

UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
"NICOLAE TESTEMIȚANU"

Cu titlu de manuscris  
C.Z.U: [616.149-085.355:577.152.344]-092.4(043.2)

OJOG VICTOR

**INFLUENȚA TRIPSINEI ASUPRA ACTIVITĂȚII MOTORII  
A VENEI PORTĂ**

312.01 – FIZIOLOGIE ȘI FIZIOPATOLOGIE

Teză de doctor în științe medicale

Conducător științific:



Saulea Aurel  
dr. hab. șt. med., prof. univ.

Autor:



CHIȘINĂU, 2023

**©Ojog, Victor, 2023**

## CUPRINS

<b>ADNOTARE.....</b>	<b>6</b>
<b>LISTA TABELELOR.....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA FIGURILOR.....</b>	<b>12</b>
<b>LISTA ABREVIERILOR .....</b>	<b>16</b>
<b>INTRODUCERE.....</b>	<b>17</b>
<b>1. PARTICULARITĂȚILE REACTIVITĂȚII VENEI PORTĂ ÎN DIFERITE PRECONDIȚIONĂRI .....</b>	<b>21</b>
1.1. Inerențe morfo- funcționale ale venei portă .....	21
1.2. Conceptul miocitului neted vascular: mecanisme de contracție și relaxare..	29
1.3. Reactivitatea în vitro a venei portă în diferite condiționări .....	35
1.4. Efectele vasotrope ale tripsinei.....	42
<b>2. MATERIALE ȘI METODE.....</b>	<b>47</b>
2.1. Introducere. Subiecții. ....	47
2.2. Procedura de preparare a organului izolat vena portă .....	47
2.3. Condițiile și materialele necesare pentru asigurarea contracțiilor segmentului izolat de vena portă.....	47
2.4. Metoda și condițiile de înregistrare a funcției contractile a segmentului de vena portă.....	48
2.5. Parametrii investigați ai funcției contractile.....	49
2.6. Etapele cercetării .....	49
2.7. Modelele experimentale .....	50
2.8. Design-ul studiului .....	53
2.9. Analiza statistică a datelor.....	53
<b>3. 3. PARTICULARITĂȚILE REACTIVITĂȚII VENEI PORTE LA ACȚIUNEA DIFERITOR FACTORI ȘI PRECONDIȚIONĂRI .....</b>	<b>55</b>
3.1. Contractilitatea venei portă izolate în pancreatita acută la modificarea concentrației ionilor de Ca .....	55
3.2. Contractilitatea venei porte izolate în condiții de tripsinemie provocată.....	61
3.3. Contractilitatea venei porte izolate în condiții de acțiune a tripsinei <i>in vitro</i>	68
3.4. Acțiunea tripsinei <i>in vitro</i> asupra reactivității venei porte izolate la acțiunea în diferite concentrații a ionilor de Na <sup>+</sup> și H <sup>+</sup> .....	76
3.5. Acțiunea tripsinei asupra contracturii venei porte izolate indusă de K <sup>+</sup> și cofeină .....	84

3.6. Răspunsul venei porte izolate la acțiunea acetilcolinei și carbacol în prezența tripsinei .....	85
3.7. Acțiunea tripsinei asupra venei porte izolate cu endoteliu denudat .....	89
<b>4. DISCUȚII.....</b>	<b>111</b>
<b>CONCLUZII.....</b>	<b>119</b>
<b>RECOMANDĂRI PRACTICE.....</b>	<b>120</b>
<b>BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>121</b>
<b>ANEXE.....</b>	<b>134</b>
<b>DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII.....</b>	<b>162</b>
<b>CV .....</b>	<b>163</b>

## ADNOTARE

Ojog Victor

### Influența tripsinei asupra activității motorii a venei portă

Teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2023

**Structura tezei:** introducere, 4 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie din 143 titluri, 120 pagini de text de bază, 72 figuri, 47 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 11 lucrări științifice.

**Cuvinte-cheie:** vena porta, celulele musculare netede, miocitul neted vascular, receptor activat de proteaze, hipertripsinemie, denudarea endoteliului, celule Cajal, oxid nitric, hipertripsinemie, parametrii contracției

**Scopul lucrării:** Evaluarea *in vitro* a particularităților răspunsului venei portă la acțiunea tripsinei în diferite condiționări și postcondiționări.

**Obiectivele cercetării:** Evaluarea *in vitro* a răspunsului venei portă la acțiunea tripsinei în diferite concentrații ale ionilor de calciu prin determinarea amplitudinii și frecvenței contracțiilor, timpului de relaxare și contracție și a indicilor derivați (intensitatea funcționării structurilor și suprafața contracțiilor). Evaluarea *in vitro* a răspunsului venei portă la acțiunea tripsinei în diferite concentrații ale ionilor de sodiu și hidrogen. Evaluarea *in vitro* a răspunsului venei portă la acțiunea cafeinei, acetilcolinei și carbacolului în pretratarea ei cu tripsină. Evaluarea *in vitro* a răspunsului venei portă la acțiunea tripsinei în dependență de prezența oxidului nitric, precum și absența acestuia pe fundalul diferitor concentrații ale ionilor de calciu.

**Noutatea și originalitatea științifică:** În premieră s-au studiat particularitățile răspunsului contractil al venei portă izolată și perfuzată clasic cu soluția Krebs la acțiunea tripsinei modelată în 3 modele experimentale: (1) *in vivo* prin reproducerea pancreatitei acute; (2) *in vivo* prin administrarea tripsinei și (3) *in vitro* prin administrarea proteazei în perfuzat. Caracterul răspunsului s-a estimat în mod complex, fiind apreciate în acest context valorile parametrilor de bază ai contracției, precum și ale timpului de contracție, relaxare și timpului total în diferite concentrații ale ionilor de calciu. De asemenea, s-a evaluat reactivitatea venei portă la tripsină în condiții de acidoză și variații ale concentrației ionilor de sodiu, precum și caracterul influenței proteazei asupra contracturii venoase indusă de cofeină și depolarizare maximă inerentă acțiunii soluției de KCl (140 mM). Pentru evidențierea rolului oxidului nitric în răspunsul venei portă la acțiunea tripsinei indicii contractilității acesteia au fost estimați în modelul denudat al venei prin acțiunea acidului colic, inclusiv la noima diferitor concentrații ale ionilor de calciu.

**Problema științifică importantă soluționată:** Constă în elucidarea *in vitro* a particularităților acțiunii tripsinei asupra reactivității venei portă, inclusiv pe fundalul modificării concentrației ionilor de Ca și H<sup>+</sup>, denudării endoteliului, fapt ce a permis identificarea reperelor de predicție și corectare a periclității circuitului portal propice ameliorării statusului funcțional și clinic al pacienților cu situații patologice asociate cu hipertripsinemie.

**Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării:** Reactivitatea venei portă izolată excelează prin deprecieri similare ale amplitudinii și frecvenței contracțiilor la acțiunea tripsinei proprie modelului de administrare *in vitro* și *in vivo*, cât și modelului de hipertripsinemie reprodus *in vivo* prin modelarea pancreatitei acute, astfel că acest fenomen poate fi un predictor și o țintă terapeutică a periclității circuitului portal în situațiile clinice asociate cu hipertripsinemie, în primul rând în pancreatite. Acidoza, cât și leziunea endotelială, diminuează potențialul contractil al venei portă, iar acest efect devine și mai pronunțat pe fundalul acțiunii tripsinei, fapt ce justifică algoritmul de corectare a reactivității venei portă prin ameliorarea dezechilibrului acido-bazic și disfuncției endoteliale, în afară de atenuarea activității tripsinice a sângelui.

**Implementarea rezultatelor științifice:** Rezultatele studiului dat au fost implementate în activitatea didactică și științifică a Catedrei de fiziologie a omului și biofizică și Catedrei de fiziopatologie și fiziopatologie clinică al USMF "Nicolae Testemițanu"

## ANNOTATION

Ojog, Victor,

### The influence of trypsin on the motor activity of the portal vein

PhD, Thesis in medical sciences, Chisinau, 2023

**Thesis structure:** introduction, 4 chapters, general conclusions and recommendations, bibliography of 143 titles, 120 pages of basic text, 72 figures, 47 tables. The obtained results are published in 11 scientific papers.

**Keywords:** portal vein, vascular smooth myocyte, protease-activated receptor, hypertrypsinemia, endothelial denudation, Cajal cells, nitric oxide

**The aim of the research:** *In vitro* evaluation of the particularities of the response of the portal vein to the action of trypsin in different preconditioning and postconditioning.

**The research objectives:** *In vitro* evaluation of the response of the portal vein to the action of trypsin in different concentrations of  $Ca^{++}$  by determining the amplitude and frequency of contractions, the time of relaxation and contraction, the intensity of the functioning of the structures and the area of contractions. *In vitro* evaluation of the response of the portal vein to the action of trypsin in different concentrations of  $Na^+$  and  $H^+$ . *In vitro* evaluation of the response of the portal vein to the action of caffeine, acetylcholine and carbachol in its pretreatment with trypsin. *In vitro* evaluation of the response of the portal vein to the action of trypsin depending on the presence or absence of NO in different concentrations of  $Ca^{++}$ .

**The scientific novelty and originality:** For the first time, the peculiarities of the contractile response of the isolated, perfused with Krebs solution portal vein to the action of trypsin modeled in 3 experimental models were studied: (1) *in vivo* by reproducing acute pancreatitis; (2) *in vivo* by administration of trypsin and (3) *in vitro* by administration of protease in the perfusate. The character of the response was estimated in a complex way, the basic parameters of the contraction, as well as contractile times in different concentrations of  $Ca^+$  were measured. Also, the reactivity of the portal vein to trypsin under conditions of acidosis and variations in sodium ion concentration was evaluated, as well as the character of the influence of the protease on the venous contracture induced by caffeine and the maximal depolarization inherent to the action of the KCl solution (140 mM). To highlight the role of nitric oxide in the response of the portal vein to the action of trypsin, its contractility indices were estimated in the denuded model of the vein by the action of cholic acid, including at different concentrations of  $Ca^{++}$ .

**The scientific solved problem:** It consists in the *in vitro* elucidation of the particularities of the trypsin action on the reactivity of the portal vein, including against the background of changes in the concentration of  $Ca^{++}$  and  $H^+$  ions, the denudation of the endothelium, a fact that allowed the identification of landmarks for predicting and correcting the endangerment of the portal circuit, conducive to improving the status functional and clinical of patients with pathological situations associated with hypertrypsinemia.

**The theoretical significance and the applicative value of the research:** The reactivity of the isolated portal vein excels through similar impairments of the amplitude and frequency of contractions to the action of trypsin specific to the *in vitro* and *in vivo* administration model, as well as to the hypertrypsinemia model reproduced *in vivo* by modeling acute pancreatitis, so that this phenomenon can be a predictor and a therapeutic target of portal circuit endangerment in clinical situations associated with hypertrypsinemia, primarily in pancreatitis. Acidosis, as well as endothelial injury, diminishes the contractile potential of the portal vein, and this effect becomes even more pronounced against the background of trypsin action, a fact that justifies the algorithm for correcting the reactivity of the portal vein by ameliorating acid-base imbalance and endothelial dysfunction, in addition to alleviating blood trypsin activity.

**The implementation of scientific results:** The results of the given study were implemented in the didactic and scientific activity of the Department of Human Physiology and Biophysics and Department of Physiopathology and Clinical Physiopathology of USMF "Nicolae Testemițanu".

## АННОТАЦИЯ

Ожог, Виктор,

Влияние трипсина на двигательную активность воротной вены

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук, Кишинев,  
2023 г.

**Структура диссертации:** введение, 4 главы, общие выводы и рекомендации, библиография из 143 наименований, 120 страниц основного текста, 72 рисунка, 47 таблиц. Полученные результаты опубликованы в 11 научных статьях.

**Ключевые слова:** воротная вена, сосудистый гладкий миоцит, протеазоактивируемый рецептор, гипертрипсинемия, эндотелиальная денудация, клетки Кахаля, оксид азота

**Цель исследования:** оценка *in vitro* особенностей ответа воротной вены на действие трипсина при различном прекондиционировании и посткондиционировании.

**Задачи исследования:** Оценка *in vitro* реакции воротной вены на действие трипсина в различных концентрациях  $Ca^{++}$  путем определения амплитуды и частоты сокращений, времени расслабления и сокращения, интенсивность функционирования структур и площади сокращения. Оценка *in vitro* реакции воротной вены на действие трипсина в различных концентрациях  $Na^+$  и  $H^+$ . Оценка *in vitro* ответа воротной вены на действие кофеина, ацетилхолина и карбахола при ее предварительной обработке трипсином. Оценка *in vitro* ответа воротной вены на действие трипсина в зависимости от присутствия  $NO$ , а также как его отсутствие на фоне разной концентрации  $Ca^{++}$ .

