

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ

TEZĂ DE DOCTORAT
“STUDIUL CLINIC ȘI EXPERIMENTAL AL EXCITABILITĂȚII
SISTEMULUI NERVOS PERIFERIC ÎN PATOLOGIA
NERVOASĂ”
-REZUMAT-

COORDONATOR:
Prof. Univ. Dr. Maria Iancău

STUDENT-DOCTORAND:
Ciorbagiu Mihai-Călin

Craiova
2015

Cuprins

CUPRINS	2
CUVINTE CHEIE	3
INTRODUCERE	3
1.STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	4
1.1 DATE MORFO-FUNCȚIONALE CARACTERISTICE SISTEMULUI NERVOS PERIFERIC	4
1.2. ASPECTE ELECTROFIZIOLOGICE ALE EXCITABILITĂȚII SISTEMULUI NERVOS PERIFERIC	4
1.3. IMPLICAREA CANALELOR DE SODIU VOLTAJ DEPENDENTE ÎN EXCITABILITATEA NEURONALĂ	4
2. CONTRIBUȚII PERSONALE	5
2.1. OBIECTIVE	5
2.2. METODOLOGIA CERCETĂRII	5
2.2.1. METODE DE LUCRU ÎN ETAPA CLINICĂ	5
2.2.2. METODE DE LUCRU ÎN ETAPA EXPERIMENTALĂ	6
2.3. REZULTATE ȘI DISCUȚII	7
2.3.1 ETAPA CLINICĂ	7
2.3.2 ETAPA EXPERIMENTALĂ	7
2.4. CONCLUZII	11
2.5.BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	13

CUVINTE CHEIE

Neuroexcitabilitate periferică, reobaza, cronaxie, răspuns motor compus, canale de sodiu voltaj dependente, blocanți neselectivi ai canalelor de sodiu, carbamazepină

INTRODUCERE

Paleta complexă a morbidității moderne include afecțiuni a căror pondere înregistrează o creștere progresivă, marcând profund preocupările lumii medicale atât în ce privește diagnosticul, cât și tratamentul.

În această serie se încadrează preponderent diabetul zaharat, entitate care a impulsionat cu certitudine cercetarea în domeniul diagnosticului precoce al afecțiunii și, mai ales, în terapia sa.

Prin activitatea zilnică de specialitate, vin în contact cu complicațiile frecvente ale acestei boli, ce au un puternic caracter invalidant, implicând consecințe severe familiale și socio-economice.

Cele menționate m-au motivat deosebit în alegerea temei studiului de față, evidențiind aspecte foarte puțin abordate în aria de cercetare specifică.

Domaniul testărilor neurofiziologice m-a captivat încă din studenție, efectuând cercetări asupra potențialelor evocate vizuale și modificării lor în diverse afecțiuni, asupra electronervogramei, împreună cu colectivul de cadre didactice și studenți în departamentul de fiziologie al universității.

Având în vedere atât aspectele clinice observate, cât și posibilitățile de testare paraclinică a complicațiilor neuropatice ale diabetului zaharat, care nu au fost cercetate decât în măsură extrem de redusă pe plan internațional, ne-am propus ca obiectiv studiul excitabilității nervoase periferice prin electroneurografie, completând cu cercetarea experimentală a modificării ei la administrarea unor substanțe cu acțiune antiepileptică, blocante ale canalelor de sodiu.

Considerăm că rezultatele studiului vor putea contura un mod de depistare precoce a afecțiunii neuropatice din cadrul diabetului zaharat, chiar înainte de manifestările clinice ale acestei complicații. De asemenea, tentăm și evidențierea rolului canalelor de sodiu în variația valorilor parametrilor caracteristici excitabilității nervoase periferice.

Întreaga cercetare, atât clinică cât și experimentală nu aș fi putut să o desfășor fără ajutorul colectivului laboratorului de Explorări funcționale neurologice al Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, care mi-au facilitat accesul la pacienții prezentați pentru testare,

căruia îi aduc mulțumiri. De asemenea mulțumesc colegilor Bogdan Cătălin și Tudor-Adrian Bălșeanu, care m-au ajutat pe tot parcursul studiului atât în etapa paraclinică, cât și în cea experimentală. Mulțumesc colegilor și familiei pentru sprijinul acordat pe toată perioada desfășurării studiului și nu în ultimul rând doamnei profesor universitar Dr. Maria Iancău, profesorul care, fără nici o ezitare, m-a acceptat, fiind de acord să conducă lucrarea mea de doctorat, m-a sprijinit și mi-a îndrumat efectiv pașii cu tact, răbdare, profesionalism și multă bunățate, ca un adevărat părinte, în dificilul demers de a duce la bun sfârșit această lucrare.

