

30. Baker Edward L., 1994, *A review of recent research on health effects of human occupational exposure to organic solvents*, Journal of Occupational Medicine, vol. 36 n^o 10, p. 1079-1092.

31. Gh. Paladi, U. Topor, O. Cernițchi., *Medicamentele și sarcina*, Chișinău, 2000, p. 11-15.

Rezumat

Articolul reprezintă revista literaturii de specialitate în care este descrisă sarcina oprită în evoluție până la termenul de 21 de săptămâni și aprecierea factorilor medicali și sociali ce pot duce la oprirea în evoluție a produsului de concepție.

Summary

This review will briefly summarize the current knowledge on pregnancy stopped in evolution until 21 weeks at women with this pathology and value the medical and social factors which can lead to stop in evolution the product of conception.

PARTICIPAREA CATEPSINEI L LA BIODEGRADAREA COLAGENULUI ÎN PROCESUL DE REGRESIE A CIROZEI HEPATICE EXPERIMENTALE

Victor Rîvneac, dr.h.în medicină, prof. univ., **Valentin Gudumac**, dr.h. în medicină, prof. univ., **Nicolae Eșanu**, dr. în medicină, prof. univ., **Elena Rîvneac**, dr. în biologie, conf. univ., USMF “Nicolae Testemițanu”

Tradițional s-a creat o atitudine pesimistă față de fibroza hepatică și un timp îndelungat a fost unanim acceptat că, odată apărută, fibroza devine ireversibilă. Însă pe parcursul ultimilor decenii tot mai numeroși cercetători își îndreaptă eforturile spre studierea țesutului conjunctiv fibros în ciroză ca subiect al degradării și resorbției.

În prezent posibilitatea regresiei cirozei hepatice și restabilirii ficatului după afecțiunea suportată este demonstrată experimental și nu trezește îndoieli [12, 3, 16]. Revenirea la structura aparent normală a ficatului este, în anumite condiții experimentale, impresionantă, cu dispariția totală a excesului de țesut conjunctiv.

În numeroase investigații, aplicând metode histologice, histochimice și biochimice, a fost demonstrat că și modificările sclerotice avansate ale țesutului hepatic, însoțite de o remodelare severă a structurii organului, pot fi supuse unei regresii cu condiția înlăturării radicale a cauzei ce a provocat maladia.

În investigațiile clinice biopsia hepatică a demonstrat că colagenul sporit este, de obicei, în întregime lizat în decursul însănătoșirii după hepatitele virale suportate sau după abținerea de la utilizarea alcoolului în hepatitele alcoolice [12, 13]. Posibilitatea reversibilității leziunilor de fibroză hepatică prezintă un interes deosebit pentru clinică prin implicațiile sale prognostice și terapeutice.

Datele experimentale sugerează că reducerea excesului de colagen se realizează printr-un proces de resorbție activă și nu apare doar ca rezultat al sistării neoformației fibrilare. În urma acestor investigații mecanismele resorbției țesutului fibros excesiv în ficat au devenit subiectul principal al cercetărilor în problema reversibilității cirozei hepatice.

Actualmente este general acceptat conceptul, bazat pe datele experiențelor efectuate *in vitro* și postulat de către Woessner J. [14], conform căruia etapa inițială în degradarea matricei extracelulare (MEC) este un proces proteolitic extracelular, care se poate solda cu scindarea colagenului insolubil sub acțiunea colagenazei și cu modificări fine ale glicoproteinelor asociate. Fragmentele generate prin aceste atacuri proteolitice pot fi fagocitate de către macrofage și supuse ulterior prelucrării intralimizomale.

În prezent enzime-cheie în biodegradarea MEC sunt considerate exo- și endopeptidazele matriceale (metalo-, serin-, cistein- și aspartil-proteinazele) [1], sintetizate de către celulele țesutului conjunctiv, mediul de acțiune al său fiind atât cel intracelular, cât și cel extracelular [16, 17, 18].

Se consideră că circa 90% ale proteolizei intralimizomale se realizează pe baza activității coerente a endopeptidazelor cisteinice - catepsinelor B, H și L. Aceste proteinaze manifestă *in vitro* o

specificitate excepțională față de substratele proteice, în general, și față de colagen, în special, eficacitatea proteolizei realizate fiind maximă la valori slab acide ale pH-ului. *In vitro* a fost demonstrată capacitatea proteinazelor cisteinice (în special, a catepsinelor B și L) de a degrada atât componenții colagenici, cât și proteoglicanii și la un pH neutru. A fost demonstrată capacitatea catepsinelor B și L de a degrada colagenul tip IV, implicându-se, astfel, în liza membranelor bazale. Aceste proteinaze supun unei scindări hidrolitice și așa componente ale matricei extracelulare cum sunt laminina și fibronectina.

