SCOPUS.

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

Proiectul a demonstrat potențialul terapeutic al exosomilor derivați din celule T reglatoare (Treg) în tratamentul a două boli autoimune provocate experimental: scleroza multiplă (model murin de EAE) și psoriazisul (model murin indus cu imiquimod).

##### I. Izolarea și caracterizarea celulelor Treg și a exosomilor

A fost elaborată și implementată metoda de stimulare, izolare și caracterizare a exosomilor derivați din celule Treg antigen specifice (act de implementare din 15.12.2023).

##### 1. Izolarea celulelor Treg din ganglionii limfatici și splină

Limfocitele CD4+ și FOXP3+ au fost izolate din ganglionii limfatici și splina șoarecilor raportori Foxp3YFP. Ganglionii limfatici și splina au fost recoltate în condiții sterile și transformate în suspensii celulare prin utilizarea unui filtru celular de 70 μm (BD Falcon Cell Strainer). Numărul celulelor obținute a fost determinat utilizând o cameră Thoma. Celulele au fost sortate prin

citometrie de flux utilizând dispozitivul FACSaria III, conform protocoalelor stabilite în laboratorul GENKOK Flow. Datele privind sortarea celulelor – numărul de celule din ganglioni și splină, precum și numărul celulelor CD4+ și FOXP3+ izolate – sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1. Numărul celulelor în specimene

Number of mice	LN Cell Count	LN SORT CD4+	LN SORT FOXP3+	Spleen Cell Count	Spleen SORT CD4+	Spleen SORT Foxp3+
1	32.000.000	3.900.000	660.000	56.000.000	1.100.000	274.884
1	27.000.000	2.148.610	288.700	64.000.000	2.300.000	855.806
3	44.800.000	8.273.100	2.614.170	-	-	-
1	20.000.000	2.200.000	312.453	115.000.000	9.300.648	1.834.354
1	19.457.012	1.287.556	227.979	103.576.423	4.623.266	816.340
2	34.320.000	944.274	186.209	15.840.000	-	-
2	30.600.00	3.100.600	656.000	86.000.000	8.122.456	1.453.412
2	35.264.000	3.400.312	702.684	112.000.000	-	-
2	33.468.000	3.500.000	689.000	88.600.000	7.643.986	1.234.866

## 2. Rata de conversie a celulelor FOXP3-negative în Treg

Celulele Treg au fost diferențiate in vitro din celule CD4+FOXP3-, utilizând plăci de cultură acoperite cu CD3 (2 μg/ml) și CD28 (1 μg/ml), în prezența TGF-β (5 ng/ml) și IL-2 (50 ng/ml). După 5 zile de cultură, rata de diferențiere a celulelor Treg a fost determinată prin citometrie de flux. Datele sunt reprezentate grafic în figura 1 (pentru ganglionii limfatici) și figura 2 (pentru splină), unde se arată procente de Treg obținute. Rata de conversie a fost de 61,6% pentru celulele izolate din ganglioni și 68,8% pentru cele din splină, confirmând eficiența procesului experimental.

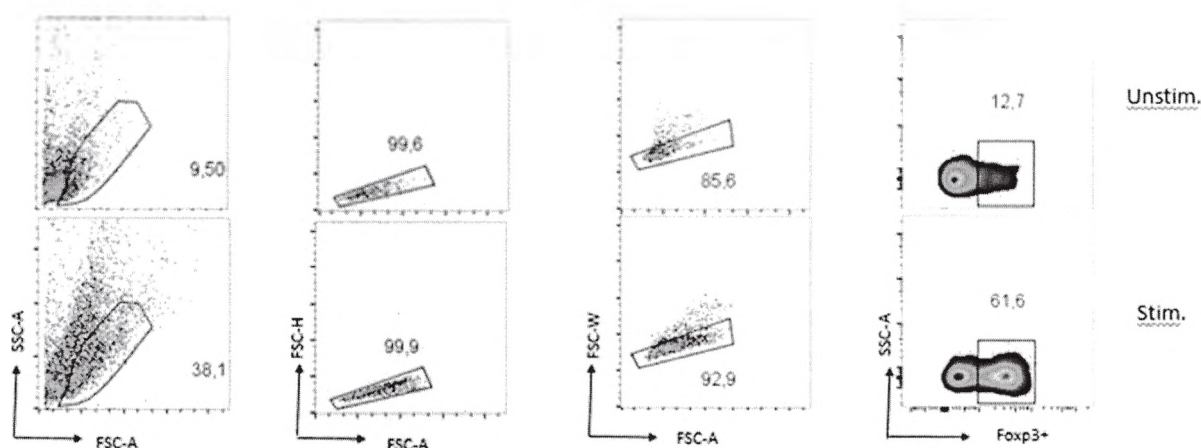


Figura 1. Procentele de diferențiere ex vivo ale celulelor Treg din celule CD4+FOXP3- obținute din ganglionii limfatici ai șoarecilor, după 5 zile de cultură, utilizând citometria de flux.

