

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „CAROL
DAVILA”, BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

FIZIOLOGIE



*Modificări funcționale cerebrale induse de
diabetul zaharat*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. ZĂGREAN LEON

Student-doctorand:

Pârvu (căs. Iliescu) Daniela Adriana

2018

CUPRINS

INTRODUCERE	8
PARTEA GENERALĂ.....	11
1. DIABETUL ZAHARAT	11
1.1 Diabetul zaharat – definiție, introducere	11
1.2 Fiziopatologia și complicațiile din diabetul zaharat.....	12
1.3 Modele de inducere ale diabetului zaharat la animale.....	17
1.4 Diabetul zaharat indus chimic prin streptozotocină: mod de administrare, mecanism de acțiune	20
1.5 Profilul biochimic al șobolanului cu diabet zaharat indus de streptozotocină	21
1.6 Implicații cerebrale ale diabetului zaharat	23
2. EXPLORĂRI ELECTROFIZIOLOGICE CEREBRALE UTILIZATE ÎN EVALUAREA DIABETULUI ZAHARAT EXPERIMENTAL.....	27
2.1 Electroencefalograma	27
2.1.1 Aspecte generale.....	27
2.1.2 Stadiile somnului	30
2.1.3 Condiții patologice și farmacologice care influențează electroencefalograma	32
2.2. Potențiale evocate vizual	33
2.2.1 Aspecte generale.....	33
2.2.2 Sursa neuronală a potențialului evocat vizual	34
2.2.3 Tipuri de potențiale evocate vizual.....	35
2.2.4 Tehnica de înregistrare a potențialului evocat vizual	37
2.3 Influența anesteziei asupra electroencefalogramei și a potențialelor evocate vizual.	38
2.4 Sevofluran	41
2.4.1 Mod de administrare	41
2.4.2 Mecanism de acțiune	42
2.4.3 Supresia corticală indusă de sevofluran.....	44
2.5 Impactul diabetului zaharat asupra electroencefalogramei și a potențialelor evocate vizual.....	45
3. ELECTRORETINOGRAMA ÎN DIABETUL ZAHARAT.....	49
3.1 Electroretinograma	49
3.1.1 Aspecte generale.....	49

3.1.2 Electroretinograma în câmp total	49
3.1.2 Electroretinograma de tip pattern (PERG).....	51
3.1.3 Electroretinograma multifocală (ERGmf)	52
3.2 <i>Retinopatia diabetică</i>	53
3.2.1 Definiție	53
3.2.2 Clasificare	54
3.2.3 Evaluare electroretinografică a retinopatiei diabetice	55
3.3 <i>Testul la fotostres</i>	57
3.3.1 Definiție	57
3.3.2 Evaluare electroretinografică a testului la fotostres	58
3.4 <i>Fotostresul în diabetul zaharat</i>	60
3.5 <i>Precondiționarea anestezică ca agent protector retinian</i>	61
PARTEA SPECIALĂ	64
4. IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE	64
5. METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII.....	66
5.1 <i>Tehnica de inducere a diabetului zaharat la șobolani</i>	66
5.2 <i>Evaluarea glicemiei, profilului lipidic, greutății și frecvenței cardiace după inducerea diabetului zaharat cu streptozotocină la șobolani</i>	68
5.2.1 Materiale și metode.....	68
5.2.2 Rezultate.....	69
5.3 <i>Analiza statistică a datelor</i>	72
6. ANALIZA ELECTROENCEFALOGRAFICĂ A ACTIVITĂȚII CORTICALE SPONTANE ȘI EVOCATE DE STIMULI VIZUALI ÎN ANESTEZIA PROFUNDĂ CU SEVOFLURAN LA ȘOBOLANI.....	73
6.1 <i>Introducere</i>	73
6.2 <i>Materiale și metode</i>	74
6.3 <i>Rezultate</i>	77
6.4 <i>Discuții și concluzii</i>	89
7. EFECTELE ANESTEZIEI CU SEVOFLURAN ASUPRA ELECTROENCEFALOGramei ȘI REACTIVITĂȚII CORTICALE LA STIMULI LUMINOȘI LA ȘOBOLANI DIABETICI	92
7.1. <i>Introducere</i>	92
7.2. <i>Materiale și metode</i>	93
7.3 <i>Rezultate</i>	96
7.4 <i>Discuții</i>	107

8. INFLUENȚA PROFUNZIMII ANESTEZICE CU SEVOFLURAN ASUPRA POTENȚIALELOR EVOCATE VIZUAL ȘI ELECTRORETINOGRAMEI LA ȘOBOLANI CU DIABET ZAHARAT	111
8.1. <i>Introducere</i>	111
8.2. <i>Materiale și metode</i>	112
8.3. <i>Rezultate</i>	116
8.4. <i>Discuții</i>	122
9. EFECTELE PRECONDIȚIONĂRII ANESTEZICE CU SEVOFLURAN ASUPRA UNUI MODEL DE DEGENERESCENTĂ RETINIANĂ INDUSĂ DE FOTOSTRES LA ȘOBOLANI CU DIABET ZAHARAT ..	126
9.1. <i>Introducere</i>	126
9.2. <i>Materiale și metode</i>	131
9.3. <i>Rezultate</i>	136
9.4. <i>Discuții</i>	142
CONCLUZII FINALE ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE	145
BIBLIOGRAFIE.....	149
ANEXE.....	184

LISTĂ CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

ARTICOLE IN EXTENSO

1. **Iliescu DA**, Ciubotaru A, Ghiță MA, Păun AM, Ion T, Zăgrean L. Electrophysiologic evaluation of the visual pathway at different depths of sevoflurane anesthesia in diabetic rats. Rom J Ophthalmol. 2018 Jan-Mar;62(1):34-41 (BDI – Pub Med). PMID: 29796432 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29796432>

2. **Iliescu DA**, Ciubotaru A, Ghiță MA, Dumitru A, Zăgrean L. Effect of sevoflurane preconditioning on light-induced retinal damage in diabetic rats. Rom J Ophthalmol. 2018 Jan-Mar;62(1):24-33 (BDI – Pub Med). PMID: 29796431 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29796431>

PREZENTĂRI ORALE LA CONGRESE NAȚIONALE

1. **Iliescu Daniela Adriana**, Ghiță Aurelian Mihai, Smochină Vlad Andrei, Ciubotaru Alexandra, Păun Adrian, Zăgrean Leon. Effect of sevoflurane preconditioning in light-induced retinal damage. Congresul Universității de Medicină și Farmacie Carol Davila, ediția a V-a, București 29-31 Mai 2017. Abstract publicat în Maedica a Journal of Clinical Medicine, vol.12, Supplement, pag.12

2. Ghiță Aurelian Mihai, **Iliescu Daniela Adriana**, Pavel Bogdan, Pâslaru Alexandru, Zăgrean Leon. EEG visual evoked responses under sevoflurane anesthesia induction. The XXVIIth National Conference of Physiology of the Romanian Physiology Society, București 5-7 Iunie 2014. Abstract publicat în Fiziologia 2014 Supplement, pag.9-10

POSTERE LA CONGRESE NAȚIONALE

1. **Iliescu Daniela Adriana**, Ciubotaru Alexandra, Ghiță Aurelian Mihai, Zăgrean Leon. Effect of sevoflurane preconditioning on light-induced retinal damage in diabetic rats. The 8th Conference of the National Neuroscience Society of Romania. Craiova 19-21 Octombrie 2017. Abstract publicat în Fiziologia 2017 Supplement 2, pag.32

2. **Iliescu Daniela Adriana**, Ghiță Aurelian Mihai, Păun Adrian, Smochină Vlad Andrei, Ciubotaru Alexandra, Zăgrean Leon. Electrophysiologic evaluation of the visual pathway at different levels of sevoflurane anesthesia. Congresul Universității de Medicină și Farmacie

Carol Davila, ediția a V-a, București 29-31 Mai 2017. Abstract publicat în *Maedica a Journal of Clinical Medicine*, vol.12, Supplement, pag.88

3. **Iliescu Daniela Adriana**, Ghiță Aurelian Mihai, Georgescu Laura Elena, Smochină Vlad Andrei, Zăgrean Leon. EEG pattern during prolonged sevoflurane induction in rats. The 7th Conference of the National Neuroscience Society of Romania, București 24-26 Noiembrie 2016. Abstract publicat în *Fiziologia 2016 Supplement*

4. **Iliescu Daniela Adriana**, Georgescu Laura Elena, Puiu Paul, Ghiță Aurelian Mihai, Zăgrean Leon. Neuromonitorizarea inducției anestezice cu sevofluran la șobolani – analiza potențialelor evocate vizual. Congresul Anual al Asociației Medicale Române, București 16-18 Aprilie 2015. Abstract publicat în *Revista Medicală Română*, vol.12, Supliment 1, pag.69-70

Mențiune

Această lucrare doctorală a fost cofinanțată în cadrul Programului Operațional Sectorial pentru Dezvoltarea Resurselor Umane (POSDRU), finanțat din Fondul Social European și Guvernul României prin contractul nr. POSDRU/151/1.5/S/141531

INTRODUCERE

Prevalența diabetului la nivel global este în creștere cu o rată alarmant de mare, devenind o cauză majoră de morbiditate și mortalitate pentru populația tânără și de vârstă medie, nu doar pentru cea vârstnică. Cauza majoră a acestei creșteri epidemiologice este modificarea tiparelor de alimentație și lipsa activității fizice, ca dovadă fiind prevalența mai mare a diabetului în mediul urban (Anees AS, 2013). În acest context, complicațiile cerebrale ce apar în diabetul zaharat determină o problemă de sănătate globală deosebit de importantă având în vedere asocierea dintre diabet și accidentele vasculare cerebrale, deficitul cognitive, atrofia cerebrală, neurodegenerescența sau demența asociată bolii Alzheimer. Pe lângă acestea, neuropatia sistemului nervos central poate duce în final la cecitate, hipoacuzie, pierderea sensibilității și la alte complicații majore debilitante.