Catepsina L scindează colagenul insolubil la pH 3,5, de altfel, la acest pH activitatea specifică a enzimei crește de 5-10 ori peste cota atinsă de catepsina B. Efectul calitativ al catepsinei L asupra colagenului se bazează pe dezintegrarea peptidelor terminale, eliminând, de asemenea și legăturile transversale.

Se presupune că catepsina L în afara degradării intralizozomale a proteinelor și peptidelor poate fi implicată și în processingul peptidelor biologic active [6], participă la procesul invaziei tumorilor maligne [10], induce creșterea locală a concentrației enzimelor ce scindează matricea extracelulară în inflamație [5]. Fermentul participă nemijlocit în spermatogeneză [7, 15] și se implică în reglarea involuției glandei mamare după încetarea lactației [4]. Se presupune, de asemenea, participarea catepsinei L în cascada proteolitică în apoptoză [10, 11]. După cum s-a demonstrat, catepsina L participă în procesele de osificare endocondrală în normă și patologie, precum și deține rolul-cheie în procesul de resorbție a osului, fiind enzima proteolitică principală responsabilă pentru degradarea colagenului în os [9].

Totuși investigațiile privind participarea diferențiată și rolul catepsinelor lizozomice în degradarea colagenului în ficat s-au dovedit a fi puțin numeroase, fapt ce ne-a determinat să realizăm un studiu al particularităților de implicare a catepsinei L în resorbția țesutului fibros în ficat în procesul de regresie a cirozei hepatice experimentale. Studiarea activității sistemelor enzimatice, implicate în liza țesutului conjunctiv pe parcursul regresiei modificărilor patologice din ficat, va permite elucidarea mecanismelor biochimice, care stau la baza fenomenului reversibilității fibrozei (cirozei) hepatice.

Scopul studiului l-au constituit determinarea activității proteinazei cisteinice – catepsinei L - în țesutul hepatic cirozat și în procesul de regresie a cirozei hepatice experimentale, relevarea surselor celulare ale catepsinei L în ficat și studierea implicării catepsinei L în degradarea intra- și/sau extracelulară a colagenului din ficat în procesul de regresie a cirozei experimentale.

Materiale și metode. Fibroza hepatică a fost indusă la animale de laborator (șobolani albi masculi) prin metoda clasică de injectări subcutanante bisăptămânale a soluției de 50% de tetraclorură de carbon (CCl₄) în ulei de măsline în doză de 3,0 ml la kilocorp în decurs de 13 săptămâni.

Prelevarea materialului investigațional s-a efectuat la etapa dezvoltării maxime a cirozei hepatice și pe parcursul primei luni a perioadei de regresie a cirozei (la 7, 14, 21, 30 de zile după ultima injectare a noxei hepatotrope) și după 2 luni de regresie. Materialul investigațional a fost prelevat din lobul drept al ficatului.

Pentru investigații s-au utilizat metode histologice, electron-histochemică și biochimice de explorare.

Pentru cercetările histologice mostrele de ficat se fixau în formalină neutrală de 10% și se colorau cu hematoxină-eozină și după Van-Ghizon. Investigațiile biochimice s-au produs în omogenat de ficat.

Procedeul de determinare biochimică a activității catepsinei L este bazat pe hidroliza enzimatică a azocazeinei [2]. Procedeul de determinare a hidroxiprolinei (HYP) – aminoacidului specific în exclusivitate moleculei de colagen, este bazat pe proprietatea cloraminei B de a oxida HYP și pe condensarea ulterioară a produselor oxidării cu p-dimetilaminobenzaldehidă.

Detectarea electron-histochemică a activității catepsinei L s-a realizat în conformitate cu procedura descrisă de Smith și van Frank (1975). În calitate de substrat s-a utilizat Z-Phe-Arg-4MβNA (BACHEM). Prin metoda electron-histochemică s-au examinat prelevatele din ficatul a 25 de animale.

Rezultate și discuții. Gradul de fibrozare a ficatului la diferite termene investigaționale a fost

apreciat prin intermediul examenului histologic, pornind de la existența unei corelații strânse între vizualizarea histologică a conținutului de collagen și gradul de avansare a fibrozei hepatice. Prelevatele din ficatul animalelor experimentale, sacrificate în decursul primelor patru săptămâni după sistarea injectărilor de CCl₄, demonstrează o subțiere marcantă a straturilor de collagen, ceea ce indică derularea în acest interval de timp a unui proces de catabolizare colagenică de o intensitate foarte înaltă. Procesul se finalizează, în principal, după două luni de la încetarea acțiunii factorului cirogen.

