

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI

Facultatea de Medicină

Teză de Doctorat

**Acțiunea substanțelor ce interferează cu sistemul autacoid
asupra vascularizației oculare a polului anterior - Studii
experimentale**

Conducător științific:

Prof. Univ. Dr. Liliana Mary Voinea

Doctorand

Ioana-Cristina Coman

București 2019

Cuprins

Listă abrevieri	Error! Bookmark not defined.
Mulțumiri	Error! Bookmark not defined.
Partea generală	5
Capitolul 1. Ochiul – scurtă descriere anatomică a structurii și vascularizației	5
Capitolul 2. Reactivitatea vasculară	5
Capitolul 3. Reactivitatea vasculară la nivelul polului anterior ocular	5
Capitolul 4. Clasa antiinflamatoarelor nesteroidiene- scurt istoric	6
Capitolul 5. Farmacologia Antiinflamatoarelor nesteroidiene: Ibuprofen, Metamizol, Indometacin, Meloxicam, Parecoxib	6
5.1. Structură	Error! Bookmark not defined.
5.2. Proprietăți farmacodinamice	Error! Bookmark not defined.
5.3. Proprietăți farmacocinetice	Error! Bookmark not defined.
5.4. Indicații	Error! Bookmark not defined.
5.5. Reacții adverse, contraindicații, toxicologie clinică	Error! Bookmark not defined.
5.6. Interacțiuni medicamentoase	Error! Bookmark not defined.
5.7. Date preclinice de siguranță și eficacitate	Error! Bookmark not defined.
Capitolul 6. Sistemul endocanabinoid	7
6.1. Scurt istoric al cercetărilor asupra sistemului endocanabinoid	Error! Bookmark not defined.
6.2. Endocanabinoizi și canabinoizi exogeni	Error! Bookmark not defined.
6.3. Receptori canabinoizi	Error! Bookmark not defined.
6.4. Sinteza, transportul și degradarea canabinoizilor	Error! Bookmark not defined.
6.5. Efecte vasculare ale canabinoizilor	Error! Bookmark not defined.
6.6. Efecte oculare ale canabinoizilor	7
6.7. Interferențe ale antiinflamatoarelor nesteroidiene cu sistemul endocanabinoid	Error! Bookmark not defined.
Contribuții personale	8
Capitolul 7. Ipoteza de lucru, scopul și obiectivele lucrării	8
Capitolul 8. Material și metodă de lucru	9
8.1. Validarea metodei de lucru	Error! Bookmark not defined.
8.2. Metodologie generală de lucru	9
Capitolul 9.	13
Influența Ibuprofenului asupra motricității vaselor iriene	13

9.1.	Ipoteză de lucru	13
9.2.	Material și metodă	Error! Bookmark not defined.
•	Avizul etic	Error! Bookmark not defined.
9.3.	Rezultate	14
9.4.	Discuții de etapă	15
9.5.	Concluzii de etapă	Error! Bookmark not defined.
Capitolul 10. Influența Ibuprofenului asupra vaselor iriene		16
10.1.	Ipoteză de lucru	Error! Bookmark not defined.
10.2.	Material și metodă	Error! Bookmark not defined.
10.3.	Rezultate	Error! Bookmark not defined.
10.4.	Discuții de etapă	Error! Bookmark not defined.
10.5.	Concluzii de etapă	Error! Bookmark not defined.
CAPITOLUL 11. Influența canabinoizilor asupra motricității vasculare în teritoriul irian		18
11.1.	Ipoteză generală de lucru	Error! Bookmark not defined.
11.2.	Cercetări privind existența receptorilor canabinoizi la nivelul vaselor iriene	18
11.2.1.	Ipoteză de lucru	Error! Bookmark not defined.
11.2.2.	Material și metodă	Error! Bookmark not defined.
11.2.3.	Rezultate	18
11.2.4.	Discuții preliminare	19
11.2.5.	Concluzii preliminare	20
11.3.	Cercetări experimentale privind subtipul de receptori canabinoizi implicați în dilatarea vaselor iriene	20
11.3.1.	Ipoteză de lucru	20
11.3.2.	Material și metodă	Error! Bookmark not defined.
11.3.3.	Rezultate	20
11.3.4.	Discuții preliminare	Error! Bookmark not defined.
11.3.5.	Concluzii preliminare	21
11.4.	Cercetări experimentale privind influențarea efectului ibuprofenului prin administrarea prealabilă de AM281, antagonist specific de receptori CB1	21
11.4.1.	Ipoteză de lucru	21
11.4.2.	Material și metodă	Error! Bookmark not defined.
11.4.3.	Rezultate	22
11.4.4.	Discuții preliminare	23
11.4.5.	Concluzii preliminare	23
11.5.	Discuții de etapă	Error! Bookmark not defined.

11.6.	Concluzii de etapă	24
Capitolul 12. Influența Diclofenacului asupra motricității vasculare și a numărului de vase la nivelul teritoriului irian		25
12.1.	Ipoteză de lucru.....	25
12.2.	Material și metodă	Error! Bookmark not defined.
12.3.	Rezultate	25
12.4.	Discuții de etapă.....	Error! Bookmark not defined.
12.5.	Concluzii de etapă	26
Capitolul 13. Influența Meloxicamului asupra motricității vasculare în teritoriul irian		26
13.1.	Ipoteză de lucru.....	26
13.2.	Material și metodă	Error! Bookmark not defined.
13.3.	Rezultate	27
13.4.	Discuții de etapă.....	27
13.5.	Concluzii de etapă	28
Capitolul 14. Influența Parecoxibului asupra motricității vasculare la nivelul teritoriului irian		28
14.1.	Ipoteză de lucru.....	28
14.2.	Material și metodă	Error! Bookmark not defined.
14.3.	Rezultate	29
14.4.	Discuții de etapă.....	Error! Bookmark not defined.
14.5.	Concluzii de etapă	30
Capitolul 15. Influența Metamizolului asupra motricității vasculare oculare în teritoriul irian		30
15.1.	Ipoteză de lucru.....	30
15.2.	Material și metodă	Error! Bookmark not defined.
15.3.	Rezultate	31
15.4.	Discuții de etapă.....	Error! Bookmark not defined.
15.5.	Concluzii de etapă	32
Capitolul 16. Discuții generale.....		32
Capitolul 17. Concluzii generale și contribuții personale		33
Bibliografie		35

Partea generală

Capitolul 1. Ochiul – scurtă descriere anatomică a structurii și vascularizației

Orbita este o cavitate pereche a craniului care adăpostește globul ocular și anexele acestuia. Are un volum total de aproximativ 30 cm³, cu o adâncime de 40 - 45 mm de la marginile anterioare ale orbitei până la apex și o înălțime de 35 mm. Aceasta prezintă o formă de piramidă cu un ax antero-posterior oblic. (1)

Stratul mijlociu al globului este reprezentat de uvee formată din coroida, corpul ciliar și iris. Are cea mai bogată vascularizație și asigură nutriția și funcția de suport. (2)

Cel mai intern strat al globului ocular este retina. Aceasta reprezintă stratul fotosensibil alcătuit din celulele receptoare și elementele nervoase ce inițiază procesarea informațiilor vizuale. (1,2)

Capitolul 2. Reactivitatea vasculară

Dezvoltarea sistemului vascular al ochiului este un proces complex, care implică apariția vaselor pentru a satisface nevoile nutriționale ale țesuturilor metabolice active și regresia ulterioară a acelor vase cu aceeași activitate atunci când țesutul este în repaus. În embrionul timpuriu, artera carotidă internă irigă un plex capilar pentru a forma aspectul dorsal al excavației nervului optic (artera oftalmică dorsală). La scurt timp după aceea, o a doua ramură a arterei carotide interne se formează pentru a furniza aspectul median al excavației nervului optic. Această ramură se numește artera oftalmică ventrală, iar anastomoza cu artera oftalmică dorsală formează vasul anular. (1)

Sistemul venos se dezvoltă simultan cu sistemul arterial. Două sisteme primare de drenaj, plexurile supraorbitar și infraorbitar se formează și vor înconjura vezicula optică. (1,2)

Capitolul 3. Reactivitatea vasculară la nivelul polului anterior ocular

Vascularizația segmentului anterior al ochiului asigură nutriția irisului, mușchiului ciliar, proceselor ciliare, frecvent și la nivelul coroidei anterioare. Perfuzia proceselor ciliare

nu servește numai producerii umorii apoase, ci indirect, prin reajustarea compoziției umorii apoase, asigură nutriția structurilor avasculare, cum ar fi cristalinul și corneea. Anatomia și funcționarea normală a microvascularizației segmentului anterior al uveei sunt importante pentru homeostazia oculară, iar răspunsul acestora în diverse stări patologice, precum și în terapia cronică oculară sunt la fel de importante. (3,4)

Capitolul 4. Clasa antiinflamatoarelor nesteroidiene- scurt istoric

În Egiptul antic, în urma cu aproximativ 3500 de ani, se foloseau decocturi și preparate din plante ce conțineau salicilați, decocturi cu frunze uscate de mirt utilizate în cazul lombalgiilor sau durerilor reumatice de la nivelul trunchiului. O mie de ani mai târziu, Hippocrate propune folosirea sucului de plop în tratamentul afecțiunilor oculare și sucul de scoarță de salcie atât pentru scăderea febrei, cât și pentru ameliorarea durerilor din cursul travaliului, ambele conținând salicilați. (5,6)

Așadar, ceea ce a început prin a fi studiat ca și clasă de medicamente în scopul de a controla inflamația, durerea și febra a evoluat uimitor în ultimele două secole, descoperindu-se astfel noi agenți antiinflamatori, precum și noi ținte terapeutice ce vizează o gamă largă de condiții medicale neluate în considerare până în prezent (5,6).

Capitolul 5. Farmacologia Antiinflamatoarelor nesteroidiene: Ibuprofen, Metamizol, Indometacin, Meloxicam, Parecoxib

Ibuprofenul este un acid (2RS)-1[4-(2-metil propil) fenil propionic. A fost primul membru al derivaților acidului propionic, introdus în 1969 ca o alternativă mai bună la Aspirină. Ibuprofenul este cel mai folosit și cel mai des prescris dintre AINS. Este un inhibitor neselectiv al ciclooxigenazei-1 (COX-1) și ciclooxigenazei-2 (COX-2). *Metamizolul (dipirona)* este un derivat de pirazonă, introdus în farmacoterapie în 1922. (7,8) Este unul dintre cele mai puternice analgezice non-opioide, utilizat atât în medicina umană, cât și în cea veterinară. În prezent, Metamizolul este clasificat ca un analgezic non-opioid, deși pentru mai mulți ani s-a susținut că ar aparține AINS. Din ceea ce știm astăzi, clasificarea ca AINS este eronată pentru că, în contrast cu acestea, mecanismul său de acțiune se bazează pe inhibiția unei ciclooxigenaze centrale -3 (COX3). (9,10) *Indometacinul* este un antiinflamator nesteroidian cu activitate antipiretică, analgezică și antiinflamatoare extrem de eficientă. Din punct de vedere chimic, acesta este un indol-acid

acetic derivat, cunoscut de asemenea și sub denumirea chimică de 3-acid acetic 1-(p-chlorobenzoyl)-5 methoxy-2- methylindole .(11)

Meloxicamul, în comparație cu alte antiinflamatoare nesteroidiene, este cel mai potent inhibitor al biosintezei prostaglandinelor în exsudatul pleural și peritoneal și numai un slab inhibitor al acestora la nivelul tractului digestiv și la nivel renal. Profilul farmacocinetic în cazul modelului animal (respectiv șobolan) este similar cu modelul uman. Metabolitii sunt inactivi.(12,13)

