



Utilizarea machine learning pentru analiza datelor de secvențiere in investigarea profilului epigenetic in bolile hematologice rare

Etapa 2

Iunie – Decembrie 2023

Dr. Adrian Bogdan Tigu

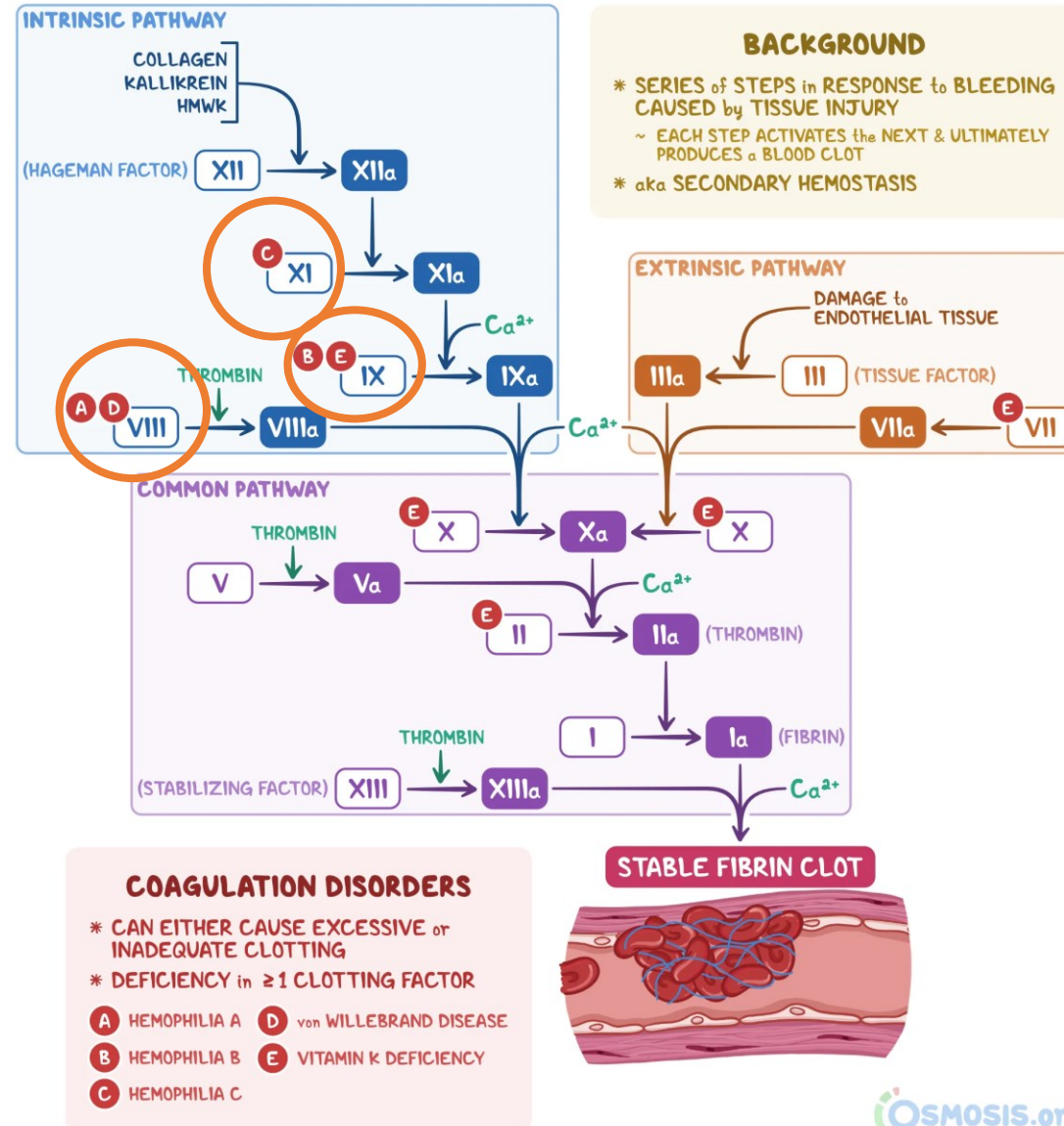
Drd. Raluca-Andrada Munteanu

Dr. Rares Drula

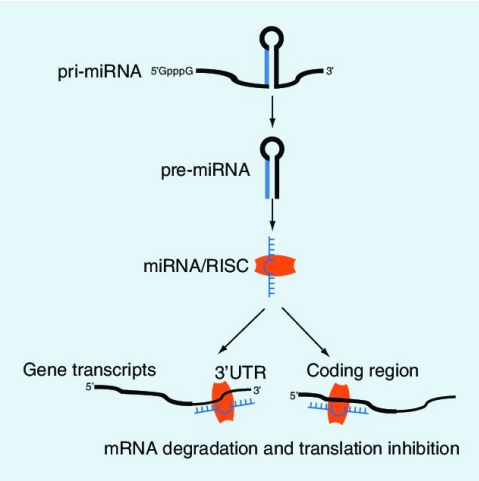
Introducere

Hemofilia dobândită este caracterizată de o concentrație redusă de factori de coagulare circulanți. Spre deosebire de hemofilia clasică, în acest caz se generează anticorpi anti factorii de coagulare. Această patologie afectează în principal vârstnicii, iar în aproape jumătate dintre cazuri există o altă boală care este responsabilă de declanșarea hemofiliei dobândite, precum alte boli autoimune: artrita reumatoidă, scleroza multiplă, lupus, sindrom Sjogren sau colită ulcerativă. De asemenea, un alt factor declanșator poate fi inflamația cauzată de infecții, hepatita, diabetul sau diferite tipuri de cancer (1-3).