Observațiile realizate în baza examenului histologic sunt confirmate și precizate de rezultatele dererminării biochimice a conținutului de hidroxiprolină (HYP) în ficat. Din tabel desprindem că intoxicația cronică cu CCl₄ s-a soldat cu sporirea cantității de hidroxiprolină în ficat și la etapa dezvoltării maxime a cirozei conținutul aminoacidului a constituit 280% (P<0,001) în comparație cu valorile specificate pentru ficatul neafectat. Astfel, gradul de avansare a procesului patologic în ficat, atins în experiențele noastre, a fost caracterizat de acumularea unei cantități de collagen, care aproape de trei ori a depășit conținutul macromoleculii în normă.

Concomitent, relevăm sporirea activității tisulare a proteinazei cisteinice studiate. Îndicii enzimooactivității ai catepsinei L în ficat la dezvoltarea maximă a cirozei, deși nu manifestă o majorare spectaculoasă, se deosebesc statistic concludent de valorile lotului martor (117%, P<0,05) (tab.1).

În perioada ce urmează imediat după încetarea injectărilor de CCl₄ efectul nociv al toxinei se menține, sinteza colagenică prevalând asupra scindării sale. Acest fapt se confirmă prin determinarea unei cantități și mai impresionante de hidroxiprolină, ce depășește nivelul înregistrat în ciroză și către termenul de 7 zile de regresie înregistrează maximumul concentrației sale în țesutul hepatic – 336%, P<0,001.

Simultan remarcăm și sporirea activității catepsinei investigate, care la 7 zile de regresie de asemenea atinge primul maxim de activitate. Astfel, nivelul funcțional al catepsinei L ajunge să depășească cu 70% (P<0,001) nivelul de referință. Acestei amplificări pregnante a proprietăților hidrolitice ale țesutului hepatic se datorează, probabil, micșorarea semnificativă a cantității de collagen hepatic, depistate la următorul termen investigațional. Astfel, la 14 zile de regresie conținutul de HYP în ficat pierde 25% (P<0,01) din valorile specificate la termenul precedent. Amploarea proceselor hidrolitice, detectată în ficat la această etapă, este asigurată, probabil, de enzimele provenite din lizozomii celulelor mezenchimale, care există din abundență în tesutul conjunctiv dezvoltat excesiv.

Tabelul 1

Conținutul de hidroxiprolină și activitatea catepsinei L în țesutul hepatic la diferite etape de regresie a cirozei hepatice experimentale (M±m)

<i>Condiții de experiment</i>	<i>Hidroxiprolina μmol/g</i>	<i>Catepsina L nM/s·g</i>
Valorile martor	3,97±0,28 (100%)	0,385±0,012 (100%)
Ciroza	11,13±0,77* (280%)	0,448±0,022* (117%)
7 zile de regresie	13,34±0,80*** (336%)	0,656±0,033*** (170%)
14 zile de regresie	10,06±0,62*** (254%)	0,494±0,013*** (128%)
21 zile de regresie	10,48±0,64*** (264%)	0,595±0,009*** (155%)
30 zile de regresie	8,68±0,45*** (219%)	0,493±0,044* (128%)
60 zile de regresie	7,14±0,52*** (180%)	0,425±0,054* (110%)

Notă: * diferență statistic semnificativă de lotul martor, P<0,05

** P<0,01; *** P<0,001.

Catabolizarea intensă a structurilor conjunctive se soldează, pe de o parte, cu reducerea importantă a cantității de țesut fibros în ficat, iar, pe de altă parte, se micșorează și numărul celulelor mezenchimale implicate în furnizarea enzimelor fibrolitice. Scăderea temporară a activității catepsinei L după 14 zile de regresie, care la acest termen depășește valorile martor doar cu 28% ($P < 0,001$), se datorează, posibil, micșorării numărului de macrofași, fibroblaste și altor celule ale țesutului conjunctiv, care are loc în această perioadă, precum și sintezei enzimatice insuficiente în hepatocitele neafectate, existente la această etapă în tesutul hepatic.

Cele menționate explică stagnarea relativă a procesului de resorbție a matricei extracelulare în intervalul dintre 14 - 21 zile de regresie, deduse pe baza determinărilor cantitative ale hidroxiprolinei hepatice. Astfel, la termenul de 21 de zile de regresie fixăm o cantitate a aminoacidului, care constituie 264% ($P < 0,001$) din nivelul referențial și nu se deosebește concludent de indicii termenului anterior.

