

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-histochimic 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 maladiilor 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 patologiile osteoarticulare fiind axate pe evaluarea cantității lor sangvine [4]. De ase-

menea, nu există studii ce relevă corelațiile dintre intensitatea POL în țesutul osos și serul sangvin, ce ar permite a stabili corectitudinea extrapolării evaluării POL în ser asupra intensității procesului în țesutul osos.

Scopul studiului a fost cercetarea intensității POL în țesutul osos și a corelațiilor ei cu intensitatea POL în serul sangvin al șobolanilor sănătoși, precum și elucidarea influenței carnozinei și a complexului carnozină-Zn asupra acestor procese.

Materiale și metode. Experiențele au fost efectuate pe 26 de șobolani albi fără pedigree cu masa corpului de 200-270g. Animalele au fost divizate în trei grupuri:

- Lotul I - martor, includea 14 șobolani intacti.
- Lotul II – 6 șobolani, cărora li s-a administrat 3 zile consecutiv carnozină în doză de 0,1

mM/kg masă corporală.

- Lotul III – 6 șobolani, cărora li s-a administrat 3 zile consecutiv complexul carnozină-Zn în doză de 0,1 mM/kg masă corporală.

Animalele au fost sacrificate sub narcoză ușoară cu eter sulfuric, prin decapitare, la 24 ore după ultima administrare a biopreparatelor. S-au extras oasele femurale. Măduva osoasă a fost înlăturată prin spălări repetate cu soluție 0,9% NaCl. Ulterior oasele femurale s-au triturat până la starea de pulbere în azot lichid.

Intensitatea POL s-a apreciat după cantitatea hidroperoxizilor inițiali, intermediari și finali (HPLi, HPLm, HPLf), prin procedeul descris de V.A.Kostiuc și coaut. (1984). Rezultatele obținute au fost evaluate statistic conform criteriului *t-Student*, criteriului neparametric *z-Sign* și coeficientului de corelație *r*, cu ajutorul programului STATISTICA 6,0 (StatSoft Inc, 2001).

Rezultate și discuții. S-a atestat că procesele POL în țesutul osos al șobolanilor sănătoși au o intensitate deosebit de mare (*tab.1*), cu prevalența cantitativă a HPL în faza hexanică, comparativ cu cea hidroalcoolică. Astfel, cantitatea HPLi în faza hexanică o depășește pe cea din faza hidroalcoolică cu 74 % ($p < 0,01$), a HPLm – cu 82 % ($p < 0,01$), iar a celor finali cu 72 % ($p < 0,001$). Totodată, raportul dintre cantitățile HPL în ambele faze este similar, cantitatea cea mai mare revenind HPLi și cea mai mică HPLf. Rezultatele obținute sugerează că în țesutul osos procesele POL din compartimentul hidrofob sunt mai intense, fiind influențate mai pronunțat lipidele nepolare.

Cantitățile HPLi și HPLm în ambele faze sunt corelate pozitiv cu cantitatea de HPLf ($r=0,68$, $p < 0,001$ și $r=0,52$, $p < 0,01$ – pentru faza hexanică; $r=0,86$, $p < 0,0001$ și $r=0,55$, $p < 0,001$ pentru faza hidroalcoolică). Corelația relevă caracterul în lanț al oxidării peroxidice a lipidelor. De asemenea, există o corelație pozitivă dintre HPLi ai fazei hexanice cu HPLi, HPLm și HPLf din faza hidro-alcoolică ($r=0,59$, $p < 0,01$; $r=0,65$, $p < 0,001$; $r=0,37$, $p < 0,05$), ce confirmă unitatea proceselor peroxidice în lipidele țesutului osos indiferent de caracterul compusului – polar sau nepolar.

