

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**

**INFLUENȚA FARMACOLOGICĂ A BLOCANTELOR
CANALELOR IONICE ÎN VINDECAREA PLĂGILOR
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. FULGA ION**

**Student-doctorand:
GRIGORE
(DOBRITOIU-GRIGORE)
ALEXANDRA**

2024

Cuprins

Lista cu lucrările științifice	4
Introducere.....	5
1. Tegumentul	11
1.1 Aspectul histologic al tegumentului	11
1.2. Modelele experimentale folosite pentru a investiga procesul de cicatrizare ...	13
1.2 Modele experimentale utilizate pentru a studia procesul de cicatrizare pe șobolane – caracteristici	19
1.3. Etapele procesului de cicatrizare cutanată.....	20
2. Implicarea blocantelor canalelor ionice în procesul de cicatrizare	23
2.2. Blocantele canalelor de calciu și implicarea in procesul de cicatrizare	24
2.2.1 Nimodipina.....	25
2.3. Blocantele canalelor de sodiu și implicarea in procesul de cicatrizare	26
2.4. Blocantele canalelor de potasiu și implicarea in procesul de cicatrizare	27
2.4.1. Amiodarona	29
3. Ipoteza de lucru	30
4. Metodologia generală a cercetării	32
5. Cercetări experimentale privind efectul amiodaronei asupra vindecării plăgilor cutanate la șobolan	38
5.1. Ipoteza de lucru	38
5.2 Material și metodă	38
5.3 Rezultate	40
5.3.1 Parametrul principal: durata medie a vindecării plăgilor	40
5.3.2 Parametri secundari	41
5.4 Discuții de etapă	47

5.5 Concluzii de etapă	48
6. Reevaluarea efectului amiodaronei asupra vindecării plăgilor	50
6.1 Ipoteza de lucru	50
6.2 Material și metodă	50
6.3 Rezultate	52
6.3.1 Parametrul principal: durata medie a vindecării plăgilor	52
6.3.2 Parametri secundari	53
6.3.3 Parametrul principal pentru leziunile dorsale și caudale	59
6.3.4 Parametri secundari pentru leziunile dorsale și caudale	60
6.3.5 Parametrul principal pentru leziunile practicate la nivelul cefei	66
6.3.6 Parametri secundari pentru leziunile practicate la nivelul cefei	67
6.4 Discutii de etapă	73
6.5 Concluzii de etapa	75
7. Cercetări experimentale privind efectul nimodipinei asupra vindecării plăgilor cutanate la șobolan	76
7.1 Ipoteza de lucru	76
7.2 Material și metodă	76
7.3 Rezultate	78
7.3.1 Parametrul principal	78
7.3.2 Parametri secundari	79
7.4 Discuții de etapă	84
7.5 Concluzii de etapă	85
8. Cercetări experimentale privind efectele blocării canalelor de potasiu și a canalelor de calciu de tip T, separat sau împreună, asupra vindecării plăgilor	86
8.1 Ipoteză de lucru	86
8.2 Material și metodă	86

8.3 Rezultate	88
8.3.1 Parametrul principal: durata medie a vindecării plăgilor	88
8.3.2 Parametri secundari	89
8.4 Discuții de etapă	95
8.5 Concluzii de etapă	96
9. Cercetări experimentale privind efectele blocării canalelor de potasiu și a canalelor de calciu de tip T, separat, împreună și secvențial asupra vindecării plăgilor	98
9.1 Ipoteza de lucru	98
9.2 Material și metodă	99
9.3 Rezultate	100
9.3.1 Parametrul principal: durata medie a vindecării plăgilor	100
9.3.2 Parametri secundari	101
9.4 Discuții de etapă	107
9.5 Concluzii de etapă	109
10. Discuții generale	110
11. Concluzii finale și contribuții personale	119
11.1. Concluzii finale.....	119
11.1 Contribuții personale	121
Bibliografie.....	123

Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Plăgile cutanate sunt categoric o problemă de mare interes medical având în vedere frecvența mare cu care acestea pot fi întâlnite în practica terapeutică, de la leziuni traumatice până la leziuni chirurgicale. Vindecarea lor este în general un proces relativ îndelungat chiar dacă nu suferă complicații și necesită multe zile, uneori chiar săptămâni până la vindecare.

Prezenta lucrare a pornit de la unele date de literatură Veronica J. Moulin și colab [1,2] care arată că la nivelul plăgilor cutanate potențialul electric al celulelor de la marginile plăgii este constant, pe când potențialul în interiorul plăgilor este variabil. Aceasta face ca între marginile și interiorul plăgii să se instaleze o diferență de potențial care variază pe parcursul procesului de vindecare. Această diferență de potențial poate determina migrarea celulelor în câmpul electric astfel creat ceea ce ar putea avea importanță în procesul de vindecare a plăgilor cutanate [1–4].

Cu siguranță celulele migrează în câmpul electric datorită faptului că au un anumit potențial electric membranar. Acest potențial electric este datorat migrării unor ioni prin canalele ionice corespunzătoare, ceea ce generează curenți electrici transmembranari, respectiv, curenți depolarizanți prin canalele de sodiu și canalele de calciu și curenți repolarizanți prin canalele de potasiu [1,2,5–7].

Blocarea canalelor ionice diminuează intensitatea acestor curenți ionici transmembranari ceea ce este de natură să modifice potențialul electric membranar al celulelor și să influențeze viteza cu care acestea migrează în câmpul electric și pe cale de consecință, durata procesului de vindecare a plăgilor.

Metodologia generală a cercetării

Studiile prezentate în această lucrare au utilizat practic o singură metodă de cercetare, respectiv evaluarea evoluției în timp a unor leziuni standard produse la șobolani.

S-a lucrat pe șobolani masculi rasa Wistar cu greutatea inițială cuprinsă între 230 și 300 grame. Șobolani au fost achiziționați INCDM (Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară) Cantacuzino. Animalele au fost aduse în Laboratorul Disciplinei de Farmacologie din cadrul Facultății de Medicină a Universității de Medicină și Farmacie Carol Davila, cu cel puțin 48 de ore înainte de începerea experimentului și au fost ținute pe toată perioada

experimentului în condiții standard, respectiv hrană și apă ad libitum, temperatura ambiantă 21-23° C, iluminare artificială 12 ore/zi (8.00-20.00).

Șobolanii au fost cazați câte unul în cușcă și au avut acces *ad libitum* la apă și hrană pe toată durata experimentului. De asemenea condițiile de mediu au fost constante pe toată durata experimentului (luminozitate, temperatură, umiditate). Numărul total de șobolani lucrați a fost 196 și au fost împărțiți în loturi de cât 8-10 animale pe lot, în funcție de experiment.

Toate experimentele au fost efectuate cu respectarea normelor de etice prevăzute de Directiva Europeană 63/2010 și Legea 206 din 27 mai 2004. Toate protocoalele au fost aprobate de Comisia de Etică a Cercetării Științifice a Universității de Medicină și Farmacie Carol Davila și de către Agenția Națională Sanitar Veterinară și pentru Siguranța Animalelor (ANSVSA), iar experimentele s-a derulat sub supravegherea Comisiei de Bunăstare a animalelor de laborator din U.M.F. Carol Davila.