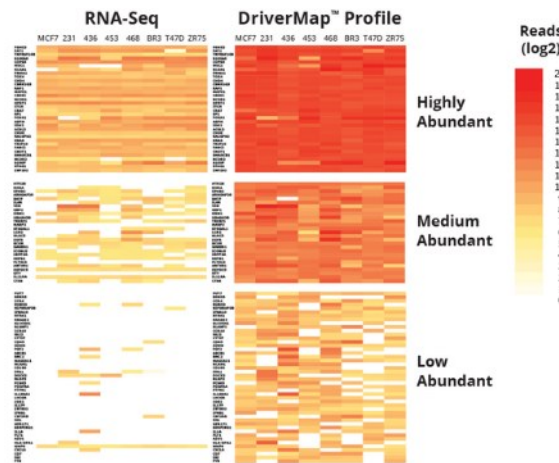
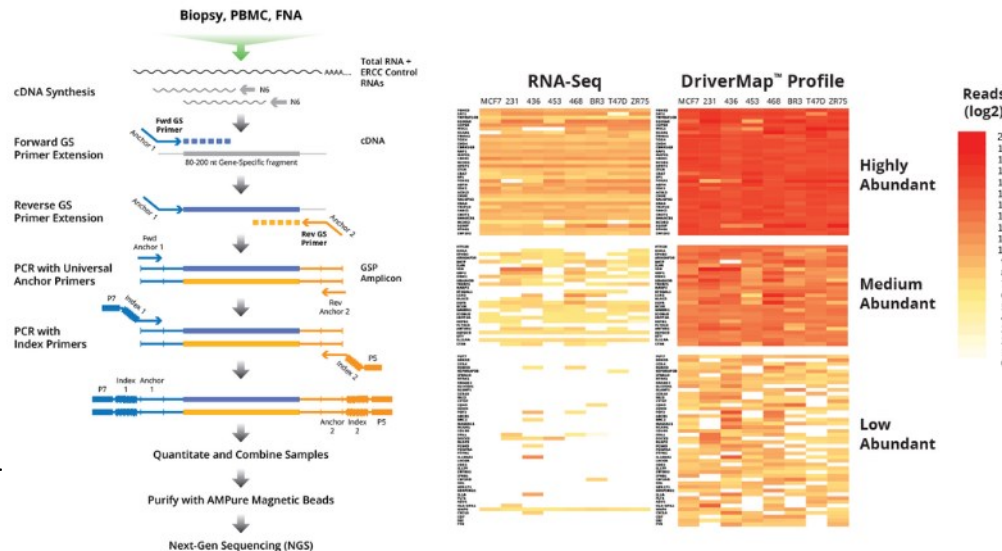
Pacienții diagnosticați cu hemofilie dobândită prezintă simptome similare cu cele ale hemofiliei A – HEM A (deficiența de **FVIII**), hemofiliei B - HEM B (deficiența de Factor **IX**) sau simptome de boală von Willenbrand – VWD, având ca principală diferență că nu este transmisă genetic – fiind boală autoimună.



Până în prezent, este cunoscut faptul că în **hemofilia dobândită** se dezvoltă spontan autoanticorpi ce țintesc FVIII și FIX, rezultând sângerări. Numeroase cazuri de hemofilie dobândită sunt confirmate clinic însă fără a investiga prezența autoanticorpilor. În toate cazurile de hemofilie dobândită, contextul genetic și transcripțional nu sunt cunoscute, astfel că în numeroase cazuri nu se cunoaște cauza agravării bolii, putând fi implicate mecanisme de reglare epigenetică, inhibări ale genelor sau blocări ale proteinelor efectoare în cascada de coagulare a sângelui (5-9).

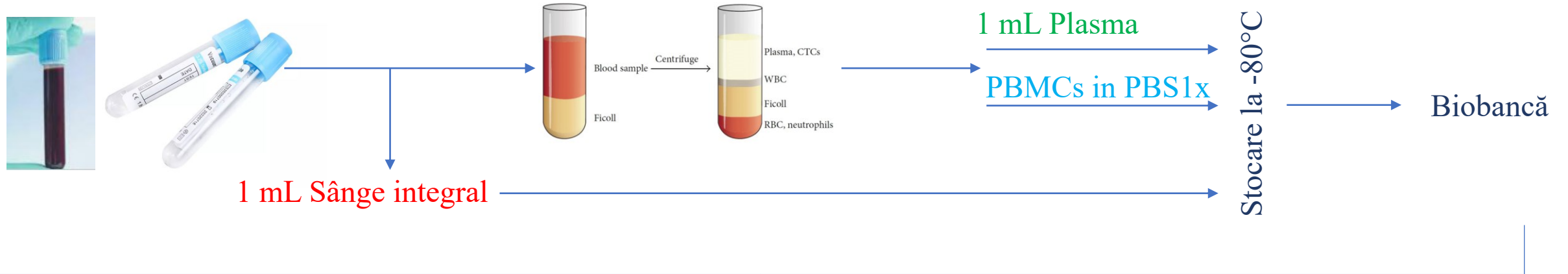


Targeted RNA Expression



Noi oportunități de dezvoltare a unor ținte pentru terapii avansate în hemofilia dobândită pot fi valorificate prin evaluarea epigenetică a cazurilor diagnosticate. Scopul studiului este să determinăm moleculele non-codificatoare de ARN, precum micro ARN-urile, care interacționează cu diverse gene codificatoare de proteine din cascada de coagulare și care inhibă exprimarea factorilor de coagulare, sau să evaluăm moleculele mici de ARN care modulează profilul imunitar, care pot stimula inflamația și pot inhiba mecanismele anti-inflamatoare (10-12).

Flux de lucru – recoltare și stocare probe



Probele se anonimizează și se vor utiliza pentru extracțiile de ARN

Extracțiile de ARN

1 mL
Sânge integral

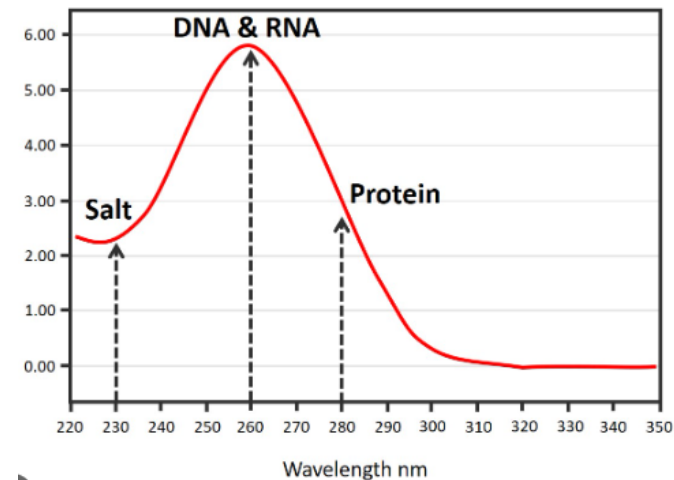


ARN



Etape:

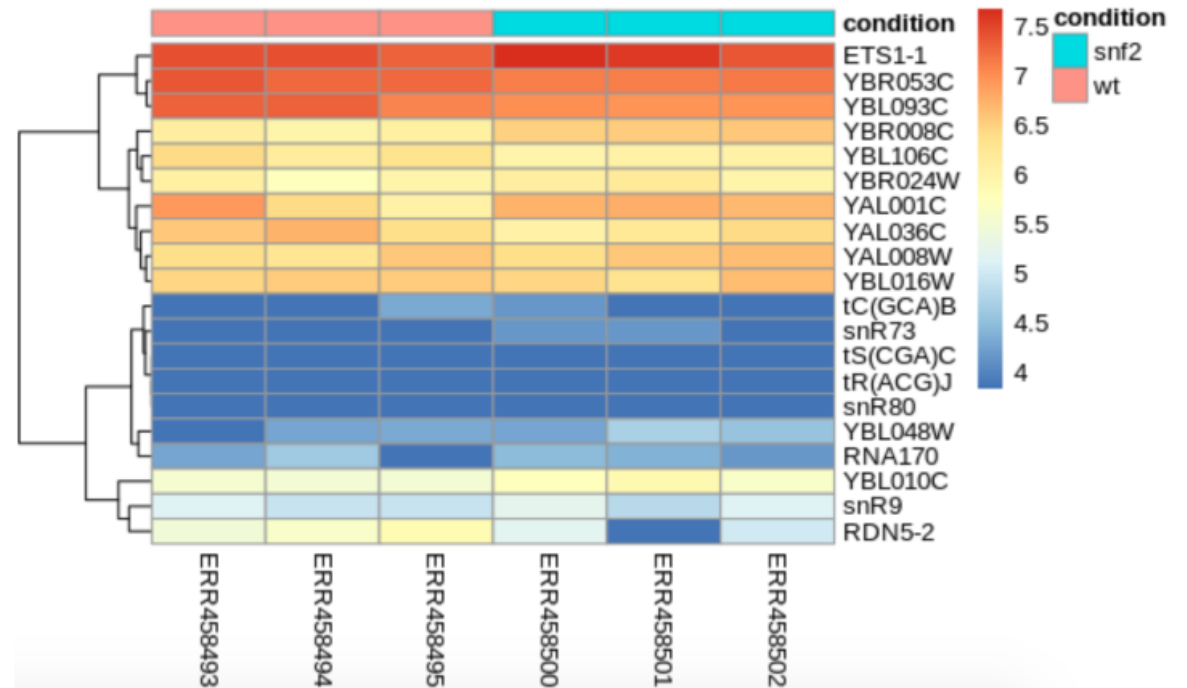
1. Sângele integral se amesteca cu un volum de soluție de liză și 1% β - mercaptoetanol (Vortexăm și centrifugăm la 12.000xg timp de 2 minute, la temperatura camerei).
2. Transferăm supernatantul într-un tub steril și adăugăm un volum de etanol pur. Vortexăm și apoi transferăm proba pe un tub cu filtru, și centrifugăm 15 secunde, la temperatura camerei, la 12.000xg
3. Adăugăm 0.7 mL de Wash Buffer 1 și centrifugăm 15 secunde, la temperatura camerei, la 12.000xg
4. Adăugăm 0.5 mL de Wash Buffer 2 și centrifugăm 15 secunde, la temperatura camerei, la 12.000xg
5. Repetăm etapa 4
6. Centrifugăm tubul cu filtru, fără să adăugăm soluții, timp de 1 minut la 12.000xg pentru a scăpa de etanol.
7. Eluăm proba de ARN în apă ultra pură și citim proba la Nanodrop.
8. Stocăm probele la -80°C



RNA sequencing

- Librariile Secventele mici de ARN vor fi generate folosind ‘TrueQuant smallRNA-Seq Kit’.
- După legarea de coloanele de silica, fragmente mici de RNA din plasma vor fi analizate. După generare cDNA și obținerea catenei secundare, se va realiza biblioteca ce se va analiza cu ajutorul ILLUMINA NextSeq 500.
- Quantificarea pentru fiecare gena mapata se va realiza cu HT-seq iar analiza diferentia la cu DESeq2. Rezultatele vor fi compilate și evaluate statistic folosind R-scripts in RStudio.

```
heatmap(assay(vsd)[genes, ], cluster_rows=TRUE, show_rownames=TRUE,  
cluster_cols=FALSE, annotation_col=annot_col)
```



Example for the analysis: <https://angus.readthedocs.io/en/2019/diff-ex-and-viz.html>



Grupuri experimentale

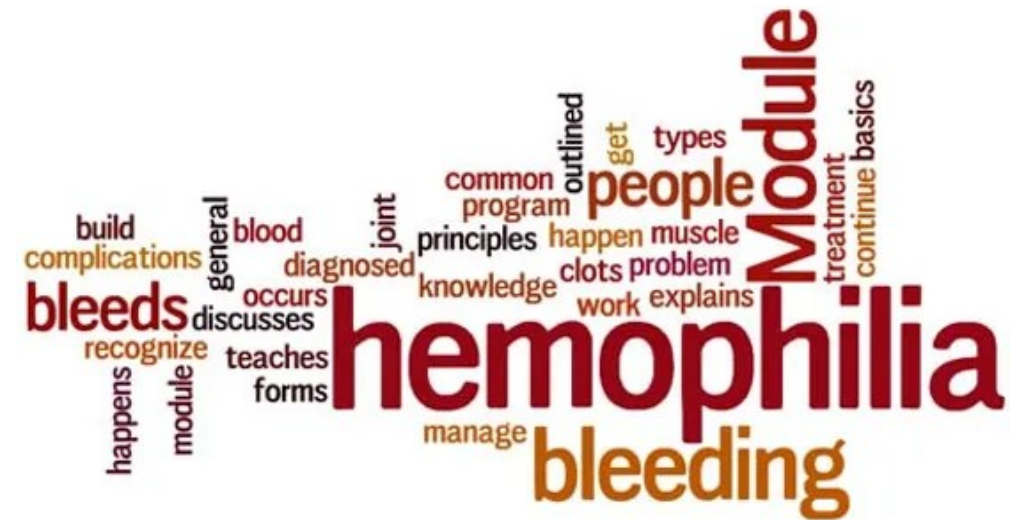
Donori sănătoși

Hemofilie dobândită

Hemofilie clasică – forma moderată

Hemofilie clasică – forma severă

Ținta – identificarea de molecule cu potențial de Biomarkeri.