1.STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

1.1 Date morfo-funcționale caracteristice sistemului nervos periferic

Conducerea impulsului electric în fibrele nervoase este dependentă de structura nervului prin care se face transmiterea. Astfel, calitatea izolației electrice, furnizată de tecile de mielină, dar și numărul, respectiv funcționalitatea canalelor ionice voltaj-dependente de la nivelul membranei axonale joacă un rol esențial în propagarea impulsurilor nervoase (Hille, 2001).

Studii electrofiziologice extensive, efectuate la nivelul nervului periferic, au reușit identificarea a numeroase tipuri de canale ionice, având distribuții diferite de-a lungul structurii nervului periferic, variind semnificativ, în special între regiuni nodale, paranodale și internodale(Salzer et. al. 2008). Mai mult, au fost identificate diferențe între proprietățile electrofiziologice de conducere a impulsului nervos ale diferitelor zone ale aceluiași axon, sugerând faptul că există posibilitatea ca transmiterea impulsului să se facă diferit în funcție de segmentul prin care se face propagarea Waxman și Ritchie, 1993).

1.2. Aspecte electrofiziologice ale excitabilității sistemului nervos periferic

Subcapitolul conține date referitoare la parametrii excitabilității SNP, cu modalitățile de determinare a acestora. Sunt definite atât potențialul prag al excitabilității, cât și electrotonusul minimal, ce completează testarea clasică a excitabilității axonale, în vederea conturării unor protocoale de investigație complexe, utile în practica medicală.

1.3. Implicarea canalelor de sodiu voltaj dependente în excitabilitatea neuronală

Aspecte ale funcționării canalelor de sodiu voltaj dependente au fost relevate de Cox et al., 2006, 2010 și Eijkelkamp et al., 2012 menționându-se și existența mutațiilor genice ce pot da naștere canalopatiilor cu expresie clinică, la nivelul sistemului nervos, cardiac, bronho-pulmonar și în afecțiunile neoplazice.

2. CONTRIBUȚII PERSONALE

2.1. OBIECTIVE

1. Evaluarea parametrilor excitabilității nervoase periferice și compararea valorilor obținute cu un lot martor;
2. Evidențierea parametrilor caracteristici ai excitabilității cu cea mai mare variabilitate, încadrându-i în categoria celor fideli gravității afecțiunii nervoase;
3. Corelarea valorilor obținute la testarea neurofiziologică cu cele ale principalilor parametri definatorii diabetici;
4. Investigarea posibilității de translaționarea a paradigmei de testare electrofiziologică folosită în partea clinică și în investigații experimentale;
5. Validarea modelului animal pentru obținerea unor date experimentale;
6. Folosirea modelului experimental în investigarea modului în care medicația administrată în diverse afecțiuni ale sistemului nervos central afectează funcționalitatea nervilor periferici;
7. Evaluarea relației doză efect a inhibitorilor nespecifici de canale de sodiu, corelativ cu proprietățile electrofiziologice ale SNP.

2.2. METODOLOGIA CERCETĂRII

Întregul studiu a vizat identificarea modului în care proprietățile electrofiziologice ale sistemului nervos periferic sunt influențate de procese biologice degenerative din cadrul unor afecțiuni sistemice, dar și de modul în care tratamentul specific, îndreptat spre anumite boli organ-specifice, poate afecta aceste proprietăți.

În vederea atingerii acestui scop, studiul a cuprins o etapă experimentală, efectuată pe animale de laborator, pentru a putea cuantifica corect relația doză-efect și un studiu clinic, la pacienți având diabet zaharat tip II.

2.2.1. Metode de lucru în etapa clinică

Acest studiu a fost prospectiv, fiind incluși în lot pacienți cu diabet zaharat, ajunși în laboratorul de explorări funcționale al Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, pentru confirmare și/sau evaluarea neuropatiei diabetice de care erau suspecți clinic. Toate înregistrările au urmat protocolul intern al laboratorului pentru investigarea neuropatiei diabetice.

Grupul de investigat a fost compus din 29 pacienți cu diabet zaharat tip II. Pentru compararea valorilor obținute, au fost efectuate înregistrări și la un număr de 29 voluntari sănătoși

Pentru valorile de referință, toate testările au avut la bază investigații electro-neuro-fiziologice precum:

- Viteza de conducere motorie (VCM)
- Metode matematice de determinare a reobazei
- Metode matematice de determinare a cronaxiei.