Motivația alegerii acestei teme se datorează faptului că studiile electrofiziologice efectuate până în prezent nu au elucidat complet modificările cerebrale ce apar în diabet. Alterările funcționale, precoce ale sistemului nervos central induse de diabet nu au fost clar definite în raport cu metologia utilizată. Astfel relația dintre explorările neuroelectrofiziologice și diabetul zaharat în contextul utilizării anesteziei rămâne un capitol ce trebuie definit, mai ales datorită utilizării de substanțe anestezice noi. Importanța și actualitatea temei este dată de creșterea epidemică a incidenței diabetului și de necesitatea cunoașterii în profunzime a alterărilor cerebrale ce apar în diabet, evaluarea precoce a acestor complicații fiind deosebit de importantă în managementul terapeutic al bolii.

Obiectivul principal al acestei lucrări este determinarea modificărilor funcționale ale sistemului nervos central monitorizate prin explorări precum electroencefalograma, potențialele evocate vizual sau electroretinograma ce apar la un model experimental de diabet zaharat. În aceeași teză am stipulat influența pe care anestezia cu sevofluran o are asupra acestor investigații, întrucât acestea sunt utilizate adesea în practica curentă în departamentul de neurochirurgie în timpul intervențiilor chirurgicale. De asemenea potențialele evocate vizual și electroretinograma sunt utilizate frecvent în domeniul oftalmologiei și necesită anestezie în cazul investigațiilor efectuate la copii. Teza de față își propune astfel să ofere dovezi ale afectării precoce a sistemului nervos central în boala diabetică. În prima parte a părții speciale sunt abordate în detaliu modificările electroencefalografice ale activității corticale spontane sau evocate care apar în anestezia medie și profundă cu sevofluran la

șobolanii fără diabet zaharat, întrucât nu există studii suficiente care să clarifice acest aspect. Urmează apoi două capitole ce descriu alterările electroencefalografice și ale reactivității corticale la stimuli luminoși și modificarea potențialelor evocate vizual și a electroretinogramei la șobolanii diabetici în raport cu diferite nivele ale profunzimii anestezice cu sevofluran. În final sunt abordate modificările electroretinografice, în corelație cu analiza histologică a secțiunilor retiniene, ce apar la diabetici după expunerea la fotostres. Suplimentar sunt investigate ca perspectivă pentru o terapie alternativă, efectele preconditionării anestezice cu sevofluran asupra unui model de degenerescență retiniană indusă de fotostres la șobolani cu diabet zaharat.

Metodologia cercetării științifice cuprinde tehnica de inducere a diabetului la șobolani rasa Wistar. Pentru toate părțile experimentale ale acestei teze s-a utilizat același model de inducere a diabetului care a presupus injectarea intraperitoneală de streptozotocină. În urma acestei manevre au rezultat animale care au dezvoltat diabet cu glicemii foarte mari. Valoare glicemică și greutatea au fost monitorizate la intervale regulate. Suplimentar au fost descrise și profilul lipidic, greutatea și frecvența cardiacă la acest model animal cu inducere chimică a diabetului zaharat. Pentru monitorizarea electroencefalografică și a potențialelor evocate vizual s-au efectuat implanturi electrocorticografice cu electrozi iar pentru electroretinogramă am utilizat un set-up special adaptat rozătoarelor ce a presupus aplicarea unui electrod activ la nivel cornean.

Pentru a demonstra obiectivul general științific al tezei doctorale au fost analizați mulți parametri și comparați între loturile diabetice și control. Investigațiile electroencefalografice au presupus analiza nivelului de supresie corticală (prin calcularea burst-suppression ratio, a amplitudinii și duratei burst-urilor, analiza spectrală a semnalului) pentru activitatea spontană și evocată de stimuli vizuali pentru 4 nivele diferite de profunzime anestezică cu sevofluran. Pentru potențialele evocate vizual și electroretinograma au fost analizate latențele și amplitudinea undelor componente înregistrate sub sevofluran 2%, 4%, 6% și 8%. Ultima parte experimentală a cuprins 4 loturi de animale: 2 grupuri diabetice și 2 nediatectice (expuse doar la fotostres sau la fotostres și preconditionare anestezică cu sevofluran) în care s-au analizat modificările de morfologie a electroretinogramei (latență și amplitudine) însoțite de descrierea alterărilor histologice ale straturilor retinei.

Caracterul interdisciplinar al tezei de doctorat reiese din abordarea multilaterală a studiului ce include mai multe părți și modele experimentale efectuate în condiții diferite.

Subiectul abordat este de interes pentru numeroase specialități medicale: diabetologie, neurologie, neurochirurgie, oftalmologie și anestezie.

Această teză de doctorat este structurată în două părți: partea generală ce cuprinde date din literatură prezentate într-o manieră integrativă care sintetizează aspectele cele mai importante ale fiziopatologiei, implicațiilor cerebrale ale diabetului și ale modelului experimental animal de diabet zaharat. De asemenea în partea generală sunt evidențiate informații actualizate din literatură asupra electroencefalogrammei, potențialelor evocate vizual și electroretinogrammei. A doua parte a tezei de doctorat este reprezentată de partea specială care cuprinde 6 capitole. Primele două capitole din partea specială cuprind ipoteza de lucru și obiectivele generale, și metodologia generală a cercetării care abordează modelul experimental animal de inducere a diabetului, comun pentru toate experimentele efectuate. Ultimele capitole din partea specială cuprind 4 părți experimentale, pentru fiecare dintre acestea fiind detaliate o scurtă introducere, materialele și metodele, rezultatele și discuțiile. În final sunt prezentate concluziile finale și contribuțiile personale.

PARTEA SPECIALĂ

Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Diabetul zaharat este o boală metabolică ce poate afecta populația de toate vârstele, și a cărei prevalență este în creștere rapidă. În anul 2011 au fost estimate 366 milioane de persoane care suferă de diabet, dintre aceștia 90% având diabet zaharat tip 2 (Chen L, 2011). În anul 2030 se estimează că prevalența va ajunge la 552 milioane de persoane, valoarea reprezentând 4.4% din populație (Wild S, 2004). Studiile anterioare au arătat o afectare puternică cerebrală la pacienții diabetici manifestată prin apariția deficitelor cognitive, atrofiei cerebrale, accidentelor vasculare cerebrale, demențelor și neurodegenerării. De asemenea efectele anesteziei la nivel cerebral prezintă o dinamică diferită la pacienții diabetici. Scopul acestei cercetări este de a investiga modificările funcționale ale sistemului nervos central determinate de diabet la un model animal de șobolan indus prin injectarea de streptozotocină. Printre obiectivele tezei de doctorat se numără următoarele:

1. Caracterizarea biochimică și a dinamicii diabetului la un model de șobolan Wistar indus prin injectarea intraperitoneală de streptozotocină.

2. Analiza electroencefalografică a activității cerebrale la șobolanii cu diabet zaharat comparativ cu controlul și evaluarea efectelor nivelelor diferite de profunzime anestezică în cazul anesteziei inhalatorii cu sevofluran.
3. Analiza reactivității corticale la stimuli luminoși la animalele diabetice pentru diferite nivele de profunzime anestezică cu sevofluran.
4. Caracterizarea parametrilor potențialelor evocate vizual și electroretinogramei în anestezia cu sevofluran și analiza modificărilor apărute în diabet.
5. Analiza influenței diabetului la un model de degenerescență retiniană indusă de fotostres (prin expunerea la lumină puternică ce generează efecte fototoxice) și evaluarea condiționării anesteziei cu sevofluran în acest caz.

