

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova



PUBLIC INSTITUTION

NICOLAE TESTEMITANU STATE UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

METODĂ DE DEGRESARE A OASELOR DEMINERALIZATE

METHOD OF DEGREASING DEMINERALISED BONES

Nr. 2655 /2025

Authors:

COBZAC Vitalie, JIAN Mariana, NACU Viorel, GORECKI Gabriel-Petre, SOLOMON Oleg, CHELE Dumitru

The invention relates to regenerative medicine and tissue engineering and can be applied in the medical field, aiming at the rapid degreasing of demineralized bones intended for transplantation. The advantages of the method include the use of small volumes of reagents, with the possibility of their reuse, a significant reduction in the duration of bone degreasing, and, overall a shorter processing time. As a result, the risk of microbial contamination of the obtained grafts is also considerably reduced.

The method involves the sequential use of 70–96% ethanol solutions and a 3% hydrogen peroxide solution, preheated to 37–42°C. Degreasing is carried out under constant temperature conditions using a magnetic or orbital shaker, until no more fat is released from the bone.

The outcome consists in reducing the costs associated with large volumes of reagents and the time required for degreasing at room temperature, while preserving the integrity of the bone collagen structure, as well as the high concentration of cell adhesion proteins and growth factors.

The innovation was developed under project 24.80012.8007.02TC, supported by NARD.

Invenția se referă la medicina regenerativă și ingineria tisulară și poate fi utilizată în domeniul medical, având ca scop degresarea rapidă a oaselor demineralizate destinate transplantării. Avantajele metodei includ utilizarea unor volume mici de reactivi, cu posibilitatea reutilizării acestora, reducerea considerabilă a duratei de degresare a oaselor demineralizate și, în general, a timpului de procesare. Ca urmare a acestei reduceri, scade semnificativ și riscul de contaminare microbiană a grefelor obținute.

Metoda constă în utilizarea consecutivă a soluțiilor de etanol 70–96% și a soluției de peroxid de hidrogen 3%, preîncălzite la 37–42°C. Degresarea se realizează prin agitare pe agitator magnetic sau orbital, menținând temperatura constantă până când nu se mai eliberează grăsime din os.

Rezultatul constă în reducerea costurilor asociate cu utilizarea unor volume mari de reactivi și a timpului necesar pentru degresare la temperatura camerei, menținând intactă structura collagenului osos, precum și concentrațiile ridicate ale proteinelor de adeziune celulară și ale factorilor de creștere.

Inovația a fost dezvoltată în cadrul proiectului 24.80012.8007.02TC, finanțat de ANCD.



Freshly demineralized bone, full of fat

Degreasing in 70% ethanol solution with 3% H₂O₂ at 40°C

Fat appearance during degreasing

Fat extracted from bone after applying the demineralized bone degreasing method

Address: Nicolae Testemițanu SUMPh, 165, Stefan cel Mare si Sfânt Ave., MD-2004, Chisinau, Republic of Moldova; Phone: (+373) 22 205 324; e-mail: contact@usmf.md; <https://usmf.md>

Laboratory of Tissue Engineering and Cell Cultures, phone: (+373) 69911656 e-mail: vitalie.cobzac@usmf.md



PUBLIC INSTITUTION

NICOLAE TESTEMITANU STATE UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

METODĂ DE EXTRAGERE ȘI PURIFICARE A COLAGENULUI DIN PLACENTĂ

METHOD FOR EXTRACTION AND PURIFICATION OF COLLAGEN FROM PLACENTA

Nr. 6410 /2025

COBZAC VITALIE, JIAN MARIANA, STOIAN ALINA, COJOCARI ȘTEFAN, NACU ANA-MARIA, MALCOVA TATIANA, SAMSON STELLA, NACU VIOREL

The invention relates to regenerative medicine and tissue engineering and can be used in the medical field for the purpose of extracting and purifying collagen from the placenta.

The proposed method involves obtaining high purity collagen through a sequential process of decellularization, extraction and purification. This method consists of a sequence of saline, alcohol, enzymatic and dialysis treatments to eliminate cells, impurities and non-collagenous proteins.

The advantages of the method are obtaining a larger amount of collagen by optimizing the extraction and purification steps and reducing the immunological risk after applying hydrogen peroxide to eliminate nuclear components, but also the possibility of valorizing biological waste, such as placenta and using the obtained product for the production of collagen membranes for guided regeneration in dentistry, grafts for bone regeneration in traumatology and orthopedics, hydrogels for combustiology and supports for testing in medical research.