2.2.2. Metode de lucru în etapa experimentală

Folosirea unui model experimental cu diabet indus, nu a fost agreată, datorită următoarelor considerente :

- Durata redusă de exploatare a modelului
- Necesitatea administrării mai multor substanțe active pentru întreținerea modelului, acestea putând influența rezultatele testării
- Modalitățile genetice sau chirurgicale de obținere a modelului experimental, sunt laborioase, costisitoare, cu o rată mare de mortalitate, iar cele chimice cu Aloxan sau streptozocină – datorită potențialului tumorigen și inducerii modificărilor și a altor metabolisme decât cel glucidic, necesitând astfel și urmărirea acestora.

Pentru realizarea experimentelor au fost folosiți 21 de șobolani Sprague Dawley (SD-CD), masculi, cu vârsta cuprinsă între 7 și 9 luni, cu o greutate de aproximativ 660-750 g. Animalele au fost ținute într-un complex de îngrijire pentru animale, cu hrană și apă ad libitum.

S-au înregistrat vitezele de conducere nervoasă pe nervul tibial drept, folosind patru electrozi ac drept, monopolari și izolați. Doi au fost folosiți pentru realizarea stimulării nervoase și ceilalți doi pentru înregistrarea răspunsului la stimulare. Anodul stimulator a fost plasat la baza cozii, în timp ce catodul a fost plasat proximal de calcaneu, în zona tendonului lui Achile. Înregistrarea potențialului de acțiune compus (CMAP) a fost realizată de la nivelul mușchilor lumbricali dreپți folosind un set de electrozi monopolari ac cu o lungime de 2 cm și un diametru de 5 mm. De asemenea, menționăm faptul că procedura s-a repetat pentru diferite valori ale duratei de stimulare a curentului aplicat animalului, pentru a putea determina astfel cronaxia și reobaza nervului tibial.

După înregistrările inițiale, care au fost folosite ca punct de referință, a fost injectată intraperitoneal carbamazepină (5 mg/kgc). Folosind aceeași tehnică s-au realizat înregistrări adiționale la 1, 2, 3, 4, și 5 ore după injectarea carbamazepinei. Valorile inițiale ale latenței, amplitudinii CMAP, cronaxiei și reobazei animalelor netratate au fost comparate cu datele obținute la loturile injectate.

2.3. REZULTATE ȘI DISCUȚII

2.3.1 Etapa clinică

Reobaza medie la nivelul nervului median, înregistrată în laboratorul nostru, este comparabilă cu alte valori raportate în literatura de specialitate.

Asemenea reobazei, valorile obținute în cadrul studiului nostru se încadrează perfect în limitele existente în studiile de specialitate.

Am analizat răspunsul brut, obținut la stimulare nervoasă, pentru a exclude alte afecțiuni asociate. Primul parametru analizat a fost latența răspunsului motor la pacienții cu DZ și grupul control, nerelevându-se nicio diferență statistică semnificativă, $p=0,3228$.

Al doilea parametru caracteristic răspunsului motor generat prin stimularea nervoasă, amplitudinea sa manifestă o diferență înalt semnificativă statistic între control și lotul de pacienți luați în studiu ($p=0,001$).

Analiza proprietăților electrofiziologice motorii la acești pacienți a relevat o "tendință" ne semnificativă statistic $p=0,865$, de diminuare a valorii medii a reobazei, comparativ cu lotul de control.

Calcularea valorii medii a cronaxiei, la lotul de pacienți, a relevat o creștere ne semnificativă statistic a valorilor acesteia, comparativ cu lotul martor $p=0,848$.

Am tentat și compararea valorilor reobazei, obținute pentru nervul median, la pacienții noștri, cu valorile raportate în literatură, remarcând lipsa unor date similare.

Deși în 2006, Misawa determina parametrii neuroelectrofiziologici la pacienții cu diabet zaharat controlat inadecvat, nu raportează valorile obținute decât pentru cronaxie.

Comparativ cu celelalte studii existente, cercetarea prezintă raportează cea mai mică valoare a reobazei la pacienți diabetici, cu control inadecvat al parametrilor definitorii diabetici.

Valoarea medie obținută în cadrul studiului nostru reprezintă cea mai mare valoare raportată în studiile de specialitate efectuate la pacienți diabetici, cu control inadecvat al glicemiei.

2.3.2 Etapa experimentală

Existând o mare variabilitate a efectelor neurotrope adverse la diferite clase de medicamente, am dorit, pentru îndeplinirea obiectivelor propuse în această parte a studiului, să identificăm doar modificările de funcționare a SNP, apărute strict ca o consecință a terapiei administrate.