Academia
Oamenilor de Știință
din România



Academy
of Romanian
Scientists



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA



Rezultate preliminare

Colectare probe biologice:

Donori sănătoși – 2 probe

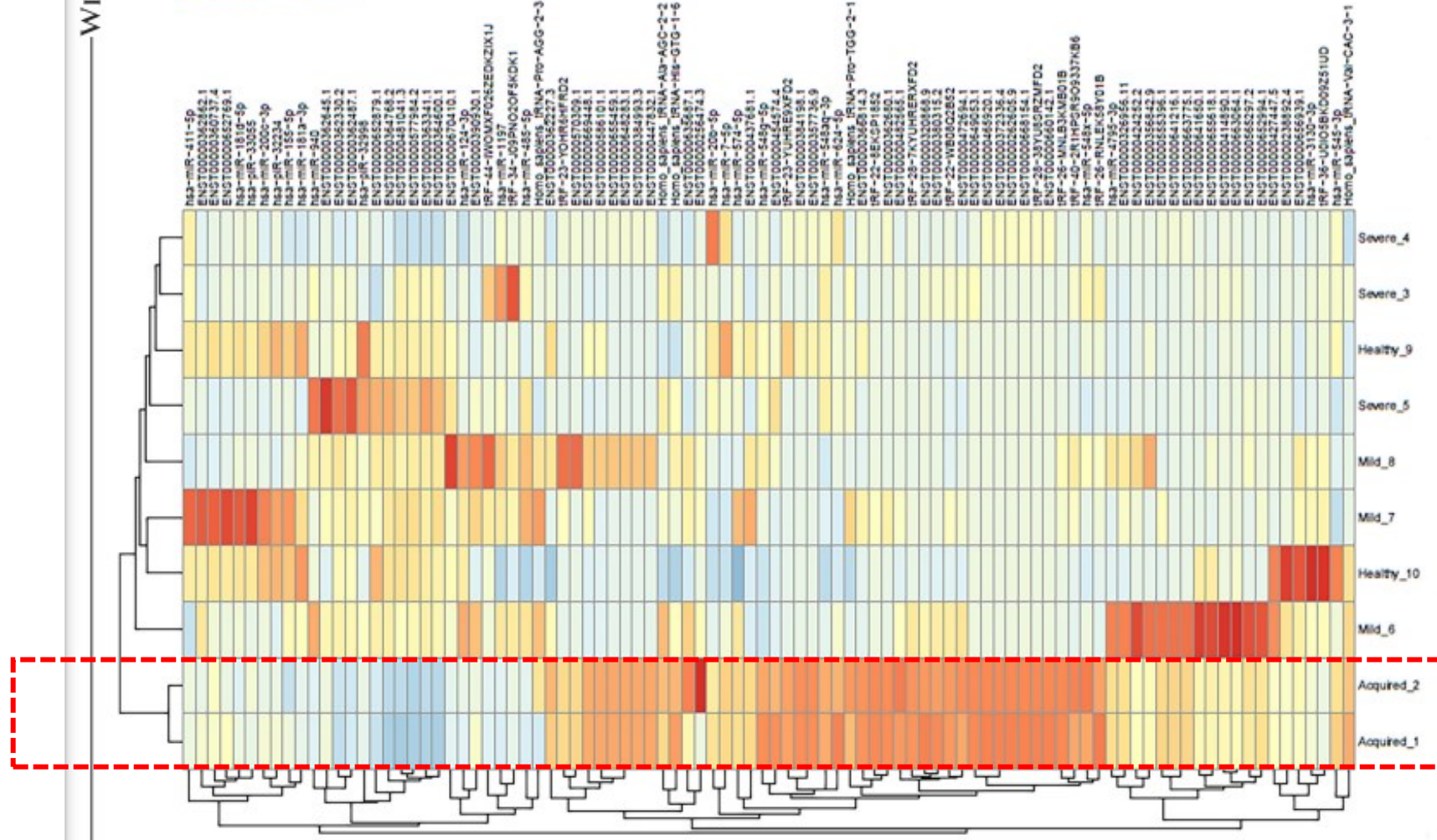
Hemofilie dobândită – 2 probe eligibile

Hemofilie clasică – forma moderată – 3 probe eligibile

Hemofilie clasică – forma severă – 3 probe eligibile

- Plasma colectată a fost imediat stocată la -80°C .
- Pacienții incluși în studiu au prezentat simptomatologie specifică și nu aveau alte comorbidități asociate.

Limitare: numărul mic de cazuri prezente în clinică și costul mare al secvențierilor.



Amprenta

FIGURE 2 Heatmap of the small RNAs that were significantly different between any of the conditions. Comparison between samples from AH patients (Acquired_1, Acquired_2), and mild classic haemophilia (Mild_6, Mild_7, Mild_8), severe classic haemophilia (Severe_3, Severe_4, Severe_5) and healthy donors (Healthy_9 and Healthy_10).