Finisarea formării sistemului lizozomal în hepatocitele noi, apărute drept rezultat al proceselor proliferative din țesutul hepatic, are loc numai după circa 3 săptămâni de regresie a cirozei ficatului, ceea ce se manifestă prin sporirea activității catepsinei L la termenul de 21 de zile după ultima injecție a noxei hepatotrope, când nivelul funcțional al enzimei atinge al doilea maxim de activitate – 155% ($P < 0,001$). Astfel, în țesutul hepatic se produce o nouă amplificare a potențialului hidrolitic, fapt ce se manifestă printr-o micșorare semnificativă a cantității de hidroxiprolină în ficat la 30 de zile de la abolirea intoxicațiilor, iar investigația efectuată la 60 de zile de regresie demonstrează reducerea de două ori a conținutului de hidroxiprolină hepatică comparativ cu indicii maximali, înregistrați la 7 zile post-ciroțice.

Prezența a două maxime în dinamica de activitate a enzimei cercetate este, incontestabil, o manifestare a caracterului fazic al procesului studiat, precum și a implicării în procesele fibrolitice atât a sistemelor enzimatice lizozomice ale elementelor celulare ale țesutului conjunctiv (mai ales la etapele inițiale), cât și a hepatocitelor (cu precădere la etapele mai avansate ale procesului de regresie a cirozei).

Analiza corelațională a relevat un grad înalt de corelație pozitivă între dinamica de activitate a enzimei investigate – catepsina L cu modificările nivelului de hidroxiprolină tisulară. Aceste date atestă faptul implicării directe a acestei enzime în degradarea țesutului conjunctiv în ficat.

Detectarea electron-histochimică a activității catepsinei L în ficat în procesul de regresie a cirozei. Până în prezent localizarea activității catepsinei L în ficat nu a fost determinată. În unica lucrare, consacrată studierii localizării enzimei în ficatul normal, efectuată la nivel de microscopie optică (imunomorfologic), enzima a fost detectată în hepatocite și celulele Kupffer [8].

În lucrarea dată, cu scopul de a elucidă participarea catepsinei L în procesele de resorbție a țesutului conjunctiv în ficat, am realizat investigarea histochimică la nivel ultrastructural a distribuției catepsinei L în ficatul normal și la anumite etape de regresie a cirozei. Am studiat distribuția enzimei în ficat în normă, precum și la a 7 și 21 zi după încetarea intoxicațiilor cirogene. Termenele indicate au fost stabilite în baza investigațiilor biochimice ale activității enzimei.

În funcție de gradul de activitate a enzimei produsul reacției la catepsina L în ficatul normal a fost prezent fie sub aspectul granulelor mărunte solitare, fie sub aspectul unor conglomerate mai mult sau mai puțin omogene de densitate diferită. O reacție extrem de intensă s-a remarcat în lizozomii celulelor Kupffer. În hepatocite produsul reacției a fost detectat în unii lizozomi și în diverși corpusculi membranoși (myelin-like). S-a remarcat, de asemenea, o activitate extracelulară neînsemnată a catepsinei L. Granule solitare ale produsului de reacție se detectau pe microviliile hepatocitelor în spațiile Disse. Am revelat activitatea catepsinei L și în lizozomii celulelor endoteliale.

Conform datelor obținute, catepsina L în ficatul normal se localizează în lizozomii hepatocitelor, celulelor Kupffer și entodeliocitelor, precum și extracelular pe microvilozitățile hepatocitelor [19].

Particularitatea pregnantă, pe care am urmărit-o în timpul examenelor electron-histochimi-

ce asupra ficatului în procesul de regresie a cirozei, este secreția catepsinei L din hepatocite și elementele celulare ale țesutului conjunctiv spre spațiul intercelular. Despre aceasta mărturisesc cumulațiile de produs al reacției în spațiile intercelulare – pe citolemă și pe fibrilele de collagen adiacente. Reacția intensă la catepsina L în spațiile intercelulare s-a putut urmări în ambele termene de cercetare.

De remarcat faptul că termenele investigaționale (7 și 21 zile de regresie) se deosebeau esențial prin ponderea elementelor celulare, ce secretau enzima spre spațiul extracelular. Astfel, la termenul de 7 zile de regresie, practic, toată catepsina L extracelulară era secretată de către celulele septurilor fibroase (macrofage și fibroblaste), prezente în număr mare datorită cantității excesive de țesut conjunctiv în ficatul afectat de ciroză (*fig. 1, 2*). Secreția enzimei de către hepatocite era infimă.