Din acest motiv ne-am propus ca aceasta parte a studiului să se efectueze prin testarea animalelor de laborator, unde se pot evalua corect, cu mai multă acuratețe, efectele medicației. Cele trei loturi experimentale au fost investigate timp de cinci ore, din oră în oră. Pentru fiecare

etapă s-a determinat, pe lângă cronaxie și reobază, amplitudinea și latența răspunsului motor, acestea funcționând ca parametri de control intern al valorilor obținute.

În faza inițială am analizat latențele celor trei loturi investigate, neputând identifica nicio diferență semnificativă statistic, $p=0,741$. Nu a fost înregistrată nicio diferență semnificativă statistic între amplitudinile răspunsului motor la cele trei loturi, în prima etapă a experimentului, $p=0,860$. Valorile determinate pentru reobaza nervului tibial, la cele trei loturi de animale, imediat după injectarea substanței active, nu au relevat diferențe semnificative statistic, $p=0,969$. De asemenea, nu s-a constatat nicio diferență semnificativă statistic, atunci când au fost calculate valorile cronaxiei la începutul experimentului, $p=0,682$.

Rezultatele obținute au reprezentat ultimul control intern, eliminând astfel posibilitatea ca o parte dintre animalele folosite să prezinte leziuni subclinice ale SNP, influențând astfel rezultatele studiului.

În etapa experimentală propriuzisă a studiului am analizat caracteristicile CMAP (latențe, amplitudini) pentru cele trei loturi experimentale, la 60, 120, 180, 240 și 300 de minute, observând o tendință la scădere a acestora începând cu intervalul de 120 de minute postinjecțional și menținându-se pe toată perioada determinărilor, dar fără semnificație din punct de vedere statistic (p a variat între 0,741 și 0,918 pentru latență, 0,578 și 0,860 pentru amplitudine).

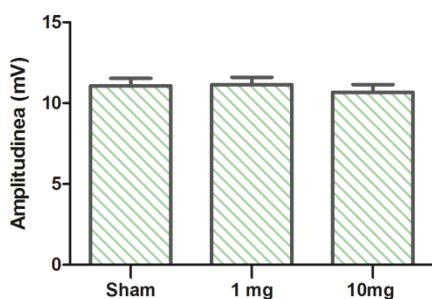


Fig. 1. Amplitudinile medii ale răspunsurilor motorii, înregistrate pentru cele trei loturi analizate la 60 min după injectare.

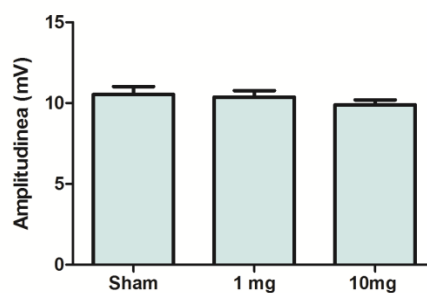


Fig. 2. Amplitudinile medii ale răspunsurilor motorii, înregistrate pentru cele trei loturi analizate la 300 min după injectare.

Analizând parametrii neuroexcitabilității, valorile reobazei obținute prin stimularea nervului tibial la 120 de minute de la injectare încep să se modifice, conturând o tendință de creștere, nesemnificativă statistic ($p=0,285$) la lotul injectat cu doza terapeutică de blocant (10 mg), creștere care devine înalt semnificativă la 240 de minute după injectare ($p=0,002$). La 300 de minute după injectare, valorile reobazei păstrează tendința de creștere, care acum, devine foarte înalt semnificativă ($p=0,0013$).

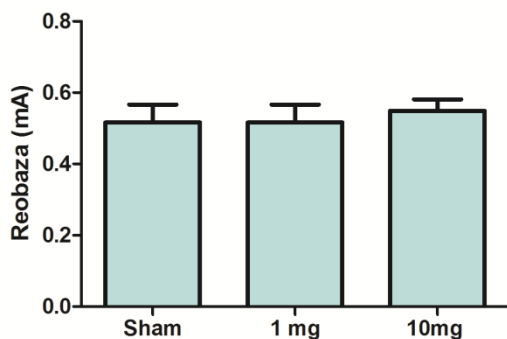


Fig. 3. Valorile reobazei înregistrate la cele trei loturi analizate la 60 minute după injectare