**Новизна и оригинальность исследований:** Впервые изучены особенности сокращений изолированной и перфузированной раствором Кребса воротной вены на действие трипсина в 3-х экспериментальных моделях: (1) *in vivo* при воспроизведении острого панкреатита; (2) *in vivo* путем введения трипсина и (3) *in vitro* путем введения протеазы в перфузате. Характер ответа оценивали комплексно, были измерены основные параметры сокращения, а также продолжительности сокращения при разных концентрациях  $Ca^{++}$ . Также оценивали реактивность воротной вены на трипсин в условиях ацидоза и изменения концентрации  $Na^+$ , а также характер влияния протеазы на контрактуру вены, индуцированную кофеином, и максимальную деполяризацию, присущую действию раствора  $KCl$  (140 мМ). Для выявления роли  $NO$  в ответной реакции воротной вены на действие трипсина были оценены показатели сократимости в модели вены без эндотелия под действием хлорной кислоты, в том числе при различных концентрациях  $Ca^{++}$ .

**Решенная научная задача:** выяснение особенностей действия трипсина на реактивность воротной вены *in vitro*, в том числе на фоне изменения концентрации ионов  $Ca^{2+}$  и  $H^+$ , без эндотелия, позволившее выявить ориентиры для прогнозирования и коррекции нарушения портального кровотока, что улучшает функциональное и клиническое состояния больных с гипертрипсинемией.

**Теоретическая и практическая значимость работы:** Реактивность изолированной воротной вены превосходит аналогичные нарушения амплитуды и частоты сокращений на действие трипсина, характерного для модели введения *in vitro* и *in vivo*, а также для модель гипертрипсинемии, воспроизведенная *in vivo* путем моделирования острого панкреатита, так что это явление может быть предиктором и терапевтической мишенью нарушения портального контура при гипертрипсинемии, прежде всего при панкреатите. Ацидоз и повреждение эндотелия снижают сократимость воротной вены, этот эффект растет на фоне действия трипсина, что обосновывает алгоритм коррекции реактивности воротной вены путем улучшения кислотно-щелочного баланса и эндотелиальная дисфункции, в дополнение к снижению активности трипсина в крови.

**Внедрение научных результатов:** Результаты данного исследования были внедрены в дидактическую и научную деятельность Кафедры физиологии человека и Кафедры физиопатологии и клинической физиопатологии ГУМФ «Николае Тестемицану».

## LISTA TABELELOR

Tabelul 3.1	Amplitudinea contractiei în pancreatita experimentală
Tabelul 3.2	Frecvența contractiilor în pancreatita experimentală (contractii/min)
Tabelul 3.3	Intensitatea funcționării structurilor în pancreatita experimentală (mg/mgxmin )
Tabelul 3.4	Suprafața contractiei în pancreatita experimentală (mm <sup>2</sup> /min)
Tabelul 3.5	Timpul total de contractie în pancreatita experimentală (sec)
Tabelul 3.6	Timpul de contractie în pancreatita experimentală (sec)
Tabelul 3.7	Timpul de relaxare în pancreatita experimentală (sec)
Tabelul 3.8	Amplitudinea contractiei venei porte izolate în condiții de tripsină <i>in vivo</i>
Tabelul 3.9	Frecvența contractiilor în condiții de tripsină <i>in vivo</i> (contractii/min)
Tabelul 3.10	Intensitatea funcționării structurilor în condiții de tripsină <i>in vivo</i> (mg/mgxmin )
Tabelul 3.11	Suprafața contractiei în condiții de tripsină <i>in vivo</i> (mm <sup>2</sup> /min)
Tabelul 3.12	Timpul de contractie în condiții de tripsină <i>in vivo</i> (sec)
Tabelul 3.13	Timpul de relaxare în condiții de tripsină <i>in vivo</i> (sec)
Tabelul 3.14	Timpul total de contractie în condiții de tripsină <i>in vivo</i> (sec)
Tabelul 3.15	Amplitudinea contractiei în condiții de tripsină <i>in vitro</i>
Tabelul 3.16	Frecvența contractiilor în condiții de tripsină <i>in vitro</i> (contractii/min)
Tabelul 3.17	Intensitatea funcționării structurilor în condiții de tripsină <i>in vitro</i> (mg/mgxmin )
Tabelul 3.18	Suprafața contractiei în condiții de tripsină <i>in vitro</i> (mm <sup>2</sup> /min)
Tabelul 3.19	Timpul total de contractie în condiții de tripsină <i>in vitro</i> (sec)
Tabelul 3.20	Timpul de contractie în condiții de tripsină <i>in vitro</i> (sec)
Tabelul 3.21	Timpul de relaxare în condiții de tripsină <i>in vitro</i> (sec)
Tabelul 3.22	Amplitudinea contractiei în condiții de modificare a ionilor de Na <sup>+</sup> , H <sup>+</sup>
Tabelul 3.23	Frecvența contractiei în condiții de modificare a ionilor de Na <sup>+</sup> , H <sup>+</sup>
Tabelul 3.24	Intensitatea funcționării structurilor în condiții de modificare a ionilor de Na <sup>+</sup> , H <sup>+</sup>



- Tabelul 3.25 Suprafața contracției în condiții de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>
- Tabelul 3.26 Timpul total de contracție în condiții de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>
- Tabelul 3.27 Timpul de contracție în condiții de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>
- Tabelul 3.28 Timpul de relaxare în condiții de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>
- Tabelul 3.29 Contractia indusă de cofeină (10 mM) în v.portă pretratată cu tripsină (0,2 mg/mL)
- Tabelul 3.30 Modificările contractilității v.portă izolate în răspuns la acetilcolină (Ach),inhibitorul tripsinei (Inh) și heparina (Hep)
- Tabelul 3.31 Contractilitatea venei portă izolate în prezența tripsinei
- Tabelul 3.32 Acțiunea carbacolului asupra contractilității venei portă
- Tabelul 3.33 Acțiunea carbacolului asupra contractilității v. portă izolate în prezența tripsinei
- Tabelul 3.34 Amplitudinea contracției, cu sau fără endoteliu, în prezența și absența NO ( $M \pm SD$ , mg/mg greutatea venei)
- Tabelul 3.35 Frecvența contracției , cu sau fără endoteliu, în prezența și absența NO ( $M \pm SD$ , cont/min)
- Tabelul 3.36 Intensitatea funcționării structurilor, cu sau fără endoteliu , în prezența și absența NO ( $M \pm SD$ , mg/mg\*min)
- Tabelul 3.37 Suprafața contracției, cu sau fără endoteliu , în prezența și absența NO ( $M \pm SD$ , mm<sup>2</sup>/min)
- Tabelul 3.38 Timpul total de contracție, cu sau fără endoteliu , în prezența și absența NO ( $M \pm SD$ , sec)
- Tabelul 3.39 Timpul fazei de contracție, cu sau fără endoteliu , în prezența și absența NO ( $M \pm SD$ , sec)
- Tabelul 3.40 Timpul fazei de relaxare, cu sau fără endoteliu, în prezența și absența NO ( $M \pm SD$ , sec)
- Tabelul 3.41 Amplitudinea contracției, în prezența și absența endoteliului, la diferite concentrații a ionilor de Ca ( $M \pm SD$ , mg/mg greutatea venei)
- Tabelul 3.42 Frecvența contracției, în prezența și absența endoteliului, la diferite concentrații a ionilor de Ca ( $M \pm SD$ , cont/min)

- Tabelul 3.43 Suprafața contracției, în prezența și absența endoteliului, la diferite concentrații a ionilor de Ca ( $M \pm SD$ , mm<sup>2</sup>/min)
- Tabelul 3.44 Intensitatea funcționării structurilor, în prezența și absența endoteliului, la diferite concentrații a ionilor de Ca ( $M \pm SD$ , mg/mg\*min)
- Tabelul 3.45 Timpul total de contracție în prezența și absența endoteliului, la diferite concentrații a ionilor de Ca ( $M \pm SD$ , sec)
- Tabelul 3.46 Timpul fazei de contracție în prezența și absența endoteliului, la diferite concentrații a ionilor de Ca ( $M \pm SD$ , sec)
- Tabelul 3.47 Timpul fazei de relaxare, în prezența și absența endoteliului, la diferite concentrații a ionilor de Ca ( $M \pm SD$ , sec)

## LISTA FIGURILOR

- Fig. 1.1 Vena portă în macroschemă sinoptică
- Fig. 1.2 Particularități structurale comune și distincte ale arterei și venei
- Fig. 1.3 Modelul unitar singular (stânga) și multi-unitar (dreapta) al mușchiului neted
- Fig. 1.4 Corpurile dense sunt centre de fixare a filamentelor de actină
- Fig. 1.5 Contractia spontană a benzilor venei portă izolate și efectul fenilefrinei
- Fig. 1.6 Efectul mușchiului Cromakalimului asupra răspunsului constrictor al mușchiului detrusor la acțiunea carbacolului
- Fig. 1.7 Efectul fenilefrinei asupra contractiei venei portă perfuzate fără calciu
- Fig. 1.8 Efectul cafeinei asupra contractiei venei portă perfuzate fără calciu
- Fig. 1.9 Efectul tripsinei asupra plăcii aterogene intermediat de MMP și inflamație
- Fig. 3.1 Amplitudinea contractiei în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.2 Frecvența contractiei în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.3 Intensitatea funcționării structurilor în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.4 Suprafața contractiei în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.5 Timpul total de contractie în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.6 Timpul de contractie în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.7 Timpul de relaxare în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.8 Amplitudinea contractiei în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.9 Frecvența contractiilor în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.10 Suprafața contractiei în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca

- Fig. 3.11 Timpul de contracție în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.12 Timpul de relaxare în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.13 Timpul total de contracție în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.14 Amplitudinea contractei în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.15 Frecvența contracțiilor în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.16 Intensitatea funcționării structurilor în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.17 Suprafața contractiei în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.18 Timpul total de contracție în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.19 Timpul de contracție în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.20 Timpul de relaxare în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.21 Amplitudinea contractei în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hipernatriu, hiponatriu și acidoză
- Fig. 3.22 Frecvența contractei în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hipernatriu, hiponatriu și acidoză
- Fig. 3.23 Intensitatea funcționării structurilor în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hipernatriu, hiponatriu și acidoză
- Fig. 3.24 Suprafața contractiei în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hipernatriu, hiponatriu și acidoză
- Fig. 3.25 Timpul total de contracție în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hipernatriu, hiponatriu și acidoză
- Fig. 3.26 Timpul de contracție în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hipernatriu, hiponatriu și acidoză

- Fig. 3.27 Timpul de relaxare în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hipernatriu, hiponatriu și acidoză
- Fig. 3.28 Amplitudinea contracției în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină
- Fig. 3.29 Frecvența contracției în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină
- Fig. 3.30 Suprafața contracției în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină
- Fig. 3.31 Intensitatea funcționării structurilor în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină
- Fig. 3.32 Timpul total de contracție în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină
- Fig. 3.33 Timpul de contracție în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină
- Fig. 3.34 Timpul de relaxare în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină
- Fig. 3.35 Amplitudinea contracției la acțiunea diferitor doze de carbochol
- Fig. 3.36 Frecvența contracției la acțiunea diferitor doze de carbacol
- Fig. 3.37 Suprafața contracției la acțiunea diferitor doze de carbacol
- Fig. 3.38 Intensitatea funcționării structurilor la acțiunea diferitor doze de carbacol
- Fig. 3.39 Timpul total de contracție la acțiunea diferitor doze de carbacol
- Fig. 3.40 Timpul de contracție la acțiunea diferitor doze de carbacol
- Fig. 3.41 Timpul de relaxare acțiunea diferitor doze de carbacol
- Fig. 3.42 Amplitudinea contracției la acțiunea carbacolului pe fundalul tripsinei
- Fig. 3.43 Frecvența contracției la acțiunea carbacolului pe fundalul tripsinei
- Fig. 3.44 Suprafața contracției la acțiunea carbacolului pe fundalul tripsinei
- Fig. 3.45 Intensitatea funcționării structurilor la acțiunea carbacolului pe fundalul tripsinei
- Fig. 3.46 Timpul total de contracție la acțiunea carbacolului pe fundalul tripsinei
- Fig. 3.47 Timpul de contracție la acțiunea carbacolului pe fundalul tripsinei
- Fig. 3.48 Timpul de relaxare la acțiunea carbacolului pe fundalul tripsinei
- Fig. 3.49 Amplitudinea contracției în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO

- Fig. 3.50 Frecvența contracției în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO
- Fig. 3.51 Intensitatea funcționării structurilor în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO
- Fig. 3.52 Suprafața contracției în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO
- Fig. 3.53 Timpul total de contracție în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO
- Fig. 3.54 Timpul fazei de contracție în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO
- Fig. 3.55 Timpul fazei de relaxare la loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO
- Fig. 3.56 Amplitudinea contracției în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.57 Frecvența contracției în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.58 Suprafața contracției în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.59 Intensitatea funcționării structurii în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.60 Intensitatea funcționării structurii în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.61 Timpul fazei de contracție în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic, la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 3.62 Timpul fazei de relaxare în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic, la diferite concentrații a ionilor de Ca
- Fig. 4.1 Venele ce confluează și formează bazinul venei portă

## LISTA ABREVIERILOR

ACVP- amplitudinea contracției venei portă  
Ang II-angiotensinei II  
cGMP- guanozin monofosfat ciclic  
CMN- celulele musculare netede  
CMN- Celulele musculare netede  
DS – deviația standard  
EDHF--factor hiperpolarizant derivat din endoteliu  
eNOS --NO sintaza endotelială  
EP- epinefrină  
ET-1 - endotelina 1  
GTP- guanozin trifosfatul  
IFS intensitatea funcționării structurii  
MEC- matricea extracelulară  
MLCK- kinaza lanțului ușor de miozină  
mM – milimol pe litru  
MMP-- matricei extracelulare vasculare  
MMP-9 - matrix metalloproteinase  
MNV- miocitului neted vascular  
n – numărul de observații  
NE- norepinefrină  
NO- oxid nitric  
PAR -receptor activat de proteaze  
RAP- receptor activat de proteaze  
receptori ETA-receptori endoteliali A  
receptori ETB-receptori endoteliali B  
RS- reticulul sarcoplasmatic  
TNF- $\alpha$ - tumor necrosis factor  
VIP-- peptidul intestinal vasoactiv  
VP-Vena portă

## INTRODUCERE

### Actualitatea temei

Vena portă ocupă o poziție magistrală în sistemul venos portal, asigurând importul în ficat al substanțelor absorbite la nivelul intestinal, colectând predilect sângele din arterele bazinului gastrointestinal, biliar, pancreasului și splenic și determină aproximativ 75% din volumul sangvin hepatic [132]. Nivelul presiunii medii de 10 mm Hg instalat în vena portă este rezultatul activității contractile spontane și dirijate de pace-maker-ul mușchilor netezi din media venei aranjate longitudinal și circular, iar elevarea acestei presiuni semnifică fenomenul de hipertensiune portală asociată cu un risc crescut de apariție a varicelor și sângerării. Prezența diferitor receptori expresați atât pe endoteliul, cât și media musculară a venei portă, indică asupra rolului acetilcolinei, catecolaminelor, endotelinei 1 (ET-1), angiotensinei II (Ang II), prostaglandinelor, etc., în controlul vasomotric venos în contiguitate cu acțiunea lor asupra rezistenței vasculare intrahepatice, care filogenetic este mică [133, 134].

Un factor, care poate angrena fiziologia digestiei și fiziologia vasculară este tripsină, enzima proteolitică eliberată sub formă inactivă de pancreasul exocrin și activată în intestin, și care în mod normal poate fi decelată în sânge în concentrații foarte mici: 20-30 mg/L (sau 1-4  $\mu$ mol/L). Mult timp era coroborată opinia, potrivit căreia unica sursă a tripsinei în organismul uman și al mamiferelor este pancreasul exocrin, care excelează prin expresia înaltă a genei de sinteză a enzimei, până când studiile imunohistochimice și hibridizarea in situ nu au arătat că tripsină este expresată și de alte celule, cum ar fi epitelocitele, neuronii creierului, macrofagele splinei. Cercetările japonezilor N. Koshikawa et al (1997) au dovedit și capacitatea endoteliocitelor vasculare de a expresa gena tripsinogenului [135].

Niveluri circulante crescute ale tripsinei sunt atribuite în fond patologiei pancreasului (eg, pancreatitele acut și cronice), precum și unor tipuri de cancer. Majorarea conținutului seric al tripsinei, inclusiv la noima reducerii nivelului cantitativ sau a activității inhibitorilor endogeni ai proteazei serinice, a consolidat un interes inteligibil vizavi de modificările plauzibile ale reactivității vasculare odată cu descoperirea receptorilor vasculari cu afinitate față de tripsină, PAR (protease activated receptor) cuplați cu proteinele membranare-G [136]. Toate cele 4 familii de PAR sunt expresate în proporții diferite de structurile vasculare (endoteliocite, miocite netede), tipul PAR1, de exemplu, fiind inițial identificat ca receptor al trombinei (protează ce declanșează faza 3 a coagulării sângelui). Celelalte trei importante proteaze ce activează receptorii PAR sunt: tripsină, plasmina, triptaza din mastocite, catepsina G din lizozomi, kalicreine, capabile să activeze toate tipurile de receptori (trombina nu este ligand pentru PAR2). Receptorii PAR vasculari sunt implicați *imprimis* în orchestrarea reactivității vasculare și reglarea proceselor de remodelare



vasculară în diverse situații fiziologice și fiziopatologice, bazate pe proliferarea celulelor endoteliale și expresia moleculelor de adeziune, sfericitizarea endoteliocitelor, proliferarea fibroblastelor și convertirea lor în miofibroblaste, hipertrofia miocitelor [117, 137].

La ora actuală sunt bine cunoscute efectele vasculare ale agoniștilor receptorilor PAR evidențiate în cercetările fundamentale realizate pe diferite segmente arteriale preluate de la mai multe genuri de animale de laborator. Impune în acest context efectul vasodilatator mediat de endoteliiu iminent receptorilor PAR2, care sunt expresați atât constitutiv pe endoteliocite, cât și în manieră inductibilă pe endoteliocite și miocite netede cu precădere în precondiționări inflamatorii, diabetogene și dismetabolice [138, 139]. Sunt în mare măsură elucidate mecanismele și mesagerii intracelulari ai efectelor vasodilatatoare ale proteazelor mediate de receptorii PAR2 expresați pe endoteliocite, activarea cărora conduce la eliberarea de oxid nitric, prostaglandine și factorul endotelil cu acțiune hiperpolarizantă [140, 141]. Mai mult, receptorul PAR1 expresat pe endoteliocit are rol în promovarea efectului vasorelaxant al acetilcolinei, astfel, că intensitatea acestuia estimată pe inele izolate de aortă la șoriceii cu expresie redusă a PAR1 a fost notabil micșorată [142].

Remarcabil, expresia endotelială a receptorilor PAR2 este majorată în condițiile activării stresului oxidativ, iar efectul vasorelaxant al tripsinei apreciat pe modelul de aortă izolată de șobolan este augmentat, fapt ce confirmă rolul PAR2 în răspunsul vascular inerent proteazei [143].

Contrar apanajului conceptual acumulat vizavi de evaluarea particularităților acțiunii tripsinei asupra arterelor, sunt foarte slab elucidate efectele vasculare ale tripsinei exercitate asupra venelor și practic nu au fost identificate lucrări științifice dedicate cercetării efectelor tripsinei asupra venei portă. În plus, anume vena portă este una din țintele primare de acțiune a excesului tripsinei circulante în stările patologice ale pancreasului exocrin, în primul rând pancreatitele, iar răspunsul iminent poate deveni o pârgie de susținere sau atenuare a hipertensiunii portale și a sechelelor caracteristice. Nu sunt elucidate particularitățile motricității venei portă expuse acțiunii tripsinei în diferite precondiționări, cum ar fi: diapazonul de concentrații ale proteazei, variațiile concentrațiilor ionilor de calciu, de sodiu, de hidrogen (ie, pH-ul), inhibiția sintezei oxidului nitric, denudarea endotelială, etc. Aceste precondiționări sunt frecvent proprii situațiilor marcate de hipertripsinemie și pot, astfel, modula concludent efectul final al tripsinei asupra răspunsului contractil sau relaxant al venei portă, care spre deosebire de alte vene dispune de un sistem autonom de inducere spontană a contracțiilor, similar pace-maker-ului celulei Cajal.

## **Scopul lucrării**

La conotația celor menționate, **scopul cercetării** a constat în: Evaluarea *in vitro* a particularităților răspunsului venei portă la acțiunea tripsinei în diferite precondiționări și postcondiționări.

### **Obiectivele cercetării:**

1. Evaluarea *in vitro* a răspunsului venei portă la acțiunea tripsinei în diferite concentrații ale ionilor de calciu prin determinarea amplitudinii și frecvenței contracțiilor, timpului de relaxare și contracție și a indicilor derivați (intensitatea funcționării structurilor și suprafața contracțiilor).
2. Evaluarea *in vitro* a răspunsului venei portă la acțiunea tripsinei în diferite concentrații ale ionilor de sodiu și hidrogen.
3. Evaluarea *in vitro* a răspunsului venei portă la acțiunea cafeinei, acetilcolinei și carbacolului în pretratarea ei cu tripsină.
4. Evaluarea *in vitro* a răspunsului venei portă la acțiunea tripsinei în dependență de prezența oxidului nitric, precum și absența acestuia pe fundalul diferitor concentrații ale ionilor de calciu.

### **Originalitatea și noutatea științifică a cercetării**

În premieră s-au studiat particularitățile răspunsului contractil al venei portă izolată și perfuzată clasic cu soluția Krebs la acțiunea tripsinei modelată în 3 modele experimentale: (1) *in vivo* prin reproducerea pancreatitei acute; (2) *in vivo* prin administrarea tripsinei și (3) *in vitro* prin administrarea proteazei în perfuzat. Caracterul răspunsului s-a estimat în mod complex, fiind apreciate în acest context valorile amplitudinii și frecvenței contracțiilor, intensității funcționării structurilor, suprafeței contracțiilor, precum și ale timpului de contracție, relaxare și timpului total în diferite concentrații ale ionilor de calciu. De asemenea, s-a evaluat reactivitatea venei portă la tripsină în condiții de acidoză și variații ale concentrației ionilor de sodiu, precum și caracterul influenței proteazei asupra contracturii venoase indusă de cofeină și depolarizare maximă inerentă acțiunii soluției de KCl (140 mM). Pentru evidențierea rolului oxidului nitric în răspunsul venei portă la acțiunea tripsinei indicii contractilității acesteia au fost estimați în modelul denudat al venei prin acțiunea acidului colic, inclusiv la noima diferitor concentrații ale ionilor de calciu.

### **Semnificația teoretică a rezultatelor obținute**

Apanajul conceptual privind reactivitatea venei portă la acțiunea tripsinei este completat pe dimensiunea mai multor paliere, cum ar fi:

- Corelația reactivității venei portă *in vitro* cu concentrația de calciu, care s-a impus prin reducerea semnificativă a amplitudinii și frecvenței contracțiilor și respectiv a intensității funcționării structurilor în tot diapazonul concentrației cationului aplicat: 1,25-10 mM.
- Acțiunea tripsinei asupra reactivității venei portă în condiții de acidoză, care a evidențiat capacitatea proteazei de a crește cu 48% reculul amplitudinii contracției proprii acidozei, dar fără deprecierea frecvenței contracțiilor.
- Influența tripsinei asupra potențialului contractil al venei portă inerent contracturii maxime declanșată de depolarizarea cu soluția de KCl (140 mM) și efectului cofeinei mediat de calciul intracelular, care a demonstrat deprecierea acestuia în ambele cazuri cu 30% și, respectiv, 44%.
- Rolul oxidului nitric în promovarea reactivității venei portă la acțiunea tripsinei, astfel că protează crește și mai mult decrementul amplitudinii și, în special, al frecvenței contracțiilor cardiace caracteristic denudării venei. Acest efect depresor al tripsinei s-a decelat la toate concentrațiile ionilor de calciu aplicate în diapazonul 1,25-10,0 mM.

#### **Valoarea aplicativă a rezultatelor obținute**

Reactivitatea venei portă izolată excelează prin deprecieri similare ale amplitudinii și frecvenței contracțiilor la acțiunea tripsinei proprie modelului de administrare *in vitro* și *in vivo*, cât și modelului de hipertripsinemie reprodus *in vivo* prin modelarea pancreatitei acute, astfel că acest fenomen poate fi un predictor și o țintă terapeutică a periclitării circuitului portal în situațiile clinice asociate cu hipertripsinemie, în primul rând în pancreatite. Acidoza, cât și leziunea endotelială, diminuează potențialul contractil al venei portă, iar acest efect devine și mai pronunțat pe fundalul acțiunii tripsinei, fapt ce justifică algoritmul de corectare a reactivității venei portă prin ameliorarea dezechilibrului acido-bazic și disfuncției endoteliale, în afară de atenuarea activității tripsinice a sângelui.