Parecoxibul este un inhibitor selectiv al ciclooxygenazei 2 (COX-2), cu efecte antinociceptive, antiinflamatoare și antipiretice foarte bune, cărora li se adaugă profilul de siguranță la nivelul tractului gastro-intestinal.(14–16)

Capitolul 6. Sistemul endocanabinoid

Sistemul endocanabinoid este un complex format canabinoizi endogeni (endocanabinoizi), substanțele cu proprietăți agoniste și antagoniste pentru acești receptori și a enzimele implicate în mecanismele de recaptare intracelulară și degradare a endocanabinoizilor.(17)

Efecte oculare ale canabinoizilor

Anandamida produce vasorelaxare la nivelul arterei oftalmice bovine prin intermediul antagonismului receptorilor CB1. În plus, s-a observat un răspuns timp-dependent în artere oftalmice bovine inhibitate prin antagonism la nivelul receptorilor nucleari PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor α). (18,19)

WIN55212-2 produce vasorelaxarea arterei oftalmice la bovine prin antagonismul receptorului CB1, de asemenea existând o inhibiție a acestei relaxări asociată denudării arterei oftalmice.(18,20)

În teorie, AINS ar putea produce efecte endocanabinoide proprii, prin creșterea sintezei de anandamidă și 2-AG sau, alternativ, prin normalizarea nivelurilor deficitare produse în sindromul dureros, toate acestea paralel cu efectele lor asupra sintezei de prostaglandine. (21,22)

În final, studiile pot dovedi, în cel mai bun caz, că există o mediere via inhibiția FAAH în ceea ce privește efectele AINS, însă există alte mecanisme principale responsabile de componenta endocanabinoidă a acțiunilor AINS (23).

Contribuții personale

Capitolul 7. Ipoteza de lucru, scopul și obiectivele lucrării

Date din literatura de specialitate arată că vascularizația polului anterior ocular este complexă și supusă unor multiple sisteme de reglare , atât nervoasă cât și autacoidă. Prezenta lucrare și-a propus să evalueze posibilitatea existenței unor sisteme de reglare autacoidă în teritoriul irian.

S-a lucrat pe șobolani masculi albinoși rasa Wistar anesteziați cu Ketamină. Cu ajutorul unui sistem video cuplat la computer s-a înregistrat imaginea irisului mărită de aproximativ 400X; s-au măsurat diametrul arterial și diametrul venos înainte și după administrarea diverselor substanțe propuse cercetării. Ulterior, pe baza acestor date s-a calculat variația procentuală a diametrelor vasculare raportată la valoarea inițială.

Pentru a evalua existența unui eventual tonus prostaglandinic s-a studiat pentru început influența Ibuprofenului- un inhibitor neselectiv al ciclooxigenazelor (COX) - asupra diametrului vascular (atât arterial, cât și venos), iar rezultatele obținute în acest experiment au arătat că Ibuprofenul produce vasodilatație arterială și venoasă. Analiza atentă a imaginilor a arătat însă că pe lângă această vasodilatație, în urma administrării de Ibuprofen se produce de asemenea o creștere semnificativă a numărului de vase iriene, ca și cum la acest nivel ar exista un pat vascular de rezervă ce conține vase sangvine colabate care devin funcționale sub influența acestui medicament.

Într-o primă etapă s-a pus problema dacă Ibuprofenul produce vasodilatație și recrutează vase sangvine nefuncționale prin scăderea producției de prostaglandine , mecanismul său clasic de acțiune, sau prin creșterea tonusului sistemului canabinoid endogen. Este binecunoscut că principalii canabinoizi endogeni determină vasodilatație și este de asemenea binecunoscut că Ibuprofenul inhibă hidrolaza acizilor grași aminați (*Fatty Acid Amide Hydrolase*-FAAH)-una din principalele enzime de degradare a canabinoizilor endogeni.

Cercetările efectuate de noi au arătat că într-adevar stimularea receptorilor canabinoizi produce vasodilatație atât arterială cât și venoasă și recrutează vase de rezervă, efectul lor fiind antagonizat specific prin blocarea receptorilor CB1. Dar, blocarea receptorilor CB1 nu antagonizează efectul Ibuprofenului nici în ceea ce privește vasodilatația, nici în ceea ce privește recrutarea vaselor de rezervă. Pe baza acestor date s-a concluzionat că efectul Ibuprofenului este datorat parțial înlăturării unui tonus prostaglandinic vasoconstrictor și parțial creșterii disponibilului de canabinoizi endogeni.

În continuare, s-a cercetat dacă efectul Ibuprofenului este unul de clasă al inhibitorilor nespecifici de COX și dacă tonusul prostaglandinic constatat este dependent de COX1 sau COX2.

Experimentele ce au fost efectuate s-au derulat în următoarea ordine:

1. Influența Ibuprofenului asupra motricității vasculare la nivelul teritoriului irian
2. Influența Ibuprofenului asupra vaselor de rezervă.
3. Influența canabinoizilor asupra motricității vasculare și efectul asupra vaselor de rezervă în teritoriul irian
4. Influența Diclofenacului asupra motricității vasculare iriene și efectul asupra vaselor colabate, nefuncționale, de la acest nivel.
5. Influența Meloxicamului asupra motricității vasculare și efectul pe vasele de rezervă din teritoriul irian.
6. Influența Parecoxibului asupra motricității vasculare în teritoriul irian și efectul său asupra vaselor de rezervă în acest teritoriu.
7. Influența Metamizolului asupra vascularizației iriene.

Capitolul 8. Material și metodă de lucru

Metodologie generală de lucru

În cadrul acestui capitol sunt prezentate testele și substanțele utilizate pentru realizarea studiilor experimentale, precum și analiza statistică a rezultatelor obținute folosită în cadrul acestei lucrări.

Pentru experimentele efectuate s-au folosit șobolani masculi rasa Wistar (6 șobolani per lot) cu greutate cuprinsă între 250g și 350g, aduși în laborator cu minimum 3 zile

înainte de începerea experimentelor. Pe toată durata testelor animalele au fost ținute în condiții standard de laborator. Experimentele au avut loc între orele 9.00 și 15.00, în afara testării animalele având acces liber la hrană și apă.

• *Substanțe utilizate*

Au fost utilizate următoarele substanțe:

- Ketamină 5% (Calypsol 50mg/ml produs de Gedeon Richter PLC HU)
- Pancuronium Bromide Hospira(GB)
- Diclofenac (Voltaren Ophtha CD 0.1% produs de Novartis Pharma GmbH – DE)
- Meloxicam (Movalis vials 15mg/1.5ml produs de Boehringer -ES)
- Ibuprofen sodic (furnizat de Sigma Aldrich)
- Indometacin (Indocollyre soluție oftalmică 0.1% - Laboratoire CHAUVIN S.A., Franța)
- Parecoxib sodic (Dynastat pulbere pentru soluție injectabilă produs de Pfizer Europe MA EEIG-Belgia)
- AM 281 (furnizat de Sigma Aldrich)
- WIN55212-2 (furnizat de Sigma Aldrich)
- Felodipină (5 mg Plendil tablete, produs de Astra Zeneca- GB)
- Ser Fiziologic pentru uz oftalmic (Isophy fiole 5ml produs de Uriage, Franța)
- DMSO (Sigma Aldrich)
- Propilenglicol (Sigma Aldrich)

Substanțele au fost administrare intraperitoneal sau topic. Astfel, Ketamina și Pancuronium Bromide s-au administrat injectabil intraperitoneal, luându-se în considerare datele toxicologice care arată că doza letală DL50 în cazul Ketaminei la șobolani este de 229 mg/kg [pentru injectarea intraperitoneală(ip)], iar DL50 în cazul Pancuronium Bromide este de 479 ug/kg pentru injectarea ip și 436 ug/kg pentru injectarea subcutană

(sc) (date preluate de pe <http://toxnet.nlm.nih.gov>). Dozele au variat astfel încât nu au fost administrate doze mai mari de 1/5 din DL50.

- *Protocol de lucru*

Șobolanii au fost aneșteziați cu Ketamină 5% -100 mg /kgc – injectată intraperitoneal- menținându-se respirația spontană și reflexul de clipire; la cinci minute postanestezie animalele au primit pancuroniu 0,02%, 0,1ml/100g masă corporală injectat intraperitoneal pentru a induce miorelaxare, înregistrarea datelor începând cu zece minute mai târziu.

Animalele aneștizate au fost plasate în decubit lateral într-un dispozitiv de contenție; un blefarostat a fost fixat la nivelul pleoapelor pentru acces optim atraumatic, la nivelul globului ocular. Vizualizarea structurilor accesibile ale globului ocular s-a efectuat cu ajutorul unui sistem optic (Navitar) conectat la o cameră video (Toshiba- IK – 642E), montată pe un suport (produs de IOR, Romania) ce a permis focusul pe ochiul animalului, folosindu-se de asemenea un convertor Pinnacle microVideo DC10+ conectat la un PC ASUS X550JX-XX129D. S-au mai folosit un obiectiv de mărire Nikon și un adaptor (Navitar 1X adaptor 1-6015), permițând rezoluții în intervalul optim de microscopie optică. Pe tot parcursul experimentelor s-a folosit o sursă de lumină rece (Dolan– Jenner Industries Inc. model FiberLite series 180). După alegerea zonei de interes (LPCA, respectiv o încrucișare arterio-venoasă) de la nivelul irisului au fost selectate magnitudinea (maximum 400X), claritatea și luminozitatea optimă, începând testarea propriu-zisă.

Pentru fiecare animal înregistrările video au durat 10 minute; după primele 30 de secunde prima substanța studiată a fost instilată la nivel ocular, urmând ca la secunda 330 să fie instilată a doua substanță studiată, fără a se atinge suprafața oculară; fiecare șobolan a fost astfel propriul său martor. Temperatura substanțelor instilate s-a menținut constant la 37°C. Designul experimental a fost paralel, iar testarea s-a efectuat monocular (ochiul drept). Pentru fiecare experiment în parte s-au folosit loturi de câte 6 animale cărora li s-au administrat în sacul conjunctival la momentele T0i și T0 diferitele substanțe de studiat. Astfel, fiecare șobolan a fost propriul său martor.

- *Analiza imaginilor*

Pentru fiecare animal s-a obținut o înregistrare video cu durata de 10 minute pentru substanțele analizate sub formă de fișiere “.avi”.

Modificările calibrului vaselor studiate înainte și după instilarea soluțiilor au fost evaluate prin măsurarea diametrului lor la intervale fixe de timp, obținându-se 9 valori diferite pentru fiecare vas; pentru fiecare înregistrare s-au măsurat diametrele arterelor și venelor, precum și numărul de vase vizibile, la momentele T_{0i} , adică imediat după începerea înregistrării, $T_{1i}, T_{2i}, T_{3i}, T_{4i}$ (adică la secunda 30, secunda 120, 210 și respectiv 300 secunde de la începerea înregistrării) și la momentele T_1, T_2, T_3, T_4 adică 330 secunde, 420 secunde, 510 și 600 secunde de la începerea înregistrării (30 sec, 120, 210 și respectiv 300 secunde de la administrarea soluției de studiat).

Prelucrarea imaginilor s-a efectuat cu ajutorul programului Adobe Photoshop 7.0. Pentru fiecare imagine selectată (60/60px) au fost calculate diametrele vaselor din 10 în 10 pixeli pe orizontală, obținându-se cinci valori pe baza cărora a fost calculată valoarea medie a diametrului vasului în momentul respectiv.