Substanțe

Substanțele utilizate au fost :

Amiodarona – Clorhidrat de Amiodaronă hameln 50 mg/ml concentrat pentru soluție injectabilă/perfuzabilă, SC. hameln rds s.r.o

Nimodipina - Nimotop 10 mg/50 ml soluție perfuzabilă SC BAYER AG

Ketamina 50mg/ml solutie injectabila PANPHARMA GmbH

Xilazina 2% solutie injectabila, BIOVETA

Alcool benzilic – solventul amiodaronei, LABBOX

Alcool etilic – solventul nimodipinei, Prodvinalco

Apa distilata

Ser fiziologic

Betadină

S-au efectuat dilutii succesive, concentratiile solutiilor utilizate fiind urmatoarele:

- Pentru amiodarona: 200 000 nM

2000 nM

200 nM

- Pentru nimodipina: 10 000 nM

1000 nM

200 nM

În experimentul numărul 1 și 2 s-au administrat cele 3 concentrații de amiodaronă și alcool benzilic comparativ cu un lot care nu a primit nimic. În experimentul numărul 3 s-au administrat cele 3 concentrații de nimodipina și alcool benzilic, comparativ cu un lot care nu a primit nimic. În experimentul numărul 4 s-au administrat amiodaronă în concentrație de 200 nM, nimodipină în concentrație de 2000 nM și alcool etilic, comparativ cu un lot care nu a primit nimic. În experimentul numărul 5 s-au administrat amiodaronă în concentrație de 200 nM, nimodipină în concentrație de 2000 nM administrate simultan și secvențial, comparativ cu un lot martor.

Aparatură

Aparatura utilizată a fost :

Seringi de 2ml, 5ml și 10 ml

Pipeta monocanal Isolab

Flacoane de sticlă de 100ml

Bisturiu chirurgical de unică folosință tip numărul 11

Dermatom de biopsie de uz veterinar de tip punch biopsy, Kai Industries co. Ltd

Șabloane de carton

Comprese sterile

Marker negru

Aparat de ras de unică folosință

Pensa Chirurgicală Tissue 3:4, 14 Cm

Aparat de fotografiat DSLR Canon (zoom optic 3X; 24,1 megapixeli)

Laptop Dell cu Windows 10 și Office 10

Mod de lucru

Au fost efectuate 5 experimente succesive.

În ziua 0 a fiecărui experiment, șobolanii au fost anesteziați cu un cocktail format din ketamina 100 mg/kg și xilazina 2% astfel: fiecare șobolan a fost injectat cu 91 mg/kgc ketamina și 9.1 mg/kgc xilazina.

După instalarea anesteziei generale șobolanul a fost amplasat pe masa de lucru și i s-a epilat o porțiune de tegument din zona dorsală – la aproximativ 1 cm de scapulă. Epilarea a fost realizată astfel: mai întâi s-a tuns blana șobolanului cu o foarfecă iar apoi cu ajutorul unor aparate de ras de unică folosință – câte unul pentru fiecare șobolan – a fost îndepărtat părul restant din zona dorsală aleasă pentru producerea leziunii. Suprafața epilată a fost de aproximativ 4 X 4 cm.

În primul experiment în mijlocul zonei epilate a fost pusă o bucată de carton (un pătrat - 1 X 1cm) și i s-a trasat conturul cu ajutorul unui marker de culoare neagră. Apoi întreaga zona epilată a fost dezinfectată cu betadină.

Cu ajutorul unui bisturiu s-a efectuat o incizie în toată grosimea tegumentului (până la paniculul carnosus) de-a lungul conturului trasat cu markerul. Cu ajutorul unei pense s-a îndepărtat tegumentul din zona marcată. Zona leziunii obținută prin excizia tegumentului a fost dezinfectată cu betadină. Apoi șobolanul a fost amplasat în cușcă. Revenirea completă din anestezie s-a realizat după aproximativ 30 de minute [8,41,42].

În următoarele experimente pentru a scădea deviația standard, începând cu următoarele experimente, în locul leziunilor pătrate cu latura de 10 mm efectuate cu bisturiul așa cum am procedat în experimentul numărul 1, am produs leziuni cutanate cu ajutorul unui dermatom de biopsie de uz veterinar de tip punch biopsy produs de către Kai Industries co. Itd, care produce leziuni circulare standard cu diametru de 8 milimetri. În experimentul numărul 2 s-au produs câte 3 leziuni la fiecare animal, respectiv una la nivelul cefei, una la nivel dorsal și una la nivel caudal. În experimentele 3, 4 și 5 s-au produs numai leziuni dorsale și caudale, fără leziunile de la nivelul cefei [9].

A doua zi (ziua 1 a fiecărui experiment) s-a măsurat suprafața fiecărei leziunii la fiecare șobolan (un exemplu este prezentat în figura nr.4.1)

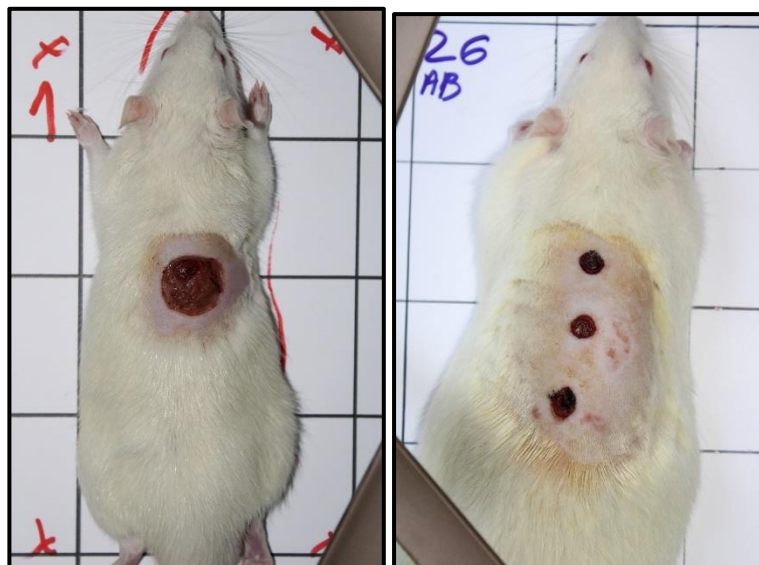


Fig. 4.1. Tipuri de leziuni efectuate în prima zi a experimentului

Pe baza acestor măsurători, animalele au fost împărțite pe loturi de câte 8-10 animale pe lot, în funcție de experiment, astfel încât suprafața medie și deviațiile standard să fie cât mai apropiate posibil între loturi.