The innovation was developed under project 25.80012.8007.05 TC, supported by NARD.

Invenția se referă la medicina regenerativă și ingineria tisulară și poate fi utilizată în domeniul medical, având ca scop extragera și purificarea collagenului din placenta.

Metoda propusă presupune obținerea collagenului de puritate înaltă printr-un proces secvențial de decelularizare, extracție și purificare. Metoda dată este alcătuită dintr-o succesiune de tratamente saline, cu alcool, enzimatice și dializă pentru eliminarea celulelor, impurităților și proteinelor necolagenice.

Avantajele metodei este obținerea unei cantități mai mare de collagen prin optimizarea etapelor de extracție și purificare și reducerea riscului imunologic după aplicarea peroxidului de hidrogen pentru eliminarea componentelor nucleare, dar și posibilitatea valorificării deșeurilor biologice, ca placenta și utilizarea produsului obținut pentru producerea de membrane colagenice pentru regenerare ghidată în stomatologie, grefe pentru regenerare osoasă în traumatologie și ortopedie, hidrogeluri pentru combustologie și suporturi pentru testări în cercetarea medicală.

Inovația a fost dezvoltată în cadrul proiectului 25.80012.8007.05 TC, finanțat de ANCD.



Fig. 1 Process of extraction and purification of collagen from placenta

Address: Nicolae Testemițanu SUMPh, 165, Stefan cel Mare si Sfânt Ave., MD-2004, Chisinau, Republic of Moldova; Phone: (+373) 22 205 324; e-mail: contact@usmf.md; <https://usmf.md>

Laboratory of Tissue Engineering and Cell Cultures, phone: (+373) 69911656 e-mail: vitalie.cobzac@usmf.md

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova



PUBLIC INSTITUTION
NICOLAE TESTEMITANU STATE UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

PLACENTA PROCESSING DEVICE
Patent application: s 2025 0010

Authors:
JIAN Mariana, SAVCA Ion, BALAN Mihail, NACU Viorel, COBZAC Vitalie, MOSTOVEI Andrei, SOLOMON Oleg

The invention relates to the medical technique, namely to a device for processing the placenta at the stage of blood removal in the process of extracting total collagen, which can be used in regenerative medicine and tissue engineering. The advantages of the device consist in creating a device that allows a wash effective of the placenta in the collagen extraction process, at the scheduled time and speed desired, avoiding the unexpected stoppage of the rotation of the material in the vessel, thus preventing distortion this one.