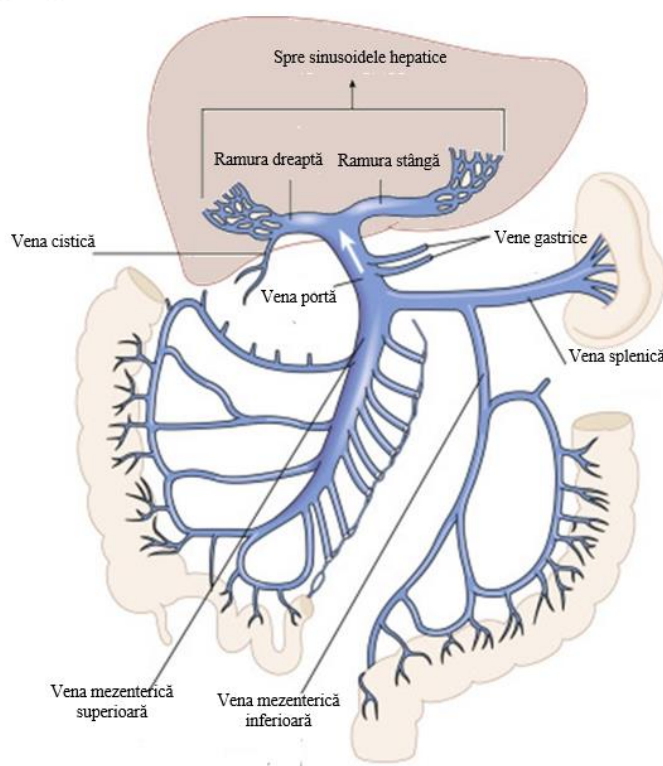
#### **Problema științifică soluționată în lucrare**

Constă în elucidarea *in vitro* a particularităților acțiunii tripsinei asupra reactivității venei portă, inclusiv pe fundalul modificării concentrației ionilor de Ca și H<sup>+</sup>, denudării endoteliului, fapt ce a permis identificarea reperelor de predicție și corectare a periclitării circuitului portal propice ameliorării statusului funcțional și clinic al pacienților cu situații patologice asociate cu hipertripsinemie.

# 1. PARTICULARITĂȚILE REACTIVITĂȚII VENEI PORTĂ ÎN DIFERITE PRECONDIȚIONĂRI

## 1.1. Inerențe morfo- funcționale ale venei portă

Vena portă (VP) asigură 75% din influxul sangvin în ficat poziționată anatomic în ligamentul gastrohepatoduodenal în contiguitate cu artera hepatică, care aduce ultima pătrime de sânge spre parenchimul hepatic. VP este rezultatul confluării a 3 vene: gastrică, splenică și mezenterică superioară (fig 1.1).



**Fig. 1.1 Vena portă în macroschemă sinoptică [1]**

În organismul uman adult VP are o lungime în medie de 7-8 cm și un diametru de circa 10 mm, iar înainte de a intra în ficat se ramifică în 2 ramuri: stânga și dreapta. Rolul VP în homeostazia organismului este notabil, dat fiind faptul că asigură accesul ficatului la nutrienții și metaboliții digestiei gastrointestinale necesari funcționării hepatice normale, iar pe de altă parte asigură influxul noxelor metabolice pentru epurarea organismului consecventă detoxificării.

Cota de sânge utilizată de ficat din minut-volumul circulant general este de circa 25%, astfel că complianța VP în acest context se anunță un aranjament important vizavi de faptul că hepatocitele sunt celulele cu cel mai înalt nivel de perfuzie [2]. Totodată, sângele stocat în ficat poate fi un element important angrenat în mecanismele cardiovasculare de compensare în

pierderile de lichid și deshidratarea organismului. Chiar o elevare moderată a presiunii în VP peste valoarea normală (7-10 mm Hg) conduce la creșterea gradientului de presiune VP/vena cavă inferioară (valoarea maximă = 5,0 mm Hg) sau la o creștere >6,0 mm Hg față de atriul drept și, respectiv, la periclitarea hemodinamicii periferice: de la riscul congestiei și transudației în cavitatea abdominală până la constricția arterelor renale [3, 4]. Ultimul fenomen se decelează în cadrul sindromului hepatorenal, care este declanșat în ficat, când influxul sangvin portal este compromis și asociat cu creșterea concentrației de adenozină, determinând în mod reflector activarea sistemului simpatic renal, eliberarea agenților vasoconstrictori renali și, respectiv, constricția arterelor renale [5].

Prin urmare, fezabilitatea VP este orchestrată de un sistem multifactorial care se bazează pe cooperarea concludentă între influențele vegetative și factori umorali cu acțiune paracrină și endocrină.

Vena portă are inervație simpatică și parasimpatică, mediatorii iminenți fiind implicați în reglarea tonusului vascular bazal. Inervațiile vegetative sunt de altfel comune și pentru artera hepatică și ductele biliare. Fibrele nervoase simpatice postganglionare sunt originate de ganglii mezenteric superior și celiac, care la rândul lor primesc fibre preganglionare de la gangliul spinal T7-T12. Fibrele parasimpatice au origine vagală și similar celor simpatice sunt implicate în controlul activității neuronilor hepatici paravasculari sub acțiunea stimulilor osmotici și metabolici, care trimit eferente spre centrele principale ale creierului [6]. Relatări recente indică asupra rolului dezechilibrului între influențele simpatice și parasimpatice cu predominarea stimulilor adrenergici nu numai în afectarea tonusului vascular bazal, dar și în perturbările hepatice metabolice, în primul rând glucidice și lipidice [7].

Remarcabil, că valoarea raportului terminațiilor nervoase simpatice și parasimpatice în VP este dependent de fenotipul mamiferului, dar în mod normal se admite că densitatea fibrelor parasimpatice predomină, efectele acestora fiind, însă, strâns legate de funcționalitatea endoteliului vascular. Creșterea activității simpatice în reglarea tonusului VP sau deprecierea controlului parasimpatic se estimează drept factori trigger ai elevării presiunii venoase portale, precum și a rezistenței vasculare intrahepatice în sistemul arterial inerente diferitor afecțiuni cronice ale ficatului. J.Van Limmen și colab. (2022) au demonstrat că mediatorul simpatic, norepinefrina, este cauza reducerii circuitului sangvin portal și a fluxului hepatic arterial, efect mediat prin receptorii  $\alpha_1$ -adrenergici expresați pe miocitele netede vasculare [8].

Aportul diferitor mediatorii metabolici și agenți vasotropi naturali în controlul circuitului sangvin portal este mult mai slab studiat comparativ cu sistemul arterial în general și hepatic în particular. Sub acest aspect este abordată importanța evidențierii particularităților reactivității VP

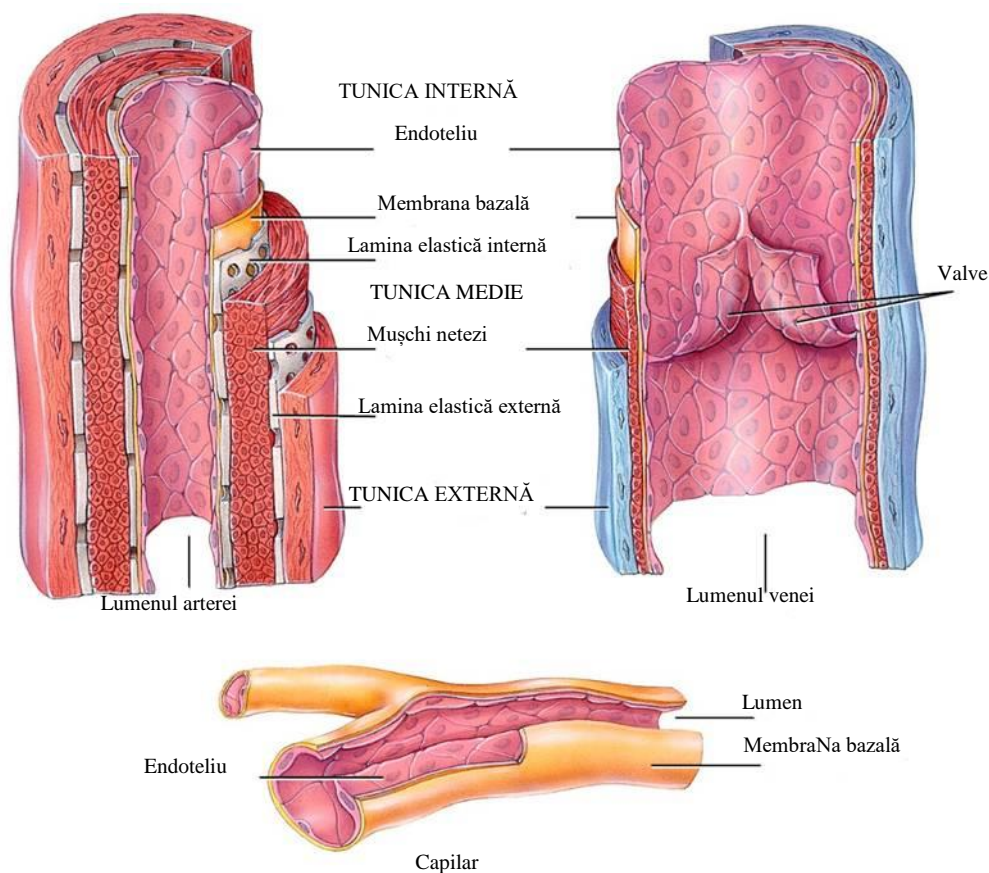
la acțiunea adozinei, acetilcolinei, bradikininei, endotelinei-1 (ET-1), angiotensinei II (Ang II), adozintrifosfatului (ATP), lactatului, piruvatului, etc. În contextul axei hepato-renale și exercițiului ei de reglare a homeostaziei este de asemenea însemnată stabilirea efectului urotensinei II (cel mai potent vasoconstrictor natural), un oligopeptid circular (12 aminoacizi) cu o structură analoagă somatostatinei, eliberat de creier, dar exprimat la cote minore și de alte celule, cum ar fi cardiomiocitele, miocitele, fibroblaste, etc. Mai mult, urotensina II este apreciată drept o citokină cu acțiuni pleiotrope, cum ar fi proinflamatoare, profibrotică, mitogenă, de creștere, de stimulare a migrării celulare, etc. [9]. Ficatul, rinichii, splina, pancreasul exprimă activ urotensina II, iar pe fondalul injuriei endoteliale oligopeptida poate la noima efectelor proprii să influențeze concludent remodelarea vasculară și, respectiv, reactivitatea vasculară, inclusiv a VP. Celulele Kupffer sunt o sursă importantă a urotensinei II pentru ficat, iar creșterea producției acesteia crește sub acțiunea diferitor mediatorii ai inflamației, enzimomiei (eg, tripsinemia consecventă afecțiunilor acute și cronice ale pancreasului) și produselor stresului oxidativ [10, 11].

Reglarea tonusului bazal al VP are loc în condiții diferite de ale zone vasculare, întrucât noxele sistemului portal urmate a fi metabolizate în ficat posedă acțiune vasoconstrictoare sau relaxantă independentă, fapt ce se interferă detrimental cu sistemul intrinsec de control al complianței și presiunii portale. În plus, entitatea fiziologică a sistemului „tampon hepatic vascular” impune în condițiile de reducere a influxului sangvin în ficat prin intermediul arterei hepatice (eg, în ateroscleroză, stenoză, tromboză) creșterea circuitului portal datorită dilatării VP, pentru a menține perfuzia adecvată a parenchimului. Respectiv, este oportună în acest sens prezența unui sistem de semnalizare a ischemiei hepatice menit să inducă dilatarea venei portă comensurabil constricției arterei hepatice, primar prin acțiuni paracrine. Este plauzibilă și relația inversă, deci relaxarea arterei hepatice în condițiile creșterii presiunii portale cauzată de contracția exagerată a miocitelor netede VP. La ora actuală mecanismele de reglare a sistemului „tampon hepatic vascular” sunt tratate apocrif și necesită elucidări suplimentare.

Cercetările proiectate pe structura, funcționalitatea și reactivitatea venei portă în diferite precondiționări au adus la apel unele evidențe comune dar și distincte sistemului arteriale.

În primul rând, endoteliul vascular reprezintă, ca și în artere, un singur strat de celule care dincolo de bariera mecanică îndeplinește funcții homeostatice importante (Fig. 1.2). Capacitatea endoteliocitului venos de sinteză a oxidului nitric este mai mare comparativ cu cea a arterelor. Aceasta se datorează expresiei superioare a nitric oxid sintazei endoteliale (eNOS) și în parte – expresiei reduse a arginazei care angrenează substratul NO (L-arginina) în ciclul ornitic. Privind aportul endoteliului venos în controlul hemostazei de menționat că expresia trombomodulinei, antitrombinei III, precum și a receptorilor din familia anexinei-5 față de proteina anticoagulantă C

se estimează la cote similare segmentului arterial. Totodată, expresia receptorilor endoteliali către factorul von Willebrand se consideră mai redusă, întrucât pentamerul pro-coagulant în circuitul lin venos nu descoperă toate cele 5 site-uri de ligand similar circuitului rapid și turbulent în artere.