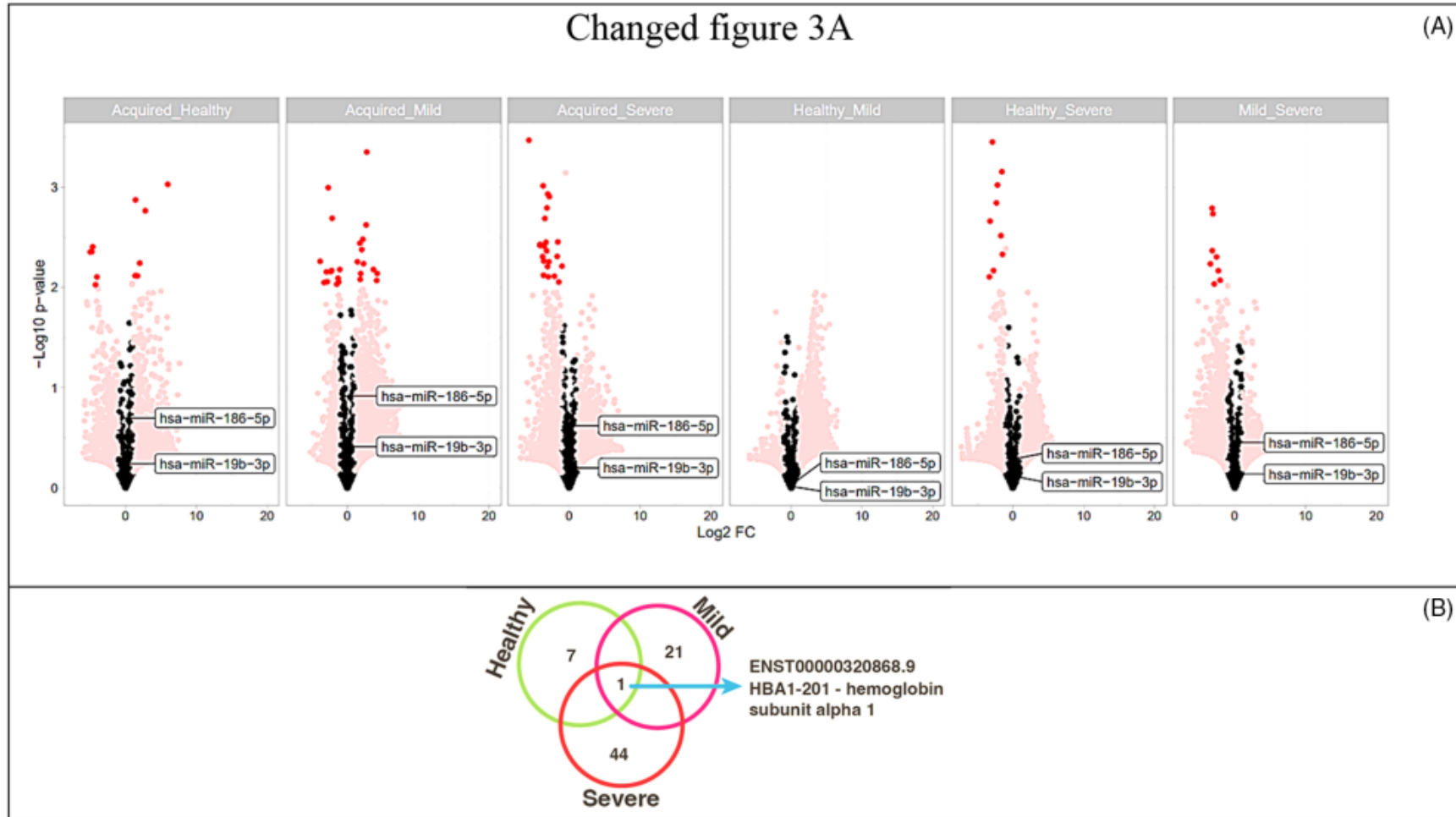


FIGURE 3 Volcano plots highlighting the global transcriptomic modifications and main altered transcripts (dark red) of all comparisons (A). Venn Diagram depicting the common upregulated transcripts in AH compared to each group. HBA1-201 - haemoglobin subunit alpha 1 being the common transcript in AH compared to all groups (B).

Implicare directa a miRNA
- miR-19b-3p si miR-186-5p pot modula nivelul de expresie al genei F8 (date in conformitate cu literatura)

Amprenta transcriptelor pentru pacienții cu hemofilia dobândita este diferita fata de restul grupurilor.

După analiza datelor folosind softul R studio s-a concluzionat faptul ca subunitatea 1 alfa din hemoglobina este exprimata semnificativ diferit in probele de hemofilia dobândita comparat cu restul grupurilor.



Sumar

- ambele cazuri de hemofilie dobândita sunt idiopatice.
- hemofilia dobândita este o boala foarte rara, iar analizele amprentelor moleculare pentru aceasta boala sunt definatorii pentru a înțelege cum se manifesta, de ce apare si mai ales cum sa o tratam. Astfel ca acest studio este un model pentru analizele viitoare.
- pentru a determina mecanismele moleculare ce conduc la apariția hemofiliei dobândite sunt necesare studii epigenetice si identificarea de molecule ce pot fi utilizate drept Biomarkeri in diagnosticul acestei patologii.
- modelul acesta de analiza poate fi utilizat si in cazul altor boli.
- numărul probelor analizate este esențial. Cu cat mai multe, cu atât puterea studiului creste si comparațiile sunt mai semnificative.

Diseminarea rezultatelor

Participare la congresul internațional al societății de tromboza și hemostaza, Montreal, Canada, 24-28 Iunie 2023
Reprezentant grup: Dr. Rares Drula