Substanțele de testat au fost administrate începând din ziua 1 de experiment (ziua 2 post-excizie tegumentară), în primele 3 zile având loc etapa inflamatorie a procesului de cicatrizare. Din ziua 4 post-excizie începe etapa de proliferare iar administrarea substanțelor începând din această zi a urmărit analiza efectului substanțelor de cercetat asupra fazei proliferative a cicatrizării. Substanțele au fost administrate cu ajutorul unor seringi de 5 ml (fără ac). Administrarea substanțelor a fost efectuată de de 2 ori pe zi (dimineața la 7:00 a.m. și seara la 6 p.m) prin aplicații locale – câte 2.5 - 3 ml/leziune/aplicație astfel încât întreaga suprafață a leziunii să fie acoperită complet și relativ uniform. Administrarea substanțelor s-a efectuat până în ziua a 15-a (inclusiv) cu excepția ultimului experiment în care plăgile s-au vindecat în 12 zile [8,9].

Animalele au fost urmărite până la vindecarea completă. Deasemenea, a fost evaluată și variația greutateii șobolanilor prin cântărirea lor din 2 în 2 zile. La fiecare animal s-a măsurat suprafața fiecărei leziuni în zilele 1,3,5, 7, 12 și 15 [8,9].

Pentru măsurarea suprafeței leziunii, fiecare șobolan a fost amplasat pe o bucată de carton (pe care au fost desenate diferite repere – pătrate de dimensiuni 5 X 5 cm) și s-au marcat câteva repere ale poziției șobolanului (repere ce au fost aceleași și pentru următoarele măsurători). Pentru fiecare șobolan s-a folosit câte un carton pe care a fost notat numărul șobolanului. La o înălțime de 40 de cm față de zona dorsală a fost amplasat un aparat foto DSLR Canon (zoom optic 3X; 24,1 megapixeli). Pentru realizarea tuturor fotografiilor au fost folosite aceleași setări ale aparatului și aceleași condiții (aceleași înălțime, aceeași poziție a șobolanului – cu leziunea localizată în centrul imaginii, riglă amplasată lângă șobolan, zoom optic), respectiv la momentul t_1 - ziua 1 de la practicarea leziunii, t_2 - ziua 3, t_3 - ziua 5, t_4 - ziua 7, t_5 - ziua 9, t_6 - ziua 12, t_7 - ziua 15 [8,9]. La finalul experimentului, șobolanii au fost eutanasiați cu un cocktail format din diazepam și ketamină.

Măsurarea suprafeței a fost realizată cu ajutorul programului ImageJ. Pentru scalare s-a măsurat numărul de pixeli/cm în condițiile de fotografiere menționate mai sus. S-a folosit o scală de 300 pixeli/cm iar pentru toate măsurătorile ariei leziunii s-a folosit un zoom de 50%. Pentru fiecare leziune s-au efectuat 5 măsurători pentru minimalizarea erorii umane întrucât delimitarea

ariei leziunii a fost făcută manual. Dimensiunea finală a ariei leziunii a fost reprezentată de media celor 5 măsurători.

Prelucrarea rezultatelor

Parametrul principal analizat a fost durata medie a vindecării plăgilor la fiecare lot, la primul experiment sau 3 parametri secundari la următoarele experimente.

Pe lângă acesta au fost analizați și 2 parametri secundari, respectiv scăderea procentuală a suprafețelor lezionale și viteza medie procentuală pe zi a suprafețelor lezionale [8,9].

Pentru fiecare șobolan și moment al măsurătorii s-au calculat următorii parametri:

- a) Parametrul principal - durata vindecării plăgilor măsurată în zile
- b) Parametri secundari

1. Scăderea procentuală a suprafeței raportată la valoarea suprafeței inițiale, după formula

$$S = \frac{S_{t1} - S_t}{S_{t1}} \times 100$$

unde S reprezintă scăderea procentuală a suprafeței măsurată în procente, S_{t1} reprezintă suprafața inițială măsurată în pixeli, iar S_t reprezintă suprafața la momentul măsurării, în pixeli.

2. Viteza de scădere procentuală zilnică a suprafeței leziunii după formula

$$V = \left(\frac{S_t - S_{t+1}}{S_t} \times 100 \right) : [(t + 1) - t]$$

unde V reprezintă viteza de scădere procentuală pe zi a suprafeței măsurată în %/zi, S_t reprezintă suprafața leziunii la momentul t, măsurată în pixeli, S_{t+1} reprezintă suprafața leziunii la momentul t+1 măsurată în pixeli, iar t reprezintă momentul măsurării suprafeței exprimat în număr de zile de la debutul experimentului.

3. Aria de sub curba de evoluție a suprafeței lezionale în timp după formula

$$ASC = \sum_{t=1}^6 (S_{t_x} + S_{t_{x+n}}) \frac{(t_{x+1} - t_x)}{2}$$

Unde ASC reprezintă aria de sub curba de evoluție a suprafeței lezionale în timp măsurată în pixeli x zile, S_{t_x} reprezintă suprafața măsurată în pixeli la momentul t_x , iar t_x reprezintă momentul măsurării în zile.

Pentru prelucrarea rezultatelor s-a utilizat programul Microsoft Excel. Pentru fiecare lot al experimentelor s-au calculat mediile și deviațiile standard la fiecare parametru la fiecare moment al măsurătorii. Semnificația statistică a diferențelor pentru fiecare experiment a fost cercetată prin

testul T-Student. S-a considerat că diferențele între loturi pentru fiecare moment al măsurătorii, sunt semnificative statistic dacă $p < 0.05$ pentru parametrul principal. Pentru parametri secundari s-a aplicat metoda Bonferroni pentru a nu se produce o inflație de risc alfa [8,9].

Practic valoarea de 0.05 a fost împărțită la numărul de parametri secundari plus numărul 1 provenit de la parametri secundari și s-a considerat că diferențele între loturi sunt semnificative statistic dacă p este mai mic decât valoarea rezultată din aceasta împărțire. În fapt, pentru parametri secundari s-a considerat că diferențele sunt semnificative statistic dacă $p < 0.02$ pentru primul experiment în care au fost numai 2 parametri secundari și $p < 0.01$ în experimentele următoare în care au fost câte 3 parametri secundari [8,9].

Rezultate

Pentru a verifica această ipoteza, într-un prim experiment s-a studiat influențarea procesului de vindecare a unor plăgi cu suprafață de 100 mm² de către amiodaronă în 3 concentrații respectiv o concentrație de 200 nM care blochează exclusiv canalele de potasiu, o concentrație de 2000 nM care blochează canalele de potasiu cât și canalele de calciu și o concentrație de 200 000 nM care blochează canalele de potasiu, canalele de calciu și canalele de sodiu.

În ceea ce privește vindecării plăgilor (parametrul principal), numai amiodarona în doza mică a înregistrat o scădere semnificativă statistic față de lotul netratat, respectiv 19,57 zile la amiodaronă în concentrație mică față de 27,17 zile la lotul netratat [8].

În principiu amiodarona în doza mică a scăzut durata necesară vindecării plăgilor cu aproximativ 8 zile, reprezentând 27.97% din durata necesară vindecării plăgilor la lotul netratat.