Pentru fiecare moment s-au efectuat câte 9 măsurători ale arterelor și venelor în apropierea zonelor de încrucișare arterio-venoasă. Pe baza acestor parametrii mășurați s-au calculat procente de variație în timp a diametrelor arterelor și venelor după formula:

$$D_{rel} = (D_a - D_{0i}) / (D_{0i}) \times 100$$

unde

D_{rel} = variația relativă a diametrului

D_a = diametrul vasului la momentul determinării

D_{0i} = diametrul vasului la momentul inițial (T_{0i})

• *Prelucrarea și analiza statistică a datelor*

Prelucrarea statistică s-a făcut numai pentru valorile diametrelor relative. Prelucrarea datelor și imaginile grafice au fost obținute cu ajutorul aplicației Microsoft Excel 97.

Pentru fiecare lot și pentru fiecare moment al determinării s-au calculat valorile medii și deviațiile standard separat pentru artere și vene. Semnificația statistică a diferențelor între diferitele momente ale determinărilor s-a evaluat pentru fiecare lot în parte, atât pentru artere, cât și pentru vene, cu ajutorul testului T student. Diferențele au fost considerate semnificative statistic numai pentru $p < 0.05$.

- *Avizul etic*

Cercetările experimentale realizate în cadrul acestei lucrări au fost realizate în conformitate cu Directiva Europeană 86/609/EEC/24.11.1986 și cu HG 37/30,01.2002 referitoare la protecția animalelor utilizate în scopuri experimentale sau pentru alte scopuri științifice și s-au efectuat cu acordul Comisiei de Etică a Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila”

Capitolul 9. Influența Ibuprofenului asupra motricității vaselor iriene

Ipoteză de lucru

Este binecunoscut în literatura de specialitate că vasele iriene sunt supuse unor procese complexe de control al motricității prin mecanisme nervoase, umorale, autacoide și de altă natură.

Unii din principalii autacoizi prezenți practic peste tot în organism sunt fără discuție derivații acidului arahidonic și în special prostaglandinele. Prezenta cercetare își propune să evalueze dacă și la nivelul vaselor sangvine iriene prostaglandinele exercită un control tonic asupra motricității. Pentru aceasta s-a studiat influențarea diametrelor vaselor iriene prin administrarea în instilații conjunctivale de Ibuprofen, substanță binecunoscută ca având proprietatea de a inhiba nespecific ciclooxigenazele (COX) și prin aceasta de a scădea sinteza de prostaglandine.

Obiective

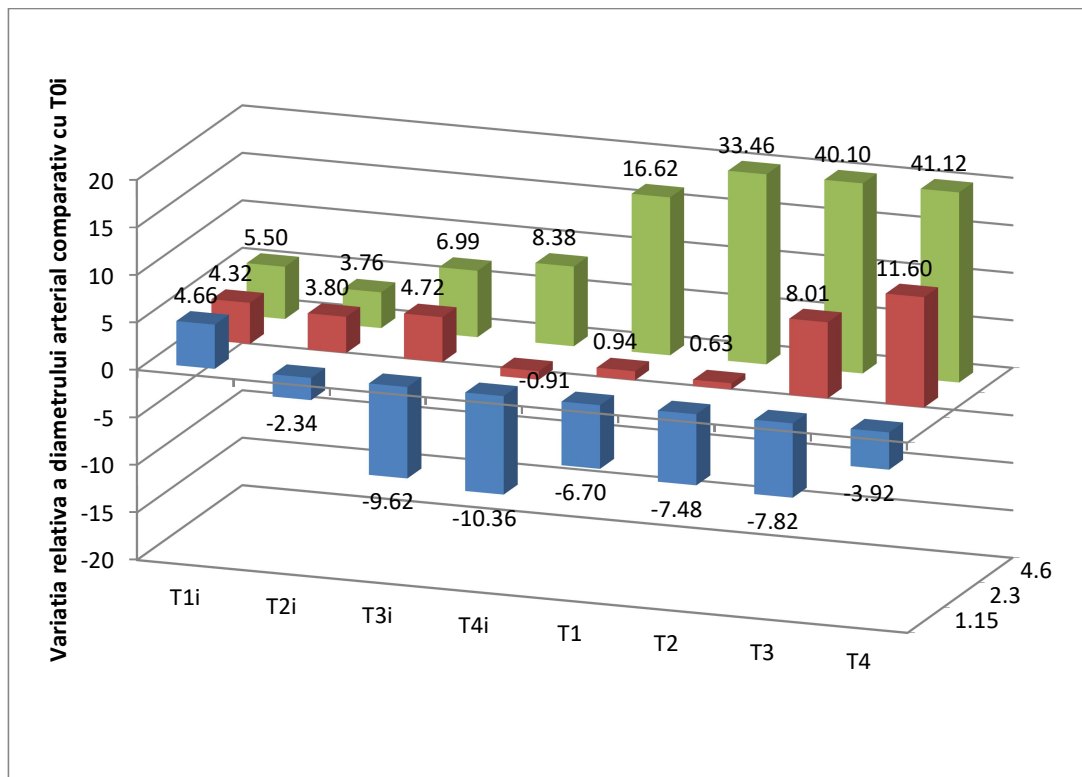
Obiectivul acestei etape a fost reprezentat de studiul efectului administrării topice a unor soluții de Ibuprofen sodic în doze echimolare de 1.15%, 2.3% și 4.6% asupra diametrului vascular (atât arterial, cât și venos)

Pentru îndeplinirea acestui obiectiv s-au realizat mai multe experimente: după stabilirea căii de administrare, s-au definitivat intervalul de testare și relația doză-efect

pentru soluția de Ibuprofen sodic administrată în 3 doze echimolare, evaluându-se ulterior efectul dozelor respective asupra diametrului vascular.

Rezultate

Rezultatele sunt prezentate în graficele numărul 9.1 și 9.2



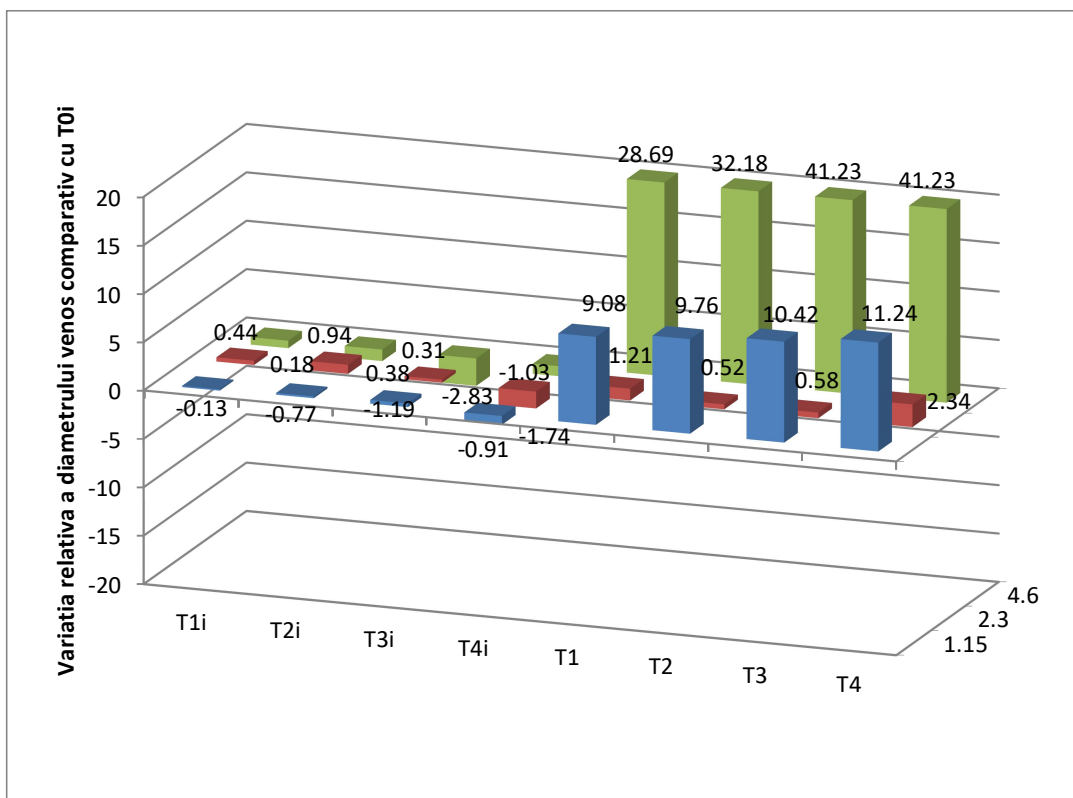
Graficul nr 9.1 → Evoluția diametrului arterial după administrarea de Ibuprofen

La lotul numărul 1 la care a fost administrată o soluție de Ibuprofen în concentrație de 1.15%, diametrul arterial a variat între +4.6% și -10.36% față de valoarea inițială, diferențele fiind ne semnificative statistic. Diametrul venos a variat între -0.13% și +11.24% , diferențele fiind de asemenea ne semnificative statistic.

La lotul numărul 2, la care a fost administrată o soluție de Ibuprofen în concentrație de 2.3%, diametrul arterial a crescut cu 0.8% față de valoarea inițială la momentul T3, diferența fiind ne semnificativă statistic și cu 11.6% la momentul T4 față de momentul T0i,

diferența fiind semnificativă statistic pentru $p=0.013$. Diametrele venelor nu s-au modificat semnificativ statistic după administrarea de Ibuprofen față de momentul inițial.

La lotul numărul 3, la care s-a administrat o soluție de Ibuprofen în concentrație de 4.6%, diametrul arterial a înregistrat creșteri semnificative statistic și din ce în ce mai mari în funcție de creșterea duratei evaluării, fiind de 16.6% la momentul T1, 33.46% la momentul T2, 40.1% la momentul T3 și 41.12% la momentul T4 după administrarea de Ibuprofen, fără să existe variații semnificative statistic ale diametrelor vasculare după administrarea de ser fiziologic. Și diametrul venos a crescut semnificativ statistic după administrarea de Ibuprofen, înregistrând creșteri de 28.7% la momentul T1, 32.18% la momentul T2, 41.23% la momentul T3 și 41.23% la momentul T4 față de momentul inițial. Nici de această dată, administrarea serului fiziologic nu a produs variații semnificative statistic ale diametrului vascular.



Graficul nr. 9.2 → Evoluția diametrului venos după administrarea de Ibuprofen

Discuții și concluzii de etapă

Din datele prezentate mai sus rezultă că Ibuprofenul în concentrație de 1.15% nu a produs modificări semnificative statistic ale evoluției diametrului arterial, Ibuprofenul în concentrație de 2.3% a produs o creștere semnificativă statistic , dar numai la momentul T4, adică la 5 minute de la administrarea Ibuprofenului , în timp de Ibuprofen în concentrație de 4.6% a produs creșteri semnificative statistic și importante ,chiar peste 40% din valoarea inițială, practic la toate momentele. Pe baza acestor date se poate afirma că Ibuprofenul a avut un efect vasodilatator semnificativ statistic , important din punct de vedere cantitativ ,de vreme ce diametrul vascular a crescut cu mai mult de 40% și dependent de doză .

Asupra venelor, Ibuprofenul a avut efect semnificativ statistic numai la doza mare, respectiv 4.6%, când a crescut diametrul venos tot cu mai mult de 40%, ca și în teritoriul arterial.