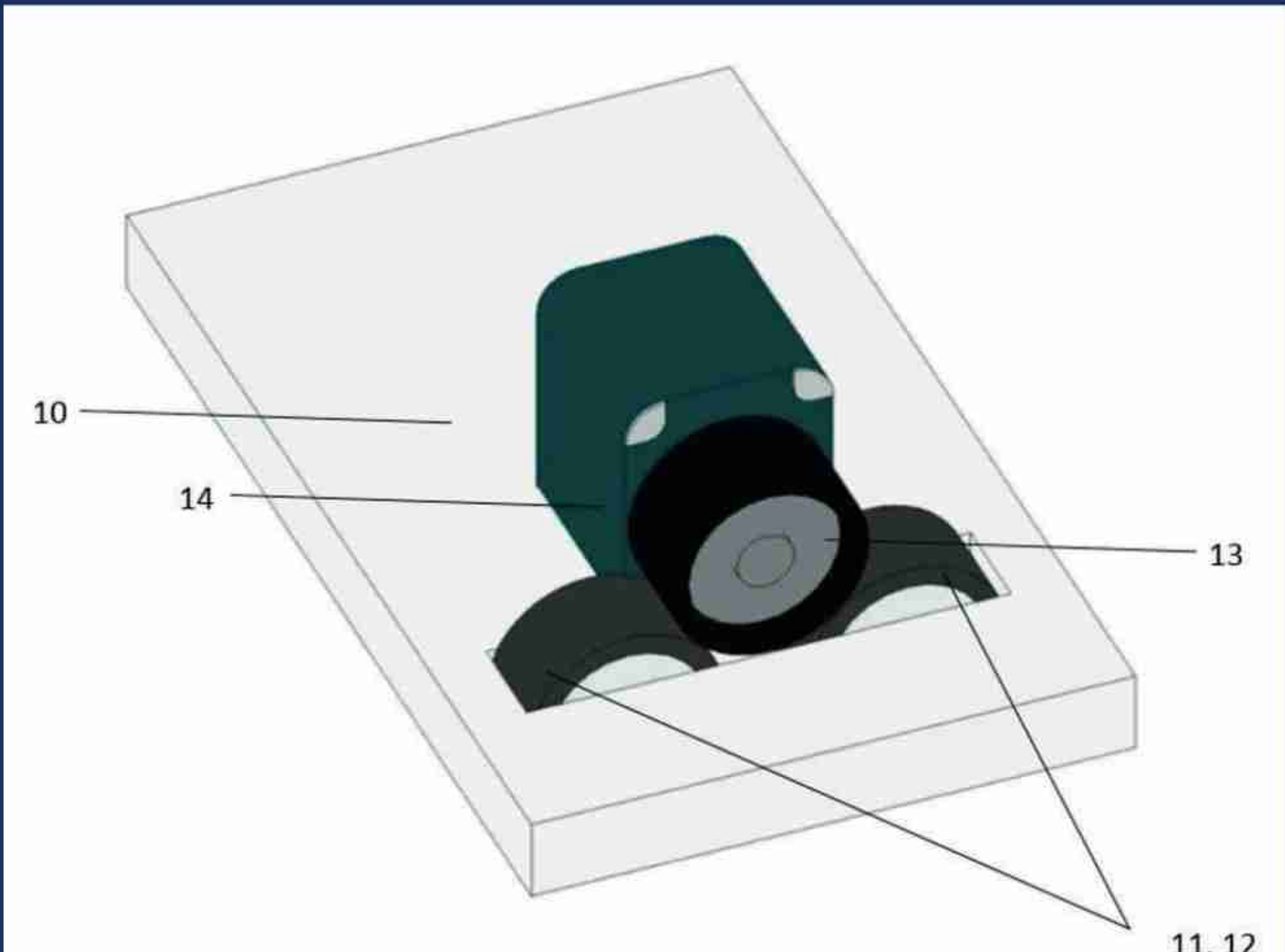
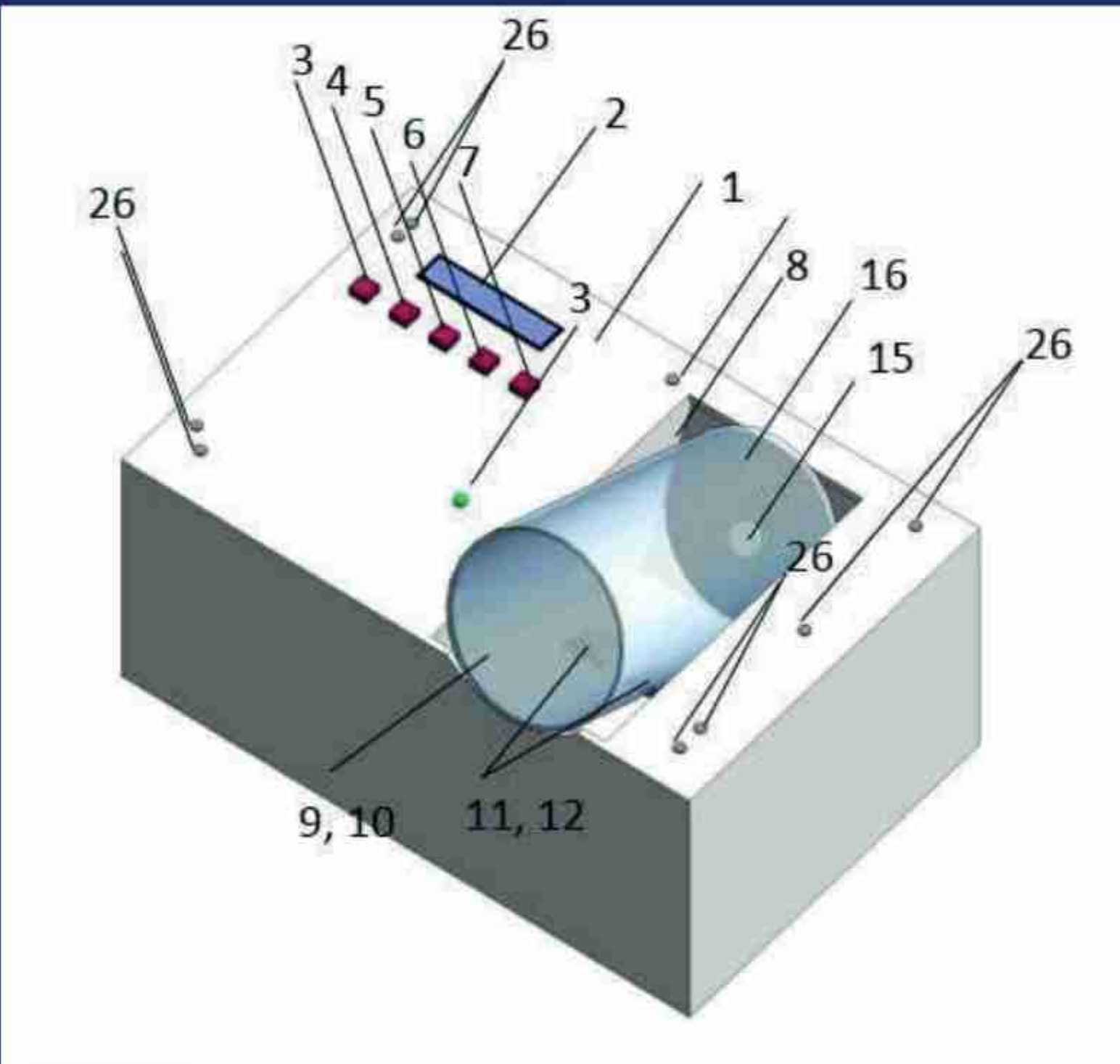
The result of the invention consists in processing the pieces of placenta and avoiding stopping of the blood washing process, namely the elaborated device allows the exact control of the number of rotations of the vessel in which the material is located and the processing time, thus it is avoided the long process of washing and denaturing the protein needed to extract it from the placenta. The device is convenient, mobile, practical, compact, portable and has a relatively low price for manufacturing.