Având în vedere ipoteza de lucru, putem presupune că blocarea canalelor de potasiu accelerează vindecarea plăgilor în condițiile noastre experimentale, reprezentată prin scăderea timpului necesar vindecării plăgilor.

Aceasta presupune că blocarea canalelor de potasiu favorizează vindecarea plăgilor ținând seama ca doza medie care pe lângă canalele de potasiu blochează și canalelor de calciu și doza mare, care pe lângă canalele de potasiu blochează și canalele de calciu și de sodiu, nu au avut efect semnificativ statistic, putem presupune că atât blocarea canalelor de calciu cât și blocarea canalelor de sodiu antagonizează efectul blocării canalelor de potasiu [8].

Ipoieza pare să fie logică deoarece curentul de potasiu este un curent repolarizant, iar curenții de calciu și de sodiu sunt curenți depolarizanți. Este foarte probabil ca blocarea curentului de potasiu care este repolarizant să fi crescut potențialul membranelor și în felul acesta să fi accelerat migrarea celulelor în câmpul electric. În aceste condiții, blocarea curenților depolarizanți a scăzut potențialul membranelor crescut prin blocarea canalelor de potasiu și a antagonizat în acest fel efectul favorabil al blocării canalelor de potasiu. Întrădevar așa pare să se fi derulat evenimentele și în experimentul nostru, pentru că efectul amiodaronei în concentrație mare asupra vindecării plăgilor a fost mai puțin intens decât efectul amiodaronei în concentrație medie. Diferențele nu sunt însă semnificative statistic.

Parametri secundari utilizați respectiv scăderea procentuală a suprafețelor lezionale raportat la suprafața inițială și viteza de scădere procentuală zilnică a suprafețelor lezionale încearcă să evalueze prin ce mecanisme blocarea canalelor ionice au influențat vindecarea plăgilor.

În ceea ce privește suprafața lezională, aceasta a scăzut progresiv de la o determinare la alta pentru toate loturile. Cea mai rapidă scădere a fost pentru lotul tratat cu amiodaronă în concentrație mică, diferențele fiind semnificative statistic față de lotul netratat la toate determinările, cu excepția momentului t_4 când nu s-au înregistrat diferențe semnificative statistic față de lotul martor. Și amiodarona în concentrație mare a înregistrat diferențe semnificative statistic față de lotul martor, dar numai la momentul t_3 .

În ceea ce privește viteza zilnică de scădere a suprafeței lezionale, aceasta în general a crescut în primele 7 zile, după care s-a menținut relativ constantă. Cea mai mare viteză de scădere zilnică a suprafeței s-a constatat la lotul tratat cu amiodaronă în concentrație mică, diferențele fiind semnificative statistic față de lotul netratat la momentul t_2 .

Și loturile tratate cu amiodaronă în concentrație medie și mare au înregistrat viteze mai mari de scădere procentuală zilnică a suprafețelor lezionale față de lotul netratat, dar numai doza medie de amiodaronă a fost semnificativă statistic la momentul t_3 .

Aceste rezultate arată că scurtarea duratei de vindecare a plăgilor se produce printr-o accelerare a vitezei de scădere a suprafețelor lezionale.

Faptul că diferențele au fost semnificative statistic numai în anumite momente ale măsurătorii, nu în toate, sugerează că pe parcursul vindecării intervin mecanisme diferite de la o etapă la alta și că este posibil ca blocarea canalelor de potasiu să favorizeze vindecarea plăgilor numai în anumite etape ale procesului, în funcție de mecanismul intervenit în etapele respective.

Ideea unor mecanisme diferite de la o etapă la alta în procesul de vindecare al plăgilor este întărită și de faptul că în primele 7 zile ale procesului de vindecare, viteza medie zilnică procentuală a crescut de la o determinare la alta, iar ulterior aceasta s-a menținut relativ constantă. Faptul că în analiza acestor parametri secundari și amiodarone în concentrație medie a avut efecte semnificative statistic în anumite momente ale măsurătorii, dar amiodarona în concentrație mare nu a avut niciodată efecte semnificative statistic sugerează că blocarea canalelor de calciu antagonizează numai parțial efectul blocării canalelor de potasiu. Efectul blocării canalelor de potasiu pare să fie antagonizat complet numai prin blocarea concomitentă atât a canalelor de calciu cât și a canalelor de sodiu.

Din punct de vedere statistic, există desigur posibilitatea ca numărul mic de leziuni pe grup de animale să nu fi conferit o putere statistică suficientă pentru a decela diferențe între loturile tratate cu diferite doze de amiodaronă.

În aceste condiții s-a efectuat *al 2 lea* experiment în care s-a mărit numărul de leziuni pe lot. Practic la fiecare șobolan s-au efectuat câte 3 leziuni dorsale cu suprafețe de 50.24 mm².

În ceea ce privește durata medie de vindecare a plăgilor, parametrul principal, amiodarona în concentrație mică a scăzut această durată semnificativ statistic atât în analiza statistică a tuturor leziunilor cât și în analiza stratificată. Rezultatele sunt concordante cu cele din experimentul precedent. Scăderea a fost de 2.17 zile în analiza tuturor leziunilor, de 2,87 zile pentru analiza leziunilor dorsale și caudale cumulate și de 2,09 zile pentru leziunile de la ceafă. Aparent, această scurtare a timpului necesar vindecării este mai mică decât cea constatată în experimentul precedent în care scurtarea a fost de 7.4 zile. Aceasta se datorează, cu siguranță, faptului că leziunile din experimentul precedent au fost mult mai mari decât leziunile din acest experiment, adică 100mm² în experimentul precedent și 50,24 mm² în experimentul actual. În mod firesc, leziunile de dimensiuni mai mari au nevoie de un timp mai lung pentru a se vindeca față de leziunile de dimensiuni mai mici. Concret, leziunile practicate în experimentul precedent la lotul martor s-au vindecat într-o perioadă de timp de 27.17 zile, iar leziunile din acest experiment s-au vindecat la lotul martor într-o perioadă de timp de 15.83 zile [11].

Analiza globală a leziunilor nu a scos în evidență date diferite față de experimentul precedent. Probabil aceasta se datorează unei dispersii mari datorată faptului că leziunile de la ceafă au avut o evoluție diferită față de leziunile dorsale și caudale. Analiza stratificată a arătat că în cazul leziunilor de la ceafă există diferențe semnificative statistic față de lotul martor, la loturile

tratate cu amiodaronă în concentrație mică și medie. Trecând la leziunile caudale și dorsale exista diferențe semnificative statistic la loturile tratate cu amiodaronă în concentrație mică și mare.

Aceste date confirmă ipoteza acestui experiment conform căreia blocarea canalelor de calciu și blocarea canalelor de sodiu nu antagonizează complet blocarea canalelor de potasiu, ci numai îi diminuează intensitatea.