CERTIFICATE OF ATTENDANCE

This is to certify that

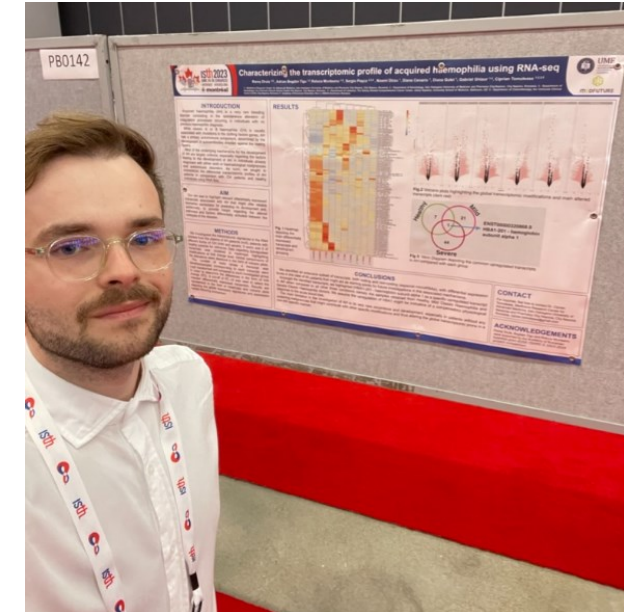
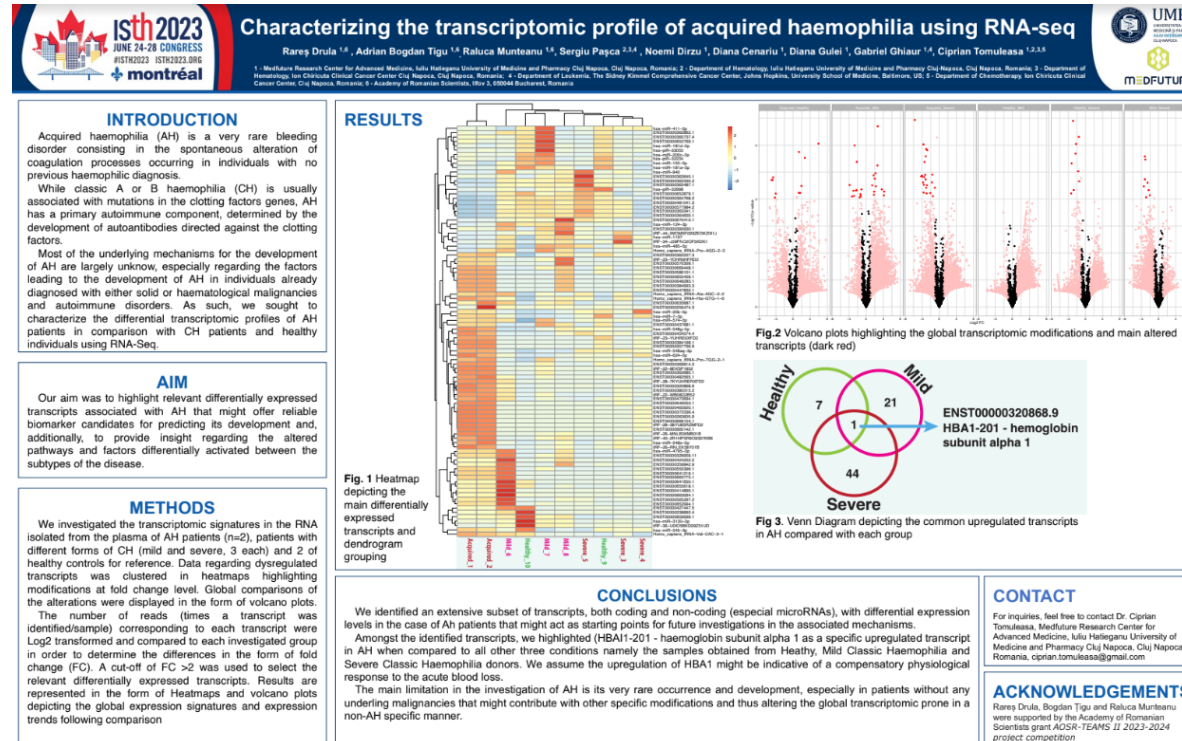
Rares Drula

attended

ISTH 2023 CONGRESS

held between

Saturday, June 24, 2023 to Wednesday, June 28, 2023



Diseminarea rezultatelor

Publicații Acceptate – disponibile online

Titlul: RNA sequencing suggests that non-coding RNAs play a role in the development of acquired haemophilia

Autori: **Adrian Bogdan Tigu**, Ionut Hotea, Rares Drula, Alina-Andreea Zimta, Noemi Dirzu, Maria Santa, Catalin Constantinescu, Delia Dima, Jon Thor Bergthorsson, Victor Greiff, Diana Gulei, Daniel Coriu, Margit Serban, Johnny Mahlangu, Ciprian Tomuleasa

doi: <https://doi.org/10.1111/jcmm.17741>

Jurnal: Journal of Cellular and Molecular Medicine

Impact factor: 5.3 (conform WoS in anul 2023)

Journal of Cellular and Molecular Medicine

Open Access

ORIGINAL ARTICLE | [Open Access](#) | [🔍](#) [📄](#)

RNA sequencing suggests that non-coding RNAs play a role in the development of acquired haemophilia

Adrian Bogdan Tigu, Ionut Hotea, Rares Drula, Alina-Andreea Zimta, Noemi Dirzu, Maria Santa, Catalin Constantinescu, Delia Dima, Jon Thor Bergthorsson, Victor Greiff, Diana Gulei, Daniel Coriu, Margit Serban, Johnny Mahlangu, Ciprian Tomuleasa [✉](#) ... [See fewer authors](#) [↗](#)

First published: 14 June 2023 | <https://doi.org/10.1111/jcmm.17741>

SECTIONS

[PDF](#) [TOOLS](#) [SHARE](#)

Abstract

Acquired haemophilia (AH) is a rare disorder characterized by bleeding in patients with no personal or family history of coagulation/clotting-related diseases. This disease occurs when the immune system, by mistake, generates autoantibodies that target FVIII, causing bleeding. Small RNAs from plasma collected from AH patients ($n = 2$), mild classical haemophilia ($n = 3$), severe classical haemophilia ($n = 3$) and healthy donors ($n = 2$), for sequencing by Illumina, NextSeq500. Based on bioinformatic analysis, AH patients were compared to all experimental groups and a significant number of altered transcripts were identified with one transcript being modified compared to all groups at fold change level. The Venn diagram shows that haemoglobin subunit alpha 1 was highlighted to be the common upregulated transcript in AH compared to classical haemophilia and healthy patients. Non-coding RNAs might play a role in AH pathogenesis; however, due to the rarity of HA, the current study needs to be translated on a larger number of AH samples and classical haemophilia samples to generate more solid data that can confirm our findings.



Volume 27, Issue 13
July 2023
Pages 1790-1796

[Figures](#) [References](#) [Related](#) [Information](#)

Metrics

Full text views: 457 [📄](#)

Details

© 2023 The Authors. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* published by Foundation for Cellular and Molecular Medicine and John Wiley & Sons Ltd.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

[Check for updates](#)

Research Funding

Academia Oamenilor de Știință din România. Grant Number: 2023-2024

EEA Grants/Norway Grants AURORA

ORIGINAL ARTICLE

WILEY

RNA sequencing suggests that non-coding RNAs play a role in the development of acquired haemophilia

Adrian Bogdan Tigu^{1,9} | Ionut Hotea² | Rares Drula^{1,9} | Alina-Andreea Zimta¹ |
Noemi Dirzu¹ | Maria Santa² | Catalin Constantinescu² | Delia Dima³ |
Jon Thor Bergthorsson⁴ | Victor Greiff⁵ | Diana Gulei¹ | Daniel Coriu⁶ |
Margit Serban⁷ | Johnny Mahlangu⁸ | Ciprian Tomuleasa^{1,9}