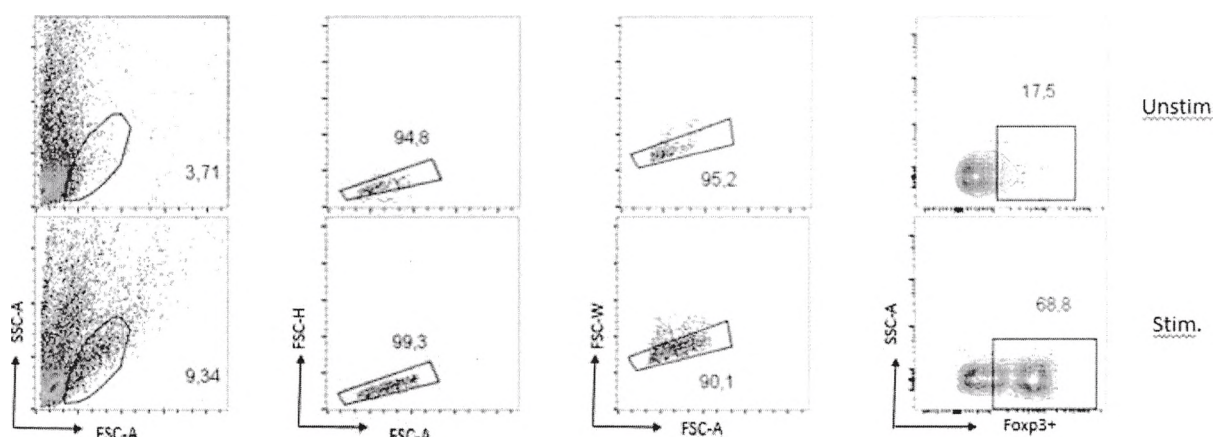


Figura 2. Procentele de diferențiere ex vivo ale celulelor Treg din celule CD4+FOXP3- obținute din splina șoarecilor, după 5 zile de cultură, utilizând citometria de flux.

## 3. Obținerea exosomilor din celulele Treg

După extinderea celulelor Treg pe plăci de cultură timp de 5 zile în mediu complet fără ser, exosomii au fost izolați din supernatant utilizând kitul ExoQuick-TC (System Bio Sciences,

SUA). Optimizările au indicat că timpul optim de incubare pentru producerea exosomilor a fost de 12 ore. Concentrația exosomilor a fost determinată cu kitul ExoCet, cu o medie de  $74,04 \times 10^7$  exosomi/ml.

#### 4. Caracterizarea exosomilor

Exosomii au fost analizați morfologic utilizând microscopie electronică cu scanare (SEM, Zeiss GEMINI 500). Rezultatele arată dimensiuni caracteristice nanoparticulelor (aproximativ 100 nm), detaliate în figura 3a și figura 3b, care prezintă imagini ale exosomilor produși din celulele Treg izolate din splină și ganglioni limfatici. Dimensiunile particulelor au fost confirmate suplimentar prin analiza de urmărire a nanoparticulelor (NTA). Expresia markerilor de suprafață specifici CD63, CD9 și CD81 a fost determinată prin citometrie de flux (figura 4).

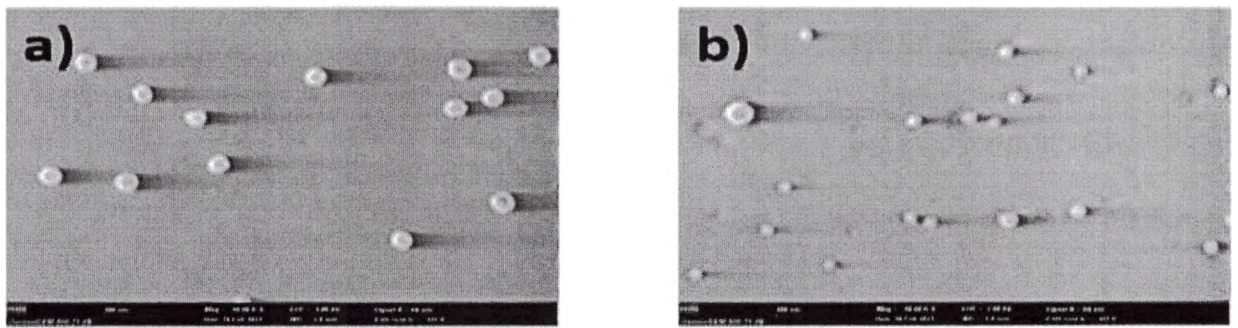


Figura 3. a) Dimensiunea exosomilor Treg produși din celulele splinei de șoarece analizată prin SEM. b) Dimensiunea exosomilor Treg produși din celulele ganglionilor limfatici de șoarece analizată prin SEM (bara de scală 200 nm)

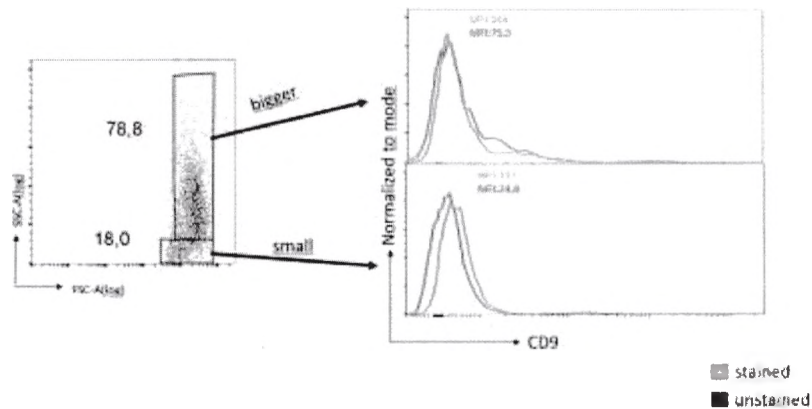


Figure 4.a) Rezultatul expresiei CD9 prin citometrie de flux.