În acord cu ipoteza de lucru enunțată mai sus, faptul că Ibuprofenul a avut efect vasodilatator ne permite să afirmăm că este posibil ca la nivelul vaselor iriene să existe un tonus prostaglandinic vasoconstrictor. Inhibarea COX prin Ibuprofen a putut determina scăderea concentrației locale a unor prostaglandine vasoconstrictoare și prin aceasta s-a putut realiza vasodilatația constatată de noi.

➤ Administrarea locală de Ibuprofen a produs o importantă vasodilatație, atât asupra venelor cât și asupra arterelor din teritoriul irian, efectul fiind înalt semnificativ statistic și dependent de doză.

➤ Este posibil ca la nivelul vaselor iriene să existe un tonus prostaglandinic vasoconstrictor.

Capitolul 10. Influența Ibuprofenului asupra vaselor iriene

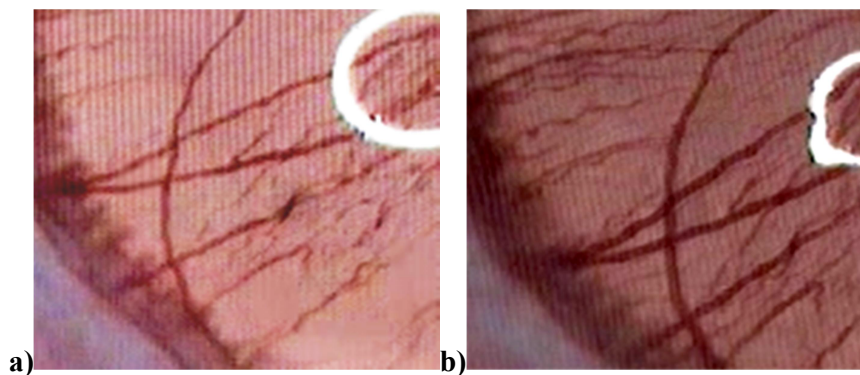


Fig 10.1. → Aspectul aceluiași sector irian **a)** la momentul inițial și **b)** după administrarea de Ibuprofen 4.6%

Ibuprofenul a determinat o creștere semnificativă statistic și dependent de doză a numărului de vase vizibile pe înregistrare, această creștere fiind importantă din punct de vedere cantitativ, la doza mare de Ibuprofen numărul de vase vizibile crescând cu peste 40% față de valoarea inițială.

Apreciem că timpul de 10 minute alocat experimentului este mult prea mic pentru a crede că vasele care nu au putut fi inițial vizualizate și au devenit vizibile după administrarea Ibuprofenului sunt vase de neoformație. De asemenea, nu putem identifica în experimentul nostru, așa cum s-a derulat, niciun stimul care să inducă neovascularizație. Mult mai probabil ni se pare să credem că este vorba de vase colabate, practic nefuncționale, care devin funcționale după administrarea de Ibuprofen; pare să fie un pat vascular de rezervă recrutat probabil prin diverse mecanisme, printre care și un mecanism ce este interferat de Ibuprofen în condițiile modelului nostru experimental.

Întrucât principalul efect al Ibuprofenului este inhibarea sintezei de prostaglandine, probabil că aceste vase se mențin colabate printr-un tonus prostaglandinic vasoconstrictor. Corelând rezultatele celor două experimente, rezultă că la nivelul vaselor iriene, există un tonus prostaglandinic vasoconstrictor.

1. La nivelul irisului pare să existe un pat vascular de rezervă, a cărui activare poate fi influențată prin administrarea topică de Ibuprofen.

2. Vasele nefuncționale pot deveni funcționale sub influența probabil, a diverși factori printre care și administrarea de Ibuprofen.

3. Faptul că Ibuprofenul dilată aceste vase de rezervă sugerează că la acest nivel există un tonus prostaglandinic vasoconstrictor ce influențează activitatea acestui pat vascular.

4. Tonusul prostaglandinic vasoconstrictor pare a fi mai intens la nivelul vaselor de rezervă decât la nivelul vaselor funcționale.

Capitolul 11. Influența canabinoizilor asupra motricității vasculare în teritoriul irian

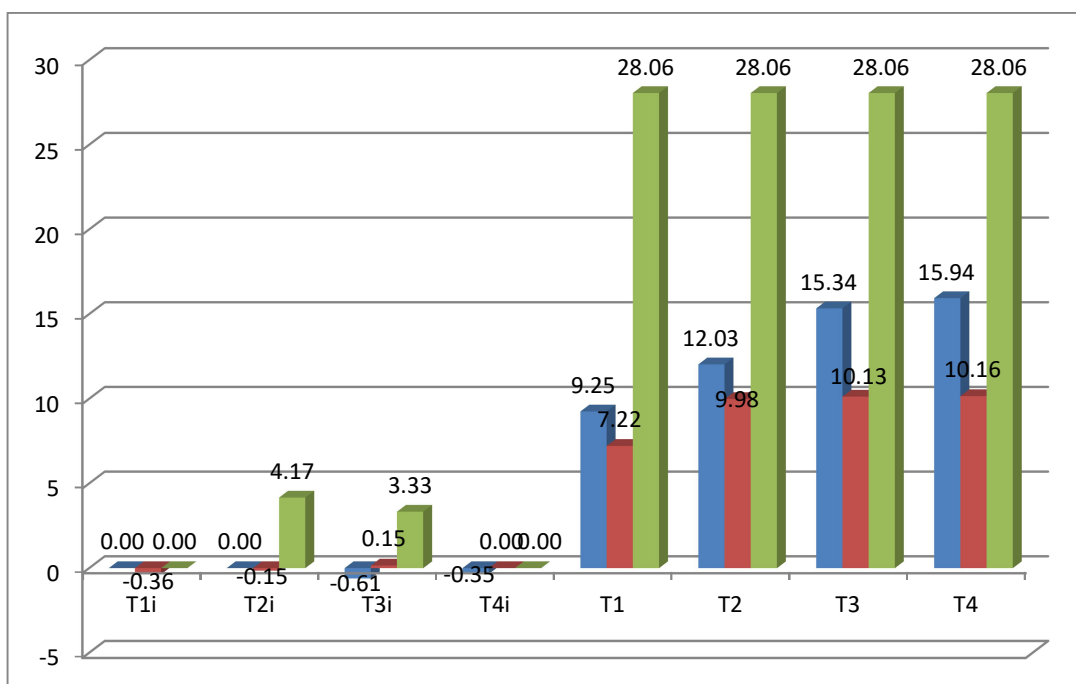
În urma rezultatelor obținute mai sus, ne-am pus problema să cercetăm dacă nu cumva efectul vasodilatator al Ibuprofenului ar fi exercitat prin canabinoizi endogeni și nu prin scăderea unui tonus prostaglandinic vasoconstrictor așa cum s-a arătat mai sus.

Pentru aceasta au fost efectuate trei serii de experimente. Mai întâi s-a verificat dacă la nivelul vaselor iriene există receptori canabinoizi a căror stimulare să producă vasodilatație. Ulterior s-a cercetat care este subtipul de receptori canabinoizi implicați în procesul de vasodilatație, iar în final s-a cercetat dacă vasodilatația produsă de ibuprofen este realizată prin sau și prin intermediul acestor receptori canabinoizi.

Cercetări privind existența receptorilor canabinoizi la nivelul vaselor iriene

Așa cum se arăta mai sus, teoretic există posibilitatea ca ibuprofenul să fi produs vasodilatația constatată de noi prin creșterea disponibilului de canabinoizi endogeni. Pentru ca acești canabinoizi endogeni să producă vasodilatație este imperios necesar ca la nivelul vaselor iriene să existe receptori canabinoizi. Pentru a studia acest efect, s-a cercetat influența substanței WIN 55212-2, un agonist neselectiv al receptorilor canabinoizi, asupra motricității vaselor iriene atât vizibile cât și a celor considerate de noi nefuncționale.

Rezultate



Graficul 11.1. - Variația relativă a diametrului vascular arterial și venos și a vaselor sangvine în funcție de T0i pentru Solvent (DMSO: SF 1:3), WIN 55212-2 0,2%

Discuții preliminare

Din datele prezentate rezultă că WIN 55212-2 a produs o vasodilatație semnificativă statistic atât asupra venelor, cât și asupra arterelor și de asemenea a crescut semnificativ statistic numărul de vase vizibile față de momentul inițial. Rezultă de aici că la nivelul vaselor iriene există receptori canabinoizi a căror stimulare produce vasodilatație. Totuși, efectul WIN 55212-2 este aparent mai intens la nivelul patului vascular de rezervă deoarece substanța WIN 55212-2 a crescut numărul de vase nefuncționale cu 28%, în vreme ce diametrul vaselor vizualizate încă de la momentul inițial a crescut cu numai 10% în cazul venelor și cu numai 15% în cazul arterelor. Este posibil ca la nivelul vaselor sangvine inițial imposibil de vizualizat prin metoda noastră de lucru densitatea receptorilor canabinoizi să fie mai mare decât la nivelul vaselor sangvine inițial funcționale. Este de notorietate în farmacologie că efectul unei substanțe asupra unui organ este cu atât mai mare cu cât densitatea receptorilor, respectiv numărul receptorilor pe care acționează substanța respectivă este mai mare în acel organ. Pe baza acestor date nu putem preciza însă ce

subtip de receptori canabinoizi sunt implicați în procesul de vasodilatație constatată deoarece substanța WIN 55212-2 este un agonist neselectiv.

Concluzii preliminare

1. La nivelul vaselor iriene există receptori canabinoizi a căror stimulare produce vasodilatație
2. Asemenea receptori canabinoizi există la nivelul tuturor tipurilor de vase sangvine studiate.
3. Densitatea receptorilor canabinoizi pare să fie mai mare la nivelul vaselor inițial colabate decât la nivelul vaselor funcționale.
4. În acest moment nu putem face precizări referitoare la subtipul acestor receptori canabinoizi.

Cercetări experimentale privind subtipul de receptori canabinoizi implicați în dilatarea vaselor iriene

Ipoteză de lucru.

Din datele prezentate mai sus rezultă că există receptori canabinoizi atât la nivelul vaselor inițial vizibile cât și la nivelul vaselor inițial nevizibile a căror stimulare produce vasodilatație. Întrucât substanța WIN 55212-2 utilizată în experimentul precedent este un agonist nespecific al receptorilor canabinoizi, nu se poate spune pe baza datelor de mai sus care subtip de receptori canabinoizi, CB1 sau CB2, sunt responsabili de vasodilatația constatată. Pentru a cerceta subtipul de receptori canabinoizi implicați în vasodilatație s-a procedat la experimentul de mai jos în care s-a evaluat în ce măsură efectul vasodilatator al WIN 55212-2 este antagonizat prin administrarea prealabilă a substanței AM281 care este un blocant specific al receptorilor canabinoizi CB1. În ipoteza noastră, dacă substanța AM281 antagonizează efectul WIN 55212-2 rezultă că vasodilatația este produsă prin receptorii CB1. Dacă substanța AM281 nu antagonizează efectul vasodilatator al WIN 55212-2 rezultă că vasodilatația este produsă prin intermediul receptorilor CB2 sau eventual prin presupusul receptor endotelial.

Rezultate

În ceea ce privește diametrul arterial, administrarea de AM281 nu a produs modificări semnificative statistice ale diametrului vascular comparativ cu momentul inițial;

nici administrarea de WIN 55212-2 după administrarea AM281 nu a produs modificări semnificative statistic ale diametrului vascular.

Nici în ceea ce privește diametrul venos nu s-au înregistrat modificări semnificative statistic ale diametrului vascular, nici după administrarea de AM 281 0,213%, nici după administrarea de WIN 55212-2 ulterior administrării AM281.