¹Medfuture Research Center for Advanced Medicine, Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca, Romania

²Department of Hematology, Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca, Romania

³Department of Hematology, Ion Chiricuta Clinical Cancer Center, Cluj Napoca, Romania

⁴Biomedical Center, School of Health Sciences, University of Iceland, Reykjavik, Iceland

⁵Department of Immunology, University of Oslo and Oslo University Hospital, Oslo, Norway

⁶Department of Hematology, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca, Romania

⁷Department of Pediatrics, Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania

⁸Haemophilia Comprehensive Care Centre, Charlotte Maxeke Johannesburg Academic Hospital, University of the Witwatersrand and National Health Laboratory Service, Johannesburg, South Africa

⁹Romanian Academy of Scientists, Bucharest, Romania



Diseminarea rezultatelor

Publicații Acceptate – disponibile online

Titlul: The role of epigenetic modifier mutations in Peripheral T-cell lymphomas

Autori: **Adrian Bogdan Tigu** si Anamaria Bancos

Jurnal: Current Issues in Molecular Biology, Impact factor: 3.1 (Conform WoS anul 2023)

Topic: Evidențierea potențialelor modificari la nivel epigenetic in limfomul cu celule T periferice, patologie cu o heterogenicitate foarte mare si cu incidenta scăzută.

Scop: studierea literaturii pentru a putea organiza biobanca pentru aceasta patologie si planificarea analizelor genetice. Rezultatele obținute se vor evalua folosind algoritmi din R Studio, similar cu studiul publicat in cazul hemofiliei dobândite si identificarea de Biomarkeri pentru limfomul cu celule T periferice.



Review

The Role of Epigenetic Modifier Mutations in Peripheral T-Cell Lymphomas

Adrian-Bogdan Tigu ^{1,2,*} and Anamaria Bancos ^{1,3}

¹ Medfuture Research Center for Advanced Medicine, Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, 400337 Cluj-Napoca, Romania; ani_maribancos@yahoo.com

² Academy of Romanian Scientists, Ilfov 3, 050044 Bucharest, Romania

³ Department of Hematology, Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, 400012 Cluj-Napoca, Romania

* Correspondence: bogdan.tigu@umfcluj.ro



Diseminarea rezultatelor

Publicații Acceptate –disponibile online

Titlul: Exploring Therapeutic Avenues in Lung Cancer: The Epigenetic Perspective

Autori: Raluca Munteanu, Ciprian Tomuleasa, Cristina-Adela Iuga, Diana Gulei, Tudor Eliade Ciuleanu

Jurnal: Cancers , Impact factor: 5.2 (Conform WoS anul 2023)

Topic: Explorarea noi abordări terapeutice pentru cancerul pulmonar, accentuând intervențiile epigenetice și integrarea lor cu tratamentele actuale, evaluând eficacitatea și provocările acestor strategii.



Review

Exploring Therapeutic Avenues in Lung Cancer: The Epigenetic Perspective

Raluca Munteanu ^{1,2}, Ciprian Tomuleasa ^{1,3,4}, Cristina-Adela Iuga ^{5,6}, Diana Gulei ^{1,*}
and Tudor Eliade Ciuleanu ^{7,8}

¹ Medfuture Research Center for Advanced Medicine, Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, 400347 Cluj-Napoca, Romania; muresan.raluca.andrada@gmail.com (R.M.); ciprian.tomuleasa@umfcluj.ro (C.T.)

² Academy of Romanian Scientists, Ilfov 3, 050044 Bucharest, Romania

³ Department of Hematology, Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, 400012 Cluj-Napoca, Romania

⁴ Department of Hematology, Ion Chiricuta Clinical Cancer Center, 400124 Cluj-Napoca, Romania

⁵ Department of Proteomics and Metabolomics, Research Center for Advanced Medicine-MEDFUTURE, "Iuliu Hatieganu" University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca, Louis Pasteur Street 6, 400349 Cluj-Napoca, Romania; iugac@umfcluj.ro

⁶ Department of Pharmaceutical Analysis, Faculty of Pharmacy, "Iuliu Hatieganu" University of Medicine and Pharmacy, Louis Pasteur Street 6, 400349 Cluj-Napoca, Romania

⁷ Department of Oncology, Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, 400012 Cluj-Napoca, Romania

⁸ Department of Oncology, Prof. Dr. Ion Chiricuta Oncology Institute, 400015 Cluj-Napoca, Romania

* Correspondence: diana.gulei@gmail.com



Denumire	Rezultate așteptate	
O1A1 Stabilirea grupurilor experimentale	În primele două luni ale proiectului se vor stabili criteriile de selecție pentru grupurile experimentale. Și vor fi organizate activitățile de cercetare și achizițiile de reactivi/consumabile.	← Indeplinit 100%
O1A2 Recoltarea probelor biologice	La finalul lunii 6 de proiect, probele biologice vor fi colectate și stocate corespunzător pentru extracțiile ulterioare.	← Indeplinit 100%
O1A3 Determinarea cantității de FVIII și FIX	Până la finalul lunii 6 de proiect, fiecare probă recepționată pentru analiză va avea rezultatul privind dozarea factorului FVIII și FIX.	← Se lucreaza probele - activitate in forma continua!
O1A4 Realizarea registrului de probe	Pe parcursul celor 6 luni va fi completat un registru de probe, iar la finalul lunii 6 acesta va fi finalizat.	← Indeplinit 100% - registru este deschis, Se mai adauga probe
O2A1 Achiziționarea kiturilor de extracție ADN și ARN din plasmă și sânge integral.	Până la colectarea tuturor probelor necesare pentru studiu, se vor desfășura procedurile de achiziție, astfel, la finalul primelor 6 luni de proiect vor fi achiziționate kiturile de extracție necesare.	← Indeplinit 100%
O2A2 Extracția ADN și ARN din probele biologice	La finalul lunii 8 de experiment toate probele de ADN și ARN corespunzătoare fiecărui pacient înrolat în studiu vor fi extrase, caracterizate și stocate pentru determinări suplimentare.	← Indeplinit 100%
O3A1 Secvențierea ARN	La finalul primului an de proiect se estimează obținerea datelor brute privind probele biologice incluse în experiment.	← Indeplinit 100%
O3A2 Analiza statistică	Rezultatele analizelor statistice și bioinformatică vor evidenția molecule comune și distincte cu importanță majoră în dezvoltarea bolii, dar și molecule cu potențial de marker biologic.	← Indeplinit 100%
O4A1 Diseminarea rezultatelor	Diseminarea rezultatelor se va realiza la conferințe naționale și internaționale, sub formă de postere sau prezentări orale.	← Indeplinit 100% - activitate in forma continua!
O4A2 Publicarea datelor experimentale.	Rezultatele studiului vor fi publicate sub formă de studiu original, într-un jurnal cu factor de impact de minim 3. Însă este imposibilă menționarea cu certitudine a unui jurnal unde se va publica articolul, datorită etapelor de evaluare înainte de inițierea procesului de revizie și ulterior acceptare a manuscrisului. Journal of Cellular and Molecular Medicine (IF 5.295) sau Biomedicines (IF 4.757)	← Indeplinit 100% - 3 articole publicate