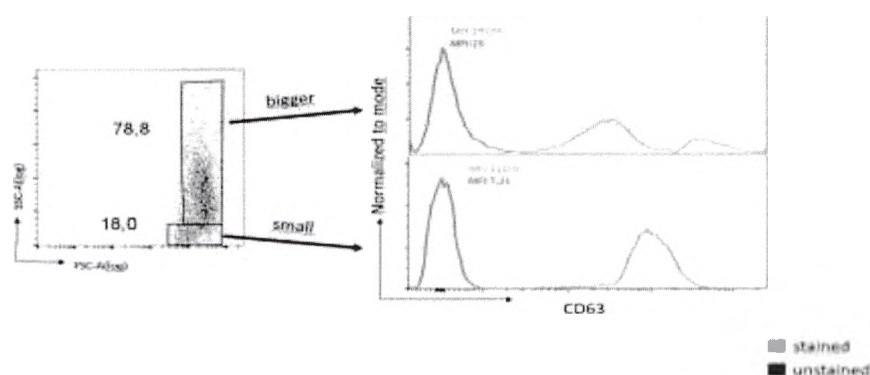


Figure 4.b) Rezultatul expresiei CD63 prin citometrie de flux.

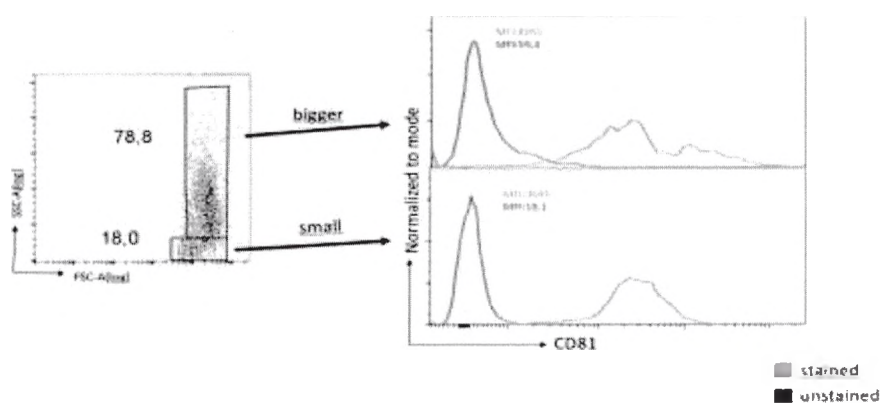


Figure 4.c) Rezultatul expresiei CD81 prin citometrie de flux.

## II. Evaluarea eficacității terapeutice și profilactice a exosomilor pe modele de scleroza multiplă și psoriazis

### 1. Eficacitatea în scleroza multiplă (model EAE)

Modelul experimental de encefalomielită autoimună experimentală (EAE), un model murin pentru scleroza multiplă, a fost indus utilizând peptide MOG35-55 și adjuvant CFA completat cu Mycobacterium tuberculosis. Exosomii derivați din celulele Treg au fost administrați în regim profilactic (zilele 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, și 21) și terapeutic (zilele 12, 15, 18, și 21).

#### Rezultatele clinice și histologice

Progresia bolii a fost monitorizată zilnic utilizând un scor clinic standardizat. Datele au arătat o reducere semnificativă a severității bolii în grupul profilactic comparativ cu grupul de control (EAE netratat), conform figurii 5, care evidențiază diferențele în scorurile bolii între grupurile tratate și netratate.



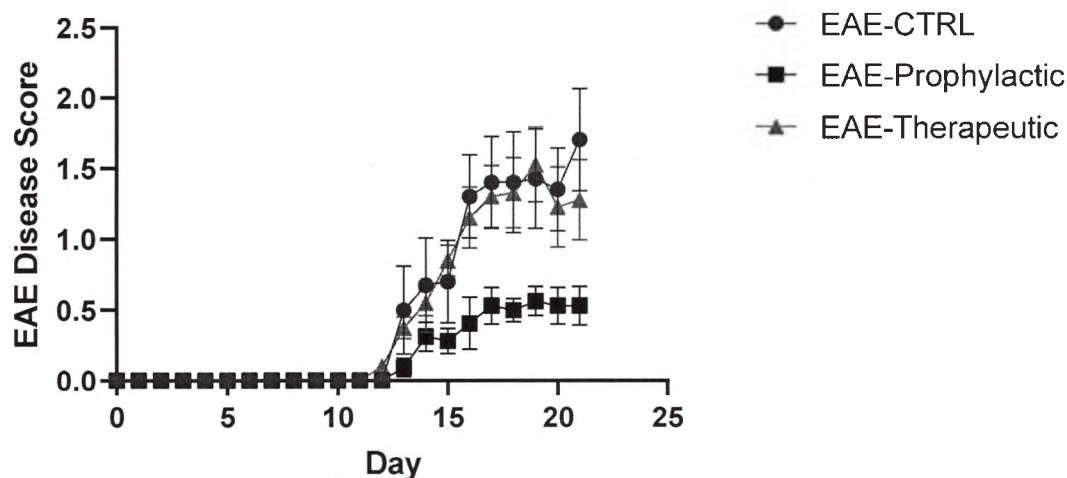


Figura 5. Reducerea semnificativă a scorurilor bolii în grupul profilactic comparativ cu grupul de control (EAE), fără efecte notabile în grupul terapeutic.

Histologia măduvei spinării a fost efectuată utilizând colorația Luxol Fast Blue, pentru a evidenția zonele de demielinizare. Rezultatele histologice, prezentate în fig. 6, demonstrează o reducere semnificativă a demielinizării în grupul tratat profilactic cu exosomi, comparativ cu grupul de control, unde demielinizarea a fost severă.