**Fig. 1.2 Particularități structurale comune și distincte ale arterei și venei [12]**

În al doilea rând, media musculară a peretelui venos este mai subțire, iar laminele elastice care despart media de intimă (ie, internal elastic lamina) și de adventice (ie, external elastic lamina) lipsesc. Miocitele netede sunt depreciate numeric și se aranjează în mod circular central și longitudinal, care sunt plasate în careul celor circulare sau în afără lor. Media musculară a arterelor nu conține fibre musculare longitudinale. În venele membrelor inferioare aranjamentul structural al mediei musculare excelează prin formarea aparatului valvular. Raportul colagenului fibrilar de tip I către colagenul fibrilar de tip III din matricea extracelulară (MEC) inerentă mediei musculare este mai mare versus indicele caracteristic arterelor, fapt ce vine în acord cu complianța mult mai mare a venelor. Expresia colagenului reticular de tip IV este considerabil redusă odată cu lipsa membranelor elastice.

Adventicea are o compoziție similară arterelor și conține fibre de colagen fibrilar, fibre elastice și toate celulele proprii MEC: fibroblaste, mastocite, macrofage.

Structura venei portă a șobolanilor este mai bine studiată comparativ cu VP a altor mamifere, cum ar fi și numărul superior de cercetări și de date privind aspectele funcționale efectuate pe modele de inele izolate. Rezultatele obținute aduse la apel evidențiază câteva trăsături semnificative [12, 13]:

- Stratul endotelial al segmentului extrahepatic al VP are pliuri, care corespund anatomic zonelor peretelui venos ce conține fibre musculare longitudinale bine dezvoltate. Astfel, se sugerează că acestea din urmă participă în formarea pliurilor endoteliale. Celulele endoteliale sunt aranjate între pliurile intimei în mod circumflex. Această constatare denotă că fluxul sanguin circumferențial are loc local pe suprafața luminală dintre pliurile intimale. Alinierea celulelor endoteliale este determinată de sarcina mecanică periodică, care la rândul său este în contiguitate cu contracția miocitelor circulare și longitudinale. În condițiile când endoteliocitele din cultura celulară sunt expuse la întinderii periodice și relaxare, atunci axa lungă a acestora este reorientată perpendicular pe forța de extensie. O așa orientare a celulelor endoteliale asigură *in vivo* o rezistență mai mare opusă stresului mecanic periodic și, deci, o deformare minimală a unității celulare. Pliurile intimale sunt la șobolani circumflexe și dispuse paralel unul față de altul.
- Pentru VP sunt caracteristice contracțiile spontane periodice îndreptate spre hitul hepatic, iar fibrele musculare longitudinale se consideră a fi responsabile de acest fenomen, atestat la mai multe tipuri de mamifere (rozătoare, pisici, iepuri, cobai, etc.). Contracția fibrelor musculare longitudinale este mai puternică în segmentul distal și se depreciază spre hitul hepatic, iar intima cu celule endoteliale dispuse circular este mai puțin expusă stresului de încordare și întindere.
- Miocitele netede aranjate longitudinale sunt expuse în zona exterioară a peretelui VP, iar miocitele circumflexe - în zona interioară. Aceste 2 tipuri de miocite au contribuții distincte privind activitatea mecanică *per ansamblu* a venei portă. Miocitele longitudinale sunt menite să contracareze forța de gravitație a sângelui, iar contracția miocitelor circumflexe atenuază presiunea hidrostatică a sângelui. Remarcabil, că elevarea presiunii hidrostatice a sângelui în perioada postnatală de dezvoltare a organismului conduce la dezvoltarea mai accentuată a miocitelor netede circumflexe comparativ cu fibrele longitudinale. De asemenea merită atenție faptul, că în segmentul proximal raportul miocitelor circumflexe către celulele longitudinale este mai mare comparativ cu segmentul distal al venei portă. În segmentul proximal al VP presiunea hidrostatică a sângelui evident mai mare versus segmentul distal.



- Conracțiunile spontane periodice ale venei portă se coroborează a fi declanșate și controlate de celulele Cajal, prezența cărora a fost inițial dovedită în vena portă de iepure în zona mediei musculare și relatată în 2004 de către M.Harhun și colab. [14]. Prin aplicarea microscopiei confocale și miografiei electronice s-a stabilit conexiunea celulelor Cajal cu miocitele netede ale VP. Oscilațiile ritmice spontane ale celulelor Cajal au fost declanșate prin creșterea concentrației ionilor de calciu care a condus la depolarizarea lor. În plan conceptual este important de menționat că depolarizarea miocitului neted a avut loc la o distanță de circa 4 sec după depolarizarea celulei Cajal. Totodată, s-a urmărit și depolarizarea celulei Cajal adiacente, numai că mult mai repede: după circa 200 msec. Astfel, s-a concluzionat întemeiat, că celula Cajal pot servi drept un pace-maker al mediei musculare a VP, iar depolarizarea miocitului neted poate fi nu numai repercusiunea contactului electric dintre acestea, dar și rezultatul acțiunii unor mediatori eliberați de celula Cajal și capabili să declanșeze depolarizarea miocitului adiacent.

Ulterior S.Costin și L.Popescu (2009) au demonstrat prin microscopie electronică și microscopie laser confocală prezența celulelor Cajal în miocardul uman și al mamiferelor [15]. Autorii au expus ipoteza aportului celulelor interstițiale Cajal în comunicarea intercelulară, remodelarea miocardului și a MEC, precum și în aritmogenitatea cardiacă grație efectului pace-maker ale acestora. Deși cantonate în matricea extracelulară celulele Cajal n-au trăsături comune cu fibroblastele sau miofibroblastele MEC și sunt diferite de celule Cajal intestinale.

Deși descoperite tocmai în a.1889 de către specialistul Spaniol în neuroanatomie, Santiago Ramon Cajal, aceste celule care îi numele (ie, celulele Cajal) au rămas și la ora actuală o enigmă nedescifrată la conotația rolului lor funcțional în diferite organe vitale. Fiind depistate opulent în tractul gastro-intestinal, înlăturarea lor a condus la dispariția unei lente de depolarizare miocitelor netede intestinale, inclusiv în condițiile de stimulare electrică. Mult timp cercetările experimentale n-au putut evidenția mecanismele ale activității pace-maker ale celulelor Cajal, iar apanajul acumulat indică asupra rolului descărcării calciului din reticulul endoplasmic al miocitului neted, activării canalelor L-type din membrana miocitului (sursa a doua a calciului în perioada de depolarizare) și/sau activarea pompelor membranare Na-K [16, 17].

Remodelarea morfologică a venei portă, un fenomen omniprezent în hipertensiunea portală, se manifestă prin modificări structurale și geometrice notabile predilect a intimei și mediei musculare, ce rezultă în periclitarea reactivității venei la acțiunea diferitor stimuli naturali.

C.Ho și colab. (2019) au demonstrat că hipercolesterolemia și elevarea nivelului circulant al lipoproteinelor cu densitate joasă oxidate se impune prin leziuni endoteliale ale VP și inflamația acesteia în asociere cu formarea plăcilor iminente aterosclerozei pe fondalul creșterii conținutului

seric al interleukinelor proinflamatoare la pacienții cu infiltrarea grasă a ficatului [18]. Leziunea endotelială a rezultat în hipertensiunea portală cu acțiune detrimentală asupra perfuziei hepatice. Totodată, se admite că remodelarea VP este însoțită cu micșorarea populației celulelor Cajal pe seama activării apoptozei lor indusă de mediatorii inflamației (calea extrinsecă a apoptozei indusă de TNF- $\alpha$ ), radicalilor liberi de oxigen, deficitului energetic (calea intrinsecă sau mitocondrială indusă de citocromul C) sau de defirențierea acestora sub acțiunea acelorași factori [19, 20]. Endoteliul VP controlează funcționalitatea miocitelor netede circumflexe și longitudinale prin intermediul derivaților endoteliali, NO și prostaciclina sau prostaglandina I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>). M.Trindade și colab. (2017) au demonstrat în experimentele efectuate pe cultură de celule că nivelul bazal al NO în endoteliocitele VP este similar cu indicele caracteristic endoteliocitelor venei cava inferior, dar incubarea culturii cu ET-1 n-a determinat creșterea expresiei NO în VP, spre deosebire de răspunsul incremental caval [21]. Pe de altă parte, nivelul bazal al PGI<sub>2</sub> în endoteliocitele VP a fost semnificativ mai mare comparativ cu cel din vena cava inferior, dar analogic modificării NO incubarea culturii cu ET-1 nu s-a impus prin majorarea producției prostaciclonei, contrar endoteliocitelor cavale. Deci, endoteliul venei portă este marcat în plan funcțional prin particularități notabile, care pot fi repere importante vizavi de reactivitatea ei în diferite condiționări hemodinamice, paracrine și neuroendocrine.

Endoteliul VP exprează diferite tipuri de receptori, activarea cărora promovează contracția și relaxarea mediei musculare, determinând în consecință reducerea sau creșterea influxului sangvin în ficat. La ora actuală este dovedită prezența următorilor tipuri de receptori, expresia cărora este dependentă de fenotipul mamiferului:

- Muscarinici de tip 1 și 3 (M<sub>1</sub> și M<sub>3</sub>) către acetilcolină. La iepuri se indică și prezența receptorilor M<sub>5</sub>.
- H<sub>1</sub> către histamină (expresia lor în VP de șobolan este joasă).
- ETB către endotelina 1.
- Alpha 2 adrenergici către norepifrină (NE).
- AT<sub>2</sub> către Ang II.
- Mass receptor către angiotensina 1-7.
- VIP<sub>2</sub> către peptidul intestinal vasoactiv (VIP)
- B<sub>2</sub> către bradikinină.

Efectul stimulării acestor receptori este în corelație directă cu capacitatea endoteliocitului VP de a elibera NO sau PGI<sub>2</sub>, iar în disfuncția hepatică cota lor și, respectiv, efectul final poate fi influențat notabil. Astfel, I.Bockh și colab. (2011) au demonstrat in situ la șobolanii cu

hipertensiune portală că stimularea branșei hepatice a nervului vag cu frecvența de 5 Hz a diminuat valoarea hipertensiunii pe fondalul creșterii concentrației de acetilcolină în circuitul portal [22]. Pretratarea animalelor cu L-NAME (inhibitorul eNOS) a abolit efectul vagal asupra hipertensiunii portale, fapt ce indică asupra rolului NO în promovarea efectului colinergic. Stimularea vagală cu o frecvență dublă (ie, 10 Hz) a condus la creșterea concentrației în circuitul portal a peptidului intestinal vasoactiv asociată de asemenea cu reducerea hipertensiunii portale, efect care nu a fost abolit prin administrarea L-NAME, dar depreciat în pretratarea cu blocantul VIP2. De remarcat că ambii mediatori ai stimulării nervului vag au micșorat rezistența vasculară intrahepatică, un mecanism important al hipertensiunii portale. Prin urmare, stimularea nervului vag poate fi o oportunitate de tratament patogenetic al hipertensiunii portale și a consecințelor iminente.

Miocitele netede ale VP espresază următorii receptori:

- M2 către acetilcolină. Stimularea lor de acetilcolină produce contracția miocitelor netede.
- ETA și ETB în proporție distinctă la diferite mamifere, dar cu superioritatea notabilă a receptorilor ETA: de la 5:1 până la 8:1. Remarcabil, că ET-1 este un factor important în evoluția fibrozei hepatice, care conduce la creșterea rezistenței vasculare hepatice și, respectiv, la hipertensiunea portală [23]. Antagoniștii receptorilor ETA ameliorează atât remodelarea parenchimului hepatic, cât și reactivitatea venei portă.
- AT1 către Ang II.
- Alpha 1 adrenergici către NE.
- Beta 2 adrenergici către epinefrină (EP).
- H2 către histamină.