Tabelul 1

Cantitatea hidroperoxizilor inițiali, intermediari și finali, în țesutul osos și în serul șobolanilor intacti (un.conv./1 g țesut osos)

Lotul martor	Produșii POL, faza hexanică			Produșii POL, faza hidroalcoolică		
	HPLi	HPLm	HPLf	HPLi	HPLm	HPLf
Țesut osos	44,25±10,7	39,42±9,7	7,75±1,4	11,50±4,1**	7,03±3,0**	2,14±0,41***
Ser sangvin	2,532±0,1###	2,094±0,1###	0,525±0,05###	2,962±0,07**, #	1,885±0,05*, §	0,548±0,01###

Legendă: a) HPLi – hidroperoxizi inițiali; HPLm - hidroperoxizi intermediari; HPLf - hidroperoxizi finali; b) veridicitatea diferențelor cantității HPL în faza hexanică și în hidroalcoolică conform criteriului *t-Student*: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; c) veridicitatea diferențelor cantității HPL în țesutul osos și în serul sangvin potrivit criteriilor: *t-Student* – # $p < 0,05$; ## $p < 0,001$; ### $p < 0,0001$; și *z-Sign* – § $p < 0,05$.

Cantitatea produșilor POL în serul sangvin al șobolanilor sănătoși este semnificativ mai mică decât în țesutul osos în ambele faze, diferențele fiind statistic concludente în toate cazurile (*tab. 1*). Deosebiriile dintre cantitățile produșilor POL în faza hexanică și în cea hidroalcoolică în serul sangvin sunt diferite ca sens și mai puțin exprimate decât în țesutul osos. Cantitatea HPLi este cu 17% mai

mică ($p < 0,01$), a HPLm cu 10% ($p < 0,05$), iar a HPLf cu 4% mai mare în faza hexanică decât în cea hidroalcoolică. Astfel, în serul sangvin lipidele polare și cele nepolare sunt supuse POL cu intensități similare. Între toate produsele POL din serul sangvin există legături corelaționale pozitive extrem de puternice, cu r cuprins între 0,80 și 0,98 și veridicitatea corelațiilor cuprinsă între 0,0001 și 0,00001. Totodată, se relevă un număr mic de corelații pozitive medii între produșii POL în țesutul osos și serul sangvin al șobolanilor martor. Sunt corelate cantitățile HPLm și HPLf în faza hexanică ($r=0,42$, $p < 0,05$ și $r=0,60$, $p < 0,005$, respectiv) și HPLf în cea hidroalcoolică ($r=0,66$, $p < 0,001$).

Administrarea *carnozinei* influențează procesele oxidării peroxidice a lipidelor atât în țesutul osos, cât și în serul sangvin, micșorând cantitatea produșilor oxidării peroxidice a lipidelor (tab. 2).

Cantitatea HPL se diminuează în țesutul osos în ambele faze, micșorându-se mai pronunțat cantitatea HPLi și HPLm. În faza hexanică conținutul lor scade respectiv cu 51% și 55% ($p < 0,05$), iar în cea hidroalcoolică cu cca 80% ($p < 0,05$). Se micșorează, de asemenea, nivelul HPLf, dar influența este mai importantă în faza hexanică (53%, $p < 0,05$), comparativ cu faza hidroalcoolică (59%, $p < 0,05$). Se menține intact raportul dintre HPL, predominând cantitativ HPLi, urmați de HPLm, HPLf având cel mai mic nivel în ambele faze. Carnozina influențează și relațiile corelaționale dintre produșii POL, dispărând corelațiile identificate la animalele intacte.

Astfel, carnozina exercită o acțiune antioxidantă potentă în țesutul osos al șobolanilor. Ea este demonstrată de diminuarea profundă a conținutului tuturor produșilor POL, dar, îndeosebi, a cantității produșilor inițiali și intermediari ai POL în faza hidroalcoolică și dispariția legăturilor corelaționale, ce posibil reflectă formarea unor rupturi în lanțul oxidării peroxidice a lipidelor.

Tabelul 2

Influența carnozinei și complexului ei cu Zn asupra nivelului hidroperoxizilor inițiali, intermediari și finali în țesutul osos și în serul sangvin al șobolanilor (un. conv/1 g țesut osos).