Parametri secundari utilizați, respectiv scăderea procentuală a suprafețelor lezionale raportat la suprafața inițială, viteza de scădere procentuală zilnică a suprafețelor lezionale și aria de sub curba de evoluție a suprafeței lezionale în timp încearcă să evalueze prin ce mecanisme blocarea canalelor ionice au influențat vindecarea plăgilor.

În ceea ce privește scăderea suprafețelor lezionale, acestea au scăzut cu un procent din suprafața inițială progresiv crescător de la un moment al măsurătorii la altul. Diminuarea suprafețelor lezionale a fost cea mai mare la loturile tratate cu amiodaronă în concentrație mică, dar nu s-au putut înregistra diferențe semnificative statistic față de lotul martor decât la momentul t_6 .

Analiza evoluției suprafețelor lezionale a leziunilor dorsale și caudale cumulate a arătat la fel ca mai sus, cea mai mare scădere a suprafețelor lezionale a fost înregistrată la doza mică de amiodaronă, diferențele fiind semnificative statistic față de lotul netratat la momentele t_5 și t_6 [11].

Spre deosebire de primul experiment, în cazul leziunilor dorsale și caudale și amiodarona în concentrație medie a avut o evoluție semnificativ statistic mai bună decât a lotului martor, cu excepția momentului t_4 .

Amiodarona în concentrație mare, a determinat deasemenea o evoluție mai bună a leziunilor decât la lotul martor, dar diferențele au fost semnificative statistic numai în ultima perioadă a evoluției acestora, începând cu momentul t_5 .

Analiza statistică a evoluției leziunilor de la ceafă nu a decelat practic diferențe semnificative statistic.

În ceea ce privește viteza medie procentuală de scădere zilnică a suprafețelor lezionale, asemănător cu cele constatate în experimentul precedent, aceasta a crescut progresiv în primele 7 zile, după care s-a menținut relativ constantă. Analiza pe toate leziunile a arătat însă că au existat numai unele momente la care s-au înregistrat diferențe semnificative statistic față de lotul martor, la fiecare din cele 3 concentrații utilizate.

În ceea ce privește aria de sub curba de evoluție a suprafeței lezionale în timp la toate leziunile cumulate, acestea au scăzut semnificativ statistic față de lotul martor la toate dozele de

amiodaronă, cea mai mare scădere fiind înregistrată la lotul tratat cu concentrație mică de amiodaronă. Analiza statistică nu a oferit informații suplimentare atât pe leziunile caudale și dorsale cumulate, respectiv pentru leziunile de la ceafă, loturile de amiodaronă nu au înregistrat diferențe semnificative statistice.

Aceste date arată că scurtarea duratei de vindecare a plăgilor este datorată accelerării vitezei de vindecare a acestora, dar că, cel puțin aparent, blocarea diferitelor tipuri de canale ionice are efect numai în anumite perioade ale procesului de vindecare. Cel puțin aparent, pe baza rezultatelor de mai sus, blocarea canalelor de potasiu favorizează vindecarea în anumite perioade, blocarea canalelor de calciu în alte perioade, iar blocarea canalelor de sodiu în alte perioade.

Întrucât blocarea concomitentă a canalelor de potasiu și de calciu scurtează semnificativ statistic durata vindecării plăgilor s-a pus problema dacă și blocarea exclusivă a canalelor de calciu influențează procesul de vindecare a plăgilor.

Întrucât și blocarea canalelor de calciu concomitent cu blocarea canalelor de potasiu favorizează vindecarea plăgilor, s-a pus problema dacă blocarea exclusivă a canalelor de calciu are un asemenea efect. Astfel a fost făcut *al 3 lea experiment*, unde s-a lucrat pe șobolani cărora li s-au practicat leziuni cu suprafață de 50.24 mm², ulterior au fost tratați cu nimodipină în 3 concentrații, o concentrație de 200nM care blochează exclusiv canalele de calciu de tip L, o concentrație de 1000 nM care blochează atât canalele de calciu de tip L cât și canalele de calciu de tip T și o concentrație de 10 000 nM care blochează canalele de calciu de tip L, canalele de calciu de tip T și receptorii canabinoizi CB₁.

În ceea ce privește durata vindecării leziunilor, parametrul principal, nimodipina în concentrație medie a scăzut această durată de la 17,33±6,37 zile la lotul martor, până la 14,8±5,6 zile, adică 2,53 zile. Dacă facem o comparație privind scurtarea duratei vindecării plăgilor în cele 3 experimente prezentate până acum situația se prezintă astfel:

- În cazul leziunilor de mari dimensiuni din primul experiment, durata necesară vindecării plăgilor de la 27,17±5,19 zile la 19,57±3,05 zile, adică s-a redus cu 7,6 zile, ceea ce reprezintă o reducere de 27,97%.

- În cazul leziunilor de dimensiuni mici, amiodarona în concentrație mică a redus durata vindecării plăgilor de la 17,37±2,19 zile la 14,50±2,19 zile, adică s-a redus cu 2,87 zile, ceea ce reprezintă o reducere de 16,52%.

- În cazul leziunilor de dimensiuni mici tratate cu nimodipina, doza medie de nimodipină a redus durata vindecării plăgilor de la $17,33 \pm 6,37$ zile la $14,8 \pm 5,6$ zile, adică s-a redus cu 2,53 zile, ceea ce reprezintă o reducere de 14,59 %.

Aceste date sugerează că blocarea canalelor de potasiu favorizează vindecarea plăgilor cu atât mai mult cu cât suprafața e mai mare. Când leziunile au avut o suprafață de 100mm^2 reducerea timpului necesar vindecării plăgilor a fost de 27,97%, iar când leziunile au fost de $50,24 \text{mm}^2$, reducerea timpului vindecării plăgilor a fost de 16,52%.

Și blocarea canalelor de calciu favorizează vindecarea plăgilor în condițiile noastre experimentale, aceasta se întâmplă numai blocând concomitent și canalele de calciu de tip L și canalele de calciu de tip T, deoarece numai nimodipina în concentrație medie a avut un efect semnificativ statistic. Nimodipina în concentrație mică, care blochează numai canalele de calciu de tip L, nu a avut efect semnificativ statistic. Desigur că este greu de precizat dacă efectul favorabil constatat la doza medie de nimodipină se datorează blocării exclusive a canalelor de calciu de tip T sau blocării concomitente a ambelor tipuri de canale de calciu. Totuși faptul că blocarea selectivă a canalelor de calciu de tip L nu a avut un efect semnificativ statistic ne face să credem că efectul constatat este datorat exclusiv blocării canalelor de calciu de tip T.

Întrucât în cazul blocării canalelor de potasiu, pe leziuni de dimensiuni mici, scăderea duratei necesare vindecării plăgilor a fost de 16,52%, iar în cazul blocării canalelor de calciu de tip T scăderea acestei durate a fost de 14,59%, sugerează că efectul blocării canalelor de potasiu este mai intens decât blocării canalelor de calciu de tip T.