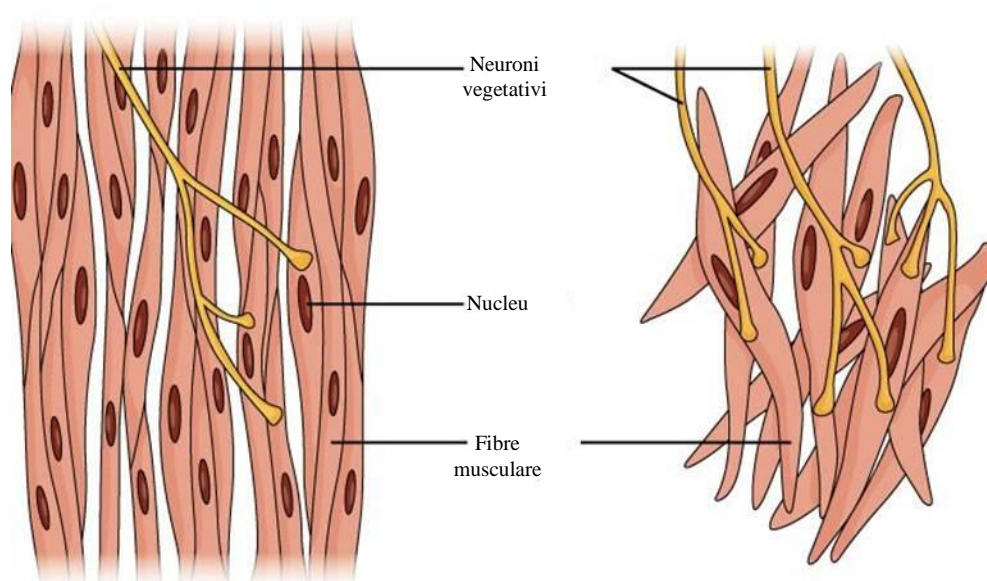
Activarea majorității receptorilor expesați de miocitele netede ale VP declanșează și susține procesul de remodelare a peretelui venei portă, care accelerează și facilitează evoluția hipertensiunii portale. În acest context este important rolul proteinei TMEM16A în promovarea efectelor proliferative și de creștere ale ET-1 și Ang II, factorii vasotropi principali implicați în controlul funcționalității venei portă [24, 25].

Integrinele, sindecanele și alpha-distroglicanii sunt receptori ai miocitelor netede ale VP, rolul cărora în remodelarea venei portă este vizat prin prisma controlului fenotipului contractil al celulei musculare [26]. Activitatea acestora se consideră a fi în sintonie cu funcționalitatea receptorilor către aldosteron, stimularea căruia stimulează expresia fibroblastelor MEC și sinteza exagerată de colagen fibrilar de tip I și de tip III [27]. Impactul aldosteronului asupra remodelării venelor se estimează sub impactul hormonului asupra arterelor și miocardului cel puțin din considerentele expresiei mai joase a receptorului în vene.

## 1.2. Conceptul miocitului neted vascular: mecanisme de contracție și relaxare

Celulele musculare netede (CMN) sunt structuri morfo funcționale importante nu numai în vasele sangvine și limfatice, dar și alte organe vitale: stomac, intestine, uter, sistemul urinar, bronhial, ocular, biliar, etc. În plan fiziologic CMN diferă de celulele musculare striate ale scheletului, dat fiind faptul că proteinele contractile, actina și miozina, nu se aranjează în paternul de sarcomer. Mușchiul neted se poate tensiona și relaxa, dar are proprietăți elastice mai mari decât mușchiul striat. Această calitate este importantă în sistemele de organe precum vezica urinară, unde păstrarea tonusului contractil este o necesitate.

CMN există în 2 modele: modelul unitar singular și paradigma multi-unitară (Fig. 1.3).



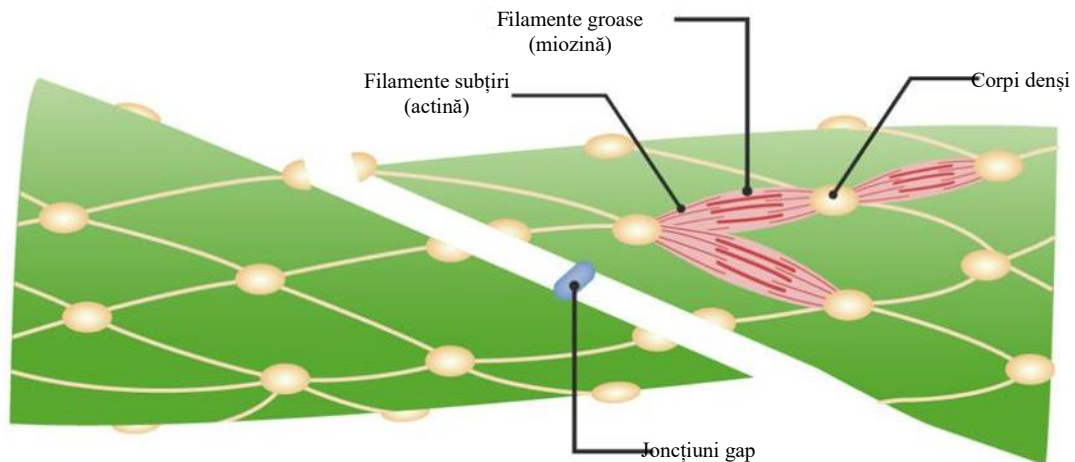
**Fig. 1.3 Modelul unitar singular (stânga) și multi-unitar (dreapta) al mușchiului neted [54].**

Modelul singular unitar excelează prin conexiunea a mai multor celule musculare netede într-un sistem morfo funcțional solitar prin intermediul conexinelor, proteinelor speciale de joncțiune intercelulară care permit o comunicare ionică comună între CMN propice contracției sincrone a elementelor acestui sistem [28]. Pentru declanșarea depolarizării este suficientă prezența unui sinaps trigger, iar acest fenomen explică capacitatea de menținere a tonusului vascular consecventă unei transmiterii sinaptice. Pentru paradigma multi-unitară este proprie prezența sinapsului la fiecare celulă musculară netedă, proprietate care asigură un control mai complex și sofisticat al musculaturii netede.

Contractia mușchilor netezi depinde de influxul de calciu realizat prin 2 procese diferite. În primul rând, depolarizarea, hormonii sau neurotransmițătorii determină intrarea calciului în celulă prin canalele de tip L situate în caveolele membranei. Calciul intracelular stimulează apoi

eliberarea cationilor de calciu din reticulul sarcoplasmatic (RS) prin intermediul receptorilor de rianodină și IP3 (inozitolfosfat-3), acest proces fiind definit ca „eliberarea calciului indusă de calciu” [29]. Spre deosebire de mușchiul scheletic, calciul eliberat din RS în CMN nu afectează expresia sau activitatea receptorului de rianodină. În sarcoplasma CMN calciul se leagă de o proteină intracelulară specifică, calmodulina, care se transformă în calmodulină activată, care activează ulterior enzima lanțului ușor de miozină, definită ca *kinaza lanțului ușor de miozină* (MLCK). Aceasta din urmă asigură fosforilarea lanțului reglator al miozinei, care rezultă în schimbarea conformațională a capului de miozină, fapt ce contribuie la creșterea activității ATP-azei miozinei și, respectiv, la promovarea interacțiunii dintre capul miozinei și actină. Legăturile formate între miozină și actină generează tensiune mecanică, care este dependentă de concentrația de calciu din CMN. Cu toate acestea trebuie de menționat că activitatea ATP-azei miozinei este mult mai mică în mușchiul neted decât în mușchiul scheletic, iar viteza contractilă notabil mai lentă. Pe de altă parte, perioada mai prelungită a actului contractil conduce la o forță de contracție potențial mai mare a mușchiului neted, augmentată efectiv prin utilizarea conexinelor.

Filamentele de actină în CMN, care au o grosime cuprinsă între 4 și 8 nm sunt confluent fixate de structuri diseminate în sarcoplasma celulară denumite cu corpuri dense (Fig. 1.4).



**Fig. 1.4 Corpurile dense (dense bodies) sunt centre de fixare a filamentelor de actină [54].**

Peretele organelor goale ale vertebratelor este o structură unică capabilă să genereze tensiune activă și să mențină o rigiditate pasivă aproape constantă pe un interval mare de volum. Aceste proprietăți sunt atribuite în principal celulelor musculare netede care căptușesc peretele organului. Deși se știe că mușchiul neted posedă plasticitate (adică capacitatea de a se adapta la schimbări mari ale lungimii celulei prin remodelarea structurală a aparatului contractil și a citoscheletului), baza structurală detaliată a plasticității este în mare parte necunoscută. Corpurile dense, una dintre cele mai proeminente structuri din celulele musculare netede, au fost considerate locuri de ancorare pentru filamentele de conectate la sarcolema CMN, astfel, că realizează

conexiuni cu structurile proteice ale matricei extracelulare, cum ar fi colagenul fibrilar, fibronectina, laminina, elastina, integrinele, prin ce se sustenabil se menține tensiunea pasivă și tensiunea de încordare [56, 57]. Corpul dens asigură atât plasticitatea peretelui vasului sau a organului cavitat, cât și potențialul contractil respectiv.

Joncțiunile intercelulare (Gap junction) asigură într-un mod coordonat funcția contractilă a fibrelor musculare aranjate în formă de fus, care spre deosebire de cele scheletice au un singur nucleu (dimensiunea celulelor individuale variază de la 30 la 200  $\mu\text{m}$ ). Integrina  $5\alpha 1\beta$  a MEC cuplată cu sarcolema CMN este angrenată concludent în acest exercițiu prin formarea legăturii între actina matricei extracelulare și actina din unitatea contractilă a CMN [62, 63, 64]. Periclitarea acestei legături conduce la pierderea complianței vasculare, remodelarea vasculară și la repercusiunile afectării tonusului vascular arterial și venos [65, 66].

Etape principale consecutive implicate în contracția celulelor musculare netede au următorul contur: (1) Depolarizarea membranei – (2) deschiderea canalelor de calciu de tip L – (3) eliberarea calciului din RS (4) creșterea calciului intracelular – (5) formarea complexului calciu-calmodulionă – (6) activarea lanțului ușor al kinazei miozinei – (7) fosforilarea lanțului ușor de miozină – (8) creșterea activității ATP-azei miozinei – (8) miozina leagă actina – (9) formarea tonusului muscular în baza legăturilor acto-miozinice formate [54, 55].

Relaxarea mușchiului neted începe odată cu procesul de defosforilare a lanțurilor ușoare de miozină care asigură dezbinarea punților acto-miozinice. Defosforilizarea este indusă de fosfataza lanțului ușor de miozină, enzima care influențează, astfel, timpul contracției (deci și a forței de contracție), precum și momentul declanșării relaxării. Important de menționat în acest context, că spre deosebire de mușchiul scheletic, micșorarea concentrației concentrației ionilor de calciu în CMN nu produce relaxarea, deoarece mușchiul neted este fosforilat încontinuu pe perioada actului de contracție.

Un alt aspect clinic important al relaxării mușchilor netezi este determinat de implicația concludentă a oxidului nitric (NO). Sintetizat în celulele endoteliale NO este capabil să difuzeze în celulele musculare netede, inducând conversia guanozin trifosfatului (GTP) în guanozin monofosfat ciclic (cGMP) prin activarea enzimei guanilil ciclază. Creșterea cGMP conduce la stimularea proteinei kinazei dependente de cGMP, care, la rândul său, activează fosfataza lanțurilor ușoare de miozină, iar defosforilarea acestora declanșează procesul de relaxare a mușchilor netezi.

Potențialul de acțiune al CMN este generat prin acțiunea a mai multor factori, cum ar fi factori umorali locali, hormoni circulanți sau factori de stimulare mecanică (eg, întinderea

celulelor musculare netede). Activarea receptorului muscarinic M3 expresat de CMN rezultă în influxul calciului în sarcoplasmă și descărcarea ulterioară a cationului din rezervele RS.

Potențialele de acțiune din celulele musculare netede sunt mai lente, comparativ cu potențialele de acțiune ale mușchilor scheletici, iar durata lor poate fi de circa 50 ori mai mare. Această caracteristică unică a mușchiului neted se datorează deschiderii mai lente a canalelor de calciu și este în sintonie cu o repolarizare mai lentă, deoarece și canalele de potasiu reacționează nu așa de rapid, ca în mușchii striati. Canalele de sodiu pot fi prezente pe membrana CMN, facilitând depolarizarea membranei și, respectiv, deschiderea canalelor de calciu. Celulele musculare netede pot fi influențate de oscilații electrice spontane generate de celulele interstițiale pacemaker Cajal. La ora actuală este coroborată opinia potrivit căreia aceste oscilații electrice spontane sunt capabile să deschidă canalele de calciu dependente de tensiunea mecanică, iar creșterea intracelulară a calciului este importantă în micșorarea pragului de depolarizare, iar depolarizarea va determina deschiderea canalelor de calciu de tip L și, corespunzător, la contracția mușchiului neted.

Sodiul de asemenea este vizat drept un factor de inducere a contracției mușchiului neted sub acțiunea oscilațiilor electrice spontane. Influxul de calciu stimulează schimbul Na-Ca, ceea ce duce la un aflux de sodiu care va crește activitatea pompei membranare de control al schimbului Na-K (ie, Na-K-ATP-aza).

