

Rezultatele Proiectului Nucleu
Creșterea capacității de cercetare științifică și de intervenție medico-militară
în managementul consecințelor unor incidente/accidente cu agenți CBRN
Cod PN 22 44 02 01,
Pentru anul 2025

Cercetare experimentală avansată și metode de testare preclinică pentru dezvoltarea unor
contramăsuri medicale de intervenție în caz de incident /accident CBRN.

Descriere activitate și rezultate Faza 3a

S-a urmărit creșterea capacității de cercetare științifică și de intervenție medico-militară prin realizarea de studii de validare a metodologiei dezvoltată prin proiect pentru contramăsuri medicale de intervenție în caz de incident/accident CBRN.

Activitățile realizate au fost următoarele:

Înaintarea documentelor pentru obținerea autorizațiilor de lucru cu animale de laborator de la Consiliul de etică al INCDMM „Cantacuzino” și ANSVSA. A fost obținut avizul de etică și autorizația pentru studiul pe animale de laborator „Evaluarea *in vivo* a eficacității curcuminei și piperinei în protecția împotriva leziunilor induse de radiațiile x”.

Evaluarea in vitro a toxicității agenților chimici/simulatori și a eficienței terapeutice a modelului experimental de antidotului preventiv complex comparativ cu cea a piridostigminei considerată referință. În cadrul acestei activități au fost realizate cercetări privind variațiile viabilității celulare produse de compuși cu proprietăți inhibitoare de colinesterază și efectul lor protectiv. Concluzia studiului a fost că rivastigmina administrată preventiv înainte de administrarea compusului organofosforic neurotoxic a evidențiat efect protector inferior piridostigminei. Citotoxicitatea acestuia este ușor superioară piridostigminei.

Evaluarea preliminară in vitro prin tehnici HPLC a modelului experimental de antidot preventiv. Contramăsurile medicale în cazul expunerii la agenți chimici neurotoxici constau în administrarea tratamentului preventiv (piridostigmina), curativ (obidoximă, pralidoximă, HI-6) și a unor compuși anticonvulsivi. Activitatea a presupus optimizarea condițiilor de reacție și metoda de analiză HPLC a rivastigminei fiind realizată curba de calibrare și identificarea compusului de interes.

Testări preliminare privind identificarea Quercetinei prin analize HPLC. Activitatea a fost realizată deoarece se intenționează utilizarea quercetinei pentru potențarea efectului protector al modelului experimental de antidot preventiv. Pentru aceasta au fost realizate metoda de identificare a quercetinei și curba de calibrare.

Validarea portofoliului de simulatori de agenți biologici bacterieni și toxine prin realizarea de teste pe echipamente dedicate scopului propus. A fost elaborată o instrucțiune de lucru pentru testarea portofoliului de simulatori de agenți biologici bacterieni și toxine pe echipamente dedicate, achiziționate prin proiect.

Evaluarea efectului radioprotector prin utilizarea tehnicilor de dozimetrie biologică optimizate în fazele anterioare. Activitățile au urmărit realizarea protocolului de lucru pentru un studiu *in vivo* prin care se va investiga dacă adăugarea de piperină amplifică efectele

benefice ale curcuminei în contextul protecției împotriva radiațiilor ionizante, prin evaluarea posibilei acțiuni sinergice.

Evaluarea gradului de neuroinflamație și a markerilor inflamatori raportat la doză și durata expunerii. Studiul și-a propus evaluarea gradului de neuroinflamație și a markerilor inflamatori după expunerea la stimulatori de agenți CBRN în cadrul unui model experimental *in vivo*. Rezultatele obținute au arătat că expunerea la simulatori de agenți CBRN induce un răspuns inflamator la nivel cerebral caracterizat prin activare microglială și inducerea astrocitelor reactive. Microgliile se transformă de la forma ramificată la starea amoeboidă, activă.

Aplicarea metodelor dezvoltate pentru cazurile de intoxicații acute cu substanțe neurotoxice inhibitoare de colinesteraze. Activitățile realizate au condus la implementarea metodei Enzyme Multiplied Immunoassay Technique (EMIT) pentru determinarea activității pseudocolinesterazei serice (PsCHE), validarea metodei EMIT pentru determinarea activității pseudocolinesterazei serice, implementarea unui protocol de control intern al calității pentru determinările enzimatică și corelarea datelor analitice obținute prin EMIT și GC-MS/MS pentru confirmarea prezența compușilor neurotoxici.