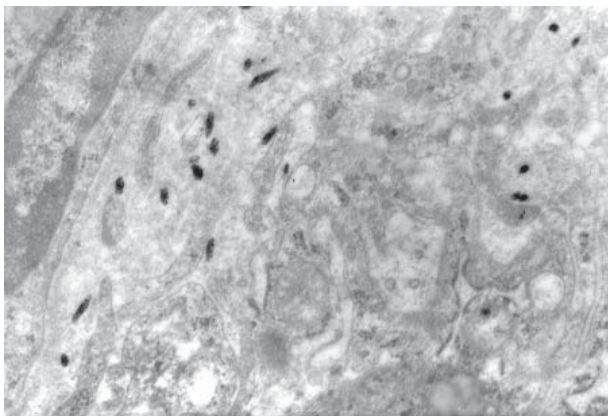


Fig. 1. 7 zile de regresie a cirozei. Produs al reacției la catepsina L extracelular pe citolema macrofagului și pe fibrile de collagen învecinate. x20000

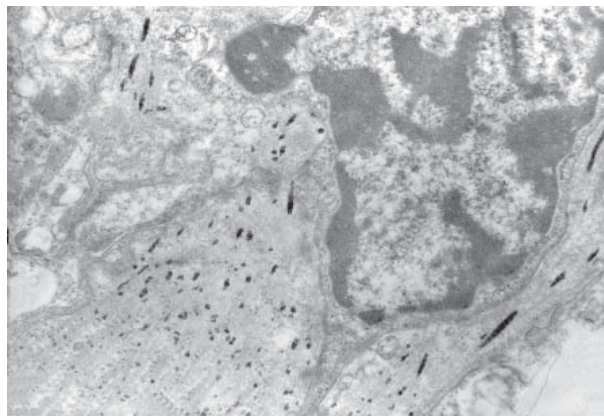


Fig.2. 7 zile de regresie a cirozei. Spațiul Disse. Produs al reacției la catepsina L extracelular pe citolema fibroblastului și pe fibrile de collagen învecinate. x15000

La termenul de 21 zile de regresie produsul de reacție la catepsina L, din contra, se evidențiază preponderent în preajma hepatocitelor. Cantități considerabile de produs al reacției sub formă de granule solitare sau de conglomerate granulare mai mult sau mai puțin omogene se detectau dispuse pe citolema hepatocitelor, pe fibrilele de collagen adiacente sau în profunzimea stratului fibrotic (*fig.3*). Elementele celulare conjunctive, numărul cărora s-a redus considerabil odată cu subțierea straturilor de țesut conjunctiv, secretau enzimă activă în cantități mult mai mici.

De remarcat faptul că pe citolema celulelor Kupffer și pe fibrilele de collagen adiacente lor produsul de reacție la catepsina L se detecta atât la a 7 zi, cât și la a 21 zi de regresie (*fig.4*).

La ambele termene de cercetare pe lângă secreția catepsinei L în spațiul extracelular are loc fagocitarea și liza intracelulară a collagenului de către macrofage și fibroblaste.

În citoplasma majorității macrofagelor se disting vacuole, conținând fibrile fragmentate de collagen. În unele din aceste vacuole se detecta produsul reacției la catepsina L, ceea ce indică originea lor fagocitară (*fig.5*).

Ca și în macrofage, la ambele termene de cercetare, în citoplasma multor fibroblaste se observă diferite cantități de vacuole și fagolizozomi, ce conțin fragmente fagocitate de fibrile de collagen la diferite etape de degradare. În unele din aceste vacuole se detecta produsul reacției la catepsina L, ceea ce arată originea fagocitară a acestor vacuole (*fig.6*).

De subliniat faptul că atât macrofagele, cât și fibroblastele antrenate în procesul de fagocitoză și liză intracelulară a collagenului manifestau și o oarecare activitate collagenolitică extracelulară, fapt demonstrat de prezența produsului de reacție la catepsina L sub formă de granule solitare pe citolema celulelor și pe fibrilele de collagen adiacente (*fig.5,6*).

Mostrele de referință nu conțineau produsul reacției la catepsina L .

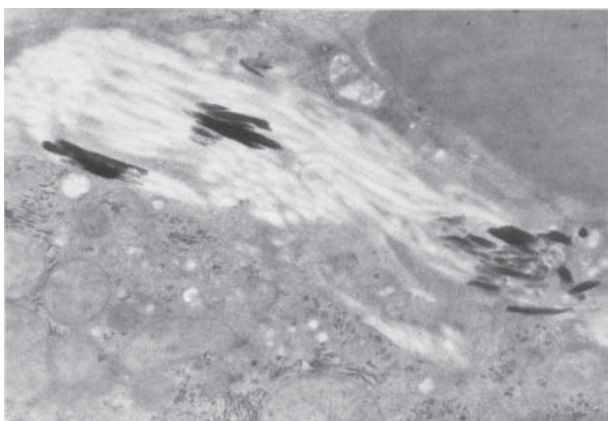


Fig.3. 21 de zile de regresie a cirozei. Spațiul Disse. Reacție intensă la catepsina L extracelular pe fibrile de collagen adiacente hepatocitului și în profunzimea septului fibros. x30000