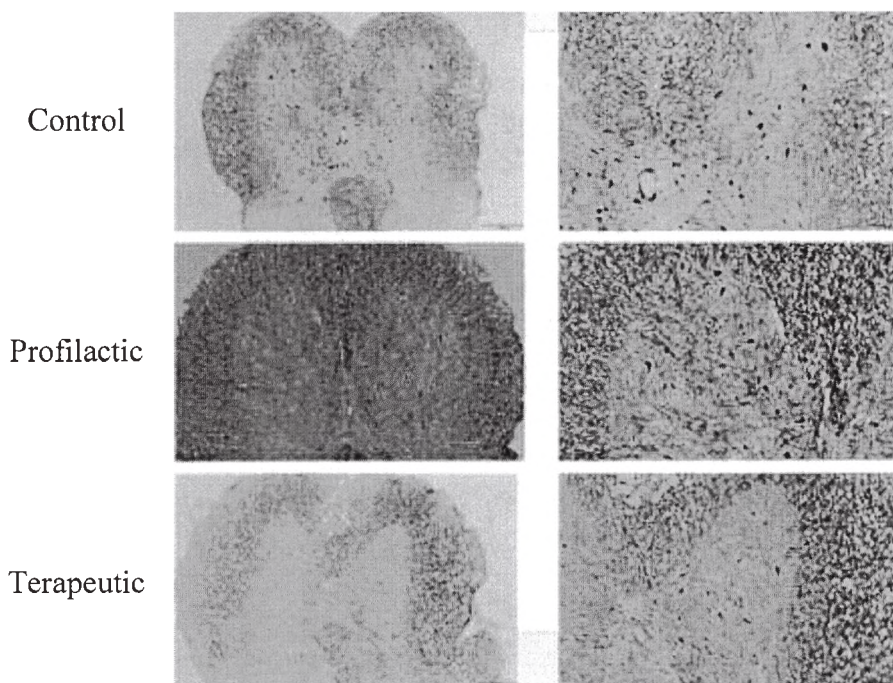


Figura 6. Secțiuni ale măduvei spinării la animalele din loturile experimentale.

#### Evaluări imunologice

Limfocitele izolate din SNC (creier și măduva spinării) au fost analizate prin citometrie de flux. Creșterea proporției de celule Treg și reducerea limfocitelor pro-inflamatorii în grupurile tratate

indică eficiența imunomodulatoare a exosomilor. Rezultatele detaliate sunt prezentate în figura 7, unde sunt ilustrate frecvențele celulelor imune din SNC.

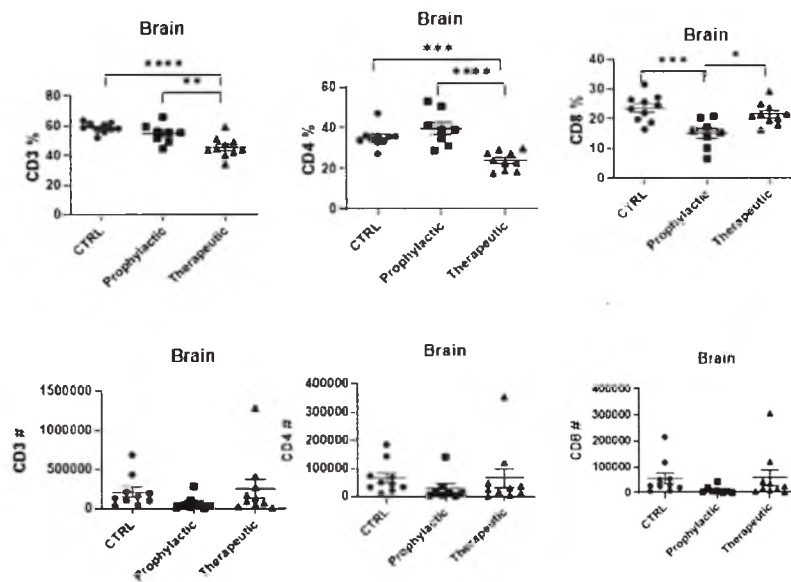


Figura 7. Celulele T CD3/CD4/CD8 în SNC.

Tratamentul profilactic și terapeutic a redus semnificativ procentul de celule CD4+ producătoare de citokine inflamatorii precum IFN- $\gamma$ , IL-6 și IL-17 (fig. 8). În același timp, s-a observat o creștere a procentului de celule CD4+ producătoare de IL-2 și IL-22, citochine antiinflamatoare. Atât lotul profilactic, cât și cel terapeutic, demonstrează reducerea citokinelor inflamatorii (IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-17) și creșterea celor antiinflamatoare (IL-2, IL-22), cu un efect mai pronunțat în grupul profilactic, sugerând eficiența administrării timpurii a exosomilor.

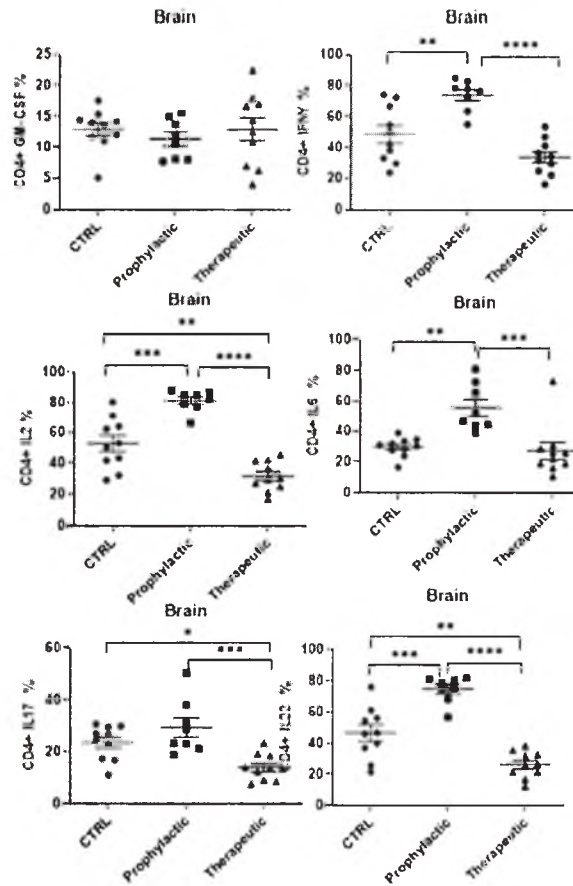


Figura 8. Cantitatea de citokine produse de celulele CD4+ din SNC.