Parametri secundari utilizați, respectiv scăderea procentuala a suprafețelor lezionale raportat la suprafața inițială, viteza de scădere procentuală zilnică a suprafețelor lezionale și aria de sub curba de evoluție a suprafeței lezionale în timp încearcă să evalueze prin ce mecanisme blocarea canalelor ionice au influențat vindecarea plăgilor.

În ceea ce privește parametrii secundari analizați, numai viteza de scădere procentuală zilnică a înregistrat o diferență semnificativă statistică la momentul t_3 pentru loturile tratate cu nimodipina în concentrație medie și mare.

Având în vedere că și nimodipina favorizează vindecarea plăgilor, nu numai blocarea exclusivă a canalelor de potasiu prin amiodaronă, s-a pus problema dacă asocierea amiodaronei în doză mică cu nimodipină în doză medie influențează favorabil vindecarea plăgilor. Astfel ca a fost făcut *al 4 lea experiment*. S-a lucrat tot pe șobolani cărora li s-au practicat 2 leziuni de $50,24 \text{mm}^2$.

Toate substanțele utilizate au scurtat durata de vindecare a plăgilor semnificativ statistic față de lotul martor. Cel mai intens efect l-a avut blocarea canalelor de potasiu prin amiodaronă în doză mică, când scurtarea duratei de vindecare a plăgilor a fost de 1,94 zile, adică o scurtare de 13,06%. Și blocarea concomitentă a canalelor de calciu de tip L și de tip T prin nimodipină în doză medie a scurtat durata de vindecare a plăgilor dar numai cu 0,18 zile, adică o scurtare de 1,21%. Asocierea dintre amiodaronă și nimodipină a scăzut durata vindecării plăgilor cu 1,99 zile, adică 13,4%, valoare practic identică cu cea produsă de amiodaronă în doză mică prin blocarea canalelor de potasiu.

Este evident că blocarea concomitentă a canalelor de potasiu, canalelor de calciu de tip L și a canalelor de calciu de tip T nu aduce nici un beneficiu semnificativ față de blocarea exclusivă a canalelor de potasiu.

Din experimentul anterior a rezultat că numai blocarea canalelor de calciu de tip T favorizează vindecarea plăgilor nu și blocarea canalelor de calciu de tip L.

Coroborând datele din toate experimentele prezentate până acum e posibil așa cum se arăta în experimentul numărul 1, că blocarea canalelor de calciu de tip L să antagonizeze parțial blocarea canalelor de potasiu, ceea ce probabil nu produce și blocarea canalelor de calciu de tip T. Aceasta ar explica întradevăr de ce nu s-a constatat nici un efect de sumă. Parte din efectul blocării canalelor de potasiu a fost antagonizat prin blocarea canalelor de calciu de tip L la care s-a adăugat efectul favorabil al blocării canalelor de calciu de tip T.

Analiza parametrilor secundari a arătat ca durata scurtării timpului de vindecare a plăgilor a fost produsă prin creșterea vitezei procentuale zilnice de evoluție a plăgilor cu mențiunea că în ultima etapă a vindecării plăgilor aceasta viteză a fost crescută semnificativ statistic numai prin blocarea canalelor de potasiu prin administrarea de amiodaronă în doză mică.

În ceea ce privește scăderea procentuală a suprafețelor lezionale, aceasta a fost crescută semnificativ statistic diferențiat în funcție de perioada de evoluție a leziunilor; în prima parte a procesului de vindecare s-au înregistrat diferențe semnificative statistic față de lotul martor numai prin blocarea canalelor de calciu de tip T, numai prin administrarea nimodipinei, pe când în a doua parte a evoluției plăgilor s-au înregistrat diferențe semnificative statistic față de lotul martor numai prin blocarea canalelor de potasiu prin administrare de amiodaronă.

Este posibil ca în diferite faze de evoluție a procesului de vindecare al plăgilor să intervină mecanisme funcționale diferite în realizarea acestui proces. În aceste condiții, în primă fază a

procesului de vindecare al plăgilor ar putea interveni unele mecanisme care sunt accelerate prin blocarea canalelor de calciu de tip T, iar în cea de-a doua parte a procesului de vindecare al plăgilor ar putea intervenii mecanisme care sunt accelerate prin blocarea canalelor de potasiu.

În aceste condiții s-a efectuat *al 5 lea experiment* în care s-a cercetat influențarea procesului de vindecare al plăgilor de către amiodaronă în concentrații care blochează exclusiv canalele de potasiu și nimodipina în concentrații care blochează atât canalele de calciu de tip L cât și canalele de calciu de tip T în administrare secvențială, respectiv nimodipină în prima etapă, urmată de amiodaronă în cea de-a doua etapă a procesului de vindecare a plăgilor comparativ cu asocierea nimodipină-amiodaronă în administrarea continuă pe toată durata procesului de vindecare a plăgilor.

Toate substanțele au determinat o scădere a duratei de vindecare a plăgilor semnificative statistic indiferent dacă acestea au fost administrate separat, concomitent sau secvențial. Scăderea duratei vindecării plăgilor a fost de 11,38% pentru amiodaronă, 12,61% pentru nimodipină, 13,07% pentru asocierea celor două substanțe și 14,23% pentru administrarea secvențială a celor două substanțe. După cum se poate constata, cea mai mare scădere a duratei vindecării plăgilor a fost întradevăr, conform ipotezei de lucru, la administrarea secvențială a celor două substanțe, dar diferențele între administrarea secvențială și administrarea concomitentă nu sunt semnificative statistic.

Analiza parametrilor secundari arată, ca și în experimentele precedente, că aceasta scurtare a duratei vindecării plăgilor este datorată creșterii vitezei de scădere zilnice procentuale a suprafeței lezionale. Acest parametru a fost însă semnificativ statistic numai pentru administrarea secvențială a substanțelor atât în cazul nimodipinei (momentul t_4) cât și în cazul amiodaronei (momentul t_5). În ceea ce privește aria de sub curba de evoluție a suprafeței lezionale în timp, acest parametru a înregistrat diferențe semnificative statistic față de lotul martor numai în cazul administrării secvențială a celor două substanțe.

În toate aceste condiții putem aprecia că ipoteza de lucru practic, se confirmă. Nimodipina acționează în prima etapă a procesului de vindecare prin blocarea canalelor de calciu de tip T, pe când amiodarona acționează în a doua etapă a procesului de vindecare prin blocarea canalelor de potasiu. Analiza primelor două experimente a scos în evidență că efectul blocării canalelor de potasiu este cu atât mai intens cu cât suprafața leziunilor este mai mare. Concret, asupra leziunilor cu suprafață de 100 mm² durata vindecării plăgilor a fost cu 27.97%, iar asupra leziunilor cu

suprafață de 50.24mm² durata vindecării plăgilor a fost scurtată cu 16.52%.