Perspectivă pentru etapele următoare

Îmbogățirea biobăncii de probe pentru hemofilia dobândită și alte boli rare, astfel ca vom continua colectarea de probe biologice și vom extrage atât material genetic (ADN) cât și plasma de la fiecare pacient înrolat.

Determinarea cantitativă a factorilor de coagulare pentru probele lucrate.

Diseminarea rezultatelor la conferințe și manifestări științifice de specialitate

Academia
Oamenilor de Știință
din România



Academy
of Romanian
Scientists



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA



Cheltuieli

Bugetul pentru etapa 1 a acoperit partial costurile pentru Participarea la congresul internațional al societății de tromboza și hemostaza, Montreal, Canada, 24-28 Iunie 2023

Reprezentant grup: Dr. Rares Drula

Academia
Oamenilor de Știință
din România



Academy
of Romanian
Scientists



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA



Va mulțumesc pentru atenție!



Bibliografie

1. Delgado J, Jimenez-Yuste V, Hernandez-Navarro F, Villar A. Acquired haemophilia: review and meta-analysis focused on therapy and prognostic factors. *Br J Haematol.* 2003; 121: 21-35. 10.1046/j.1365-2141.2003.04162.x.
2. Tiede A, Collins P, Knoebl P, Teitel J, Kessler C, Shima M, Di Minno G, d'Oiron R, Salaj P, Jimenez-Yuste V, Huth-Kuhne A, Giangrande P. International recommendations on the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A. *Haematologica.* 2020; 105: 1791-801. 10.3324/haematol.2019.230771.
3. Kruse-Jarres R, Kempton CL, Baudo F, Collins PW, Knoebl P, Leissing CA, Tiede A, Kessler CM. Acquired hemophilia A: Updated review of evidence and treatment guidance. *Am J Hematol.* 2017; 92: 695-705. 10.1002/ajh.24777
4. Jankowska KI, McGill J, Pezeshkpoor B, Oldenburg J, Atreya CD, Sauna ZE. Clinical manifestation of hemophilia A in the absence of mutations in the F8 gene that encodes FVIII: role of microRNAs. *Transfusion.* 2020; 60: 401-13. 10.1111/trf.15605.
5. Selvaraj SR, Pipe SW. Not in the genotype: can unexplained hemophilia A result from
• "micro(RNA) management"? *Transfusion.* 2020; 60: 227-8. 10.1111/trf.15668.
6. Biguzzi E, Castelli F, Lijfering WM, Cannegieter SC, Eikenboom J, Rosendaal FR, van Hylckama Vlieg A. Rise of levels of von Willebrand factor and factor VIII with age: Role of genetic and acquired risk factors. *Thromb Res.* 2021; 197: 172-8. 10.1016/j.thromres.2020.11.016.
7. Nissen SK, Laursen AL, Poulsen LH, Mogensen TH. Identification of a novel mutation in the factor VIII gene causing severe haemophilia A. *BMC Hematol.* 2018; 18: 17. 10.1186/s12878-018-0113-4.
8. Riccardi F, Tagliaferri A, Martorana D, Rivolta GF, Valdre L, Rodorigo G, Biasoli C, D'Inca M, Serino ML, Macchi S, Vincenzi D, Arbasi M, Pedrazzi P, Volta M, C DIP, Ippolito L, Savi M, Neri TM. Spectrum of F8 gene mutations in haemophilia A patients from a region of Italy: identification of 23 new mutations. *Haemophilia.* 2010; 16: 791-800. 10.1111/j.1365-2516.2010.02228.x
9. Zimta AA, Hotea I, Brinza M, Blag C, Iluta S, Constantinescu C, Bashimov A, MarchisHund EA, Coudsy A, Muller-Mohnssen L, Dirzu N, Gulei D, Dima D, Serban M, Coriu D, Tomuleasa C. The Possible Non-Mutational Causes of FVIII Deficiency: Non-Coding RNAs and Acquired Hemophilia A. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8: 654197. 10.3389/fmed.2021.654197.
10. Jankowska KI, Chattopadhyay M, Sauna ZE, Atreya CD. A Foundational Study for Normal F8-Containing Mouse Models for the miRNA Regulation of Hemophilia A: Identification and Analysis of Mouse miRNAs that Downregulate the Murine F8 Gene. *Int J Mol Sci.* 2020; 21. 10.3390/ijms21165621.
11. Jankowska KI, McGill J, Pezeshkpoor B, Oldenburg J, Sauna ZE, Atreya CD. Further Evidence That MicroRNAs Can Play a Role in Hemophilia A Disease Manifestation: F8 Gene Downregulation by miR-19b-3p and miR-186-5p. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8: 669. 10.3389/fcell.2020.00669.
12. Vossen CY, van Hylckama Vlieg A, Teruel-Montoya R, Salloum-Asfar S, de Haan H, Corral J, Reitsma P, Koeleman BPC, Martinez C. Identification of coagulation gene 3'UTR variants that are potentially regulated by microRNAs. *Br J Haematol.* 2017; 177: 782-90. 10.1111/bjh.14629.



Raport de cercetare etapa 2 – 2023

Echipa proiect

Dr. Adrian Bogdan Tigu _____

Drd. Raluca Andrada Munteanu _____

Dr. Rares Drula _____