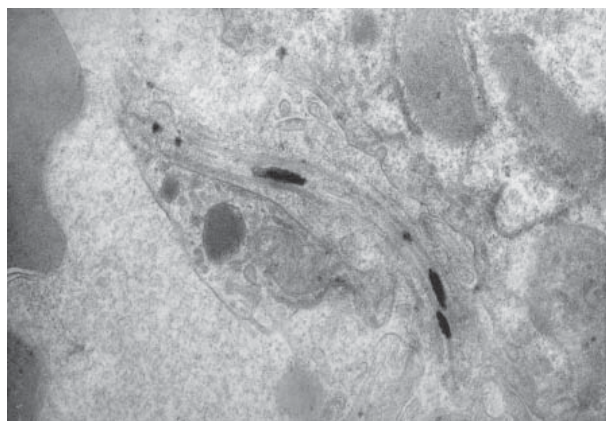


Fig.4. 21 de zile de regresie a cirozei. Produsul reacției la catepsina L pe citolema celulei Kupffer și pe fibrile de collagen situate între celula Kupffer și hepatocit. x30000

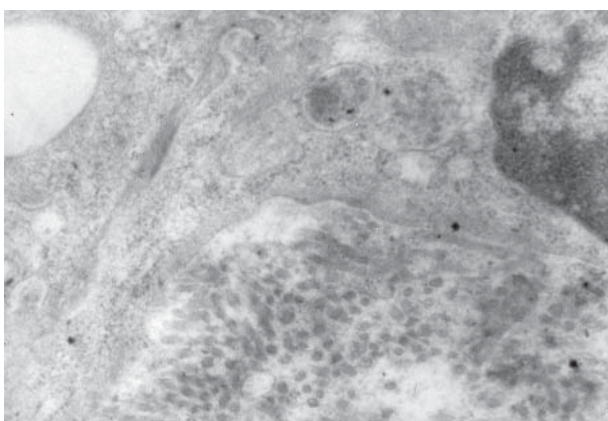


Fig.5. 21 de zile de regresie a cirozei. În citoplasma macrofagului vacuole cu collagen conținând produsul reacției la catepsina L. De asemenea, produsul reacției se depistează extracelular pe citolemă și pe fibrilele adiacente de collagen. x20000

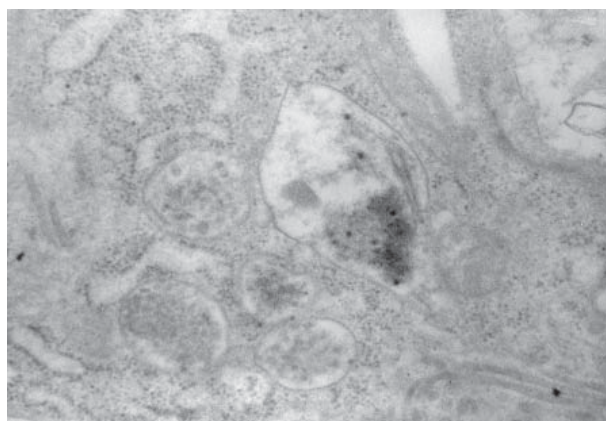


Fig.6. 21 de zile de regresie a cirozei citoplasma fibroblastului multiple vacuole cu collagen conținând produsul reacției la catepsina L. Unele vacuole se contopesc. De asemenea produsul reacției se depistează extracelular pe citolemă și pe fibrilele adiacente de collagen. x20000

Un aspect, credem, important este distribuția produsului reacției nu doar pe citolema hepatocitelor, a macrofagelor, fibroblastelor și fibrilele de collagen adiacente, dar și în profunzimea septurilor fibroase. Activitatea enzimei se depista atât la nivelul fibrilelor collagenice destrămate, cât și pe cele aparent vizual intacte. S-ar putea presupune că la acțiunea catepsinei L se expune, practic, tot colagenul, indiferent de situarea sa, și că nu doar collagenaza, dar și alte proteinaze pot iniția dezintegrarea extracelulară a colagenului.

Nouă ne-a reușit să demonstrăm in vivo antrenarea catepsinei L în procesele de degradare extracelulară a colagenului din ficat în procesul de regresie a cirozei. Putem presupune că degradarea extracelulară a colagenului din ficat în procesul de regresie a cirozei este mai importantă decât cea intracelulară (sau cel puțin, nu este mai puțin semnificativă decât ultima) și că rolul esențial în acest proces ar reveni enzimelor lizozomale ale hepatocitelor.

Este absolut clar că secreția de hidrolaze lizozomale deține un rol important în catabolizarea țesuturilor conjunctive, precum și în relațiile celulei cu matricea extracelulară, astfel constituind un mecanism de asigurare a homeostaziei structurale.