În ceea ce privește aspectul cantitativ al vaselor sangvine, după administrarea AM 281 0,213% nu s-au înregistrat modificări semnificative statistic în acest sens. După administrarea de WIN 55212-2 ulterior administrării AM 281, la momentul de T2 s-a înregistrat o creștere de 4.36%, valoare la limita semnificației statistice ($p=0.05$) comparativ cu momentul inițial. La momentele T1, T3 și T4 nu s-au înregistrat modificări semnificative statistic față de valoarea inițială.

Concluzii preliminare

1. Vasodilatația produsă de canabinoizi la nivelul vaselor iriene este realizată prin intermediul receptorilor canabinoizi CB1 atât la nivelul vaselor inițial vizibile, cât și la nivelul vaselor inițial nevizibile.

2. Reglarea canabinoidică a motricității acestor vase este foarte probabil o reglare de tip fazic, nu o reglare de tip tonic.

3. Faptul că doza de blocant utilizată a antagonizat total efectul agonistului asupra vaselor funcționale și numai partial efectul asupra vaselor de rezervă confirmă ipoteza lansată în experimentul precedent conform căreia densitatea receptorilor canabinoizi (de data aceasta sigur CB1) este mai mare la nivelul patului vascular de rezervă decât la nivelul vaselor funcționale.

Cercetări experimentale privind influențarea efectului ibuprofenului prin administrarea prealabilă de AM281, antagonist specific de receptori CB1

Ipoteză de lucru

Este posibil ca efectul vasodilatator al ibuprofenului să se manifeste prin creșterea disponibilului de canabinoizi endogeni. Această ipoteză este întărită de rezultatele prezentate mai sus în care se arată că atât la nivelul vaselor inițial funcționale, cât și la nivelul vaselor inițial nefuncționale există receptori canabinoizi de tip CB1 a căror

stimulare produce vasodilatație. Dacă aceasta ipoteză este corectă, ar trebui ca blocarea receptorilor CB1 să antagonizeze efectul vasodilatator al ibuprofenului.

Pentru a verifica această ipoteză, s-a procedat la experimentul ce urmează în care s-a evaluat efectul ibuprofenului (4.6%) după administrarea de AM281, blocant selectiv al receptorilor CB1. În viziunea noastră, dacă blocarea receptorilor CB1 antagonizează efectul vasodilatator al ibuprofenului rezultă că ibuprofenul își manifestă acest efect vasodilatator prin creșterea disponibilului de canabinoizi endogeni. Dacă blocarea receptorilor CB1 nu antagonizează efectul vasodilatator al ibuprofenului rezultă că acest efect al său se manifestă printr-un mecanism ce nu implică canabinoizii endogeni.

Există și o a treia posibilitate, aceea în care blocarea receptorilor CB1 antagonizează parțial efectul ibuprofenului. În această situație, ibuprofenul își manifestă efectul său vasodilatator prin ambele mecanisme, atât creșterea disponibilului de canabinoizi endogeni, cât și scăderea tonusului prostaglandinic vasoconstrictor.

Pentru a putea constata un eventual antagonism parțial al efectului ibuprofenului, este imperios necesar să se compare efectul acestuia după administrarea prealabilă de blocant al receptorilor CB1, cu efectul ibuprofenului administrat fără blocarea prealabilă a receptorilor CB1.

Rezultate

În ceea ce privește arterele, administrarea de AM281 nu a produs nici de această dată modificări ale diametrului vascular semnificative statistic față de valoarea inițială. Administrarea de ibuprofen ulterioară administrării de AM281 a crescut diametrul arterial cu 1.07% la momentul T1, 5.57% la momentul T2, 24.71% la momentul T3 și cu 25.12% la momentul T4, ultimele trei valori fiind semnificative statistic față de valoarea inițială.

În ceea ce privește diametrul venos, administrarea de AM281 nu a produs modificări ale diametrului vascular semnificative statistic față de valoarea inițială. Administrarea de ibuprofen ulterior administrării AM281 a crescut diametrul venos cu 7% la momentul T1, 6.7% la momentul T2, 6.61% la momentul T3 și cu 6.72% la momentul T4, aceste valori fiind diferite semnificativ statistic față de valoarea inițială, cu excepția momentului T3.

În ceea ce privește numărul vaselor sangvine, administrarea de AM281 nu a produs modificări, dar administrarea de ibuprofen ulterior administrării AM281 a crescut numărul acestor vase cu 13% la momentul T1, menținându-se constantă la toate cele trei momente, diferențele fiind semnificative statistic față de momentul inițial.

Discuții preliminare

Din rezultatele prezentate se poate constata că administrarea ibuprofenului ulterior administrării de AM281 a crescut semnificativ statistic față de momentul inițial atât diametrul cât și numărul vaselor funcționale. Aceasta arată că blocarea receptorilor CB1 nu antagonizează, sau cel puțin nu antagonizează complet efectul vasodilatator al ibuprofenului. Rezultă de aici că efectul vasodilatator al ibuprofenului nu se produce sau nu se produce exclusiv prin creșterea disponibilului de canabinoizi endogeni, ci printr-un alt mecanism, sau și printr-un alt mecanism decât acesta. Desigur, acest alt mecanism poate fi cel lansat ipotetic de noi în experimentele anterioare, respectiv diminuarea intensității unui tonus prostaglandinic vasoconstrictor ce ar putea exista la nivelul ambelor tipuri de vase iriene, atât vizibile cât și nevizibile.

Concluzii preliminare

1. La nivelul vaselor iriene de rezervă blocarea receptorilor CB1 antagonizează parțial efectul vasodilatator al ibuprofenului, această antagonizare fiind de aproximativ 50%.

2. La nivelul vaselor funcționale efectul vasodilatator al ibuprofenului se manifestă foarte probabil prin două mecanisme, atât prin creșterea disponibilului de canabinoizi endogeni, cât și prin scăderea unui tonus prostaglandinic vasoconstrictor, contribuția celor două fiind aproximativ egală.

3. La nivelul vaselor sangvine de rezervă, blocarea receptorilor CB1 nu antagonizează practic deloc efectul vasodilatator al ibuprofenului.

4. La nivelul patului vascular de rezervă, efectul vasodilatator al ibuprofenului se manifestă exclusiv, sau practic exclusiv, prin scăderea tonusului prostaglandinic vasoconstrictor.

5. Această diferență de mecanism de acțiune al ibuprofenului sugerează că la nivelul vaselor sangvine inițial vizibile există un proces intens de sinteză de canabinoizi endogeni, proces ce există sau care este foarte slab exprimat la nivelul vaselor sangvine inițial colabate.

6. Foarte probabil, numărul vaselor sangvine de rezervă reprezintă circa 13-14% din numărul vaselor inițial vizualizate prin metoda noastră de lucru.

Concluzii de etapă

1. La nivelul vaselor iriene (artere și vene), atât nevizibile cât și vizibile, există cel puțin două sisteme de reglare a vasomotricității:

- a) o reglare prostaglandinică ce este un sistem de reglare de tip tonic
- b) o reglare canabinoidică ce este un sistem de reglare de tip fazic

2. Tonusul prostaglandinic de reglare a motricității acestor vase este mai intens la nivelul vaselor sangvine considerate de noi vase de rezervă decât la nivelul vaselor funcționale.

3. Reglarea canabinoidică la acest nivel nu se produce prin intermediul receptorilor canabinoizi de tip CB1, a căror stimulare produce vasodilatație.

4. Densitatea receptorilor CB1 este mai mare la nivelul vaselor sangvine inițial colabate decât la nivelul vaselor sangvine ce au putut fi vizualizate încă de la începutul experimentelor.

5. Vasodilatația determinată de ibuprofen la nivelul vaselor sangvine inițial vizibile este realizată prin două mecanisme, atât scăderea tonusului prostaglandinic vasoconstrictor, cât și prin creșterea disponibilului de canabinoizi endogeni.

6. Cele două mecanisme precizate la punctul 5 intervin în proporții aproximativ egale.

7. La nivelul vaselor sangvine inițial colabate, vasodilatația produsă de ibuprofen, atunci când acesta este administrat în doza mare de 4.6%, ca în cazul experimentului nostru, se produce exclusiv prin scăderea tonusului prostaglandinic vasoconstrictor.

8. La această doză mare utilizată de noi, scăderea tonusului prostaglandinic vasoconstrictor produsă de ibuprofen determină practic evidențierea tuturor vaselor sangvine inițial colabate.

9. Întrucât prin scăderea tonusului prostaglandinic vasoconstrictor au fost evidențiate toate vasele iriene inițial nevizibile, o eventuală creștere a disponibilului de canabinoizi endogeni nu mai are cum să fie pusă în evidență în condițiile noastre experimentale, deși ea, foarte probabil, există.

10. În condițiile arătate mai sus, numărul vaselor sangvine colabate inițial reprezintă foarte probabil 13-14% din numărul de vase inițial funcționale.

Capitolul 12. Influența Diclofenacului asupra motricității vasculare și a numărului de vase la nivelul teritoriului irian

Ipoteză de lucru

Din cercetările prezentate mai sus rezultă că Ibuprofenul are un efect vasodilatator asupra vaselor iriene manifestat prin vasodilatația vaselor inițial vizibile – atât artere cât și vene- și prin creșterea numărului acestor vase vizibile. S-a apreciat că acest efect este produs prin două mecanisme, pe de o parte creșterea disponibilului de receptori canabinoizi endogeni, pe de altă parte scăderea unui ipotetic tonus prostaglandinic vasoconstrictor, cele două mecanisme intervenind în proporție aproximativ egală- cel puțin în ceea ce privește vasele inițial vizibile.

Totuși, este posibil ca acea componentă ipotetică prostaglandinică să nu existe în realitate, iar Ibuprofenul- pe lângă cele două mecanisme clasice(creșterea disponibilului de receptori canabinoizi endogeni și scăderea sintezei de prostaglandine)- să aibă de fapt și un al treilea mecanism vasodilatator propriu, nedescris în literatura de specialitate.

Pentru a verifica această ipoteză, s-a efectuat experimentul de mai jos în care s-a cercetat dacă Diclofenacul, un alt inhibitor nespecific al ciclooxigenazelor, are efect vasodilatator. În viziunea noastră, dacă Diclofenacul prezintă efect vasodilatator rezultă că Ibuprofenul a dilatat vasele și prin scăderea unui tonus prostaglandinic vasoconstrictor. Dacă Diclofenacul nu dilată vasele iriene, rezultă că nu există un tonus prostaglandinic vasoconstrictor, iar Ibuprofenul a dilatat vasele printr-un alt mecanism, propriu acestei substanțe. Nu se pune problema ca diclofenacul să dilate vasele iriene prin creșterea disponibilului de receptori canabinoizi endogeni deoarece Diclofenacul –chiar dacă ar crește disponibilul de canabinoizi endogeni- ar avea un efect de intensitate mult mai mică decât efectul observat în cazul Ibuprofenului.

Rezultate

După administrarea de Diclofenac în concentrație de 1mg/ml, diametrul arterial a crescut cu 5.9% la momentul T1, cu 9.8% la momentul T2, cu 10.4% la momentul T3 și cu 11.9% la momentul T4, ultimele două valori fiind semnificative statistic față de momentul inițial.

În ceea ce privește diametrul venos, acesta a crescut cu 9.1% la momentul T1, cu 9.5% la momentul T2, cu 16.9% la momentul T3 și cu 13% la momentul T4, diferențele

fiind semnificative statistic comparativ cu momentul inițial pentru valorile de momentele T1 și T3. Solventul nu a modificat semnificativ statistic diametrul vascular comparativ cu momentul inițial.