Lotul	Produșii POL, faza hexanică			Produșii POL, faza hidroalcoolică			
	HPLi	HPLm	HPLf	HPLi	HPLm	HPLf	
țesut osos	I	44,25± 10,7	39,42± 9,7	7,75± 1,4	11,50± 4,1	7,03± 3,0	2,14±0,41
	II	22,49±6,6** 51%	17,65±5,1** 45%	4,1±0,75§ 53%	2,55±0,6* 22%	1,56±0,7* 22%	1,26±0,38§ 59%
	III	13,08±4,4§ 30%	10,61±3,0§ 27%	2,52±0,99§ 33%	2,86±0,41§ 25%	1,76±0,63§ 25%	1,44±0,3 67%
ser sangvin	I	2,532±0,1	2,094±0,1	0,525±0,05	2,962±0,07	1,885±0,05	0,548±0,01
	II	2,120±0,1* 84%	1,606±0,2**# 77%	0,331±0,04**### 63%	2,745±0,08* 93%	1,672±0,07* 89%	0,472±0,01** 86%
	III	2,287±0,05 90%	1,993±0,2 95%	0,485±0,07 92%	2,735±0,02 92%	1,764±0,03 94%	0,502±0,01 92%

Legendă: a) HPLi – hidroperoxizi inițiali; HPLm - hidroperoxizi intermediari; HPLf - hidroperoxizi finali; b) veridicitatea față de lotul martor conform criteriului: *t-Student* – * $p < 0,05$; ** $p < ,01$; *** $p < 0,001$; și *z-Sign* – § $p < 0,05$; c) veridicitatea diferențelor cantității HPL în țesutul osos și în serul sangvin potrivit criteriului: *t-Student* – # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$; și *z-Sign* – § $p < 0,05$.

În serul sangvin carnozina, de asemenea, induce scăderea veridică a produșilor POL, dar ea este mai puțin pronunțată cantitativ (tab. 2). Spre deosebire de țesutul osos compusul influențează mai mult lipidele nepolare, micșorarea HPL în faza hexanică fiind mai importantă decât în cea hidroalcoolică. Astfel, HPLi scad în faza hexanică cu 16% ($p < 0,05$), iar în cea hidroalcoolică respectiv cu 7% ($p < 0,05$), HPLm – cu 23% și 11%, ($p < 0,01$ și $p < 0,05$) și HPLf – cu 37% și 14% ($p < 0,01$ și $p < 0,01$). Cantitatea HPL în faza hexanică este ca și la animalele intacte semnificativ mai mică în serul sangvin comparativ cu țesutul osos, pe când în faza hidroalcoolică diferențele dintre cantitățile HPL în ser și țesutul osos se nivelează.

Administrarea carnozinei intervine în conexiunile corelaționale dintre produșii POL în serul sangvin, numărul lor scăzând semnificativ. Se mențin doar corelațiile pozitive puternice dintre cantitățile HPLi/HPLf ($r=0,81$, $p < 0,05$) și HPLm/HPLf ($r=0,94$, $p < 0,01$) în faza hexanică și HPLi/HPLm ($r=0,97$, $p < 0,001$) în cea hidroalcoolică, ce indică păstrarea consecutivității oxidării în lanț a lipidelor serice. De asemenea, se conservă corelația pozitivă dintre HPLm ai fazei hexanice și cei ai

fazei hidroalcoolice ($r=0,79$, $p<0,05$) și a HPLf ($r=0,67$, $p<0,05$), la fel, din ambele faze. Carnozina micșorează numărul legăturilor de corelație dintre HPL din os și ser și modifică caracterul lor. Spre deosebire de șobolanii-martor, la care s-au înregistrat corelații pozitive medii între cantitățile HPLm și HPLf în faza hexanică și HPLf în cea hidroalcoolică, la cei cărora li s-a administrat carnozină, se relevă doar o corelație puternică negativă între HPLi în faza hexanică ($r=-0,84$, $p<0,05$).

Metalocomplexul carnozină-Zn influențează puternic intensitatea proceselor POL în țesutul osos al șobolanilor sănătoși. Scade cantitatea tuturor HPL în ambele faze, diminuarea fiind similară cantitativ. Astfel, cantitatea HPLi și HPLm în ambele faze se micșorează față de martor cu cca 70-75% ($p<0,05$), iar a HPLf cu 77% ($p<0,05$) în faza hexanică și cu 33% în cea hidroalcoolică. Cantitatea produșilor POL în faza hexanică este în continuare mai mare decât în cea hidroalcoolică și se menține raportul dintre formele HPL în ambele faze. Astfel, complexul carnozină-Zn, spre deosebire de carnozină, intervine mai pronunțat în peroxidarea lipidică în faza hexanică, micșorând cantitatea produșilor POL cu peste 20%. Acțiunea asupra POL în faza hidroalcoolică este analogică celei manifestate de carnozină.