În final prin obiectivele atinse am dorit să caracterizez impactul pe care diabetul zaharat îl are asupra sistemului nervos central prin explorări electrofiziologice precum electroencefalograma, potențialele evocate vizual sau electroretinograma, să analizez influența diferitelor profunzimi anestezice în cazul anesteziei cu sevofluran (unul din cele mai actuale anestezice inhalatorii utilizate în practica clinică) asupra dinamicii investigațiilor precum și efectele condiționării anestezice în degenerescența retiniană indusă de fotostres la modelul animal de diabet descris.

Metodologia generală a cercetării

Pentru toate experimentele descrise s-a respectat următorul protocol de inducere a diabetului zaharat la șobolani masculi, rasa Wistar. Animalele utilizate pentru experimentele din această teză de doctorat au fost preluate din biobaza Universității de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, România. Experimentele s-au efectuat pe animale cu greutate de 300 g și vârstă aproximativă de 3 luni. Animalele au fost ținute în cutii individuale, transparente de policarbonat, temperatura din încăperea s-a menținut între 21-25° C și au avut un ciclu de lumină/întuneric de 12 ore. Accesul la apă și hrană a fost ad libitum.

Inducerea diabetului s-a realizat prin injectarea intraperitoneală de streptozotocină (SIGMA-Aldrich, St Luis, MO, Streptozocin $\geq 75\%$ α -anomeri, $\geq 98\%$ (HPLC), pulbere) diluată într-o soluție de buffer citrat cu pH 4.5 de 1 ml. Injectarea soluției s-a efectuat după cântărirea animalelor iar doza utilizată a fost de 50 mg/Kg corp. Pentru o eficiență maximă, animalele au fost injectate după o perioadă de post alimentar de 12 ore.

Monitorizarea glicemiei s-a efectuat cu ajutorul glucometrului (ACCU-CHEK Performa Nano; Roche, Germany). Pentru animalele diabetice, monitorizarea glicemiei s-a efectuat la 2 zile de la injectarea streptozotocinei, și apoi la 2 săptămâni. Pentru ultima parte

experimentală a tezei, care a presupus inducerea diabetului la șobolani cu degenerescență retiniană indusă de fotostres, monitorizarea glicemiei s-a efectuat a doua zi de la injectarea streptozotocinei, apoi la 4 săptămâni, și în aceeași zi cu înregistrările electroretinografice.

Șobolani cu valori sub 300 mg/dl au fost excluși din studiu întrucât s-au considerat ca fiind nediabetici. Șobolani cu valori glicemice peste 600 mg/dl au fost de asemenea excluși din studiu datorită mortalității foarte ridicate la scurt timp de la inducerea diabetului.

- Evaluarea glicemiei, profilului lipidic, greutateii și frecvenței cardiace după inducerea diabetului zaharat cu streptozotocină la șobolani:

La animalele diabetice, glicemia a atins valori de aproximativ 500 mg/dl a doua zi după injectarea streptozotocinei. Aceasta a scăzut apoi progresiv însă scăderea a fost minimă, la finalul studiului glicemiile având valori medii de peste 480 mg/dl. La 10 săptămâni de la inducerea diabetului zaharat, animalele din lotul diabetic au prezentat o creștere semnificativă statistic a colesterolului total (160.3 mg/dl pentru lotul control vs. 176 mg/dl pentru lotul diabetic) în timp ce trigliceridele nu au atins o diferență semnificativă statistic între lotul control și diabetic (197.3 mg/dl vs. 198 mg/dl). Șobolani din grupul control au înregistrat o creștere progresivă a greutateii pe parcursul studiului și odată cu avansarea în vârstă. Animalele din lotul diabetic, au scăzut în greutate progresiv după injectarea streptozotocinei. Această scădere în greutate a fost însoțită de polidipsie și poliurie imediat după inducerea diabetului. La finalul studiului, după 12 săptămâni de diabet, greutatea animalelor a scăzut semnificativ, atingând valoarea minimă a greutateii înregistrată și a fost asociată unei mortalități ridicate a animalelor. Atât pentru lotul control cât și diabetic am observat o scădere a frecvenței cardiace odată cu creșterea concentrației inhalatorii de sevofluran. În cadrul aceleiași concentrații anestezice, sevofluranul scade progresiv frecvența cardiacă pe parcursul înregistrării de epoci succesive. Comparativ cu lotul control, animalele diabetice au avut o frecvență cardiacă medie mai scăzută.

STUDIUL I

Analiza electroencefalografică a activității corticale spontane și evocate de stimuli vizuali în anestezia profundă cu sevofluran la șobolani

În această parte experimentală, am investigat efectele anesteziei cu sevofluran (la concentrații inhalatorii de 4%, 6% și 8%) asupra electroencefalogramei și răspunsului cortical

produs de stimularea vizuală de tip flash luminos la șobolani. Este important să înțelegem dacă stimularea senzorială are acces la nivel cortical în diferite stadii anestezice. Se cunoaște faptul că sevofluranul suprimă activitatea EEG de fundal. Creșterea concentrațiilor de anestezie determină progresia EEG-ului de la unde lente spre pattern burst-suppression și linie izoelectrică (Osawa M, 1994) (Kenny JD, 2014) (Scheller MS, 2014) (Murrell JC, 2008).

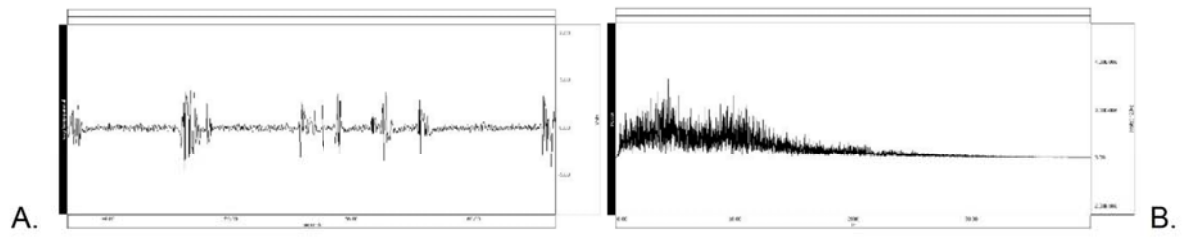
EEG-ul a fost înregistrat sub cele trei concentrații inhalatorii de sevofluran: 4%, 6% și 8% în zile diferite. Pentru fiecare concentrație anestezică au fost înregistrate 2 trasee EEG separate, unul ce a monitorizat activitatea corticală spontană și al doilea înregistrat în timpul stimulării vizuale de tip flash. EEG-ul a fost subdivizat în epoci de 5 minute și analizat.

Rezultate:

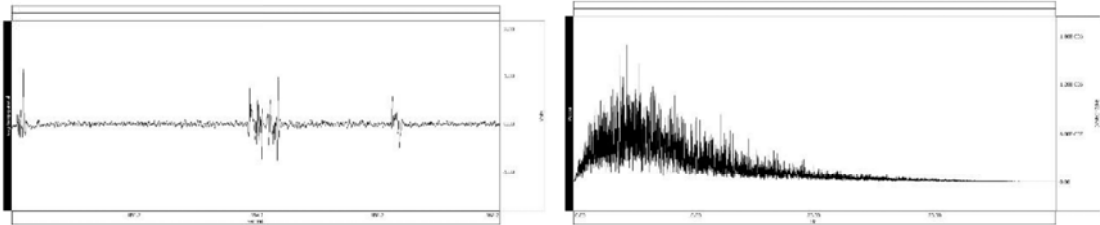
1. Analiza EEG a activității corticale spontane în timpul anesteziei profunde cu sevofluran

Sevofluranul a produs supresia activității electroencefalografice pentru toate concentrațiile anestezice studiate și apariția pattern-ului de tip burst-suppression. Analiza bursturilor a arătat modificări dependente de doză. Numărul de burst-uri pe epocă a scăzut pentru epoci consecutive ale aceluiași nivel anestezic dar și odată cu creșterea profunzimii anestezice. Durata medie a burst-urilor nu a fost diferită semnificativ statistic între epoci pentru niciuna din concentrațiile anestezice studiate. Când durata medie a burst-urilor a fost comparată între sevofluran 4%, 6% și 8%, aceasta a scăzut corespunzător. Amplitudinea medie a burst-urilor a crescut cu creșterea concentrației de sevofluran însă nu a fost modificată statistic semnificativ între diferite epoci pentru sevofluran 4%. Sub anestezie cu sevofluran 6%, amplitudinea burst-urilor a crescut pentru epoci succesive înregistrate. Augmentarea amplitudinii burst-urilor a ajuns la valori maxime sub sevofluran 8%. Această activitate de tip burst de amplitudine mare a apărut în sincronitate pentru ambele derivații corticale înregistrate. Burst-suppression ratio (BSR) a crescut statistic semnificativ odată cu creșterea dozei de sevofluran.