În ceea ce privește numărul vaselor, Diclofenacul a crescut acest număr cu 12.4% la momentul T1, cu 13,9% la momentul T2, cu 14,7% la momentul T3 și cu 20% la momentul T4, diferențele fiind semnificative statistic față de momentul inițial pentru valoarea înregistrată la momentul T2.

Concluzii de etapă

1. Diclofenacul are un efect vasodilatator, atât asupra vaselor funcționale, cât și asupra vaselor inițial colabate.

2. La nivelul vaselor iriene există un tonus prostaglandinic vasoconstrictor a cărui diminuare, în mod firesc, produce vasodilatație prin scăderea efectului vasoconstrictor prostaglandinic.

Capitolul 13. Influența Meloxicamului asupra motricității vasculare în teritoriul irian

Ipoteză de lucru

Din cercetările prezentate mai sus rezultă că la nivelul vaselor iriene, atât inițial vizibile, cât și la nivelul celor colabate inițial, există un tonus prostaglandinic vasoconstrictor. Diminuarea acestui tonus prostaglandinic vasoconstrictor prin administrarea de inhibitori nespecfici ai ciclooxigenazelor are drept consecință dilatarea vaselor sangvine iriene, indiferent de substanța utilizată –Ibuprofen sau Diclofenac.

Se știe foarte bine din literatura de specialitate că există cel puțin două ciclooxigenaze – COX1 și COX2 (24). Pentru a evalua care dintre acestea două este implicată în producerea tonusului prostaglandinic vasoconstrictor amintit mai sus, s-a efectuat experimentul de mai jos în care s-a cercetat efectul Meloxicamului- un inhibitor specific al COX2 (25)- asupra vascularizației iriene. În viziunea noastră, dacă

Meloxicamul are efect vasodilatator, tonusul prostaglandinic vasoconstrictor este realizat prin intermediul COX2.; dacă Meloxicamul nu are efect vasodilatator, tonusul prostaglandinic vasoconstrictor este realizat prin COX1.

Loturi

S-a lucrat pe 3 loturi a câte 6 șobolani masculi albinoși rasa Wistar per lot ce au fost anesteziați cu Ketamină și curarizați cu Rocuroniu.

La primul lot de șobolani, soluția de Meloxicam a avut concentrația de 2.5% . La lotul numărul 2, soluția de Meloxicam a avut concentrația de 5% iar la lotul numărul 3 soluția de Meloxicam a avut concentrația de 10%.

Rezultate

În ceea ce privește diametrul arterial, nici solventul (serul fiziologic), nici Meloxicamul nu au produs modificări ale diametrului vascular semnificative statistic, la niciuna din cele trei doze utilizate, cu excepția dozei maxime de Meloxicam, respectiv doza de 10%, în cazul căreia s-a produs o scădere a diametrului arterial cu 14.2% la momentul T2, valoare semnificativă din punct de vedere statistic comparativ cu momentul inițial. În ceea ce privește diametrul venos, nici solventul, nici Meloxicamul nu au determinat modificări semnificative statistic în acest caz.

În ceea ce privește numărul de vase vizibile, Meloxicamul în concentrație de 2.5% nu a determinat diferențe semnificative statistic față de momentul inițial. Meloxicamul în concentrație de 5% a crescut numărul vaselor vizibile cu 11% la momentul T1, cu 14.6% la momentul T2, cu 14.8% la momentul T3 și cu 15.8% la momentul T4, aceste diferențe fiind semnificative statistic la momentele T3 și T4 comparativ cu momentul inițial. Meloxicamul în concentrație de 10% a crescut numărul vaselor vizibile cu 3,72% la momentul T1, cu 9,8% la momentul T2, cu 13,5% la momentul T3 și cu 10,9% la momentul T4, aceste valori fiind semnificative din punct de vedere statistic la toate momentele, cu excepția momentului T4. Administrarea solventului nu a produs modificări semnificative statistic la niciuna din cele trei doze administrate.

Discuții de etapă

Din rezultatele prezentate mai sus rezultă că Meloxicamul nu a produs efect vasodilatator la nivelul vaselor funcționale la niciuna din cele trei doze administrate. Întrucât Ibuprofenul și Diclofenacul, două substanțe care inhibă ambele ciclooxygenaze, au avut efect vasodilatator, iar Meloxicamul –inhibitor selectiv al COX2- nu a avut efect

vasodilatator, rezultă că la nivelul vaselor sangvine vizibile tonusul prostaglandinic vasoconstrictor este realizat prin intermediul COX1.

Concluzii de etapă

1. Meloxicamul nu a produs vasodilație la nivelul vaselor sangvine iriene funcționale.

2 La nivelul vaselor inițial vizibile, tonusul prostaglandinic vasoconstrictor este realizat prin intermediul enzimei COX1.

3. Meloxicamul a crescut numărul de vase vizibile semnificativ statistic și dependent de doză.

4. La nivelul vaselor inițial colabate există un tonus prostaglandinic vasoconstrictor realizat prin intermediul COX2.

5. Foarte probabil, la nivelul vaselor inițial vizibile tonusul prostaglandinic vasoconstrictor este realizat exclusiv prin intermediul enzimei COX1, iar la nivelul vaselor inițial nevizibile tonusul prostaglandinic vasoconstrictor este realizat prin contribuția ambelor enzime, atât COX1 cât și COX2.

Capitolul 14. Influența Parecoxibului asupra motricității vasculare la nivelul teritoriului irian

Ipoteză de lucru

Din cercetările prezentate mai sus rezultă că la nivelul vaselor iriene, atât funcționale, cât și inițial nefuncționale, există un tonus prostaglandinic vasoconstrictor. Administrarea inhibitorilor nespecifici ai ciclooxigenazelor determina vasodilație la nivelul patului vascular irian, indiferent de substanța utilizată- Ibuprofen sau Diclofenac.

Este binecunoscut în literatura de specialitate faptul că Meloxicamul acționează ca inhibitor specific COX2 la doze mici și ca inhibitor nespecific la doze mari(25–27). Luând în considerare rezultatele prezentate în capitolul 13, Meloxicamul nu a produs efect vasodilatator la nivelul vaselor iriene la niciuna din cele trei doze administrate. Întrucât Ibuprofenul și Diclofenacul, două substanțe care inhibă ambele ciclooxigenaze, au avut efect vasodilatator, iar Meloxicamul –inhibitor selectiv al COX2- nu a avut efect vasodilatator, s-a concluzionat că la nivelul vaselor sangvine iriene studiate tonusul

prostaglandinic vasoconstrictor este realizat prin intermediul COX1. De asemenea, în urma experimentelor efectuate anterior am concluzionat că cel mai probabil, la nivelul vaselor funcționale tonusul prostaglandinic vasoconstrictor este realizat exclusiv prin intermediul enzimei COX1, iar la nivelul vaselor inițial nefuncționale tonusul prostaglandinic vasoconstrictor este realizat prin contribuția ambelor enzime, atât COX1 cât și COX2. În acest sens, am decis să studiem efectul Parecoxibului- inhibitor specific COX2- asupra motricității vasculare iriene.

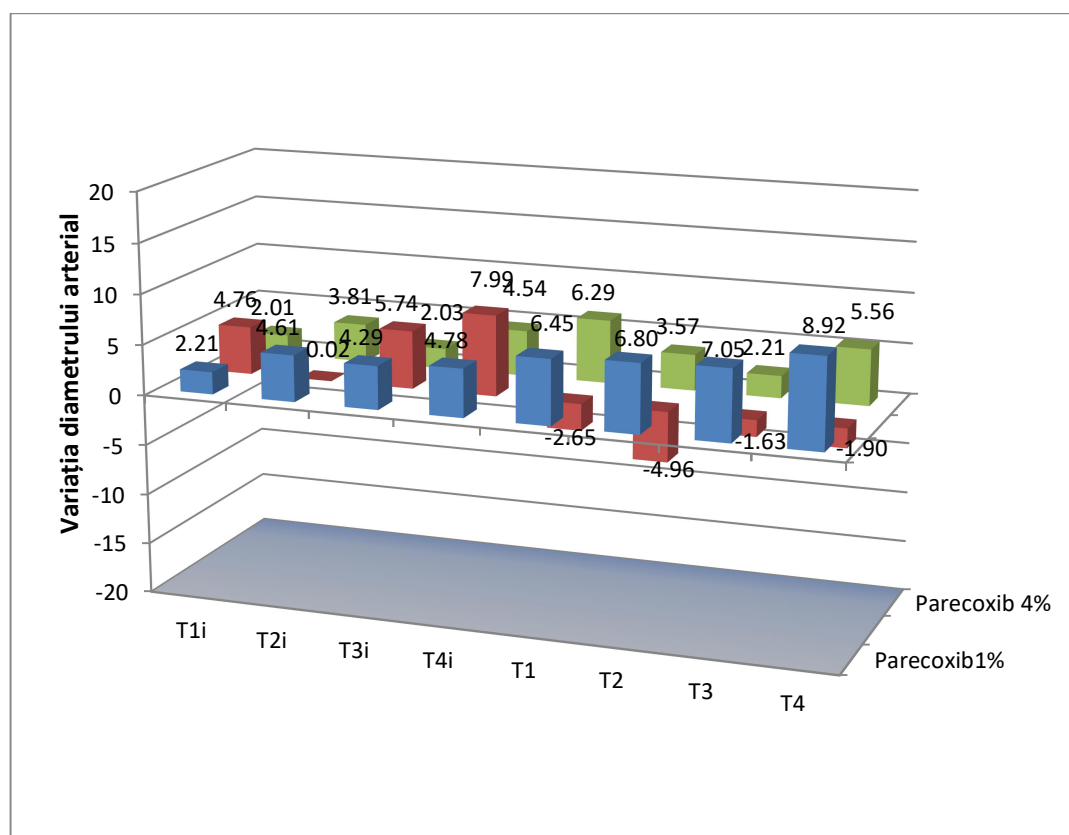
Loturi

S-a lucrat pe 3 loturi a câte 6 șobolani masculi albinoși rasa Wistar per lot ce au fost aneestizați cu Ketamină și curarizați cu Rocuroniu.

La primul lot de șobolani, soluția de Parecoxib a avut concentrația de 1%. La lotul numărul 2, soluția de Parecoxib a avut concentrația de 2% iar la lotul numărul 3 soluția de Parecoxib a avut concentrația de 4%.

Rezultate

Rezultatele sunt prezentate în graficul 14.1.



Graficul 14.1. Variația relativă a diametrului arterial în funcție de T0i folosind Parecoxib în concentrații de 1%, 2% și 4%.

Concluzii de etapă

1. Administrarea topică a inhibitorilor selectivi COX2 (Meloxicam, Parecoxib) nu a produs creșteri semnificative ale diametrului arterial într-o manieră dependentă de doză. Considerând COX1 sursa principală a sintezei tromboxanilor, precum și faptul că inhibarea sa determină vasodilatație, în timp rolul principal al COX2 este sinteza prostaciclinei, a cărei inhibare produce vasoconstricție(9,28) (29), putem emite ipoteza existenței unui tonus prostaglandinic COX1-dependent.