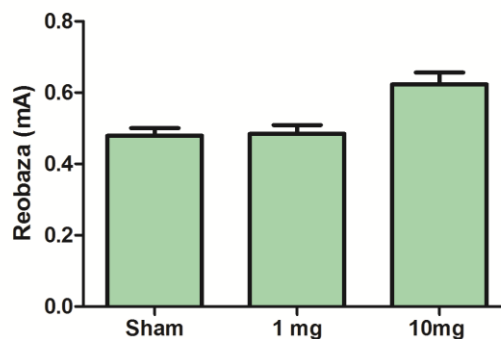


Fig. 4. Valorile reobazei înregistrate la cele trei loturi analizate la 300 minute după injectare

Evaluând modificările cronaxiei la 60, 120, 180, 240 și 300 de minute după injectarea substanței terapeutice, am constatat o tendință de scădere, care devine înalt semnificativă ($p=0.007$) la intervalul de 120 minute, tendință menținută și consolidată la trei ($p=0,0004$), și la patru ore ($p=0,0002$) de la injectarea substanței terapeutice. La finalul determinărilor, la cinci ore postinjecțional, tendința de scădere a cronaxiei devine nesemnificativă la limită ($p=0,06$).

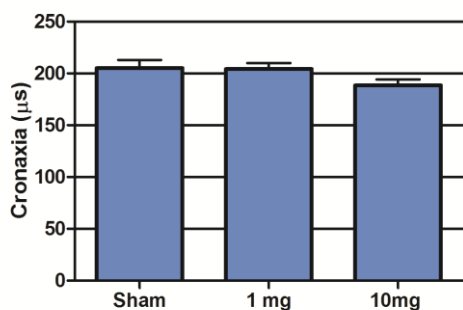


Fig. 5. Valorile medii ale cronaxiei înregistrate la cele trei loturi analizate la 60 minute după injectare

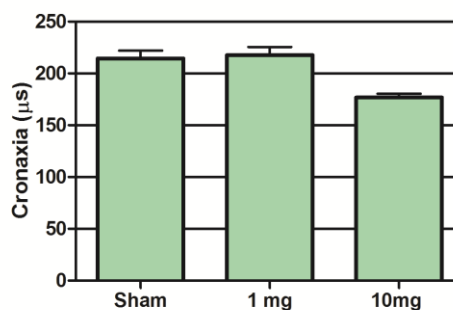


Fig. 6. Valorile medii ale cronaxiei înregistrate la cele trei loturi analizate la 240 minute după injectare

Corelația modificărilor valorilor parametrilor excitabilității nervoase periferice cu concentrațiile plasmatiche ale blocaților canalelor de sodiu s-a făcut cu datele raportate pentru concentrațiile carbamazepinei la nivel sanghin (Malhotra et al., 2002).

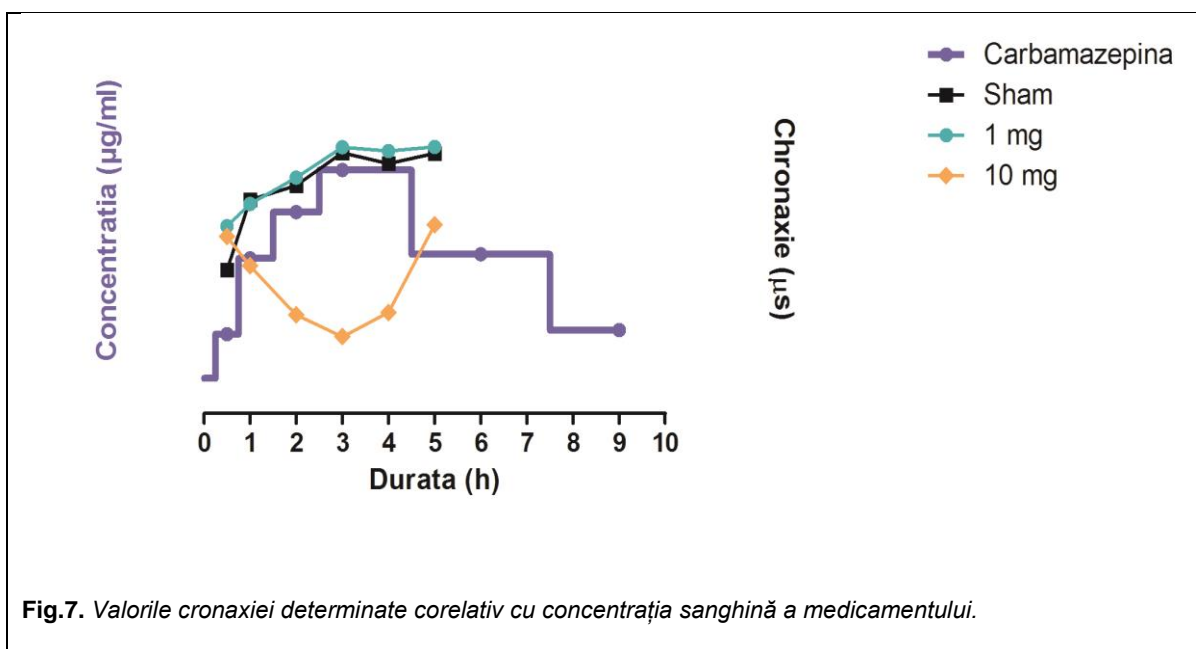
Datorită modului de propagare a impulsului nervos, a existat suspiciunea ca, în cazul lotului tratat cu doză terapeutică, să existe o încetinire a conducerii acestui impuls. Paradoxal, latența de conducere este minimă la concentrația maximă de carbamazepină, fără a exista însă o diferență semnificativă statistic ($r=0.26$), neînregistrându-se o corelație semnificativă statistic între concentrația sanghină a medicamentului și modificările latențelor.