Descriere activitate și rezultate Faza 3b

S-a urmărit creșterea capacității de cercetare științifică și de intervenție medico-militară prin realizarea de studii de validare a metodologiei dezvoltată prin proiect pentru contramăsuri medicale de intervenție în caz de incident/accident CBRN.

Activitățile realizate au fost următoarele:

Înaintarea documentelor pentru obținerea autorizațiilor de lucru cu animale de laborator de la Consiliul de etică al INCDMM „Cantacuzino” și ANSVSA. A fost obținut avizul de etică și autorizația pentru studiul pe animale de laborator „Evaluarea *in vivo* a toxicității agenților chimici/simulatori și a eficienței terapeutice a modelului experimental de antidot preventiv complex comparativ cu cea a piridostigminei considerată referință”.

Evaluarea in vivo a eficienței terapeutice a modelului experimental de Antidot Preventiv Complex dezvoltat prin proiect. Testările *in vivo* au urmărit: a) evaluarea efectului protector al rivastigminei comparativ cu piridostigmina în cazul expunerii la un insecticid organofosforic inhibitor ireversibil de colinesterază. Dezvoltarea unui compus neuroprotector preventiv complex activ în cazul expunerii la agenți chimici neurotoxici și testarea lui pe model animal, va permite optimizarea eficienței schemelor terapeutice cu potențiale beneficii pentru tratamentul preventiv al personalului expus și b) evaluarea pe model experimental animal a eficienței terapeutice a compusului chimic neuroprotector preventiv în cazul expunerii la doze subletale de paraoxon. Rezultatele vor fi completate cu examinările histopatologice ale țesuturilor recoltate pentru evidențierea unor efecte toxice ale agenților chimici/simulanți și a efectului protector al tratamentului preventiv.

Testarea activității enzimatică a colinesterazelor în cazul expunerii la organofosforice neurotoxice. S-a determinat activitatea acetilcolinesteazei (AChE) și butirilcolinesteazei (BuChE) printr-o metodă spectrofotometrică. S-a demonstrat că paraoxonul inhibă enzimele AChE și BuChE la valori semnificativ diferite față de normal, corelate cu dozele administrate. În cazul BuChE, tratamentul preventiv cu Rivastigmină și Piridostigmină a antagonizat inhibiția enzimei de către ambele doze de paraoxon până la valori apropiate celor normale. În cazul AChE tratamentul preventiv cu Rivastigmină a antagonizat inhibiția enzimei în cazul ambelor doze de paraoxon până la valori comparabile cu cele normale. Piridostigmina nu a antagonizat inhibiția AChE de către paraoxon. Aceste valori sunt diferite semnificativ față de valorile normale, mai accentuat în cazul administrării dozei mari de paraoxon.

Realizarea portofoliului de instrucțiuni de lucru utilizabil în dozimetria biologică. Activitățile realizate au condus la redactarea unei instrucțiuni de lucru pentru verificarea dozei de raze X emise de iradiator. În cadrul ei regăsim echipamentele necesare pentru această activitate, modul de lucru, modul de realizare al măsurătorilor, determinarea Kerma în aer, modalitatea de analiză/raportare și stabilirea personalului care are responsabilități de aplicare.

Testări in vivo pentru evaluarea gradului de disfuncție mitocondrială. Activitățile au urmărit dezvoltarea unui model experimental pentru evaluarea *in vivo* a disfuncționalității mitocondriale ulterior expunerii la simulatori de agenți CBRN (paraoxon). A fost optimizat protocolul de izolare a ADNmt. Au fost obținute informații care au arătat că funcția mitocondrială este esențială pentru răspunsul celular la acțiunea agenților CBRN care pot induce alterarea acestora inclusiv a ADNmt.

Monitorizarea clinică a pacienților cu simptomatologie sugestivă pentru intoxicația acută cu neurotoxice inhibitoare de colinesterază și cu diagnostic prezumtiv de intoxicație acută cu pesticide. Activitatea a condus la elaborarea „Ghidului de recomandări pentru diagnosticul de laborator și măsuri complexe de terapie intensivă, antidotism și terapie adjuvantă, în intoxicațiile acute cu agenți chimici din spectrul CBRN”.

Rezultate publicate/diseminate

- 1 articol publicat in jurnal cu FI 3,2;
- 5 comunicări si 2 postere.

Responsabil Proiect
CSIII Dr. Lucia IONESCU