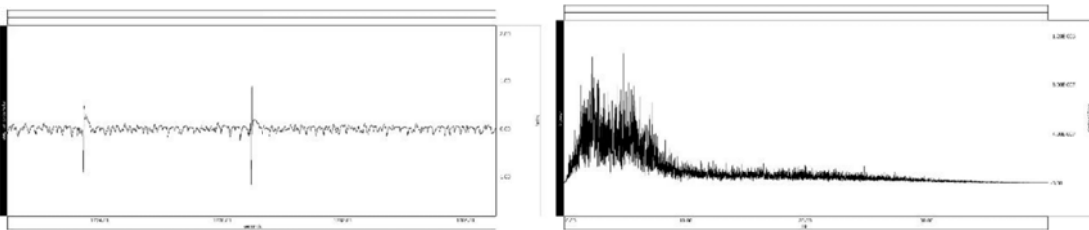
Sevofluran 4%



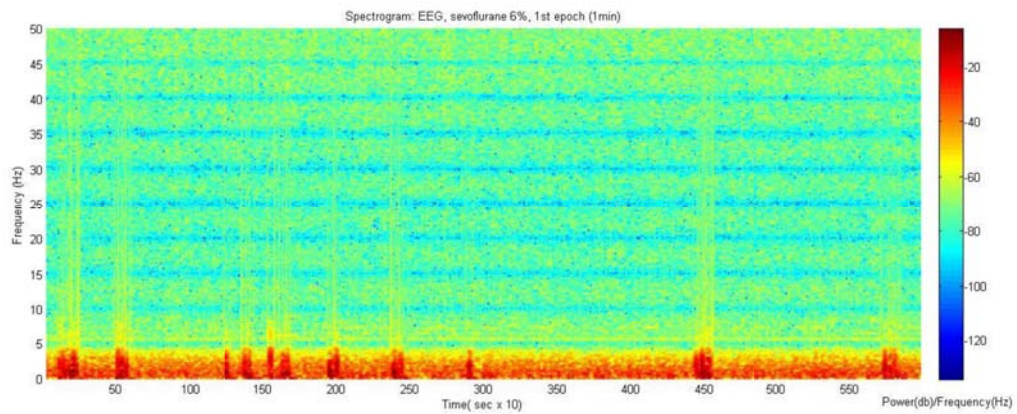
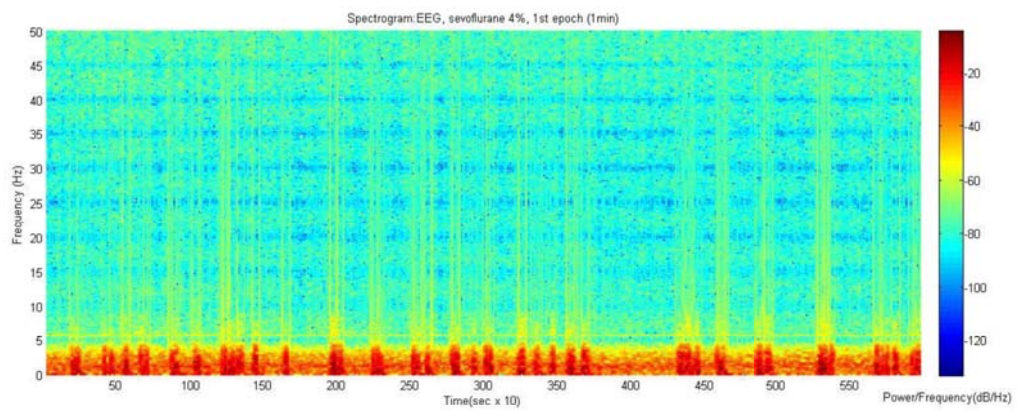
Sevofluran 6%



Sevofluran 8%



C.



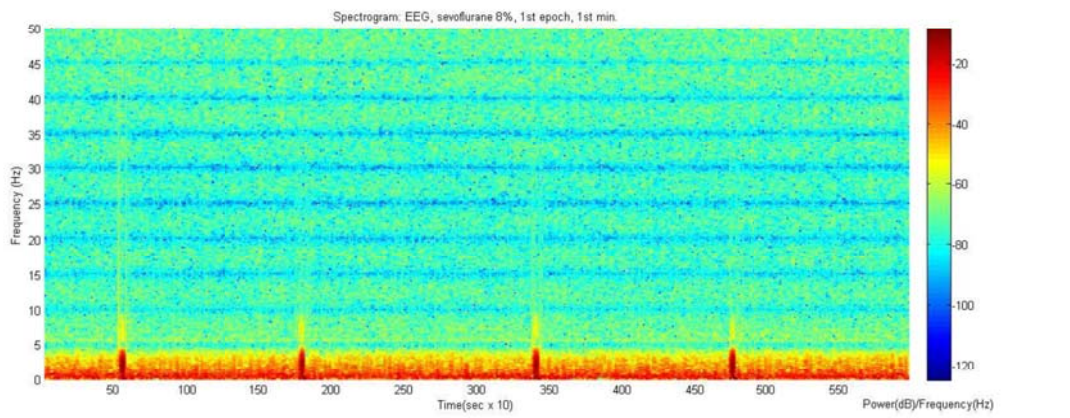


Fig. 1. (A) Înregistrare EEG corticală spontană, (B) PSD (densitatea puterii spectrale) rezultată din analiza spectrală a EEG-ului pentru o bandă de frecvență 0-40Hz și (C) spectrograme de la un animal expus la sevofluran în concentrații anestezice diferite (4%, 6% și 8%). Creșterea dozelor de sevofluran produce pattern de tip burst-suppression cu perioade lungi de linie izoelectrică și bursturi de amplitudine mare. Sevofluranul induce bursturi cu putere crescută pentru frecvențele 1-10 Hz.

2. Analiza EEG a activității corticale evocată de stimuli vizuali în anestezia profundă cu sevofluran

Burst-urile dependente de stimuli (generate în primele 0.5 s de la debutul stimulului) și cele spontane au fost înregistrate pentru toate concentrațiile de sevofluran în timpul stimulării vizuale de tip flash luminos. De asemenea au fost înregistrate potențiale evocate vizual ce au apărut înaintea generării burst-ului. În timpul perioadelor de supresie, stimularea vizuală care nu generează un burst, determină apariția unui potențial evocat vizual vizibil fără mediere. Procentul de stimuli luminoși care a generat burst-uri a scăzut pentru epoci succesive în timpul anesteziei cu sevofluran 4%. Când a fost comparată prima epocă EEG din cele trei concentrații de sevofluran, procentul de stimuli vizuali care au generat bursturi a crescut de la 4% la 6% sevofluran, unde a atins valoarea maximă, apoi a scăzut pentru anestezia cu sevofluran 8%. Raportul între burst-urile spontane și cele dependente de stimul a scăzut cu creșterea concentrației de sevofluran, dar nu s-a modificat statistic semnificativ între epoci. Pe măsură ce anestezia se aprofundează, burst-urile generate devin mai dependente de stimul, până ajung la o stare de excitabilitate corticală maximă atinsă în acest experiment în timpul anesteziei cu sevofluran 6%, apoi inhibiția predomină. Burst-urile spontane și cele dependente de stimul au durate similare pentru concentrațiile de sevofluran corespunzătoare. Asemenea burst-urilor spontane, durata celor dependente de stimul scade cu creșterea concentrației de sevofluran dar nu prezintă diferențe statistic semnificative între epoci.

Pentru amplitudinea burst-urilor declanșate în timpul stimulării vizuale a fost observată o creștere dependentă de doza anestezică. Amplitudinea maximă a burst-urilor a fost identificată în timpul anesteziei cu sevofluran 8%. Pe măsură ce anestezia se aprofundează, morfologia burst-urilor se modifică, devenind mai stabile.

STUDIUL 2

Efectele anesteziei cu sevofluran asupra electroencefalogramii și reactivității corticale la stimuli luminoși la șobolanii diabetici

Agenții anestezici produc dezechilibre hormonale, metabolice și hemodinamice cu impact puternic la nivel cerebral la pacienții diabetici cu homeostazie precară a glucozei (McAnulty GR, 2000). Studiile efectuate pe anestezice inhalatorii au arătat faptul că acestea inhibă răspunsul secreției de insulină la glucoză într-o manieră reversibilă și dependentă de doza administrată (McAnulty GR, 2000) (Desborough JP, 1993).