În țesutul osos complexul carnozină-Zn, asemenea carnozinei, modifică raporturile corelaționale dintre produșii POL. În faza hexanică sunt corelate pozitiv cantitatea HPLi cu cea a HPLm ($r=0,99$, $p<0,01$) și a HPLm cu cea a HPLf ($r=0,72$, $p<0,05$), dar dispar corelațiile dintre produșii POL în faza hidroalcoolică și cele dintre produșii POL în diferite faze. Deci complexul carnozină-Zn influențează într-un mod diferit pe cel al carnozinei libere, procesele POL în țesutul osos al șobolanilor, modificând la fel de profund POL în ambele faze, în raport cu carnozina, care influențează preponderent HPL ai fazei hidroalcoolice.

Modificările cantității HPL în serul șobolanilor cărora li s-a administrat metalocomplexul carnozină-Zn nu sunt statistic semnificative nici în faza hexanică, nici în cea hidroalcoolică, scăderile încadrându-se în limitele a 5-10% (tab. 2). Diferențele dintre cantitățile HPLi, HPLm și HPLf din fazele hexanică și hidroalcoolică se minimalizează, menținându-se doar una statistic veridică – ca și în lotul martor, HPLi în faza hidroalcoolică depășesc HPLi din faza hexanică cu 20% ($p<0,001$).

Carnozina în complex cu Zn reduce mai mult decât carnozina numărul corelațiilor dintre produșii POL în serul sangvin al șobolanilor, înregistrându-se doar două – în ambele faze sunt corelate cantitățile HPLm și HPLf ($r=0,97$, $p<0,001$ și $r=0,71$, $p<0,05$, respectiv). Sunt diferite și corelațiile dintre cantitățile produșilor POL în țesutul osos și ser atât comparativ cu lotul martor, cât și cu lotul de animale cărora li s-a administrat carnozina liberă. Numărul acestor corelații se reduce mult față de martor și se înregistrează o singură corelație pozitivă între HPLm ai fazei hidroalcoolice ($r=0,79$, $p<0,05$), ce diferă de corelația depistată la animalele cărora li s-a administrat carnozina. Astfel, complexul carnozină-Zn influențează foarte puțin cantitativ procesele de oxidare peroxidică a lipidelor în ser, spre deosebire de țesutul osos, modificările fiind mai mult calitative – corelaționale.

Concluzii

1. Procesele POL la animalele intacte se caracterizează printr-o intensitate semnificativ mai mare în țesutul osos decât în serul sangvin, ce se reflectă în conținutul net superior al HPL în os.
2. Carnozina exercită o acțiune antioxidantă atât în țesutul osos, cât și în serul sangvin al șobolanilor, efectul fiind semnificativ mai pronunțat în os.
3. Combinarea carnozinei cu Zn amplifică acțiunea antioxidantă a carnozinei asupra țesutului osos și atenuează ne semnificativ această influență în serul sangvin.
4. Nu s-au stabilit legături corelaționale importante între cantitățile produșilor POL în țesutul osos și în ser atât la animalele intacte, cât după administrarea bioremediilor.

Bibliografie selectivă

1. Cuzzocrea S., *Role of nitric oxide and reactive oxygen species in arthritis*. *Curr Pharm Des.*, 2006; 12(27): 3551-3570.
2. Ehara Y., Yamaguchi M., *Zinc stimulates protein synthesis in the femoral-metaphyseal tissues of normal and skeletally unloaded rats*. *Res Exp Med (Berl.)*, 1997; 196(6): 363-372.
3. Ma Z.J., Yamaguchi M., *Stimulatory effect of zinc on deoxyribonucleic acid synthesis in bone growth*

of newborn rats: enhancement with zink and insulin-like growth factor-I. *Calsif Tissue Int.*, 2001; 69(3): 158-163.

4. Ozgocmen S., Kaya H., Fadillioglu E., Aydogan R., Yilmaz Z., *Role of antioxidant systems, lipid peroxidation, and nitric oxide in postmenopausal osteoporosis.* *Mol Cell Biochem.*, 2007; 295(1-2): 45-52.