2. La nivelul patului vascular irian există cel puțin 2 mecanisme de reglare

- O reglare de tip tonic, dependentă de prostaglandine
- O reglare de tip fazic, dependentă de sistemul cannabinoid

Capitolul 15. Influența Metamizolului asupra motricității vasculare oculare în teritoriul irian

Ipoteză de lucru

Metamizolul este un pro-medicament ce se descompune în urma administrării orale în structurile corespunzătoare derivaților de pirazolonă în a căror clasă se încadrează(30,31). Metamizolul prezintă efect analgezic, antipiretic și spasmolitic. Mecanismul responsabil pentru efectul său analgezic este complex, bazându-se în principal pe inhibiția ciclooxygenazei-3 (COX3) și activarea sistemelor opioid și cannabinoid.(10) Studiile efectuate pe această substanță s-au concentrate pe efectul său analgezic post-panfotocoagulare laser retiniană (32,33). Este deja descrisă în literatură reducerea semnificativă a durerii post-PFCL la pacienții cu retinopatie diabetică proliferativă odată cu administrarea a 1g Metamizol cu 40 min înaintea începerii procedurii, situație observată și în cazul pacienților cu retinopatie diabetic non-proliferativă (33)

Datorită mecanismului său de acțiune complex și luând în considerare rezultatele obținute mai sus, în această etapă ne dorim să studiem efectele administrării topice a Metamizolului la nivelul vascularizației iriene.

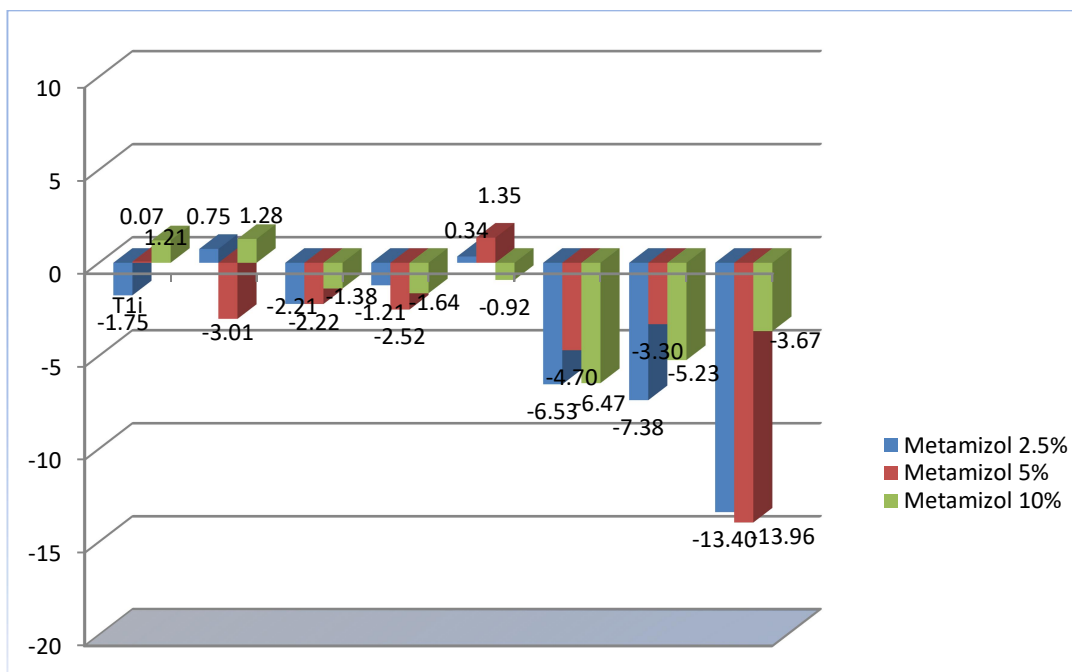
Loturi

S-a lucrat pe 6 loturi a câte 6 șobolani masculi albinoși rasa Wistar per lot ce au fost anesteziați cu Ketamină și curarizați cu Rocuroniu

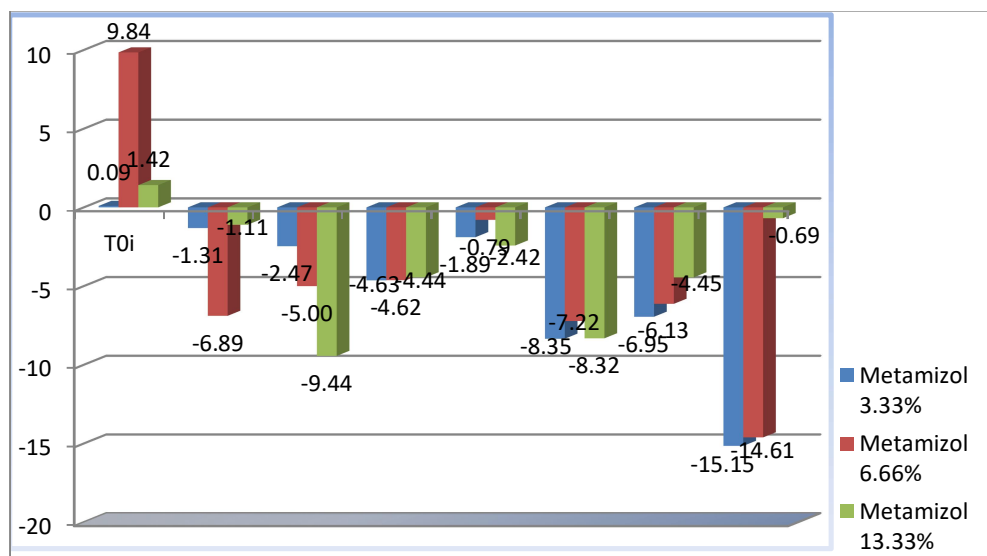
Prima substanță administrată a fost soluția salină, apoi substanța studiată (Metamizol 2.5%, 5%, 10% și doze echimolare de Metamizol 3.33%, 6.66%, 13.33%). Designul experimentului a fost paralel.

Rezultate

Așa cum se poate observa în graficele 15.1. și 15.2., Metamizolul a indus o ușoară vasoconstricție ce a debutat încă din momentul inițial pentru toate dozele studiate, semnificație statistică obținându-se însă doar pentru dozele medii folosite (pentru doza de 5% $p=0.04$, respectiv pentru doza de 6.66% $p=0.02$) și doar la momentul final (T4). Totodată, pentru doza de Metamizol 10% am putut observa o tendință către vasoconstricție la limita semnificației statistice ($p=0.053$) încă din momentul T2.



Graficul 15.1. Variația relativă (raportată la T0i) a diametrului vascular arterial în momentul administrării topice de Metamizol 2.5%, 5% and 10%



Graficul 15.2. Variația relativă (raportată la T0i) a diametrului vascular arterial în momentul administrării topice de Metamizol 3.33%, 6.66% și 13.33%.

Concluzii de etapă

- Metamizolul a indus vasoconstricție arterială ușoară pentru toate dozele administrate, posibil mediată via COX-1
- Semnificație statistică pentru vasoconstricția arterială am obținut doar la momentul final T4, după 5 minute de la instilare și doar în cazul dozelor medii de Metamizol (5%, 6.66%)
- Administrarea Metamizolului nu a modificat diametrului vascular într-o manieră dependentă de doza administrată.

Capitolul 16. Discuții generale

Motivația alegerii acestui model experimental o reprezintă lipsa relativă a studiilor in vivo asupra efectului administrării topice a antiinflamatoarelor nesteroidiene asupra vascularizației polului anterior în literatura de specialitate. Fluxul sangvin la nivelul corpului ciliar este asigurat atât la nivelul mușchiului ciliar, cât și la nivelul proceselor

ciliare.(34) Un avantaj al studiului de față îl reprezintă folosirea în scop științific a șobolanilor Wistar cu un iris slab pigmentat.

Capitolul 17. Concluzii generale și contribuții personale

1. Ibuprofenul și Diclofenacul- două substanțe ce inhibă COX neselectiv- au crescut diametrul vascular în teritoriul irian

2. Ibuprofenul a determinat vasodilatație arterială într-o manieră dependentă de doză.

3. Vasodilatația indusă de Ibuprofen are la bază două mecanisme: scăderea tonusului prostaglandinic vasoconstrictor și creșterea disponibilului de receptori de tip CB1.

4. Administrarea inhibitorilor selectivi COX-2 (Meloxicam și Parecoxib) nu a determinat creșterea diametrului arterial într-o manieră dependentă de doză; în cazul Meloxicamului și Parecoxibului la doza medie de 2.3% am putut observa o tendință către vasoconstricție. Ținând cont de faptul că COX-1 este principala sursă a sintezei de tromboxani și că inhibarea sa determină vasodilatație, în timp ce COX-2 are ca principal rol sinteza prostaglandinelor, iar inhibarea sa stimulează vasoconstricția, putem emite ipoteza existenței unui tonus prostaglandinic COX-1 dependent (9,28)

5. La nivelul patului vascular al irisului există cel puțin 2 mecanisme de reglare:

➤ O reglare dependentă de prostaglandine ce reprezintă un mecanism de reglare de tip tonic.

➤ Un mecanism de reglare de tip fazic mediat de sistemul canabinoid.

6. Reglarea canabinoidă din teritoriul vascular al irisului este mediată de receptori de tip CB1; stimularea acestor receptori determină vasodilatație.

7. Metamizolul a indus vasoconstricție arterială ușoară pentru toate dozele administrate, posibil mediată prin COX-1.

8. Semnificație statistică pentru vasoconstricția arterială am obținut doar la momentul final T4, după 5 minute de la instilare și doar în cazul dozelor medii de Metamizol (5%, 6.66%)

9. Administrarea Metamizolului nu a modificat dimensiunile diametrului vascular într-o manieră dependentă de doza administrată.

Este binecunoscut în literatura de specialitate că vasele iriene sunt supuse unor procese complexe de control al motricității prin mecanisme nervoase, umorale, autacoide și de altă natură. După cum am mai precizat, prezenta lucrare și-a propus să evalueze posibilitatea existenței unor sisteme de reglare autacoidă în teritoriul irian.

În viziunea proprie, dacă blocarea receptorilor CB1 antagonizează efectul vasodilatator al ibuprofenului rezultă că ibuprofenul își manifestă acest efect vasodilatator prin creșterea disponibilului de canabinoizi endogeni. Dacă blocarea receptorilor CB1 nu antagonizează efectul vasodilatator al ibuprofenului rezultă că acest efect al său se manifestă printr-un mecanism ce nu implică canabinoizii endogeni.

Producerea umorii apoase este un proces metabolic activ susținut de aportul de oxigen și nutrienți și eliminarea reziduurilor metabolice la nivelul circulației ciliare(35). Morfologia proceselor ciliare și vascularizația aferentă variază cu specia, deși sursa arterială anterioară și drenajul venos posterior sunt comune (35,36). Dimensiunea corpului ciliar, precum și localizarea inaccesibilă și organizarea vasculară complexă determină dificultăți în studiul hemodinamicii ciliare. Fără doar și poate, câteva observații generale se pot face în ceea ce privește perfuzia bazală și fluxul sangvin la acest nivel (35). Luând în considerare că atât irisul ,cât și corpul ciliar fac parte din uvee, având totodată origine embriologică comună, putem presupune că rezultatele obținute mai sus se pot aplica și în cazul corpului ciliar.

Studii recente arată scăderea paralelă a fluxului la nivelul corpului ciliar și a producerii umorii apoase ca răspuns la vasoconstricția indusă medicamentos , sugerând existența unui nivel critic al fluxului sangvin la acest nivel sub care producția umorii apoase este nesustenabilă(37). Astfel, realizarea unui substanțe medicamentoase cu administrare topică pe bază de Metamizol ar putea aduce beneficii importante pacienților glaucomatoși datorită atât efectului său analgezic,cât și efectului vasoconstrictor ce ar putea fi implicat în scăderea sintezei umorii apoase.