The innovation was developed under project 23.70105.8007.01T, supported by NARD.

Invenția se referă la tehnica medicală, și anume la un dispozitiv pentru procesarea placentei în etapa de prelevare a sângelui în procesul de extragere a collagenului total, care poate fi utilizat în medicina regenerativă și ingineria tisulară. Avantajele dispozitivului constau în crearea unui dispozitiv care permite o spălare eficientă a placentei în procesul de extracție a collagenului, la timpul și viteza programate dorite, evitând oprirea neașteptată a rotației materialului în vas, prevenind astfel distorsiunea acestuia.

Rezultatul invenției constă în procesarea bucăților de placenta și evitarea opririi procesului de spălare a sângelui, și anume dispozitivul elaborat permite controlul exact al numărului de rotații ale vasului în care se află materialul și al timpului de procesare, evitându-se astfel procesul îndelungat de spălare și denaturare a proteinei necesare pentru extragerea acestuia din placenta. Dispozitivul este mobil, practic, compact, portabil și are un preț relativ scăzut de fabricație.

Invenția a fost dezvoltată în cadrul proiectului 23.70105.8007.01 T, finanțat de ANCD.



Address:
"Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy, Ștefan cel Mare și Sfânt Boulevard 165, MD-2004, Chișinău, Moldova. email.: mariana.jian@usmf.md



PUBLIC INSTITUTION
NICOLAE TESTEMITANU STATE UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA



METODĂ DE DECELULARIZARE A NODULILOR LIMFATICI AVASCULARI
METHOD FOR DECELLULARIZATION OF AVASCULAR LYMPH NODES
Nr. 6408

STOIAN Alina, JIAN Mariana, COBZAC Vitalie, IACUBIȚCHII Vitalie, NACU Ana-Maria, IORDACHESCU Rodica, SAMSON Stella, VEREGA Grigore, NACU Viorel

The invention relates to the field of regenerative medicine and tissue engineering, with applications in the medical field. Its purpose is the decellularization of lymph nodes from laboratory animals in order to support the development of tissue-engineered constructs for the lymphatic system. This approach aims to contribute to the advancement of new treatment methods for secondary lymphedema. Among the advantages of the proposed method are the use of a reduced volume of reagents and a simple decellularization protocol, which can be performed and supervised by a small team.

Invenția se referă la domeniul medicinei regenerative și al ingineriei tisulare, având aplicații în sectorul medical. Scopul acesteia este decelularizarea ganglionilor limfatici proveniți de la animale de laborator, în vederea dezvoltării ingineriei tisulare al sistemul limfatic. Această abordare urmărește să contribuie la elaborarea de noi metode de tratament pentru limfedemul secundar. Printre avantajele metodei propuse se numără utilizarea unui volum redus de reactivi și un protocol de decelularizare simplu, care poate fi aplicat și supravegheat de un număr restrâns de persoane.