Ar fi foarte dificil de apreciat aportul diferitor elemente celulare la degradarea matricei extra-

celulare hepatice. În ficatul cirozat celulele țesutului conjunctiv prevalează esențial asupra hepatocitelor. În acest caz contribuția elementelor celulare mezenchimale în resorbția țesutului conjunctiv pare a fi destul de considerabilă, în special pe parcursul primelor săptămâni ale perioadei de regresie. Probabil, la etapele ulterioare, când numărul celulelor mezenchimale se reduce esențial (iar al hepatocitelor se majorează), se atenuază și rolul lor în procesul dat, iar degradarea țesutului conjunctiv se realizează în continuare cu implicarea preponderentă a hepatocitelor.

Așadar, posibilitatea reversiunii modificărilor cirotice din ficat se află în strictă dependență de activitatea lizozomală a hepatocitelor și a celulelor mezenchimale și, în primul rând, de gradul de persistență a parenchimului, de capacitatea sa de regenerare, precum și de posibilitatea restabilirii sistemului său lizozomal.

Concluzii

1. În perioada de regresie a cirozei hepatice experimentale se produce sporirea pregnantă a activității proteinazei cisteinice - catepsinei L în ficat, dinamica activității enzimei manifestând un caracter fazic și un grad înalt de corelație cu modificările nivelului de hidroxiprolină tisulară, ceea ce atestă implicarea directă a acestei enzime în degradarea colagenului în ficat.

2. Catepsina L în ficat se localizează în lizozomii hepatocitelor, celulelor Kupffer și endotelio-citelor.

3. În procesul de regresie a cirozei catepsina L este secretată de către hepatocite, macrofage și fibroblaste spre spațiul extracelular pentru a se angaja nemijlocit în procesul de degradare extracelulară a colagenului.

4. Catabolizarea extracelulară intensă a colagenului din ficat în procesul de regresie a cirozei prin intermediul catepsinei L are loc cu concursul major al hepatocitelor, pe când liza intracelulară a colagenului este realizată de către macrofage și fibroblaste cu participarea activă a catepsinei L.

Bibliografie selectivă

1. Barrett A.J., *Introduction: the classification of proteinases* // Protein Degradation in Health and Disease, Amsterdam-Oxford-New-York, 1980, p.1-13.
2. Barrett A.J., *Cathepsin B and other thiol proteinases* // Proteinases in Mammalian Cell and Tissues, Amsterdam; New-York; Oxford, 1977, p. 181-208.
3. Benyon R.C., Iredale J.P., *Is liver fibrosis reversible?* // Gut, vol.46, 2000, p. 443-446.
4. Burke M., Hutter D., Reshamwala R., Knepper J., *Cathepsin L plays an active role in involution of the mouse mammary gland*// Dev Dyn, vol.227, nr. 3, 2003, p.315-322.
5. Fiebiger E., Maehr R., Villadangos J. et al., *Invariant chain controls the activity of extracellular cathepsin L*. // J.Exp.Med, vol. 196, nr. 9, 2002, p. 1263-1269.
6. Furuhashi M., Nakahara A., Fukutomi H. et al., *Immunocytochemical localization of cathepsins B, H and L in rat gastro-duodenal mucosa*. // Histochemistry, vol.95, nr. 3, 1991, p.231-239.
7. Gye M., Kim S., *Expressin of cathepsin L in human testis under diverse infertility conditions*. // Arch. Androl, vol.50, nr 3, 2004, p.187-191.
8. Ii K., Hizawa K., Kominami E. et al., *Different immunolocalizations of cathepsins B, H and L in the liver* // J.Histochem.Cytochem, vol. 33, nr. 11, 1985, p.1173-1175.
9. Kakegawa H., Nikawa T., *Participation of cathepsin L on bone resorption* // FEBS Letters, vol.321, nr. 2, 1993, p. 247-250.
10. Levicar N., Dewey R., Bates T. et al., *Selective suppression of cathepsin L by antisense cDNA impaire human brain tumor cell invasion in vitro and promotes apoptosis*. // Cancer Gene Ther, vol.10, nr. 2, 2003, p.141-151.
11. Michallet M., Saltel F., Flachar M. et al., *Cathepsin-dependent apoptosis triggered by supraoptimal activation of T lymphocytes: a possible mechanism of high dose tolerance*. // J.Immunol, vol.172, nr. 9, 2004, p. 5405-5414.
12. Perez-Tamayo R., *Cirrhosis of the liver: a reversible disease?* // Pathol. Ann, vol. 14, 1979, p.183-213.
13. Rojkind M., Dunn M., *Hepatic fibrosis* // Gastroenterology, vol.76, nr. 4, 1979, p. 849-863.
14. Woessner J.F., *Biological mechanisms of collagen degradation* // Treatise on Collagen, New York, vol.2, part B, 1968, p.253-330.