Studiul acesta își propune să evalueze efectele anesteziei cu sevofluran (unul din cele mai actuale anestezicele inhalatorii utilizate în practica clinică) asupra EEG-ului și reactivității corticale la stimuli luminoși în cazul șobolanilor cu diabet indus prin injectarea de streptozotocină. În prezent nu există studii care să demonstreze efectele anestezicelor inhalatorii, în mod special ale sevofluranului asupra activității electrofiziologice cerebrale la diabetici. Aceste efecte au fost parțial studiate doar la subiecții sănătoși.

Studii electroencefalografice recente efectuate la pacienții diabetici care evaluează activitatea neuronală în stări de repaus au arătat o scădere a puterii spectrale pentru benzile delta (1-4 Hz) mai ales în ariile corticale frontale, și gamma (30-45 Hz) în cortexul central (Frøkjær JB, 2017). Pe lângă modificările cerebrale prezente la diabetici în stare de veghe, există studii care au demonstrat scăderea necesarului de anestezice inhalatorii la animalele cu hiperglicemie cronică, fapt asociat cu inhibiția activității ATP-azei de Ca^{2+} din membrana plasmatică sinaptică a creierului (Janicki PK, 1994). Necesarul de anestezice inhalatorii la pacienții diabetici este un aspect deosebit de important în managementul anestezic al acestora iar studiul prezent poate oferi informații relevante în acest sens prin evaluarea electroencefalografică a activității corticale și reactivității la stimuli în timpul anesteziei cu sevofluran la animalele diabetice.

Pentru acest studiu au fost utilizate două grupuri experimentale de șobolani Wistar: control și diabetic. Ambele grupuri au fost înregistrate electroencefalografic (activitate

spontană și evocată prin stimulare vizuală de tip flash) sub următoarele concentrații anestezice de sevofluran: 2%, 4%, 6% și 8%.

Rezultate:

1. Activitate EEG spontană

La animalele diabetice ca și în lotul control se menține aceeași tendință de creștere a BSR și amplitudinii și scădere a duratei burst-urilor odată cu creșterea concentrației anestezice de sevofluran. Când cele două loturi au fost comparate, BSR a fost mai crescută pentru lotul diabetic însă a atins semnificație statistică doar pentru concentrația inhalatorie de sevofluran de 2%. Amplitudinea medie a burst-urilor a fost mai scăzută la diabetici comparativ cu controlul sub sevofluran 2%, 4%, 6% și 8% ($p < 0.05$ doar pentru 2%). Durata medie a burst-urilor nu a variat însă statistic semnificativ între cele două loturi decât pentru înregistrările efectuate sub sevofluran 2% unde anestezia a fost mai superficială. Pentru lotul control, durata medie a burst-urilor sub sevofluran 2% a avut o valoare aproximativ dublă față de lotul diabetic. Diferențele au fost mult mai mici pentru celelalte nivele anestezice.

Analiza spectrală a EEG-ului în timpul activității corticale spontane înregistrată sub anestezie cu sevofluran 2% a arătat o scădere statistic semnificativă a FM (frecvenței mediane) și PF (frecvenței de vârf), de la aproximativ 4Hz la 3 Hz, respectiv de la 3.5 Hz la 1 Hz pentru lotul diabetic. SEF (frecvența de margine spectrală 90%) nu s-a modificat semnificativ între cele două loturi analizate, având o valoare medie de 14-15 Hz. PT (puterea totală) a semnalului, precum și puterea totală a benzilor delta și beta, au fost semnificativ mai crescute în lotul diabetic ($p < 0.001$). Puterile totale ale benzilor alpha și theta nu au fost diferite la animalele diabetice vs. cele din lotul control.

Analiza spectrală EEG (sevofluran 2%)

	GRUP	Medie	Deviație std.	Eroare std. medie	Valoare p (T-test)
FM (Hz)	CONTROL	4.24597	0.764774	0.241843	0.017
	DIABETIC	3.48807	0.894132	0.153342	
SEF (Hz)	CONTROL	14.27526	1.174518	0.371415	0.12
	DIABETIC	15.66044	2.670738	0.458028	
PF (Hz)	CONTROL	3.56271	1.876834	0.593507	0.002
	DIABETIC	1.09092	0.319214	0.054745	

PTdelta ($\mu V^2/Hz$)	CONTROL	116.0911	30.41736	5.21653	<0.001
	DIABETIC	141.8847	15.49283	3.55430	
PTalpha ($\mu V^2/Hz$)	CONTROL	34.0977	22.97664	3.94046	0.113
	DIABETIC	41.0876	7.78253	1.78543	
PTbeta ($\mu V^2/Hz$)	CONTROL	25.7716	19.22947	3.29783	<0.001
	DIABETIC	45.1480	7.95541	1.82510	
PTtheta ($\mu V^2/Hz$)	CONTROL	69.9089	38.28339	6.56555	0.221
	DIABETIC	61.0976	11.67195	2.67773	
PT ($\mu V^2/Hz$)	CONTROL	230.0246	81.45623	13.96963	<0.001
	DIABETIC	298.1082	33.81317	7.75727	

Tabel I. Analiza spectrală a semnalului EEG înregistrat sub anestezie cu sevofluran 2% pentru grupurile control și diabetic. FM – frecvență mediană, SEF – frecvență de margine spectrală, PF – frecvență de vârf, PT – putere totală. Testul T evaluează comparativ loturile control și diabetic. P este semnificativ statistic când are o valoare <0.05 (evaluat după testul lui Levene pentru egalitatea varianțelor - care a arătat dacă prezumția de omogenitate a fost respectată sau nu)

2. Activitate EEG evocată de stimuli vizuali

EEG-ul sub stimulare vizuală cu flash-uri de lumină albă a prezentat pentru ambele loturi studiate, pattern-uri de tip burst-suppression, cu perioade scurte de supresie pentru înregistrările efectuate sub sevofluran 2%. Supresia corticală înregistrată ca linie izoelectrică a crescut odată cu creșterea profunzimii anestezice de la concentrația de 2% la 8% sevofluran, astfel încât pentru concentrațiile de 6% și 8%, burst-urile generate au fost aproape în totalitate dependente de stimulul luminos. Pentru aceste concentrații anestezice specifice anesteziei foarte profunde sau comei anestezice, nu au mai fost înregistrate burst-uri spontane ci doar induse de stimuli vizuali. Pentru concentrația anestezică de 6% sevofluran, stimulii vizuali au generat burst-uri în raport de aproximativ 1:1. Pentru concentrația maximă administrată, de 8%, frecvența de apariție a burst-urilor a scăzut mai ales la animalele din lotul diabetic. Stimularea vizuală a determinat pe EEG perioade mai lungi de supresie corticală pentru lotul diabetic comparativ cu controlul. Creșterea progresivă a profunzimii anestezice a determinat creșterea amplitudinii și scăderea duratei burst-urilor înregistrate pe EEG în timpul stimulării vizuale pentru ambele loturi studiate. Animalele din lotul diabetic au avut o durată mai mică a burst-urilor comparativ cu lotul control ($p < 0.05$ pentru sevofluran 4%, 6% și 8%) pentru același nivel anestezic, cu excepția înregistrărilor sub sevofluran 2% unde valorile obținute nu au diferit statistic semnificativ. Odată cu creșterea concentrației anestezice, stimularea vizuală generează sub sevofluran 6% și 8%, burst-uri

scurte asemănătoare spike-urilor, ce prezintă frecvent morfologie similară, tipic compusă din 2 unde negative adânci, urmate de o deflexiune pozitivă largă. Amplitudinea burst-urilor a fost mai mică semnificativ statistic la șobolanii diabetici vs. control pentru înregistrările efectuate sub sevofluran 4%, 6% și 8%. Latența de apariție a burst-urilor a fost diferită în funcție de nivelul profunzimii anestezie. Astfel, pentru anestezia mai superficială (sevofluran 2% și 4%), animalele din lotul diabetic au avut o latență de apariție a burst-urilor mai mare comparativ cu controlul. Contrar, pentru anestezia foarte profundă (sevofluran 6% și 8%), latența a fost mai mică la diabetici. Pentru lotul control, când latența de apariție a burst-urilor în raport cu stimularea vizuală a fost comparată între cele 4 concentrații anestezie studiate, nu au fost observate diferențe statistic semnificative.

STUDIUL 3

Influența profunzimii anestezie cu sevofluran asupra potențialelor evocate vizual și electroretinogramei la șobolani cu diabet zaharat

Această parte experimentală își propune să investigheze influența diferitelor nivele anestezie determinate de sevofluran asupra funcției retinice și conducerii nervoase prin nervul optic la șobolanii cu diabet zaharat indus cu streptozotocină. Studiul cercetează modificările electrofiziologice reprezentate de potențialul evocate vizual (PEV) și electroretinogramă (ERG) determinate de diabetul zaharat sub anestezia cu sevofluran. Această necesitate apare în contextul în care mai mult de 60% dintre pacienții diabetici dezvoltă una din formele retinopatiei diabetice în prima decadă de la apariția bolii diabetice (Tarr JM, 2013) (Scheen AJ, 2003) (Kahn SE, 2014).