Contracția de durată a mușchiului neted solicită evident și o asigurare energetică respectivă și specifică pentru CMN. Un mecanism plauzibil în acest sens ar fi, că în condițiile epuizării de ATP și reducerii fosforilării lanțurilor ușoare de miozină tonusul mușchilor netezi rămâne ridicat până când nu se activează fosfataza responsabilă de procesul de defosforilare, așa numitul mecanism de „lacăt” [30]. Odată ce kinaza lanțurilor ușoare de miozină clivează ATP-ul în vederea transferului fosfatului anorganic la lanțul de miozină se produce fosforilarea acestuia și încordarea mușchiului neted, care se menține la conotația unei încordări tonice chiar în declinul considerabil al ATP-ului. Prin urmare o contracție tonică durabilă și sustenabilă a mușchiului neted se poate produce cu cheltuieli limitate de energie macroergică. Fosfataza lanțurilor ușoare ale miozinei nu numai înlătură fosfatul, dar și inhibă activitatea ATP-azei miozinei, scândarea ATP și reduce afinitatea lanțului ușor de miozină către actină, deci fenomene inerente relaxării CMN [31].

O bornă deosebită a fiziologiei miocitului neted vascular (MNV) este lipsa troponinei, proteină importantă în reglarea contracției mușchiului cardiac. Nativitatea funcțională a fenotipului contractil al MNV impune contracția declanșată de stimuli mecanici (eg, mecanismul miogen), de depolarizarea electrică și de stimuli chimici, cum ar fi acetilcolina, norepinefrina, endotelina 1, tromboxanul A<sub>2</sub>, Ang II, etc. Important de menționat, că răspunsul vascular *per*

ansamblu este determinat nu numai de exercițiul CMN, dar și de angajamentul celulei endoteliale, care contracarează contracția și inițiază relaxarea vasului prin eliberarea de NO, prostaciclina și factorul hiperpolarizant derivat de endoteliu. Hiperpolarizarea mediei musculare urmată de relaxarea vaselor este în deosebi importantă în controlul perfuziei organelor vitale (eg, cordul, creierul) în condiții de afectarea a endoteliului [32].

Cele mai importante mecanisme de promovare a efectelor vasoconstrictor și vasorelaxant proprii factorilor vasotropi sunt: (1) mecanismul proteinei G cuplate de membrana CMN și (2) mecanismul sistemului NO-GMPc declanșat de activarea receptorilor endotelocitului [33].

Sunt decelate 3 paradigme de proteine G cuplate cu membrana MNV angrenate în orchestrarea reactivității miocitului: Gs, Gi și Gq.

Proteina Gs în MNV, ca și în mușchiul cardiac, promovează acțiunea agenților chimici naturali ce rezultă în activarea adenilatciclazei și formarea adenozin-monofosfatului ciclic (AMPc): epinefrinei prin intermediul activării receptorilor adrenergici beta-2, adenozei prin intermediul receptorilor purinergici A<sub>2</sub>, ET-1 prin intermediul receptorilor ETA și prostaciclina prin intermediul receptorilor IP [34]. Contrar miocardului AMPc în MNV produce relaxarea, întrucât inhibă kinaza care fosforilează lanțurile ușoare ale miozinei. De asemenea, contrar miocardului, creșterea concentrației AMPc în MNV nu conduce la majorarea calciului în sarcoplasmă.

Proteina Gi în MNV este cuplată cu receptorul adrenergic alpha-2, activarea căruia de către norepinefrină (NE) determină formarea AMPc și, respectiv, conduce la inhibiția fosforilării lanțurilor ușoare ale miozinei și relaxarea mediei musculare [35].

Proteina Gq în MNV este cuplată cu receptorul adrenergic alpha-1 activat de NE, receptorul ETA activat de ET-1, receptorul AT<sub>1</sub> activat de Ang II, receptorul V<sub>1</sub> activat de vasopresină și receptorul muscarinic M<sub>3</sub> activat de acetilcolină. Activarea acestor receptori rezultă în angrenarea a 2 sisteme intracelulare: (1) sistemul Rho-kinazei și (2) sistemul inozitol trifosfatului (IP<sub>3</sub>) dependent de fosfolipaza C [36]. Rho-kinaza inhibă fosfataza lanțurilor ușoare ale miozinei și, respectiv, defosforilarea lor necesară pentru dezbinarea punților actio-miozinice. Astfel, se menține încordarea MNV și contracția vasculară până la momentul activării fosfatazei lanțurilor ușoare ale miozinei. IP<sub>3</sub> stimulează eliberarea calciului din RS și activarea protein-kinazei C prin intermediul diacilglicerolului, fapt ce rezultă în contracția vasculară.

La ora actuală rămâne în continuă dezbateră efectul epinefrinei asupra MNV. Se sugerează că afinitatea receptorului adrenergic beta-2 cuplat cu proteina Gs are o afinitate mare față de epinefrină în concentrații mici și moderate ale hormonului. Receptorul adrenergic alpha-1 cuplat cu proteina Gq, dimpotrivă, are o afinitate mare față de epinefrină, când aceasta acționează în



concentrații excesive. Prin urmare, epinefrina în concentrații mari produce contracția mediei musculare, iar în concentrații reduse predomină efectul vasodilatator [33].

Sistemul NO-GMPc asigură relaxarea MNV, acest efect fiind în deosebi important în promovarea acțiunii acetilcolinei, mediată de receptorii muscarinici M3. Mecanismele principale ale efectului vasorelaxant mediat de NO-GMPc sunt: (1) diminuarea IP3 și reducerea eliberării calciului din RS, (2) diminuarea influxului de calciu în MNV și (3) activarea canalelor de potasiu ce rezultă în hiperpolarizarea MNV [37, 38].

Reglarea expresiei GMPc și a AMPc este însemnată nu numai vizavi de controlul tonusului vascular, dar și în contextul acțiunii proliferative și de creștere a factorilor naturali paracrini și endocrini [39]. Hipertrofia mediei musculare este un semnalment al remodelării vasculare și pe fondalul disfuncției endoteliale evoluează ca un patern detrimental plasticității vasculare, când fenotipul contractil al MNV este convertit în fenotipul secretor sau sintetic [40, 41, 42]. Abordările unor publicații recente aduc la apel semnificația fiziologică a receptorului beta-2-adrenergic expresat în citozol, dar care similar receptorului prototip expresat pe suprafața celulei este cuplat cu proteina Gs [43]. Fiind internalizat în endosomă specială activarea receptorului beta-2-adrenergic declanșează activarea celulei prin intermediul AMPc, iar la nivelul MNV se presupune un efect final analogic activării receptorului adrenergic membranar, deci inhibiția kinazei de fosforilare a lanțurilor ușoare de miozină și relaxarea mediei musculare vasculare. Expresia GMPc care este importantă în promovarea efectelor vasorelaxante ale agenților naturali vasotropi este indusă și de Ang 1-7, componenta sistemului renină-angiotensină-aldosteron (RAAS) care contracarează efectul Ang II mediat de receptorul AT<sub>1</sub> prin intermediul stimulării receptorului endotelial mass. Efectul vasorelaxant al Ang 1-7 se reduce nu numai la inhibiția sistemului IP3 determinată de GMPc, dar este în contiguitate și cu inhibiția kinazei B (ie, akt) și a enzimelor implicate în formarea radialilor liberi de oxigen, cum ar fi eNOS și NADPH sau Nox2 [44].

La ora actuală sunt relatate aspecte importante privind rolul Ang 1-7 în controlul fenotipului contractil al miocitului neted vascular și răspunsului MNV la acțiunea diferitor stimuli paracrini și exocrini, care este mediat prin inhibiția kinazei legată de receptorii extracelulari (ERK1), a sistemului intracelular de activare a genelor de hipertrofie a mediei musculare (p38 MAPK), IP3, kinazei B (akt) și kinazei A [45, 46, 47]. Robson Santos, unul din pionerii cercetării fiziologiei și fiziopatologiei cardiovasculare a Ang 1-7 coroborează ipoteza implicării heptapeptidului în reglarea remodelării mediei musculare vasculare prin reducerea formării și îngroșării intimei, contracararea acțiunii proliferative a Ang II asupra MNV ce au migrat în zona neointimei, protecția endoteliului vascular, stimularea reendotelizării și efectul antiapoptotic [48].

Totodată, în hipertensiunea portală cauzată de ciroza hepatică declinul Ang 1-7 limitează relaxarea vasculaturii splanhice, fapt ce reprezintă un mecanism hemodinamic compensator și de prevenire a complicațiilor vasculare inerente elevării tensiunii sangvine în sistemul venei portă, cum ar fi ascita și varicele gastro-esofagiene-portale dobândite sau secundare [49, 50]. Cercetări fundamentale au demonstrat că administrarea repetată a Ang II la șobolani conduce la apariția hipertensiunii portale, care are o dinamică exacerbată la animalele cu expresia diminuată a enzimei de conversie a angiotensinei de tip II (ACEII), responsabile de formarea Ang 1-7 sau, din contra, o dinamică mai benefică în cazul administrării Ang 1-7 exogene [51, 52]. Prin urmare, mecanismul patogenetic vascular intrahepatic al hipertensiunii portale este strâns legat de activitatea sistemului RAAS, în particular de raportul dintre Ang II și Ang 1-7.

Angiotensina 1-7 este un obiectiv deosebit al cercetărilor contemporane din domeniul fiziologiei și fiziopatologiei homeostaziei circulatorii, dată fiind capacitatea acesteia de a modula benefic repererele principale de control, inclusiv echilibrul sistemului simpatic/parasimpatic și variabilitatea tensiunii arteriale și ritmului cardiac, *turnover*-ului calciului și menținerea fenotipului celular [58, 59, 60, 61].

Rolul calciului nu se limitează doar la guvernarea actului de contracție-relaxare a MNV, dar este iminent și în procesele de menținere a fenotipului contractil al CMN și activității de migrare și proliferare a acestora, a expresiei proteinelor MEC, activității proteazelor intracelulare, precum și a expresiei proteinei Cq cuplate cu sarcolema [67, 68]. Ang II formată în peretele vascular, cât și octapeptidul circulant de asemenea participă în reglarea expresiei proteinei Cq, care intră în exercițiul de promovare a efectelor vasoconstrictoare ale NE, ET-1, Ang II și vasopresinei mediate de receptorii specifici expesați pe MNV (ie, alpha-1, ETA, AT1 și V1) și mesagerii intracelulari, Rho-kinaza și IP3.

Diapazonul concentrației calciului în CMN este 100-10000 nM, iar blocarea pompei reticulului sarcoplasmic (RS-Ca<sup>2+</sup>-ATP-asa) conduce la creșterea concentrației cationului în sarcoplasmă, conducând la mărirea *stiffness*-ului mușchiului neted [69].

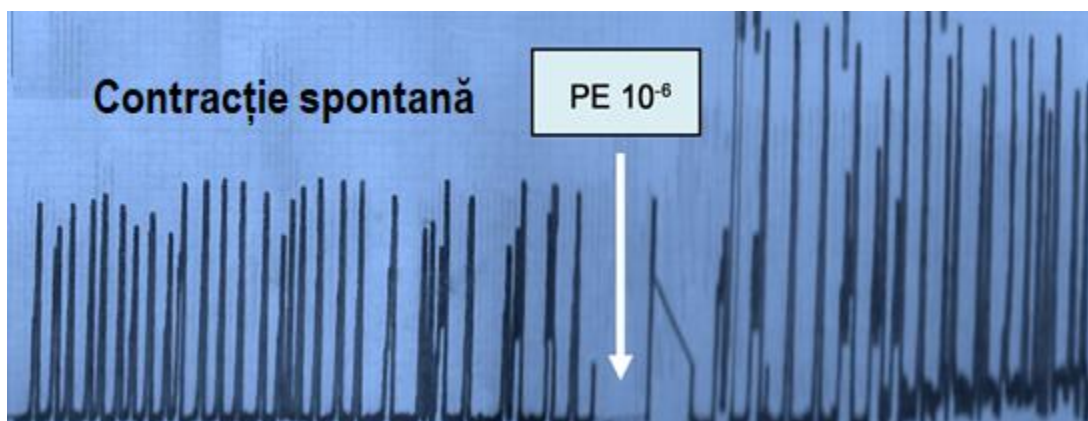
### **1.3. Reactivitatea în vitro a venei portă în diferite condiționări**

Controlul adecvat al influxului sanguin în ficat prin vena portă necesită un sistem fezabil de reglare a reactivității la diferite acțiuni paracrine și neuroendocrine, realizată în contiguitate cu proprietatea venei portă de contracție spontană datorată prezenței celulelor stromale pacemaker Cajal. Răspunsul venei portă influențează notabil evoluția hipertensiunii portale în vederea faptului că o congestie sanguină cauzată de dilatarea venoasă este un factor de facilitare a formării anastomozelor esofago-portale și gastro-portale și de risc al consecințelor acestora.