## 2. Eficacitatea în psoriazis

Modelul de psoriazis a fost indus prin aplicarea topică de cremă Aldara (5% imiquimod) pe o zonă delimitată de 2x2 cm de pe spatele șoarecilor timp de șapte zile. Exosomii au fost administrați prin aplicare topică și injecții intradermice în regim zilnic. S-a determinat că exosomii derivați din celulele T-reg expandate policonal au potențial în modelele preclinice de psoriazis murin și au micșorat indicii clinici, moleculari, histologici și imunologici ai bolii:

Evaluarea severității leziunilor cutanate s-a realizat utilizând indicele PASI (Psoriasis Area and Severity Index), care cuantifică eritemul, descuamarea și indurația pielii. Conform figurii 9, tratamentele cu exosomi (topice și intradermice) au redus semnificativ scorurile PASI, comparativ cu grupul netratat.

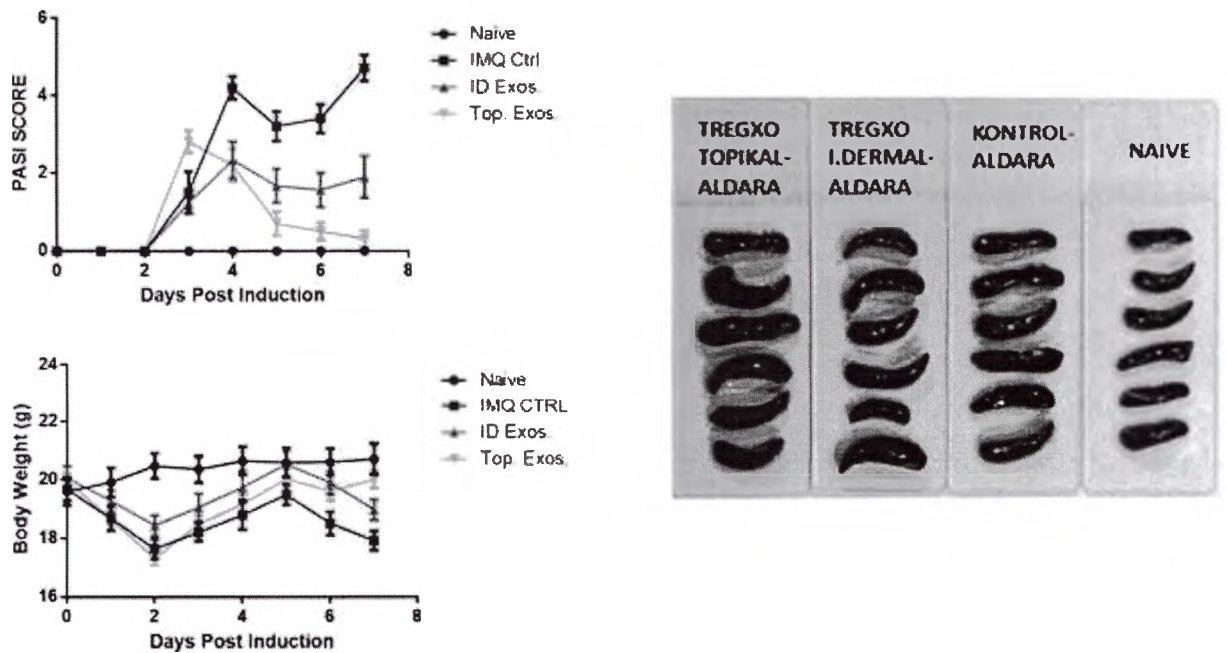


Figura 9. Administrarea exosomilor a determinat scoruri mai mici ai PASI și a dimensiunilor splinei comparativ cu lotul control.

Secțiunile de piele au fost examinate histologic utilizând colorația hematoxin-eozină (H&E). Rezultatele sunt prezentate în figura 10, care evidențiază reducerea grosimii epidermale, absența microabcsele Munro și îmbunătățirea generală a arhitecturii pielii în grupurile tratate cu exosomi.

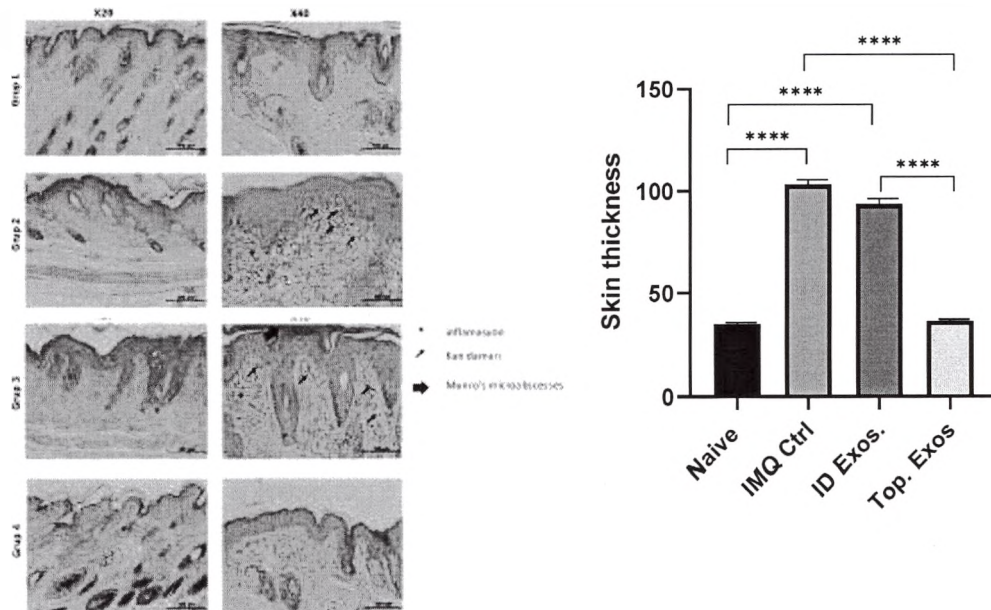


Figura 10. Histologic s-a determinat o severitate scăzută a psoriazisului la animalele tratate cu exosomi.