Pentru acest experiment am utilizat 16 șobolani Wistar de sex masculin. Animalele din studiu au fost împărțite în mod aleator și egal unuia din cele două grupuri experimentale: control și diabetic. Pentru fiecare din cele două grupuri am înregistrat ERG și PEV sub stimulare vizuală cu flash-uri de lumină albă în timpul anesteziei cu sevofluran la diferite concentrații anestezie inhalatorii: 2%, 4%, 6% și 8%. Pentru înregistrarea ERG-ului și a PEV am folosit electrozi confecționați dintr-un aliaj de nichel-crom (Ni80Cr20) cu diametru al firului de 0.15 mm. Electrozii pentru PEV au fost plasați la nivel cortical în următoarele poziții stereotaxice: 2 electrozi activi plasați 6 mm posterior de bregma și 4 mm lateral de

linia mediană, care se găsesc deasupra ariilor corticale occipitale dreaptă și stângă, și electrodul de referință plasat 7 mm anterior de bregmă pe linia mediană, deasupra bulbului olfactiv. Pentru înregistrarea ERG-ului am utilizat trei electrozi: electrodul activ poziționat în contact direct cu corneea ochiului stimulat, electrodul de referință poziționat la nivelul gurii șobolanului și electrodul de împământare la nivelul cozii. Prelucrarea datelor a presupus analiza amplitudinii și latenței undelor componente ale ERG-ului: unda a și unda b, și ale PEV: vârfurile N1, P1 și N2. Valorile obținute sub cele 4 concentrații anestezice de sevofluran au fost comparate între ele pentru loturile control și diabetic.

Rezultate:

Pentru toate concentrațiile testate de sevofluran, amplitudinea și latența undelor componente ale PEV și ERG au fost modificate în funcție de profunzimea anestezică. Odată cu creșterea profunzimii anestezice de la 2% la 8%, sevofluranul a determinat creșterea latențelor vârfurilor N1, P1 și N2 ale PEV într-o manieră progresivă. Când cele două grupuri au fost comparate între ele la același nivel de profunzime anestezică, latențele vârfurilor N1 și N2 au crescut statistic semnificativ la animalele diabetice la 10 săptămâni de la inducerea diabetului pentru concentrațiile de sevofluran studiate, cu excepția concentrației inhalatorii de 6% ($p > 0.05$). Pentru vârful P1, cel mai important din componența PEV, latența a crescut sub toate concentrațiile inhalatorii studiate. Pentru ambele grupuri studiate (control și diabetic) însă, augmentarea amplitudinii odată cu creșterea concentrației inhalatorii de sevofluran pentru toate concentrațiile studiate, a atins semnificație statistică numai pentru N1-P1. Pentru șobolanii din grupul diabetic, chiar dacă a fost observată tendința de creștere a amplitudinii odată cu profunzimea anestezică, când valorile amplitudinii N1-P1 obținute la același nivel anestezic au fost comparate cu cele din grupul control, acestea au scăzut semnificativ statistic.

Latențele undelor componente ale ERG-ului: "a" și "b" au crescut în ambele grupuri studiate, control și diabetic, odată cu creșterea profunzimii anestezice cu sevofluran într-o manieră progresivă (cu excepția latenței undei "a" din lotul control care între sevofluran 6% și 8% nu a înregistrat o creștere suplimentară sau o diferență statistic semnificativă). Pentru același nivel de profunzime anestezică, compararea celor două loturi a arătat creșterea latenței în grupul diabetic a undei "a" (semnificativ statistic pentru sevofluran în concentrații de 2%, 4% și 6%) și a undei "b" (semnificativ statistic pentru sevofluran în concentrație de 2% și 4%). Pe de altă parte, odată cu creșterea concentrației de sevofluran și a profunzimii

anestezice, amplitudinea a-b a scăzut. Diabetul a scăzut suplimentar amplitudinea pentru înregistrările sub sevofluran în concentrații de 6% și 8%.

STUDIUL 4

Efectele preconditionării anestezice cu sevofluran asupra unui model de degenerescență retiniană indusă de fotostres la șobolani cu diabet zaharat

Lezarea retiniană produsă de lumină reprezintă o complicație iatrogenă însemnată care se poate produce după intervențiile chirurgicale prelungite din domeniul oftalmologic. Astfel este necesară dezvoltarea strategiilor de atenuare sau prevenire a acestora în vederea protejării retinei. Obiectivul acestei părți experimentale a fost de a investiga efectul preconditionării anestezice cu sevofluran asupra unui model animal de degenerescență retiniană produsă de fotostres dezvoltat la șobolani Wistar și de a explora dacă anestezia inhalatorie cu sevofluran are efect protector asupra celulelor retiniene, la șobolani cu diabet sau din lotul control.

Pentru această parte experimentală am utilizat 20 de șobolani Wistar de sex masculin, cu greutate aproximativă de 350g și vârstă de 3 luni. Animalele au fost împărțite în mod egal și aleator în 4 grupuri experimentale: grupul control (animale ce au fost expuse doar la fotostres), grupul 1 (animalele au fost expuse la fotostres și preconditionare anestezică cu sevofluran), grupul 2 (animale diabetice ce au fost expuse la fotostres) și grupul 3 (animale diabetice ce au fost expuse la fotostres și preconditionare anestezică cu sevofluran). Evaluarea leziunilor retiniene induse de fotostres s-a realizat prin înregistrări electroretinografice înainte și după expunerea la fotostres și prin analiza histologică a retinei după sacrificarea animalelor.

Rezultate:

În acest studiu am evaluat diferențele electroretinografice între loturile diabetice și nediabetice după expunerea la fotostres, cu sau fără preconditionare anestezică cu sevofluran. Pentru măsurătorile ERG bazale nu am înregistrat diferențe statistice semnificative între control și celelalte grupuri experimentale. ERG-ul bazal nu a suferit modificări ale latenței undelor "a" și "b" pentru grupurile diabetice comparativ cu controlul (pentru grupurile

diabetice ERG-ul bazal a fost înregistrat la 4 săptămâni de la injectarea intraperitoneală de streptozotocină). Amplitudinea a-b a ERG-ului a avut o ușoară scădere pentru grupurile diabetice dar aceasta nu a atins semnificație statistică.

Amplitudinea a-b a electroretinogramei a scăzut statistic semnificativ ($p < 0.05$) după expunerea la fotostres atât în grupul control cât și în grupul 2 (animale diabetice). Această scădere a fost mult mai marcată pentru animalele diabetice. În grupul experimental 1 (animale ce au fost preconditionate cu sevofluran înaintea expunerii la fotostres) ERG-ul nu a scăzut în amplitudine statistic semnificativ după expunerea la fotostres, comparativ cu înregistrarea bazală. În schimb animalele din grupul 3 (animale diabetice ce au fost de asemenea preconditionate anesteziac) au prezentat o scădere semnificativă a amplitudinii ERG după expunerea la fotostres, comparativ cu înregistrările bazale. Pentru toate grupurile analizate, amplitudinea medie electroretinografică a fost similară după expunerea la fotostres la 36 h și 14 zile post-fotostres. Latențele undelor componente ale electroretinogramei: "a" și "b" nu au fost modificate statistic semnificativ după expunerea la fotostres sau după preconditionarea cu sevofluran urmată de fotostres, la 36 h și 14 zile de la generarea leziunilor degenerative retiniene induse de lumină.