5. Surapaneni K.M., Venkataramana G., *Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in patients with osteoarthritis.* *Indian J Med Sci.*, 2007; 61(1): 9-14.

6. Yamaguchi M., *Beta-alanyl-L-histidinato zink and bone resorption.* *Gen Pharmacol.*, 1995; 26(6): 1179-1183.

7. Марсукура Т., Танака Х., *Применение комплекса L-карнозина с цинком в медицине (обзор).* *Биохимия*, 2000; 65(7): 961-969.

Rezumat

A fost efectuat un studiu comparativ al intensității POL în țesutul osos și în serul sangvin al șobolanilor sănătoși și al celor cărora li s-a administrat carnozina și complexul carnozină-Zn. S-a stabilit că intensitatea POL în țesutul osos o depășește pe cea din ser. Atât carnozina, cât și complexul carnozină-Zn exercită o acțiune antioxidantă asupra POL în țesutul osos și în serul sangvin, efectul fiind semnificativ mai pronunțat în os. Nu s-au stabilit legături corelaționale importante între cantitățile produselor POL în țesutul osos și în ser atât la animalele intacte, cât și după administrarea bioremediilor cercetate.

Summary

Bone and blood serum lipid peroxidation intensity in normal rats and after carnosine and carnosine-Zn complex administration was studied. Lipid peroxidation is significantly higher in bone than in serum. Carnosin and the complex carnosin-Zn exhibit significant antioxidant action in bone and blood serum, the influence being deeper in bone. There were not found important correlations between the quantities of POL products in bone and blood serum both in normal rats and after the administration of the tested bioremedies.

ALTERAREA CELULARĂ ÎN ȘOCUL HEMORAGIC ȘI PROPRIETĂȚILE ACIDULUI HIALURONIC

Angela Bîtea, dr. în medicină, cercet. științ., **Vasile Lutan**, dr. h. în biologie, prof. univ.,
USMF "Nicolae Testemițanu"

Șocul hemoragic se înscrie în rândul celor mai dificile abordări ale medicinei de urgență, continuând să rămână un subiect actual al medicinei contemporane.

La cel de al XII-lea Congres al Societății Europene de Șoc, care s-a desfășurat la Ulm (Germania, 14-16 septembrie 2006) s-a constatat prevalența ȘH în structura complicațiilor fatale (7-25%) ce evoluează în traumatologie, chirurgie, obstetrică și ginecologie și mortalitatea înaltă (până la 40%) prin această entitate patologică, care este superioară în contextul analizei diferitor stări critice. Oportunitatea ȘH în diferite entități de prezentare clinică, de diagnostic și tratament este evidențiată în mod deosebit în ghidurile practice și recomandările OMS ce vizează problemele medicinei de urgență [1,2,3].

Severitatea ȘH și succesul resuscitării lui sunt în funcție directă de scorul hemoragiei și de gradul de afectare a organelor vitale, care se încadrează în *sindromul de disfuncție poliorganică* [4,5]. În acest context este de menționat conceptul neunivoc, privitor la caracterul modificărilor structurale, viscerele, la natura și mecanismele de evoluție a acestora, cu toate că referințele bibliografice se subliniază cert rolul stresului oxidativ, răspunsului inflamator exagerat pe fundalul expresiei defectuoase de citokine și proteine „*heat-shock*”, reactivitatea vasculară endotelială dependentă estropiată, asociată cu afinitatea scăzută la acțiunea agenților vasoconstrictori etc. [6,7]. Totodată, algoritmul diagnostic neinvaziv paraclic, care se utilizează astăzi, nu oferă încă posibilitatea unei estimări autentice și dimensionări certe a injuriilor tisulare, iar rezultatele investigațiilor fundamentale, realizate în acest sens, diferă de indicii morfologici. Este încă slab elucidată corelația dinamică marșurilor și predictorilor umorali ai ȘH cu gradul de profunzime și particularitățile alterărilor structurale, inclusiv a eficienței resuscitării.

Resuscitarea este bazată pe strategia terapiei de infuzie, iar dilema priorității infuziilor cristaloidice sau coloid-osmotice rămâne nerezolvată. Încercările de validare a superiorității uneia sau alteia nu s-au soldat cu dovezi de consens [8,9], dar au condus la consolidarea unei tendințe de suplinire