Datele din acest experiment au arătat însă ca blocarea canalelor de potasiu favorizează vindecarea plăgilor numai în a doua etapă a acestui proces când viteza medie de scurtare zilnică s-a menținut relativ constantă, nu și în prima perioadă în care viteza de scurtare a crescut progresiv, perioadă care are practic aceeași durată de circa 7 zile indiferent de suprafața leziunilor. Aceasta a doua perioadă a avut o durată de 20.17 zile în cazul leziunilor de 100 mm² și de 8.83 zile în cazul leziunilor cu suprafață de 50.24mm².

În aceste condiții, în cazul leziunilor mari, o scădere a duratei vindecării plăgilor de 7,4 zile reprezintă 37.67% din durata celei de-a doua etapă de vindecare a plăgilor, iar în cazul leziunilor mici o scădere a duratei vindecării plăgilor de 2,17 zile reprezintă 24,57%.

În aceste condiții, rezulta ca și în cazul în care scurtarea duratei vindecării plăgilor e raportată la perioada în care amiodarona acționează prin blocarea exclusivă a canalelor de potasiu, efectul este cu atât mai intens cu cât suprafața leziunilor este mai mare.

Asocierea amiodaronei la nimodipină antagonizează parțial efectul nimodipinei în prima perioadă de evoluție a vindecării plăgilor, iar asocierea nimodipinei la amiodaronă antagonizează parțial efectul amiodaronei în a doua perioadă de evoluție a vindecării plăgilor, probabil prin blocarea canalelor de calciu de tip L.

În condițiile noastre experimentale pe baza rezultatelor de mai sus, putem aprecia că cea mai eficace modalitate de utilizare a substanțelor de mai sus pentru a grăbi procesul de vindecare a plăgilor este administrarea secvențială, inițial de nimodipină și ulterior amiodaronă. Pe lângă eficacitate această modalitate de tratament ar putea avea și avantajul unor costuri mai mici. Faptul că prima etapă a procesului de vindecare a plăgilor respectiv aceea de creștere progresivă a vitezei zilnice procentuale pare să fie constantă, în jur de 7 zile indiferent de suprafața leziunilor și de timpul necesar vindecării plăgilor, permite în oarecare măsură o standardizare a terapiei secvențiale. Conform datelor rezultate în condițiile noastre experimentale, nimodipina ar trebui administrată în primele 7 zile de evoluție a plăgilor, urmată ulterior de amiodaronă.

Este greu de spus însă dacă aceste date obținute în condițiile noastre experimentale pot fi extrapolate la om. Ideal ar fi să se facă și studii clinice.

Concluzii și contribuții personale

Concluzii finale

1. Amiodarona în concentrație mică, care blochează numai canalele de potasiu a determinat scurtarea duratei de vindecare a plăgilor.
2. Amiodarona în doză medie, care blochează atât canalele de potasiu, cât și canalele de calciu și amiodarona în doză mare, care blochează canalele de potasiu, canalele de calciu și canalele de sodiu nu a determinat o scurtare semnificativă statistic a duratei vindecării plăgilor.
3. Într-un experiment în care prin mărirea numărului de leziuni pe lot s-a crescut puterea testului, s-a constatat că și amiodarona în concentrație medie, care blochează atât canalele de potasiu cât și canalele de calciu, scurtează semnificativ statistic durata vindecării plăgilor, dar efectul este de intensitate mai mică decât cel prin blocarea exclusivă a canalelor de potasiu printr-o concentrație mică de amiodaronă.
4. Este posibil ca blocarea canalelor de potasiu care determină o creștere a potențialului membranelor, curentul de potasiu fiind un curent repolarizant, să fie antagonizat parțial prin blocarea concomitentă a canalelor de calciu, curentul de calciu fiind un curent depolarizant.
5. Efectul blocării canalelor de potasiu asupra duratei vindecării plăgilor este cu atât mai intens cu cât suprafața leziunilor este mai mare. În cazul leziunilor cu suprafața de 100 mm² durata vindecării plăgilor a fost scurtată cu 27.97%, iar în cazul leziunilor cu suprafața de 50,24mm², durata vindecării plăgilor a fost scurtată cu 16.52%.
6. Nimodipina, în concentrație mică care blochează exclusiv canalele de calciu de tip L nu influențează durata vindecării plăgilor.
7. Nimodipina în concentrație medie, care blochează atât canalele de calciu de tip L cât și canalele de calciu de tip T scurtează semnificativ statistic durata vindecării plăgilor.
8. Blocarea canalelor de calciu de tip T are efect favorabil asupra vindecării plăgilor.
9. Asocierea nimodipinei în doză medie, care blochează atât canalele de calciu de tip L cât și canalele de calciu de tip T, cu amiodarona în doză mică, care blochează exclusiv canalele de potasiu, nu determină un efect de sumă, deși fiecare din cele 2 medicamente administrate separat scurtează semnificativ statistic vindecarea plăgilor.
10. Blocarea exclusivă a canalelor de calciu de tip L nu favorizează vindecarea plăgilor, dar este posibil să diminueze intensitatea efectului blocării canalelor de potasiu.

11. Analiza parametrilor secundari explicative, a arătat că nimodipina are efecte semnificative statistic numai în prima parte a perioadei de vindecare a plăgilor, pe când amiodarone are efecte semnificative statistic numai în a doua parte a perioadei de vindecare a plăgilor.

12. Administrarea secvențială a celor două substanțe, respectiv nimodipina în prima etapă și amiodarone în a doua etapă a procesului de vindecare a plăgilor a avut un efect mai intens decât administrarea concomitentă a celor două substanțe pe toată durata de vindecare a plăgilor.

13. Este posibil ca efectul favorabil al blocării canalelor de calciu de tip T prin nimodipina în prima etapă a perioadei de vindecare a plăgilor să fie diminuat prin blocarea canalelor de potasiu de către amiodaronă.

14. Întrucât efectul nimodipinei se datorează blocării canalelor de calciu de tip T, este posibil ca efectul amiodaronei să fie diminuat parțial prin blocarea canalelor de calciu de tip L în cea de-a doua etapă a procesului de vindecare a plăgilor.

15. Din datele prezentate mai sus, rezultă că blocantele canalelor ionice influențează procesul de vindecare a plăgilor.

16. Această influență se datorează foarte probabil modificării potențialului electric al unor celule și prin modificarea vitezei cu care migrează în câmpul electric datorat diferenței de potențial electric care există între marginile plăgii și centrul plăgii.

17. Foarte probabil în prima etapă a vindecării plăgilor migrarea acestor celule este accelerată prin scăderea potențialului electric al celulelor ca urmare a blocării canalelor de calciu de tip T.

18. Deasemenea foarte probabil, în a doua etapă a procesului de vindecare a plăgilor migrarea celulelor în câmpul electric este accelerată prin creșterea potențialului electric al celulelor ca urmare a blocării canalelor de potasiu.

19. Concluziile de la punctele 17 și 18 sunt în acord cu date de literatură care arată că potențialul electric la marginile plăgii este constant, pe când potențialul electric în interiorul plăgii este variabil pe durata procesului de vindecare a plăgilor.