În momentul de față tehnicile de chirurgie oculară și tehnologia aferentă au înregistrat o evoluție remarcabilă ce ar putea susține o creștere constantă în viitorul apropiat a folosirii antiinflamatoarelor nesteroidiene. Medicii oftalmologi se află în postura de a trebui să aleagă între a folosi corticosteroizi cu administrare topică și de asemenea cu potențialele lor efecte secundare privind întârzierea procesului de cicatrizare și creșterea presiunii intraoculare (la pacienții "steroid-responsive") și folosirea antiinflamatoarelor

nesteroidiene ce sunt deja folosite în mod curent pre și postoperator pentru controlul inflamației, iar efectele lor asupra tensiunii intraoculare rămân încă necunoscute, însă costurile acestor substanțe medicamentoase fiind destul de mari. Cea din urmă problemă, respectiv cea a costurilor, ar putea fi eliminată prin folosirea Metamizolului ale cărui efecte analgezice, antipiretice, spasmolitice și antiinflamatoare sunt deja cunoscute. În ciuda folosirii lui prin administrare sistemică de aproximativ 90 ani și luând în considerare că literatura de specialitate demonstrează un bun profil de siguranță (38), nu există studii privind administrarea topică a acestei substanțe. Cercetări recente au concluzionat că administrarea sistemică a Metamizolului asociază mai puține reacții adverse comparativ cu opioizii, iar profilul de siguranță privind efectele adverse neurologice a fost superior antiinflamatoarelor nesteroidiene (39).

Cu toate că încep să se contureze dovezi științifice încurajatoare, în momentul de față nu există pe piață nicio substanță medicamentoasă aprobată pentru administrare topică (oculară) cu rol modulator al sistemului endocannabinoid. Ambele tipuri de receptori canabinoizi (CB1, CB2) au fost identificați în diverse țesuturi la nivel ocular (la om), inclusiv la nivelul corneei (CB1) după cum am menționat mai sus. Astfel, investigarea riguroasă a receptorilor CB1 merită încurajată în vederea dezvoltării unor noi strategii de control al analgeziei, iar activarea receptorilor CB2 este de real interes când vine vorba despre efectul lor antiinflamator.

De asemenea, realizarea unor combinații fixe AINS/canabinoizi este promițătoare datorită potențialelor efecte sinergice în ceea ce privește analgezia, determinând astfel o reducere a dozajului și scăderea reacțiilor adverse. Consider că orientarea viitoarelor studii în această direcție este cu atât mai interesantă cu cât noi argumente par să susțină faptul că la nivelul sistemului nervos central efectele antiinflamatoarelor nesteroidiene sunt dependente de sistemul endocannabinoid.

Bibliografie

1. American Academy of Ophthalmology. Basic and clinical science course, 2016-2017. 2016.
2. Yanoff M, Duker JS, editors. Ophthalmology. 3. ed. Edinburgh: Mosby, Elsevier; 2009. 1528 p. (An expert consult title online + print).
3. Morrison JC, Fahrenbach WH, Bacon DR, Wilson DJ, Van Buskirk EM. Microvasculature of the ocular anterior segment. Microsc Res Tech. 1996 Apr 15;33(6):480–9.

4. Louis B. Cantor, MD, Indianapolis, Indiana, Senior Secretary for Clinical Education
Christopher J. Rapuano, MD, Philadelphia, Pennsylvania, Secretary for Lifelong Learning and
Assessment George A. Cioffi, MD, New York, New York, BCSC Course Chair. Fundamentals
and Principles of Ophthalmology Basic and Clinical.
5. Rainsford KD. Anti-inflammatory drugs in the 21st century. *Subcell Biochem.* 2007;42:3–27.
6. Brune K, Hinz B. The discovery and development of antiinflammatory drugs. *Arthritis Rheum.* 2004 Aug;50(8):2391–9.
7. Brogden RN. Pyrazolone derivatives. *Drugs.* 1986;32 Suppl 4:60–70.
8. Hinz B, Cheremina O, Bachmakov J, Renner B, Zolk O, Fromm MF, et al. Dipyrrone elicits
substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insights into the
pharmacology of an old analgesic. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2007
Aug;21(10):2343–51.
9. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 May;31(5):986–1000.
10. Jasiocka A, Maślanka T, Jaroszewski JJ. Pharmacological characteristics of metamizole. *Pol J
Vet Sci.* 2014 Mar 1;17(1):207–14.
11. Lucas S. The Pharmacology of Indomethacin. *Headache.* 2016 Feb;56(2):436–46.
12. Engelhardt G. Pharmacology of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory drug with
an improved safety profile through preferential inhibition of COX-2. *Br J Rheumatol.* 1996
Apr;35 Suppl 1:4–12.
13. Furst DE. Meloxicam: selective COX-2 inhibition in clinical practice. *Semin Arthritis Rheum.* 1997 Jun;26(6 Suppl 1):21–7.
14. Padi SSV, Jain NK, Singh S, Kulkarni SK. Pharmacological profile of parecoxib: a novel,
potent injectable selective cyclooxygenase-2 inhibitor. *Eur J Pharmacol.* 2004 Apr
26;491(1):69–76.
15. Botting RM. Inhibitors of cyclooxygenases: mechanisms, selectivity and uses. *J Physiol
Pharmacol Off J Pol Physiol Soc.* 2006 Nov;57 Suppl 5:113–24.
16. Tang J, Li S, White PF, Chen X, Wender RH, Quon R, et al. Effect of Parecoxib, A Novel
Intravenous Cyclooxygenase Type-2 Inhibitor, on the Postoperative Opioid Requirement and
Quality of Pain Control: Anesthesiology. 2002 Jun;96(6):1305–9.
17. Mackie K. Cannabinoid receptors: where they are and what they do. *J Neuroendocrinol.* 2008
May;20 Suppl 1:10–4.
18. Stanley C, O’Sullivan SE. Vascular targets for cannabinoids: animal and human studies. *Br J
Pharmacol.* 2014 Mar;171(6):1361–78.
19. Korczyn AD. The ocular effects of cannabinoids. *Gen Pharmacol Vasc Syst.* 1980
Jan;11(5):419–23.
20. Yazulla S. Endocannabinoids in the retina: from marijuana to neuroprotection. *Prog Retin Eye
Res.* 2008 Sep;27(5):501–26.

21. Fowler CJ. NSAIDs: eNdocannabinoid stimulating anti-inflammatory drugs? *Trends Pharmacol Sci.* 2012 Sep;33(9):468–73.
22. Ahn DK, Choi HS, Yeo SP, Woo YW, Lee MK, Yang GY, et al. Blockade of central cyclooxygenase (COX) pathways enhances the cannabinoid-induced antinociceptive effects on inflammatory temporomandibular joint (TMJ) nociception: *Pain.* 2007 Nov;132(1):23–32.
23. Ruggieri V, Vitale G, Filaferro M, Frigeri C, Pini LA, Sandrini M. The antinociceptive effect of acetylsalicylic acid is differently affected by a CB1 agonist or antagonist and involves the serotonergic system in rats. *Life Sci.* 2010 Mar;86(13–14):510–7.
24. Cryer B, Feldman M. Cyclooxygenase-1 and Cyclooxygenase-2 Selectivity of Widely Used Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Am J Med.* 1998 May;104(5):413–21.
25. Degner F, Sigmund R, Zeidler H. Efficacy and tolerability of meloxicam in an observational, controlled cohort study in patients with rheumatic disease. *Clin Ther.* 2000 Apr;22(4):400–10.
26. Jackson LM, Hawkey CJ. COX-2 Selective Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Do They Really Offer Any Advantages? *Drugs.* 2000 Jun;59(6):1207–16.
27. Urban MK. COX-2 specific inhibitors offer improved advantages over traditional NSAIDs. *Orthopedics.* 2000 Jul;23(7 Suppl):S761-764.
28. Johnson M, McLaren JW, Overby DR. Unconventional aqueous humor outflow: A review. *Exp Eye Res.* 2017 May;158:94–111.
29. Devière J. Do selective cyclo-oxygenase inhibitors eliminate the adverse events associated with nonsteroidal anti-inflammatory drug therapy? *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002 Sep;14 Suppl 1:S29-33.
30. Koster HT, Avis HJ, Stevens MF, Hollmann MW. [Metamizole in postoperative pain management]. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2012;156(14):A4323.
31. Lampl C, Likar R. Metamizol: Wirkmechanismen, Interaktionen und Agranulozytoserisiko. *Schmerz.* 2014 Dec;28(6):584–90.
32. de Araújo RB, Zacharias LC, de Azevedo BM, Giusti BS, Pretti RC, Takahashi WY, et al. Metamizole versus placebo for panretinal photocoagulation pain control: a prospective double-masked randomized controlled study. *Int J Retina Vit.* 2015;1:21.
33. Sekar C, Rajasekaran S, Kannan R, Reddy S, Shetty TAP, Pithwa YK. Preemptive analgesia for postoperative pain relief in lumbosacral spine surgeries: a randomized controlled trial. *Spine J Off J North Am Spine Soc.* 2004 Jun;4(3):261–4.
34. McDougal DH, Gamlin PD. Autonomic Control of the Eye. In: Terjung R, editor. *Comprehensive Physiology* [Internet]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2014 [cited 2019 Mar 15]. p. 439–73. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cphy.c140014>
35. Kiel JW, Hollingsworth M, Rao R, Chen M, Reitsamer HA. Ciliary blood flow and aqueous humor production. *Prog Retin Eye Res.* 2011 Jan;30(1):1–17.
36. Rohen JW. Scanning electron microscopic studies of the zonular apparatus in human and monkey eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1979 Feb;18(2):133–44.
37. Reitsamer HA, Kiel JW. Relationship between Ciliary Blood Flow and Aqueous Production in Rabbits. *Investig Ophthalmology Vis Sci.* 2003 Sep 1;44(9):3967.

38. Nikolova I, Tencheva J, Voinikov J, Petkova V, Benbasat N, Danchev N. Metamizole: A Review Profile of a Well-Known “Forgotten” Drug. Part I: Pharmaceutical and Nonclinical Profile. *Biotechnol Biotechnol Equip*. 2012 Jan;26(6):3329–37.
39. Kötter T, da Costa BR, Fässler M, Blozik E, Linde K, Jüni P, et al. Metamizole-Associated Adverse Events: A Systematic Review and Meta-Analysis. Manzoli L, editor. *PLOS ONE*. 2015 Apr 13;10(4):e0122918.

Anexa 1

Lista Lucrărilor științifice publicate

1. Endocannabinoid System and Ocular Vascularization

Iancu R1, Coman IC*, Barac C, Hammoud MA, Cherecheanu AP.

Nepal J Ophthalmol. 2018 Jul;10(20):168-175. doi: [10.3126/nepjoph.v10i2.20464](https://doi.org/10.3126/nepjoph.v10i2.20464).

2. The effects of prostaglandins and endocannabinoids on iris arterial vascularization in Wistar rats - Experimental analysis

Ioana-Cristina COMAN^{1,2*}, Mohammad Al HAMMOUD³, Ruxandra TUDOSESCU^{1,4}, Raluca IANCU^{1,2}, Cosmina BARAC⁵, Alina POPA CHERECHEANU^{1,2}

Romanian Journal of Ophthalmology. April-June 2019, Volume 63, Issue 2, pp:135-141

Accepted: March 25th, 2019; doi:[10.22336/rjo.2019.20](https://doi.org/10.22336/rjo.2019.20).