Pentru concentrația maximă de medicament, înregistrată după trei ore de la injectare, se notează cea mai mică amplitudine a răspunsului motor la animalele din acest lot. Deși

coeficientul de corelație este destul de mare, acesta se afla la limita de semnificație statistică, impunând creșterea numărului de animale investigate ($r=-0.46$).

Corelând concentrația de carbamazepină cu valorile obținute pentru reobază, se poate observa o legătură directă între concentrația sanghină a medicamentului și modificările periferice prezente numai la lotul tratat cu doză terapeutică. Coeficientul de corelație, în acest caz, este , semnificativ pentru lotul injectat cu doza terapeutică ($r=0.62$) și nesemnificativ pentru celelalte două loturi.

Cu certitudine însă corelația inversă dintre concentrațiile plasmatice și modificările apărute la nivelul SNP nu este nicăieri mai evidentă decât în cazul cronaxiei, unde coeficientul de corelație are o valoare semnificativă ($r=-0.94$) la lotul tratat cu doza terapeutică si este nesemnificativ pentru celelalte două loturi (Fig. 7.).



Se conturează astfel o observație pertinentă, în care modificări semnificative ale excitabilității nervoase periferice au un corespondent funcțional minim.

Presupunând că modificări ale cronaxiei reflectă activitatea de conducere a canalelor de sodiu persistente, precum și proprietățile pasive ale membranei celulare la nivelul nodurilor Ranvier (Mogyoros et al., 1996 and Bostock and Rothwell, 1997), relația reciprocă între nivelul HbA1c și cronaxie reflectă alterarea conducerii Na^+ în condițiile hiperglicemiei, la subiecții umani cu diabet zaharat.

Rezultatele obținute în cursul acestei cercetări sunt în concordanță cu literatura de specialitate, care raportează o creștere a cronaxiei în entități patologice ce afectează neuronii/axonii motori inferiori, precum scleroza laterală amiotrofică, atrofia musculară spinală,

dar și neuropatiile axonale periferice (Mogyoros et al., 1998). În aceste circumstanțe, procentul canalelor de sodiu persistente la nivelul unui segment nervos poate fi mai mare decât normal, rezultând o conductanță sodică persistentă crescută, deci o valoare a cronaxiei mai mare.

Spre deosebire de cronaxie, unde studiul nostru a raportat modificări asemănătoare cu celelalte studii din literatură, curenții reobazici, în cazul nostru, au avut o “tendință” de scădere și nu o modificare semnificativă. Scăderea acestor curenți se datorează, în principal, unui fenomen în care nervii devin mai puțin excitabili. Înteressant este că și în cazul curenților reobazici, pacienții cu control adecvat al glicemiilor au avut o reobază ușor crescută față de normal, posibil datorată modificărilor geometrice suferite de nerv - precum fibroza sau edemul (Nelson et al., 2014).