Astfel, metoda reprezintă o soluție inovatoare, eficientă și accesibilă, cu potențial de a deschide noi direcții de cercetare și tratament în patologia limfatică, în special în cazul limfedemului secundar.

Procedura constă în procesarea consecutivă a ganglionilor limfatici avasculari, colectați de la animale de laborator. Procesarea se realizează la temperatura camerei, cu ajutorul unui agitator oscilant, și presupune următorii pași: (i) incubare în soluție salină heparinizată (20 U/mL) – 1 oră, (ii) tratare cu 0,05% SDS – 3 zile, (iii) clătire în PBS – 2 zile, (iv) incubare cu DNază (0,1 mg/mL) – 2 ore, (v) spălare cu apă distilată (dH₂O) – 2 ore, (vi) clătire finală în PBS – 2 zile.

În urma procesului de decelularizare se obține matricea extracelulară a ganglionilor limfatici, care poate fi ulterior utilizată în experimente de recelularizare și pentru studierea formării de novo a structurilor limfatice în organismul gazdă.

Inovația a fost dezvoltată în cadrul proiectului 25.80012.8007.03 TC, finanțat de ANCD.

The innovation was developed under project 25.80012.8007.03 TC, supported by NARD.

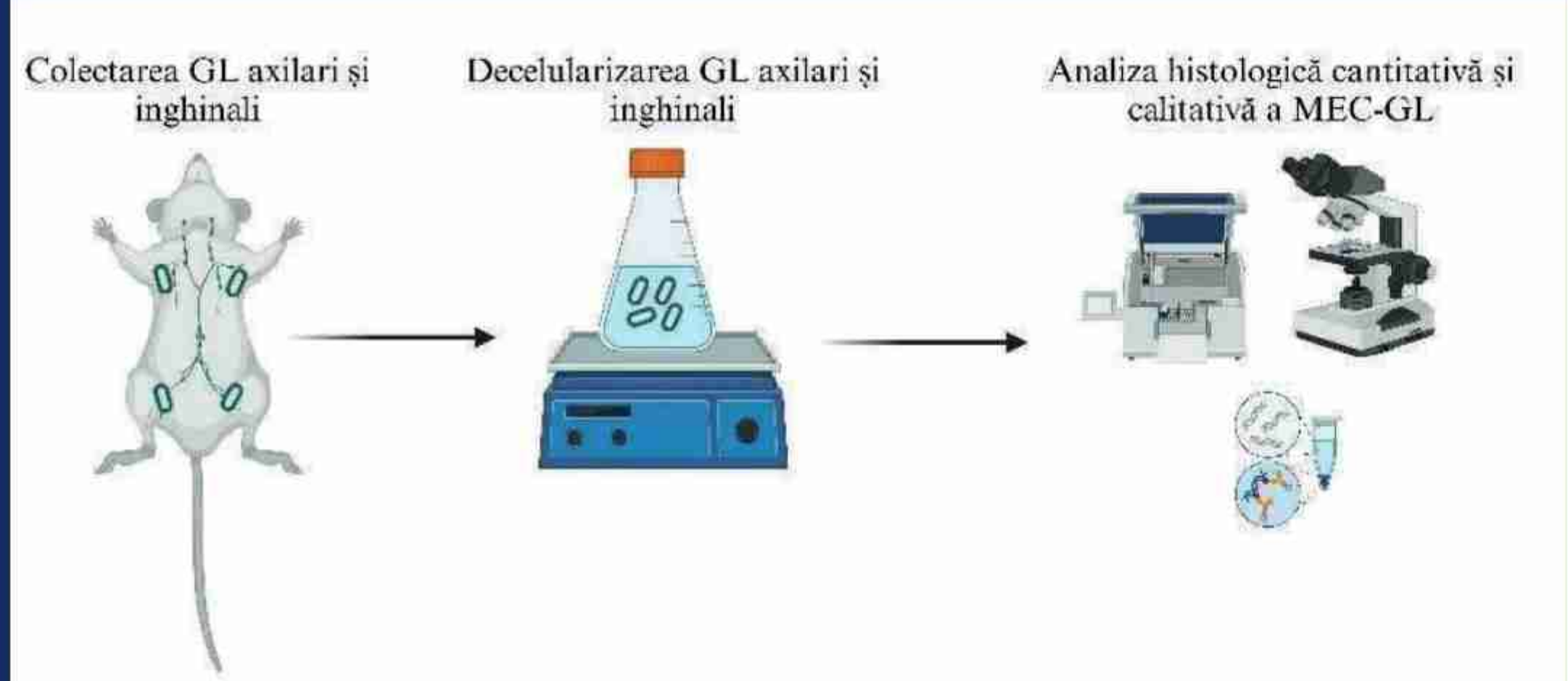
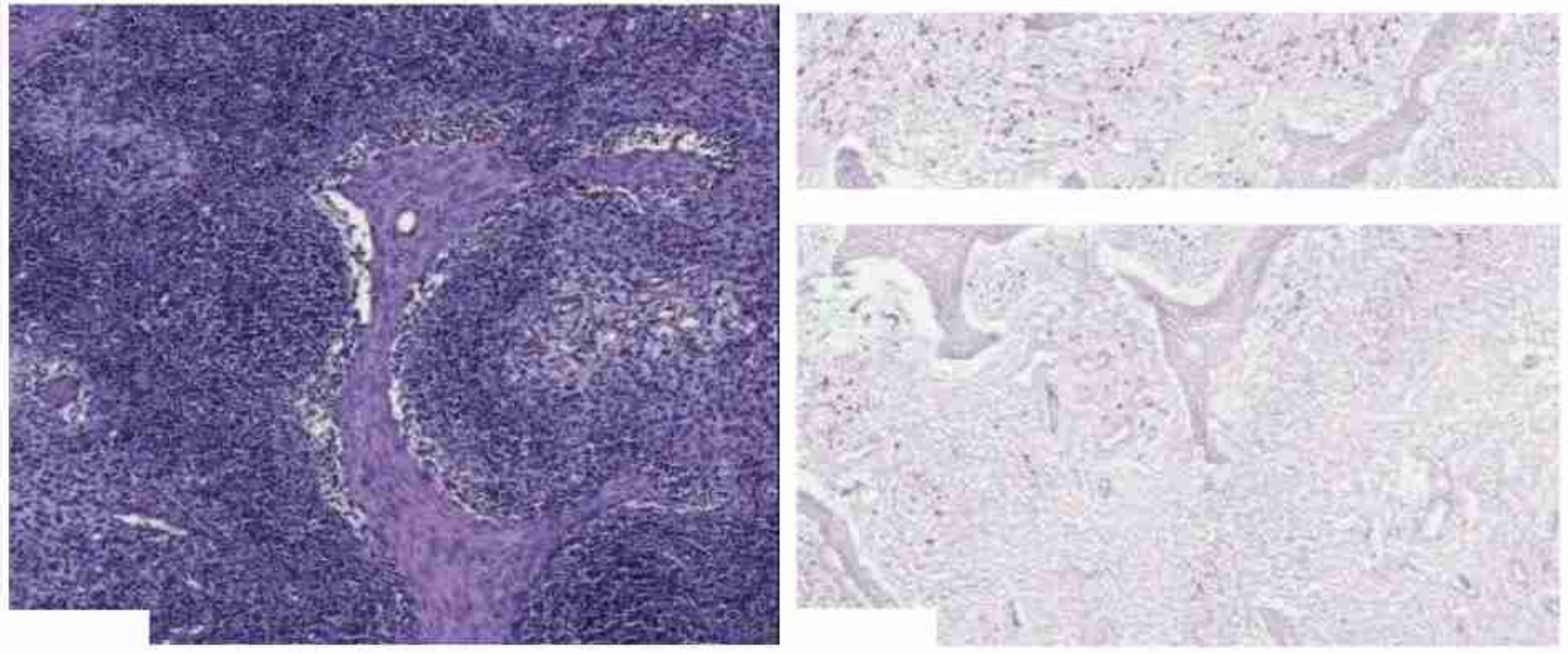


Fig. 1. Prezentare generală a propunerii



A Fig. 2. Examining histology. B is a MEC of vascularized lymphatic ganglia. Animal model. H&E staining. (A) Native GL, (B) Decellularized GL.

H&E, hematoxylin and eosin, GL, lymphatic ganglion.

Address: Nicolae Testemițanu SUMPh, 165, Ștefan cel Mare și Sfânt Ave., MD-2004, Chisinau, Republic of Moldova; Phone: (+373) 22 205 324; e-mail: contact@usmf.md, <https://usmf.md>
Laboratory of Tissue Engineering and Cell Cultures, phone: (+373) 68974524 e-mail: alina.stoian@usmf.md