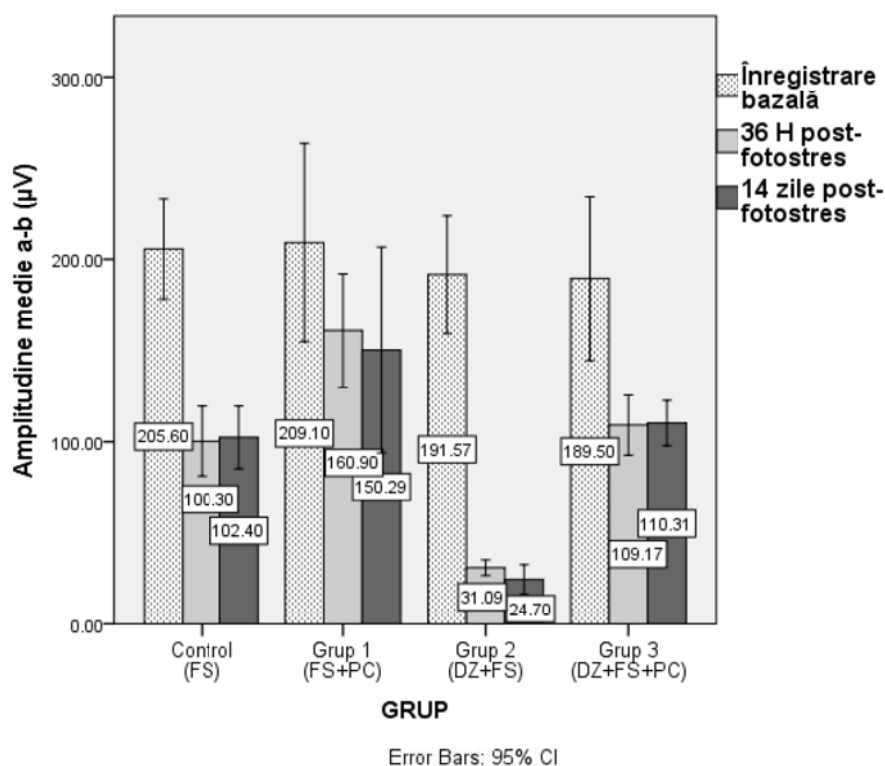


Fig. 2. Amplitudinea medie a ERG-ului înregistrat bazal și la 36 h și 14 zile după expunerea la fotostres pentru cele 4 grupuri studiate (DZ – diabet zaharat, FS – fotostres, PC – preconditionare anesteziacă cu sevofluran).

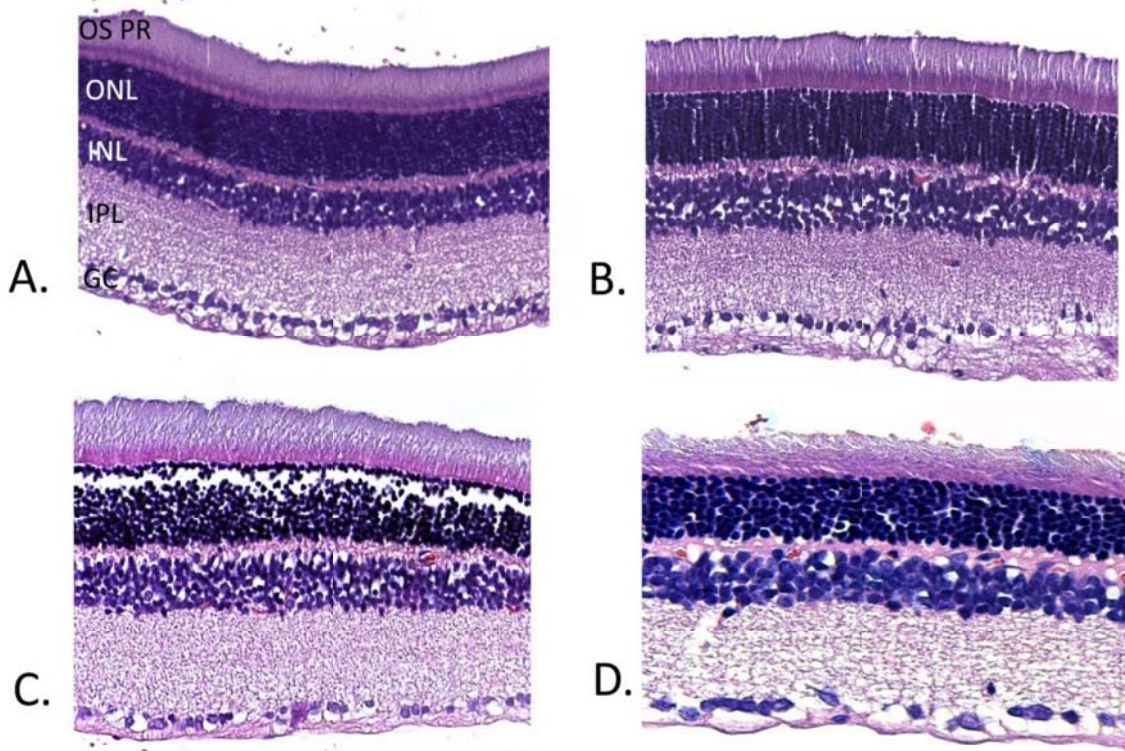


Fig. 3. Secțiuni retiniene în colorație cu hematoxin-eozină realizate de la un exemplar animal din grupul control - șobolani non-diabetici expuși la fotostres (A), grupul 1 – șobolani non-diabetici preconditionați anestezic cu sevofluran și expuși apoi la fotostres (B), grupul 2 – șobolani diabetici expuși la fotostres (C) și grupul 3 – șobolani diabetici preconditionați anestezic cu sevofluran și expuși apoi la fotostres (D). La animalele diabetice se observă scăderea numărului de celule ganglionare, acestea având aspect balonizat comparativ cu celulele animalelor nediabetice. De asemenea în grupurile diabetice (C, D) se observă scăderea densității celulare în stratul nuclear extern. În grupul diabetic expus la fotostres și preconditionare cu sevofluran (D) se constată scăderea grosimii stratului nuclear extern comparativ cu grupul non-diabetic (B) (OS PR – segmentul extern al celulelor fotoreceptoare, ONL – stratul nuclear extern, INL – stratul nuclear intern, IPL – stratul plexiform intern, GC – stratul celulelor ganglionare).

CONCLUZII FINALE ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

1. Modelul experimental de inducere a diabetului zaharat la șobolan prin injectare intraperitoneală de streptozotocină este un model eficient, având o rată de succes de 85.7% după o singură administrare. Această tehnică de inducere a diabetului produce la animale un model de diabet zaharat tip 1 cu valori glicemice foarte mari. Glicemiile rezultate în urma administrării unei doze de 50mg/dl au valori între 300-600 mg/dl în 71.4% din cazuri, valoarea medie fiind de 500 mg/dl.

2. Reinjectarea cu aceeași doză de streptozotocină la cazurile care nu au dezvoltat diabet după prima injectare duce în cele mai multe cazuri la creșterea mortalității animalelor. Alte studii care au utilizat acest model experimental de inducere chimică a diabetului, prezintă protocoale variabile ale administrării de streptozotocină mai ales în ceea ce privește doza utilizată. De aceea sunt necesare testări preliminare de inducere a diabetului ce iau în considerare rasa animalului, greutatea, vârsta, sexul, precum și glicemia țintă.

3. Monitorizarea glicemiilor la acest model experimental de diabet arată o ușoară variabilitate a glicemiilor pe parcursul a 10 săptămâni analizate, valoarea maximă fiind atinsă la 2 săptămâni de la inducerea diabetului. Glicemia a înregistrat o tendință progresivă de scădere însă aceasta a fost minimă, la finalul celor 10 săptămâni având o valoare medie de 480 mg/dl.

4. La finalul studiului, animalele din lotul diabetic au prezentat o creștere semnificativă statistic a colesterolului total în timp ce trigliceridele nu au atins o diferență semnificativă statistic între lotul control și diabetic. Greutatea scade de asemenea semnificativ după injectarea streptozotocinei, de la o valoare medie de 330 g la 227 g la finalul experimentelor, fiind însoțită de polidipsie și poliurie. După 12 săptămâni de diabet, mortalitatea animalelor este ridicată.

5. Frecvența cardiacă este influențată de prezența diabetului la acest model experimental prin injectare de streptozotocină și variază în funcție de profunzimea anestezică. Se observă o scădere a frecvenței cardiace odată cu creșterea concentrației inhalatorii de sevofluran. Comparativ cu lotul control, animalele diabetice au avut o frecvență cardiacă medie mai scăzută. De asemenea în timpul anesteziei cu sevofluran s-au înregistrat ocazional extrasistole ventriculare și blocuri atrio-ventriculare la șobolanii din lotul diabet. Aceste anomalii electrocardiografice nu au fost observate și la animalele din lotul control.

6. Această teză de doctorat confirmă faptul că balanța excito-inhibitorie cerebrală este alterată în anestezia profundă. În timpul anesteziei profunde cu sevofluran se generează un pattern de tip burst-suppression pe electroencefalogramă. Pe măsură ce anestezia se adâncește și burst-suppression ratio crește, magnitudinea burst-urilor crește de asemenea atât pentru electroencefalograma spontană cât și pentru activitatea evocată de stimularea vizuală. În acest studiu am arătat că sevofluranul în doze crescute determină apariția unei stări de hiperexcitabilitate care facilitează burst-urile evocate vizual în timpul activității corticale de tipul burst-suppression. Activitatea de tip burst care apare în fereastra de hiperexcitabilitate din timpul anesteziei profunde nu trebuie confundată cu descărcările epileptiforme. În acest experiment nici una din dozele de sevofluran nu a generat descărcări epileptiforme sau manifestări clinice sugestive acestui sindrom la șobolani.