2.4. CONCLUZII

1. Cercetarea studiului de față s-a realizat prin evaluarea parametrilor neuroexcitabilității periferice la un lot de pacienți cu diabet zaharat, cu control al bolii de bază inadecvat (\bar{X} glicemiei lotului = 185,7 mg %, valoarea medie a hemoglobinei glicozilate = 10,67%), aspect mai puțin prezent în literatura domeniului vizat.
2. Validarea lotului de control, din punct de vedere al valorilor parametrilor excitabilității nervoase periferice, s-a efectuat prin compararea valorilor proprii cu cele similare, existente în literatura de specialitate, înregistrându-se $p=0.783$ pentru reobază și $p= 0.345$ în cazul cronaxiei, neexistând diferențe semnificative.
3. Analizând caracteristicile răspunsului motor compus (CMAP) obținut prin stimularea nervului median, se înregistrează valori ale latenței sale, care comparate cu cele ale lotului martor nu relevă diferențe semnificative statistic ($p=0,3228$). Valorile amplitudinii CMAP – sunt net inferioare celor lotului martor- $p=0,001$ – foarte înalt semnificativ.
4. Parametrul reobază, caracteristic excitabilității nervoase, are valori medii cu tendință la scădere față de lotul de control, diferențele fiind totuși nesemnificative statistic – $p=0,865$.
5. Valoarea medie a crinaxiei la lotul de pacienți testați este crescută față de cea a lotului martor (447,515 μ s, respectiv 401,724 μ s), dar diferența nu este statistic semnificativă $p=0,848$.
6. Prezența puținelor materiale referitoare la parametrii excitabilității nervoase periferice la pacienți cu diabet zaharat, controlat terapeutic insuficient, a motivat studiul de față, rezultatele obținute încadrându-se în cele expuse în literatura vizată.
7. Tentând extinderea testării prin cercetare experimentală, nu am putut folosi un model animal cu diabet zaharat, în principal datorită duratei reduse de exploatare și necesității administrării permanente și de alte droguri, ce pot interfera cu rezultatele urmărite. Astfel am optat pentru șobolani SD-CD, sănătoși cărora li s-a administrat un blocant neselectiv al

canalelor de sodiu (carbamazepină), urmărind modificările neuroexcitabilității periferice sub influența lui, la trei loturi structurate: martor, injectat cu doza subterapeutică antiepileptică și terapeutică.

8. La determinările inițiale ale latenței și amplitudinii CMAP nu s-au înregistrat diferențe semnificative statistic (p variind între 0,741-latența- și 0,860 – amplitudinea). În ceea ce privește valorile reobazei, obținute prin stimularea nervului tibial și cele ale cronaxiei, comparate între cele trei loturi, diferențele sunt nesemnificative statistic ($p=0.969$, respectiv 0,682)- denotând absența unor factori ce pot influența suplimentar rezultatele.

9. S-au măsurat parametrii caracteristici ai CMAP și ai neuroexcitabilității periferice la 60' , 120' , 180' , 240' și 300' de la momentul administrării blocantului canalului de sodiu.

10. La 60 și 120 minute de la injectare, caracteristicile latenței și amplitudinii CMAP nu înregistrează diferențe semnificative statistic între loturile experimentale ($p=0.584$ respectiv 0,862) .

Parametrii neuroexcitabilității periferice – încep să se modifice, conturând o tendință de creștere a reobazei, nesemnificativă statistic ($p=0,285$) la lotul injectat cu doza terapeutică de blocant (10 mg) la 120 minute de la injectare . Pentru același interval, cronaxia are valori scăzute la lotul menționat anterior, diferența fiind înalt semnificativă – $p=0,007$.

11. Față de reobază, care înregistrează doar o „tendință” de creștere, menținută și consolidată la 180 minute după injectare cu doza de 10 mg, valorile medii ale cronaxiei scad, marcând o diferență foarte înalt semnificativă statistic, $p=0,0004$.

12. Ca și la celelalte intervale de timp, caracteristicile CMAP (latențe, amplitudini) nu au înregistrat modificări semnificative, spre deosebire de valorile parametrilor neuroexcitabilității periferice, la lotul injectat cu doza terapeutică de blocant nespecific, care au marcat modificări înalt semnificative , în cazul reobazei ($p=0,002$) și foarte înalt semnificative pentru cronaxie $p=0,0002$ la 240 de minute de la administrarea drogului.

13. După intervalul de 300 de minute de la injectare, animalele lotului cu doză terapeutică prezintă modificări foarte înalt semnificative în cazul reobazei ($p=0,0013$) care crește și se păstrează tendința de scădere a cronaxiei aproape de limita de semnificație stabilită ($p=0,06$).

14. Analizând corelativ modificările valorilor parametrilor neuroexcitabilității periferice cu concentrațiile plasmatiche ale blocaților canalelor de sodiu, valorile reobazei sunt corelate cu doza terapeutică administrată, coeficientul de corelație fiind semnificativ $-r= 0,62$ la lotul tratat cu doza terapeutică.