15. Wright W., Smith L., Kerr C., Charron M., *Mice that express enzymatically inactive cathepsin L exhibit abnormal spermatogenesis.* // Biol. Reprod, vol.68, nr. 2, 2003, p. 680-687.
16. Рывняк В.В., *Механизмы инволюции экспериментального цирроза печени: Автореф. дис....* докт.мед.наук, Москва, 1990.
17. Рывняк В.В., *Механизмы резорбции коллагена при инволюции цирроза печени* // Архив патологии, № 2, 1987, с.37-44.
18. Рывняк В.В. *Механизмы резорбции коллагена при послеродовой инволюции матки* // Архив патологии, № 1, 2001, с.32-35.
19. Рывняк В.В., Рывняк Е.И., Тудос Р.В., *Электронно-гистохимическая локализация катепсина L в печени* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, т.137, № 1, 2004, с.104-105.

Rezumat

Aplicând metode biochimice și electron-histochemice, a fost studiată activitatea proteinazei cisteinice cathepsinei L în ficatul afectat de ciroză și în perioada de regresie a cirozei la șobolani. S-a determinat o activitate sporită a cathepsinei L în ciroza hepatică, fiind în scădere pe parcursul perioadei de regresie, precum și un grad înalt de corelație între activitatea enzimei și nivelul hidroxiprolinei în ficat. Electron-histochemic activitatea cathepsinei L a fost detectată în fagolizozomii celulelor Kupffer și fibroblastelor, ce conțineau fibrile fragmentate de colagen. De asemenea, activitatea enzimei a fost detectată pe plasmalema hepatocitelor, celulelor Kupffer și fibroblastelor, precum și pe fibrilele de colagen adiacente. Activitatea extracelulară a cathepsinei L indică că în afară de proteoliza intracelulară, enzima participă și în degradarea extracelulară a colagenului, fiind secretată în spațiul extracelular de către hepatocite, macrofage și fibroblaste.

Summary

The activity of cysteine proteinase cathepsin L was investigated biochemically and electron-histochemically in cirrhotic rat liver and during the recovery from hepatic cirrhosis. It was determined an increase of cathepsin L activity in cirrhosis and a decrease during the recovery period, and a high correlation between the enzyme activity and hydroxyproline level in liver. Electron-histochemically the activity of cathepsin L was revealed in the Kupffer cells and fibroblast phagolysosomes containing fragments of collagen fibrils. We also found the enzyme activity on the hepatocyte, Kupffer cell and fibroblast plasmalemma and on adjacent collagen fibrils. The detected extracellular activity of cathepsin L suggests that in addition to the intracellular proteolysis, cathepsin L is secreted by hepatocytes, macrophages and fibroblasts in the intercellular space and can take part in the extracellular collagen degradation.

MODIFICĂRILE INTENSITĂȚII OXIDĂRII PEROXIDICE A LIPIDELOR INDUSE DE CARNOZINĂ ȘI COMPLEXUL CARNOZINĂ-ZN ÎN ȚESUTUL OSOS ȘI ÎN SERUL ȘOBOLANILOR

Olga Tagadiuc, dr. în medicină, conf., cercet. științ. superior,
USMF "Nicolae Testemițanu"

Implicarea radicalilor liberi ai oxigenului, oxidării peroxidice a lipidelor (POL) și a sistemului antioxidant în mecanismele patogenice ale apariției și dezvoltării bolilor osteoarticulare (osteoporozei, osteoartrozei, a artritei reumatismale etc.) a fost atestată de numeroase studii de ultimă oră [1, 5], ce sugerează necesitatea explorării unor remedii antioxidante cu proprietăți osteotrope și care ar limita efectele nocive ale radicalilor liberi.

Carnozina incontestabil este un antioxidant important, ce neutralizează radicalii liberi prin intermediul restului histidinei din componența sa [7]. Totodată, compusul în stare nativă și în complexe cu diverși cationi (zinc, magneziu, mangan, cupru) manifestă efecte osteomodulatoare – influențează proliferarea celulelor țesutului osos, sinteza proteinelor și a ADNului, activitatea fosfatazelor alcalină și acidă etc. [2, 3, 6].

Procesele POL sunt activ studiate în țesuturile articulare - cartilaj, sinovie, lichid sinovial, dar, practic, nu există date despre intensitatea POL și nivelul produșilor POL în țesutul osos, majoritatea cercetărilor în patologii osteoarticulare fiind axate pe evaluarea cantității lor sangvine [4]. De ase-