7. Aplicarea unor rafale de stimuli vizuali de tip flash cu frecvență crescută generează pe electroencefalograma înregistrată sub anestezie profundă, un singur burst ce apare doar după primul stimul vizual din acea secvență, lăsând celelalte flash-uri fără răspuns cortical. În concluzie cortexul vizual are o capacitate redusă de a facilita burst-uri când stimuli luminoși de frecvență crescută sunt aplicați în timpul anesteziei cu sevofluran la concentrații inhalatorii crescute.

8. La animalele diabetice supresia corticală indusă anestezic înregistrată electroencefalografic este mai puternică decât la control pentru aceeași doză de sevofluran administrată. La o concentrație inhalatorie de sevofluran de 2%, burst-suppression ratio atinge valori aproximativ duble la diabetici vs. control. Această idee este susținută de literatura de specialitate recentă în care studii efectuate pe un model de șobolan db/db au arătat afectarea eliberării de glutamat și a metabolismului glutaminei la nivel cerebral în cazul animalelor cu diabet (Andersen JV, 2017).

9. Rezultatele acestui studiu au arătat scăderea amplitudinii burst-urilor la animalele diabetice comparativ cu controlul la o concentrație anestezică de 2% pentru electroencefalograma spontană și de 4%, 6% și 8% pentru electroencefalograma evocată de stimuli vizuali. Pentru semnalul spontan înregistrat sub anestezie cu sevofluran în concentrație inhalatorie de 2%, analiza spectrală cantitativă a arătat scăderea frecvenței mediane și a frecvenței de vârf și creșterea puterii totale a semnalului și puterii delta pentru animalele din lotul diabetic. Aceste date susțin suplimentar ideea unei profunzimi anestezice mai mari la diabetici comparativ cu controlul pentru aceeași doză de anestezic administrată.

10. Șobolani cu diabet zaharat indus cu streptozotocină au o capacitate neuronală scăzută de generare a burst-urilor. Pentru concentrația de sevofluran maximă testată (8%), frecvența de apariție a burst-urilor după stimularea vizuală a scăzut mai ales la animalele din lotul diabetic, acest fapt fiind prezent în contextul supresiei corticale mai mari ce apare la diabetici.

11. Anestezia cu sevofluran în grade diferite de profunzime de la nivel superficial la comă anestezică și diabetul afectează parametrii potențialelor evocate vizual și electroretinogramei.

12. Doze progresiv crescânde de sevofluran determină creșterea timpilor de apariție a componentelor potențialului evocat vizual: vârfurile N1, P1 și N2 (cresc latența) în timpul stimulării vizuale însă de asemenea potențează amplitudinea PEV într-o manieră dependentă de doza de sevofluran atât la animalele diabetice cât și la cele nediabetice. Rezultatele obținute în acest studiu arată augmentarea neașteptată a amplitudinii PEV odată cu intensificarea profunzimii anestezice cu sevofluran, sugrând facilitarea reactivității corticale vizuale la stimulare cu flash-uri luminoase în timpul creșterii profunzimii anestezice.

13. Sevofluranul scade activitatea corticală a creierului prin apariția pe EEG a pattern-ului burst-suppression, așa cum se întâmplă cu majoritatea anestezicelor inhalatorii, însă în același timp facilitează răspunsul evocat senzorial al cortexului occipital la stimularea vizuală.

14. Diabetul este un factor stresor adițional sevofluranului pentru funcția nervului optic și transmiterea vizuală, determinând neuropatie optică la 10 săptămâni de la inducerea chimică cu streptozotocină. Acestea au fost demonstrate prin creșterea latențelor undelor componente ale potențialului evocat vizual: N1, P1 și N2 și prin scăderea amplitudinii N1-P1 când valorile au fost comparate cu controlul pentru același nivel anestezic.

15. Latențele undelor componente ale electroretinogramei "a" și "b" cresc la animalele diabetice și nediabetice, odată cu creșterea profunzimii anestezice cu sevofluran într-o manieră progresivă. Pe de altă parte, odată cu creșterea concentrației de sevofluran, amplitudinea a-b scade.

16. Diabetul scade suplimentar amplitudinea electroretinogramei doar pentru înregistrările efectuate sub anestezie foarte profundă cu sevofluran (la concentrații inhalatorii de 6% și 8%) la 10 săptămâni de la inducerea diabetului cu streptozotocină. Latențele electroretinogramei prezintă o tendință de creștere la diabetici însă nu pentru toate concentrațiile anestezice analizate.

17. Potențialele evocate vizual și electroretinograma sunt metode neuroelectrofiziologice de investigație utile în evaluarea disfuncțiilor determinate de diabet la nivelul retinei și nervului optic, ținând însă cont de susceptibilitatea acestora în cazul utilizării anesteziei.

18. Expunerea la fotostres timp de o oră la 20 000 lux determină scăderea marcată a amplitudinii electroretinogramei la 36 h și 14 zile post-fotostres cu aproximativ 50% față de valorile înregistrate bazal. Aceasta arată o susceptibilitate crescută a șobolanilor albino față de expunerea la fotostres.

19. Diabetul este un factor stresor adițional expunerii la fotostres determinând scăderea și mai puternică a amplitudinii a-b a electroretinogramei după expunerea la fotostres comparativ cu controlul. Prin urmare modelul prezentat în această teză de degenerescență retiniană indusă de lumină determină o deteriorare severă a retinei la șobolanii diabetici.

20. Precondiționarea anestezică cu sevofluran în concentrație de 2% timp de o oră are efect protector asupra retinei împotriva leziunilor produse la un model animal de degenerescență retiniană indusă de lumină.

21. La animalele diabetice, condiționarea cu sevofluran 2% înaintea expunerii luminoase oferă un anumit grad de protecție retiniană împotriva leziunilor produse de fotostres însă acest efect este diminuat în comparație cu lotul nediabetic.

Listă de abrevieri

BSR - burst-suppression ratio

EEG – electroencefalogramă

ERG – electroretinogramă

FM – frecvență mediană

PEV – potențial evocat vizual

PF – frecvență de vârf

PT – putere totală

SEF – frecvență de margine spectrală,

Bibliografie selectivă

(selectate din cadrul celor 360 de note bibliografice ale tezei de doctorat)

Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. 2011. "The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus--present and future perspectives." *Nat Rev Endocrinol*. 8 (4): 228-36.

Desborough JP, Jones PM, Persaud SJ, Landon MJ, Howell SL. 1993. "Isoflurane inhibits insulin secretion from isolated rat pancreatic islets of Langerhans." *Br J Anaesth* 71 (6): 873-6.

Frøkjær JB, Graversen C, Brock C, Khodayari-Rostamabad A, Olesen SS, Hansen TM, Søfteland E, Simrén M, Drewes AM. 2017. "Integrity of central nervous function in diabetes mellitus assessed by resting state EEG frequency analysis and source localization." *J Diabetes Complications* 31 (2): 400-6.

Janicki PK, Horn JL, Singh G, Franks WT, Franks JJ. 1994. "Diminished brain synaptic plasma membrane Ca(2+)-ATPase activity in rats with streptozocin-induced diabetes: association with reduced anesthetic requirements." *Life Sci* 55 (18): 359-64.

Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. 2014. "Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present and future." *Lancet* 383 (9922): 1068-83.

Kenny JD, Westover MB, Ching S, Brown EN, Solt K. 2014. "Propofol and sevoflurane induce distinct burst suppression patterns in rats." *Front Syst Neurosci* 18 (8): 237.

McAnulty GR, Robertshaw HJ, Hall GM. 2000. "Anaesthetic management of patients with diabetes mellitus." *Br J Anaesth* 85 (1): 80-90.

- Murrell JC, Waters D, Johnson CB. 2008. "Comparative effects of halothane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on the electroencephalogram of the rat." *Lab Anim* 42 (2): 161-70.
- Osawa M, Shingu K, Murakawa M, Adachi T, Kurata J, Seo N, Murayama T, Nakao S, Mori K. 1994. "Effects of sevoflurane on central nervous system electrical activity in cats." *Anesth Analg* 79 (1): 52-7.
- Scheen AJ. 2003. "Pathophysiology of type 2 diabetes." *Acta Clin Belg* 58 (6): 335-41.
- Scheller MS, Nakakimura K, Fleischer JE, Zornow MH. 2014. "Cerebral effects of sevoflurane in the dog: comparison with isoflurane and enflurane." *Br J Anaesth.* 65 (3): 388-92.
- Tarr JM, Kaul K, Chopra M, Kohner EM, Chibber R. 2013. "Pathophysiology of diabetic retinopathy." *Ophthalmol* 343560.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. 2004. "Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030." *Diabetes Care* 27 (5): 1047-53.