La nivel sistemic, administrarea exosomilor a determinat o reducere semnificativă a citokinelor proinflamatorii din ser, precum IL-6, IL-17A și IL-17F, asociate cu progresia inflamației. În paralel, nivelurile de citokine reparatoare, cum ar fi IL-22, au fost crescute, indicând un efect protector și de refacere a homeostaziei.

În ganglionii limfatici, s-a observat o reducere a activării celulelor T convenționale CD4+ și CD8+, sugerând că exosomii modulează răspunsul inflamator prin suprimarea activării limfocitelor T. În același timp, exosomii au crescut proporția celulelor Treg, marcate prin FOXP3, și au redus expresia CD25 pe celulele T convenționale, indicând o reglare a echilibrului între celulele proinflamatorii și cele reglatoare.

În piele, exosomii au redus nivelurile citokinelor proinflamatorii IL-6, IL-17A și IL-17F, concomitent cu creșterea nivelurilor de IL-22 și IL-13, citokine asociate cu regenerarea tisulară și efectele antiinflamatorii. Analiza expresiei genelor a confirmat aceste observații, evidențiind o reducere a expresiei genelor proinflamatorii precum TNF- $\alpha$ , IL-23 și IL-1 $\beta$  și o creștere a genelor asociate toleranței imune, cum ar fi IL-35, IL-10 și FOXP3.

Astfel, utilizarea exosomilor a demonstrat un efect imunomodulator complex, prin reducerea inflamației sistemice și locale, promovarea unui răspuns imun reglator și susținerea regenerării tisulare. Aceste rezultate evidențiază potențialul exosomilor ca tratament inovator în afecțiuni autoimune, precum psoriazisul.

### III. Analiza modificărilor microbiotei

Probele intestinale și cutanate au fost colectate de la șoarecii din grupurile tratate și de control pentru a evalua impactul terapiei cu exosomi asupra compoziției microbiotei în modelul murin de psoriazis. Secvențierea shotgun a probelor pentru analiza metagenomică este în desfășurare, iar cercetările continuă pentru a determina eficacitatea terapiei.

## 6. Diseminarea rezultatelor la foruri științifice (obligatoriu)

Pe parcursul implementării proiectului, echipa de cercetare a planificat participarea la foruri științifice pentru a disemina rezultatele obținute. Cu toate acestea, participarea a fost limitată din cauza constrângerilor financiare. Bugetul proiectului nu a permis acoperirea costurilor de călătorie și participare la conferințe internaționale, resursele financiare alocate fiind prioritizate pentru achiziția de materiale și reactivi necesari experimentelor complexe.

Expoziția Internațională de Inovare și Transfer Tehnologic EXCELLENT IDEA – 2023. 19-21 septembrie 2023, Chișinău. HEYDARI, Z., PESHKOVA, M., GONEN, Z.B., CORETCHI, I., EKEN, A., YAY, A.H., DOGAN, M.E., GOKCE, N., AKALIN, H., KOSHELEVA, N., GALEA-ABDUSA, D., ULNICI, M., VOROJBIT, V., SHPICHKA, A., GROPPA, S., VOSOUGH, M., TODIRAS, M., BUTNARU, D., OZKUL, Y., TIMASHEV, P. EVs vs. EVs: MSCs and Tregs as a source of invisible possibilities (*poster, medalie de argint*)

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

Rezultatele obținute în cadrul proiectului au un impact semnificativ în domeniul științific, social și economic, elucidând potențialul utilizării exosomilor derivați din celule T reglatoare (Treg) în tratamentul unor afecțiuni autoimune. Cercetările au evidențiat eficacitatea exosomilor în reducerea inflamației și ameliorarea simptomatologiei în modele experimentale de scleroză multiplă și psoriazis, confirmând capacitatea lor de a modula răspunsul imunologic cu scăderea infiltrării celulelor pro-inflamatorii și creșterea proporției de celule Treg. Rezultatele sunt fundamentate de date solide obținute prin tehnici avansate de citometrie de flux, microscopie electronică și analize moleculare, contribuind astfel la extinderea cunoștințelor în domeniul utilizării terapeutice a exosomilor.

Din perspectivă socială, rezultatele obținute în cadrul proiectului au un potențial considerabil de a îmbunătăți calitatea vieții pacienților prin introducerea, după desfășurarea studiilor clinice respective, a unor tratamente noi mai sigure și mai eficiente pentru unele afecțiuni autoimune. În același timp, a oferit oportunități valoroase pentru formarea de specialiști, instruind tineri cercetători în metode de cercetare biomedicală avansată. La nivel economic, implementarea clinică a exosomilor ar putea reduce costurile asociate tratamentelor tradiționale și ar sprijini dezvoltarea infrastructurii de cercetare biomedicală din Republica Moldova. Metodele de cercetare dezvoltate în cadrul proiectului creează premise pentru extinderea colaborărilor internaționale și atragerea de noi finanțări. Acest proiect nu doar că a produs rezultate științifice importante, dar a și stabilit o bază solidă pentru cercetări viitoare, contribuind astfel la creșterea vizibilității Republicii Moldova în cadrul cercetării medicale internaționale.