20. În condițiile noastre experimentale cea mai eficace modalitate de tratament al plăgilor cutanate s-a dovedit administrarea secvențială de nimodipină în prima etapă, urmată de amiodaronă în cea de-a doua etapă a procesului de vindecare a plăgilor.

21. Din datele obținute în condițiile noastre experimentale rezultă ca nimodipina ar trebui administrată în primele 7 zile de tratament, urmată ulterior de administrarea amiodaronei.

Contribuții personale

1. Considerăm că ipoteza de lucru (capitolul ipoteza de lucru) conform căreia blocarea canalelor ionice influențează vindecarea plăgilor prin influențarea potențialului membranelor celulelor care migrează într-un câmp electric a cărei existență a fost demonstrată de alți autori este originală deoarece nu a fost găsită în literatura de specialitate.

2. Considerăm că ipoteza de mai sus a și fost demonstrată prin această lucrare deoarece atât blocarea canalelor de potasiu cât și blocarea canalelor de calciu de tip T a scurtat durata de vindecare a plăgilor în condițiile noastre experimentale (capitolul 8, 9 și 10).

3. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când s-a demonstrat că blocarea canalelor de calciu de tip T favorizează vindecarea plăgilor numai în primele 7 zile ale acestui proces, iar blocarea canalelor de potasiu numai în etapa ulterioară (capitolul 10).

4. Este pentru prima oară în literatura de specialitate când se studiază efectul amiodaronei asupra vindecării plăgilor (capitolul 6, 7, 9 și 10)

5. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se studiază amiodarona în concentrații diferite care blochează diferite canale ionice: canalele de potasiu, canalele de potasiu și calciu, canalele de potasiu, calciu și sodiu (capitolul 6 și 7).

6. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se studiază efectul nimodipinei asupra vindecării plăgilor experimentale; alte blocante ale canalelor de calciu au fost studiate) (capitolul 8)

7. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se studiază nimodipina în concentrații diferite care blochează diferite canale ionice respectiv numai canalele de calciu de tip L sau atât canalele de calciu de tip L cât și canalele de calciu de tip T (capitolul 8).

8. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se demonstrează că numai blocarea canalelor de calciu de tip T favorizează vindecarea plăgilor nu și blocarea canalelor de calciu de tip L (capitolul 8, 9 și 10)

9. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se studiază administrarea de blocante de canale de calciu de tip T prin nimodipină (în prima parte a procesului de vindecare) urmată de blocarea canalelor de potasiu prin amiodaronă (în a doua etapă a procesului de vindecare) (capitolul 10).

10. Cercetările noastre experimentale au arătat pentru prima dată în literatura de specialitate că cea mai eficientă modalitate de tratament al plăgilor prin blocarea unor canale ionice este

administrarea secvențială, în primele 7 zile a unor blocanțede canale de calciu de tip T (în cazul nostru nimodipină) urmate de blocarea canalelor de potasiu (în cazul nostru amiodaronă) în a doua perioada (capitolul 10).

11. Rezultatele de la punctul 10 s-au bazat pe observația că la șobolan vindecarea plăgilor se produce în două etape distincte, respectiv o primă etapă cu durata de circa 7 zile indiferent de timpul necesar vindecării plăgilor urmată de o a doua etapă care începe în a 8 a zi și se termină o dată cu vindecarea totală a plăgilor indiferent cât de lung este acest proces (capitolul 6, 7, 9 și 10).

12. Este greu de spus dacă această observație este extrapolabilă la om; practic este de asteptat ca și vindecarea plăgilor la om să se producă tot în două etape dar nu știm cât de lungă e prima etapă în condiții clinice (capitolul 10).

13. Credem că pentru extrapolarea rezultatelor noastre la om ar fi necesare studii clinice ale plăgilor cutanate umane (capitolul 10).

14. Este pentru prima dată în literatura de specialitate când se lansează ipoteza unor studii clinice privind accelerarea vindecării plăgilor prin administrarea topică secvențială de nimodipină și amiodaronă (capitolul 10).

Bibliografie

1. Moulin VJ, Dubé J, Rochette-Drouin O, Lévesque P, Gauvin R, Roberge CJ, et al. Electric Potential Across Epidermis and Its Role During Wound Healing Can Be Studied by Using an In Vitro Reconstructed Human Skin. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2012;1:81–7.
2. Foulds IS, Barker AT. Human skin battery potentials and their possible role in wound healing. *Br J Dermatol* 1983;109:515–22.
3. Barker TH, Engler AJ. The provisional matrix: setting the stage for tissue repair outcomes. *Matrix Biol* 2017;60–61:1–4.
4. Wolcott LE, Wheeler PC, Hardwicke HM, Rowley BA. Accelerated healing of skin ulcer by electrotherapy: preliminary clinical results. *South Med J* 1969;62:795–801.
5. Jaśkowski J, Lopatowski B. [Measurements of electric impedance in an area of skin wound healing in rats]. *Pol Przegl Chir* 1980;52:887–90.
6. Nuccitelli R. A role for endogenous electric fields in wound healing. *Curr Top Dev Biol* 2003;58:1–26.
7. Carley PJ, Wainapel SF. Electrotherapy for acceleration of wound healing: low intensity direct current. *Arch Phys Med Rehabil* 1985;66:443–6.
8. Grigore A, Vatasescu-Balcan A, Stoleru S, Zugravu A, Poenaru E, Engi M, et al. Experimental Research on the Influence of Ion Channels on the Healing of Skin Wounds in Rats. *Processes* 2024;12:109.
9. Rhea L, Dunnwald M. Murine Excisional Wound Healing Model and Histological Morphometric Wound Analysis. *J Vis Exp* 2020;
10. Porter RM. Mouse models for human hair loss disorders. *J Anat* 2003;202:125–31.
11. Grigore A, Stoleru S, Zugravu A, Vatasescu-Balcan A, Poenaru E, Engi M, et al. Experimental evaluation of the influence of amiodarone on wound healing. *Farmacia* 2024;72:234–42.

Lista cu lucrările științifice

Grigore, A.; Vatasescu-Balcan, A.; Stoleru, S.; Zugravu, A.; Poenaru, E.; Engi, M.; Coman, O.A.; Fulga, I. Experimental Research on the Influence of Ion Channels on the Healing of Skin Wounds in Rats. *Processes* **2024**, *12*, 109. <https://doi.org/10.3390/pr12010109>
Factor de Impact 2022=3.5 (Capitolul 5)

Alexandra Grigore, Smaranda Stoleru, Aurelian Zugravu, Ana Vatasescu Balcan, Elena Poenaru, Miruna Engi, Ion Fulga
<https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.1.25>
Factor de Impact 2022 = 1.2 (Capitolul 6)

Grigore, A.; Coman, O.A.; Păunescu, H.; Costescu, M.; Fulga, I. Latest Insights into the In Vivo Studies in Murine Regarding the Role of TRP Channels in Wound Healing—A Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 6753. <https://doi.org/10.3390/ijms25126753>
Factor de impact 2022= 5.6