În cazul valorilor cronaxiei, se înregistrează o corelație inversă cu concentrațiile plasmatiche ale drogului ($r=-0.94$) la același lot injectat cu 10 mg carbamazepină.

Teza constituie un studiu complex al neuroexcitabilității periferice, utilizând metode de explorare funcțională ușor aplicabile în clinică, contribuind astfel la creșterea eficienței monitorizării neuropatiei diabetice și a terapiei acesteia. Fiecare etapă a studiului, clinică și experimentală, a contribuit la evidențierea particularităților neuroexcitabilității periferice:

- La pacienții diabetici, se pot identifica modificări de conductanță electrică chiar și în cazul neuropatiei subclinice;
- În etapa experimentală, s-au identificat modificări specifice ale excitabilității sistemului nervos periferic, corelate atât cu doza administrată, cât și cu concentrația sanghină a blocantelor canalelor de sodiu.

Astfel, această etapă a studiului se conturează ca un complex de testare paraclinică, neinvazivă, a eficienței terapiei cu blocante ale canalelor de sodiu.

Din cele expuse anterior, cercetările întreprinse în cazul tezei de față se constituie într-un studiu complex al testării neuroexcitabilității periferice la pacienții cu diabet zaharat tip II – investigație efectuată în premieră la nivel național. Acest caracter se alătură și cercetării experimentale, de asemenea realizată doar de noi la nivel național.

Menționările anterioare evidențiază aspectele originale, caracteristice cercetărilor întreprinse în studiul de față.

2.5. Bibliografie selectivă

(din totalul de 215 titluri bibliografice)

1. Antzelevitch, C.; Nesterenko, V.; Shryock, J. C.; Rajamani, S.; Song, Y.; Belardinelli, L. The role of late I Na in development of cardiac arrhythmias. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2014, 221, 137–168.
2. Bennett, D. L.; Woods, C. G. Painful and painless channelopathies. *Lancet Neurol.* 2014, 13 (6), 587–599.
3. Black, J. A.; Waxman, S. G. Noncanonical roles of voltage-gated sodium channels. *Neuron* 2013, 80 (2), 280–291.
4. Burke D, Kiernan MC, Bostock H, Excitability of human axons, *Clinical Neurophysiology* 112 (2001) 1575-1585.
5. Cappelen-Smith C, Kuwabara S, Lin CS, Mogyoros I, Burke D, Activity-dependent hyperpolarization and conduction block in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, *Ann Neurol.* 2000 Dec;48(6):826-32.
6. Catterall, W. A. Sodium channels, inherited epilepsy, and antiepileptic drugs. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2014, 54, 317–338.
7. Eijkelkamp, N.; Linley, J. E.; Baker, M. D.; Minett, M. S.; Cregg, R.; Werdehausen, R.; Rugiero, F.; Wood, J. N. Neurological perspectives on voltage-gated sodium channels. *Brain* 2012, 135, 2585–2612.

8. Kaji Ryuji, Hugh Bostock, Nobuo Kohara, et al., Activity-dependent conduction block in multifocal motor neuropathy. *Brain* (2000), 123, 1602–1611.
9. Kiernan MC, Bostock H. Effects of membrane polarization and ischaemia on the excitability properties of human motor axons. *Brain* 2000; 123:2542-2551.
10. Misawa Sonoko, Satoshi Kuwabara, Kazuaki Kanai, Noriko Tamura, Miho Nakata, Kazue Ogawara, Kazuo Yagui, Takamichi Hattori, Nodal persistent NaC currents in human diabetic nerves estimated by the technique of latent addition, *Clinical Neurophysiology* 117 (2006) 815–820.
11. Nelson, M.; Millican-Slater, R.; Forrest, L. C.; Brackenbury, W. J. The sodium channel β 1 subunit mediates outgrowth of neurite-like processes on breast cancer cells and promotes tumor growth and metastasis. *Int. J. Cancer* 2014, 135 (10), 2338–2351.
12. Ruiz, ML and Kraus RL, Voltage-Gated Sodium Channels: Structure, Function, Pharmacology, and Clinical Indications, *J. Med. Chem.* 2015, 58, 7093–7118.
13. Sahin O, Mandriota N, Molina JJ, Tatem K, Relating Local Nanomechanical Response of Cells to Intracellular Forces and Cell Morphology, *Biophysical J.*, 2015, 108(2):p140a.
14. Waxman SG, Ritchie JM., Molecular dissection of the myelinated axon, *Ann Neurol.* 1993 Feb;33(2):121-36.