**8. Colaborare la nivel național în cadrul implementării proiectului (opțional)**

**9. Colaborare la nivel internațional în cadrul implementării proiectului (opțional)**

Implementarea proiectului s-a bazat pe o colaborare internațională strânsă între echipa din Republica Moldova, partenerii din Turcia și, până la declanșarea războiului în Ucraina, cu partenerii din Federația Rusă. Această colaborare a fost esențială pentru desfășurarea activităților experimentale complexe și a contribuit semnificativ la succesul proiectului.

Laboratorul GENKOK de la Universitatea Erciyes din Turcia a furnizat expertiză avansată și acces la echipamente de ultimă generație, precum sortatorul FACS Aria III, microscopul electronic cu scanare (SEM) și sistemele pentru analiza nanoparticulelor (NTA). În acest centru s-au desfășurat activități cheie, inclusiv izolarea și caracterizarea exosomilor derivați din celule Treg și evaluarea lor în modele murine de scleroză multiplă și psoriazis. Colaborarea cu GENKOK a permis optimizarea protocoalelor experimentale și obținerea unor rezultate de înaltă calitate.

Echipa din Republica Moldova a adus o contribuție semnificativă prin expertiza sa în imunologie și cercetare preclinică, coordonând activitățile și sintetizând rezultatele obținute. Prin această colaborare, echipa locală a avut oportunitatea de a participa la schimburi de experiență și tehnologie, consolidând astfel capacitățile naționale de cercetare.

**10. Dificultățile în realizarea proiectului:** financiare, organizatorice, legate de resursele umane etc. (opțional)

Pe parcursul implementării proiectului, echipa din Republica Moldova s-a confruntat cu o serie de dificultăți care au influențat desfășurarea optimă a activităților planificate. Principalele provocări au fost legate de resursele financiare limitate, efectele pandemiei de COVID-19 și a catastrofelor naturale din Turcia, impactul conflictului din Ucraina și dificultățile specifice procesului de achiziții pentru cercetare în Republica Moldova.

**11. Recomandări, propuneri** (opțional).

Pe baza experienței acumulate în implementarea proiectului și a provocărilor întâmpinate, se formulează următoarele recomandări și propuneri pentru îmbunătățirea eficienței cercetărilor viitoare:

Creșterea alocărilor financiare pentru cercetare – este necesar să se asigure un buget adecvat pentru proiectele de cercetare, în special pentru echipele din țările cu resurse limitate, cum este Republica Moldova. Fondurile suplimentare ar facilita achiziția de materiale și echipamente de calitate și ar sprijini participarea la evenimente internaționale pentru diseminarea rezultatelor.

Simplificarea procesului de achiziții – se recomandă optimizarea procesului de achiziții publice pentru cercetare în Republica Moldova. Proceduri mai rapide și mai eficiente, cu reducerea birocrăției și eliminarea dependenței de intermediari, ar îmbunătăți semnificativ ritmul și calitatea implementării proiectelor.

Crearea unor mecanisme de urgență pentru continuitatea proiectelor – se propune elaborarea unor strategii de gestionare a crizelor în cadrul proiectelor de cercetare, pentru a atenua impactul unor situații precum pandemii, conflicte armate sau dificultăți logistice.

Conducătorul de proiect COREȚCHI Ianoș 

Data: 09/12/2024

L.S.



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

**Prophylactic and therapeutic use of regulatory T cell derived exosomes in murine models of  
multiple sclerosis and psoriasis**

**4. Articole în reviste științifice**

4.1. în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS (cu indicarea factorului de impact IF)

HEYDARI, Z., PESHKOVA, M., GONEN, Z.B. *et al.* EVs vs. EVs: MSCs and Tregs as a source of invisible possibilities. *J Mol Med* **101**, 51–63 (2023). <https://doi.org/10.1007/s00109-022-02276-2>. (IF 4.8)

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

CORETCHI, I., GALEA-ABDUSA, D., TODIRAS, M., VOROJBIT, V., ULINICI, M. (2023). *Procedure for stimulation, isolation, and characterization of antigen-specific T-reg cells derived exosomes.* Implemented at the Genome and Stem Cell Center (GENKOK), Erciyes University, within the ERA-NET project "Prophylactic and Therapeutic Use of Regulatory T Cell Derived Exosomes in Murine Models of Multiple Sclerosis and Psoriasis". Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, Chișinău, Moldova. (*act de implementare*)



**Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect**

Proiectul „Prophylactic and Therapeutic Use of Regulatory T Cell Derived Exosomes in Murine Models of Multiple Sclerosis and Psoriasis” a avut drept scop evaluarea potențialului terapeutic al exosomilor derivați din celule Treg în două modele murine distincte de boli autoimune: scleroza multiplă și psoriazisul. În cadrul activităților desfășurate, celulele Treg au fost izolate din ganglionii limfatici și splina șoarecilor raportori Foxp3YFP, utilizând tehnici avansate de sortare celulară prin FACS. Exosomii derivați din aceste celule au fost izolați și caracterizați utilizând microscopie electronică cu scanare (SEM), analiză de urmărire a nanoparticulelor (NTA) și citometrie de flux, confirmând prezența markerilor specifici CD63, CD9 și CD81. Testarea exosomilor pe modele murine a demonstrat o eficacitate terapeutică semnificativă. În cazul sclerozei multiple, administrarea profilactică și terapeutică a exosomilor a redus demielinizarea, inflamația și severitatea simptomelor clinice, evidențiate prin histopatologie și analiza imunologică. În modelul de psoriazis, administrarea topică și intradermică a exosomilor au redus grosimea epidermică, inflamația cutanată și expresia citokinelor pro-inflamatorii, cum ar fi IL-17 și TNF- $\alpha$ . Analizele preliminare ale microbiotei intestinale și cutanate au arătat o diversificare și o îmbunătățire a compoziției microbiotei la șoarecii tratați cu exosomi. Rezultatele proiectului au fost prezentate în cadrul unui eveniment științific, a fost publicat un articol cu IF 4.8, iar două articole sunt în curs de pregătire pentru publicare. Proiectul a contribuit la dezvoltarea implementarea unor metode noi de cercetare și transferul de cunoștințe în domeniul tratamentelor inovatoare pentru bolile autoimune, promovând colaborarea internațională. Rezultatele obținute oferă o bază solidă pentru continuarea cercetărilor și, potențial, desfășurarea studiilor clinice cu utilizarea exosomilor în tratamentul bolilor autoimune.

The project “Prophylactic and Therapeutic Use of Regulatory T Cell Derived Exosomes in Murine Models of Multiple Sclerosis and Psoriasis” aimed to evaluate the therapeutic potential of exosomes derived from Treg cells in two distinct murine models of autoimmune diseases: multiple sclerosis and psoriasis. During the activities carried out, Treg cells were isolated from the lymph nodes and spleens of Foxp3YFP reporter mice using advanced cell sorting techniques with FACS. Exosomes derived from these cells were isolated and characterized using scanning electron microscopy (SEM), nanoparticle tracking analysis (NTA), and flow cytometry, confirming the presence of specific markers such as CD63, CD9, and CD81. Testing the exosomes in murine models demonstrated significant therapeutic efficacy. In the case of multiple sclerosis, prophylactic and therapeutic administration of exosomes reduced demyelination, inflammation, and the severity of clinical symptoms, as evidenced by histopathology and immunological analysis. In the psoriasis model, topical and intradermal administration of exosomes reduced epidermal thickness, cutaneous inflammation, and the expression of pro-inflammatory cytokines such as IL-17 and TNF- $\alpha$ . Preliminary analyses of intestinal and skin microbiota revealed diversification and improvement in microbiota composition in mice treated with exosomes. The project results were presented at a scientific event, one article with an

impact factor of 4.8 was published, and two articles are currently in preparation for publication. The project contributed to the development and implementation of new research methods and the transfer of knowledge in the field of innovative treatments for autoimmune diseases, fostering international collaboration. The results obtained provide a solid foundation for further research and the potential implementation of clinical studies involving the use of exosomes in the treatment of autoimmune diseases.

Conducătorul de proiect COREȚCHI Ianoș 

Data: 09.12.2024

LȘ

## Volumul total al finanțării proiectului (pe ani)

Cifrul proiectului 21.80013.8007.2M.

Anul	Finanțarea planificată (mii lei)	Finanțarea Executată (mii lei)	Cofinanțare (mii lei)
2021	325,2	314,208	-
2022	35,1	22,9	-
2023	-	-	-
2024	-	-	-
<b>Total</b>	<b>360,3</b>	<b>337,108</b>	

Rector

CEBAN Emil

Economist șef

LUPAȘCO Svetlana

Conducătorul de proiect

COREȚCHI Ianoș

Data: 09.12.2024

LȘ

## Componența echipei conform contractului de finanțare

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 remunerare	-	-
2.	Todiraș Mihail	1966	Dr.hab.șt.med	Fără remunerare	-	-
3.	Vorojbit Valentina	1964	Dr.șt.med.	Fără remunerare	-	-
4.	Galea-Abdușa Daniela	1988	Dr.șt.biol.	Fără remunerare	-	-
5.	Ulinici Mariana	1987	-	Fără remunerare	-	-
6.	Toma Alina	1992	-	Fără remunerare	-	-
7.	Malcova Tatiana	1992	-	Fără remunerare	-	-

Modificări în componența echipei pe parcursul proiectului					
Nr	Nume, prenume	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării
1.					

Rector

CEBAN Emil

Economist șef

LUPAȘCO Svetlana

Conducătorul de proiect

COREȚCHI Ianoș

Data: 09.12.2024

LȘ



**EXTRAS DIN DECIZIE**

**09.12.2024**

**nr. 8/1i**

Cu privire la aprobarea rapoartelor anuale (etapa 2024) și finale de implementare a proiectelor multilaterale, din cadrul apelului ERA.Net RUS Plus 2019 pentru perioada 2021-2024

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 a proiectelor din cadrul apelului ERA.Net RUS Plus 2019 pentru perioada 2021-2024, Consiliul științific

**A DECIS:**

1. A lua act de informația prezentată.
2. A aviza pozitiv raportul științific anual (etapa 2024) și final de implementare a proiectului multilateral din cadrul apelului ERA.Net RUS Plus 2019 pentru perioada 2021-2024 „*Prophylactic and Therapeutic Use of Regulatory T Cell Derived Exosomes in Murine Models of Multiple Sclerosis and Psoriasis*”, cifrul 21.80013.8007.2M, conducător de proiect dl Ianoș Corețchi, dr. șt. med., conferențiar universitar.
3. A prezenta raportul științific anual (etapa 2024) și final de implementare a proiectului multilateral din cadrul apelului ERA.Net RUS Plus 2019 pentru perioada 2021-2024 „*Prophylactic and Therapeutic Use of Regulatory T Cell Derived Exosomes in Murine Models of Multiple Sclerosis and Psoriasis*”, cifrul 21.80013.8007.2M, conducător de proiect dl Ianoș Corețchi, dr. șt. med., conferențiar universitar, Agenției Naționale pentru Cercetare și Dezvoltare.

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

Diana Calaraș



USMF „Nicolae Testemițanu” confirmă  
Semnătura Diana Calaraș  
Departament Resurse Umane Calaraș