Cercetările fundamentale realizate *in vitro* pe inele sau benzi izolate de venă portă preluate de la diferite animale de laborator sunt pârghia principală de studiu al particularităților răspunsului venei expusă acțiunii unei game largi de agenți naturali cu acțiune fiziologică și patologică, substanțe farmacologice, variații de concentrație a ionilor, etc. [70, 71, 72].

Componentele de bază ale protocoalelor experimentale angrenează estimările răspunsului venei portă la acțiunile colinergice, adrenergice, Ang II, ET-1, vasopresinei, modificările extra- și intracelulare ale concentrației calciului, magneziului, sodiului, potasiului, valorii pH, etc.

Oricare experiment începe cu atestarea contracției spontane a venei portă cauzată de celulele Cajal și care se impune prin amplitudine și frecvență a contracției în dependență de fenotipul animalului de laborator. Prezența acestor contracții spontane indică asupra unei prelevări a benzi sau inelelor izolate fără elemente de traumatizare, precum și asupra fezabilității soluției de perfuzie Krebs. Într-o publicație recentă W.Al-Aghawani (2022) a demonstrat în acest context contracțiile ritmice spontane fazice ale benzei venei portă preluată de la șobolanii din linia Sprague Dawley cu valorile respective ale amplitudinii și frecvenței [73]. Acțiunea fenilefrinei adăugată în soluția de perfuzie până la concentrație de  $10^{-6}$  M a condus în mod evident la augmentarea amplitudinii contracției și a frecvenței (Fig. 1.5).



**Fig. 1.5** Contracția spontană a benzilor venei portă izolate și efectul fenilefrinei (PE) [73]

Platoul constrictor indus de fenilefrină și care este mediat prin activarea receptorilor adrenergici- $\alpha_1$  expresați pe MNV este folosit drept un reper de estimare a efectului agenților cu acțiune vasorelaxantă.

A.Chies și P.Rossignoli au demonstrat că efectul constrictor al fenilefrinei este dependent de activitatea receptorilor către ET-1, astfel, că premedicarea venei portă izolată cu antagoniștii receptorilor ETA și ETB (eg, BQ-123 și BQ-788) a diminuat amplitudinea contracției adrenergice [74]. O depreciere contractilă similară s-a decelat pe modelul de vena portă denudată, dat fiind

faptul că endoteliul este sursa principală de sinteză a ET-1, iar inhibiția eNOS prin L-NAME nu a modificat contracția venei portă cu endoteliul intact consecventă acțiunii fenilefrinei.

Entități conceptuale analoage au fost stabilite și de P. Rossignoli și colab. (2010) pe vena portă izolată de șobolan, că carența de testosteron mărește contracția indusă de fenilefrină, iar antagoniștii receptorilor ETA și ETB anihilează acest efect, în timp ce inhibiția eNOS nu influențează răspunsul constrictor [71]. Remarcabil, că ET-1 exogenă de asemenea n-a influențat reactivitatea adrenergică a venei portă, inclusiv în condițiile de penurie a testosteronului. Conceptual este important faptul, că orhidectomia mărește producția de ET-1, precum și expresia receptorilor ETB în vena portă de șobolan [75]. Remarcabil, că efectele vasotrope ale ET-1 potențate odată cu vârsta sunt dependente de declinul hormonilor sexuali [76].

Vena portă, ca și arterele, este influențată de stresul hemodinamic, care declanșează procesul de remodelare vasculară, care în contextul peretelui venos este concludent bazat pe proliferarea MNV. Evoluția remodelării venei portă pe fundalul hipertensiunii portale este asociată cu creșterea producției de ET-1 și a expresiei receptorilor specifici ETA și ETB în sintonie cu activarea genelor endoteliocitelor respective, inclusiv a genelor responsabile de producția NO. Oxidul nitric eliberat în peretele venei portă are menirea să contracareze efectul ET-1 de stimulare a proliferării miocitelor netede și a endoteliocitelor. În peretele arterial, NO eliberat în exces în stresul hemodinamic are și menirea de a contracara efectul vasoconstrictor al ET-1.

În artere producția de NO este mult mai pronunțată în cadrul stresului hemodinamic, comparativ cu vena portă. La această conotație este importantă ipoteza bazată pe datele obținute în cadrul cercetării modelului de hipertensiune portală reprodus la porci și șobolani, că evoluția remodelării venei portă se impune prin creșterea mai însemnată a producției de NO, fenomen definit ca „arterializarea venoasă” [77, 78]. Prezența acestuia în cadrul hipertensiunii portale și remodelării venei portă are repercusiuni notabile, în primul rând dilatarea venelor mezenterice și creșterea influxului venos în vena portă, care va accentua hipertensiunea portală și remodelarea venei portă, iar pe de altă parte va spori congestia venoasă importantă în formarea anastomozelor esofago-gastro-portale. Care sunt mecanismele moleculare de suport al activării genelor ce pot fi implicate în geneza fenomenului de „arterializare venoasă” rămân și la ora actuală intricate. Creșterea expresiei receptorului către factorul de creștere asemănător insulinei (Insulin Like Growth Factor Receptor) se sugerează a fi inerentă procesului de remodelare venoasă asociat cu progresia hipertensiunii portale.

Potențarea răspunsului vasoconstrictor și vasorelaxant decelată în hipertensiunea portală abordează inteligibil particularitățile reactivității adrenergice, angiotensinice, endotelinice și vasopresinice ale venei portă în conexiune cu răspunsului colinergic. Activarea sau inhibiția

receptorilor adrenergici- $\alpha_1$  rezultă în modificarea expresiei și afinității receptorilor muscarinici (M3), care mediază acțiunea acetilcolinei. Mai mult, pentru vena portă este caracteristic modificarea activității receptorilor beta-adrenergici în cadrul blocării receptorilor alpha-adrenergici și vice-versa.

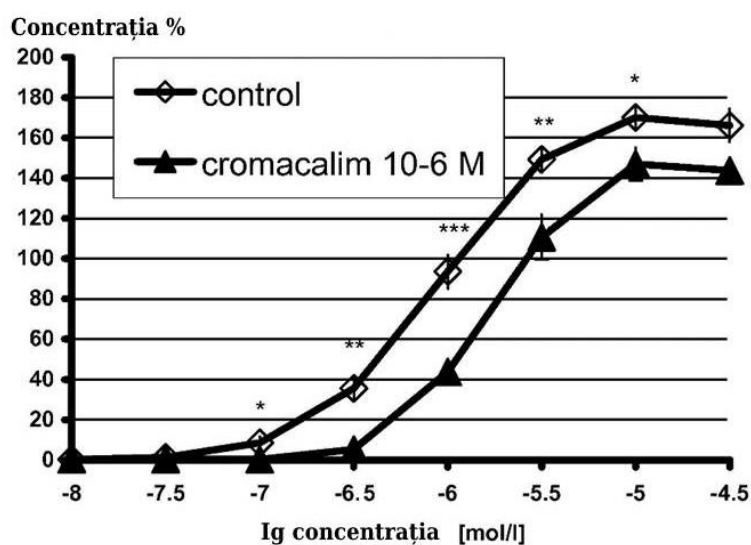
Privind efectul stimulării colinergice vizavi de reactivitatea venelor hepatice și a sistemului portă extrahepatic sunt importante datele obținute de V.Tsybenko și colab. (2006, 2007) *in vivo*, care au demonstrat că administrarea acetilcolinei conduce la constricția venoasă, efect dispensabil de acțiunea atropinei, dar anihilat de fentolamină [79, 80]. Autorii au confirmat prezența efectului constrictor al agonistului receptorilor M3 și *in vitro*, pe modelul de perfuzie a inelelor izolate de vena portă de șobolan. În acest context este sugerată ipoteza că acetilcolina stimulează sinteza și eliberarea factorului endotelial constrictor, ET-1, efect mediat plauzibil prin intermediul receptorilor nicotinici, întrucât blocarea lor prin tubocurarină diminuează efectul constrictor al acetilcolinei asupra inelelor izolate de vena portă.

Sunt relatări solitare privind acțiunea și altor membri ai familiei de endotelină (eg, ET-2 și ET-3) asupra răspunsului venei portă. Astfel, s-a demonstrat că și ET-2 și ET-3 induc contracția inelelor izolate de vena portă și potențează contractilitatea spontană în manieră dependentă de concentrația oligopeptidelor în perfuzat, dar în proporție subiacentă efectului ET-1 [81]. Efectul constrictor al ET-1 a fost mai puternic comparativ cu cel propriu bradikininei, Ang II, fenilefrinei, tromboxanului A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) și substanței P, dar subiacent platoului constrictor indus prin depolarizare cu soluția de KCl în concentrația de 80 mM. Reducerea graduală a concentrației ionilor de calciu până la zero a determinat declinul platoului constrictor, dar nu până la izolinie, care a fost redresat odată cu suplینirea cationului în soluția de perfuzie Krebs, fapt ce confirmă rolul calciului extracelular în contracția endotelinică a venei portă și, în parte, a Ca intracelular.

Canalele L-type de Ca au un rol semnificativ în promovarea contracției induse de ET-1, dar nu ultimativ, întrucât blocarea lor cu Nicardipină nu a abolit complet răspunsul constrictor. Blocarea canalelor T-type de calciu prin NiCl<sub>2</sub> a redus mai considerabil platoul constrictor comparativ cu Nicorandina, dar de asemenea anihilarea răspunsului a fost relativă. Prin urmare, aceste rezultate evidențiază rolul ambelor tipuri de canale de calciu (L- și T-type) în realizarea contracției venei portă sub acțiunea ET-1, care este eliberată din endoteliu, dar totodată consemnează și aportul și altor canale de calciu, cum ar fi canalele controlate de receptor și/sau canalele neselective. Sub aspectul eliberării ET-1 în stimularea vasului cu acetilcolină, important de menționat, că hipoxia și acidoza sunt factori care cresc producția endotelială și rata de eliberare a ET-1, fapt ce poate influența notabil reactivitatea venei portă colinergică.

Privind rolul calciului intracelular în promovarea efectului constrictor al ET-1, este de notat capacitatea oligopeptidului de stimulare a fosfolipazei C și declanșarea cascadei fosfoinozitol mediată de proinkinaza-C, iar IP3 și diaceglicerolul rezultat mobilizează calciul din reticulul sarcoplasmic.

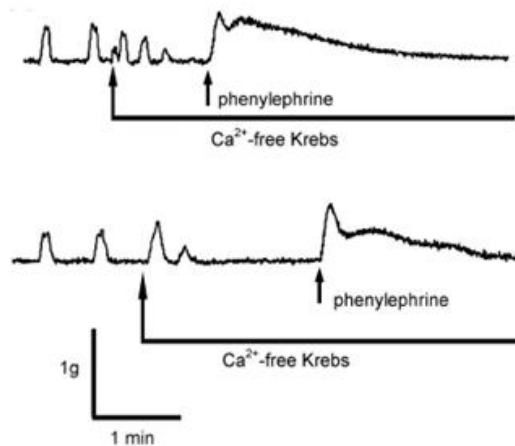
Depolarizarea CMN de către ET-1 urmată de influxul calciului extracelular este dovedită prin faptul, că activarea canalelor K-ATP dependente prin Cromakalim, rezultantă în hiperpolarizarea mediei musculare, a prevenit contracția venei portă de șobolan [81]. Totodată, hiperpolarizarea mediei musculare nu a abolit efectul constrictor al ET-1 asupra venei portă în lipsa calciului din perfuzat, fapt ce justifică fezabilitatea mecanismului constrictor al ET-1 legat de sistemul IP-3/diaceglicerol. De remarcat, că un efect similar al Cromakalimului s-a obținut și pe vena portă izolată umană [82]. Aportul canalelor K<sub>ATP</sub> în controlul reactivității mușchiului neted dovedit în cercetările pe vena portă de șobolan este confirmat și pe mușchiul detrusor de porc (Fig. 1.6), fapt ce a fundamentat elaborarea remediilor farmacologice cu efect relaxant al musculaturii netede prin mecanismul de hiperpolarizare.



**Fig. 1.6 Efectul mușchiului Cromakalimului asupra răspunsului constrictor al mușchiului detrusor la acțiunea carbacolului [83].**

Conexiunea între canalele K<sub>ATP</sub> și acțiunea ET-1 este revendicată și prin faptul că blocarea acestor canale prin Glimenclamid nu numai anihilează efectul vasorelaxant al Cromakalimului, dar potențează contracția venei portă indusă de ET-1.

Efect similar al activării canalelor K<sub>ATP</sub> asupra reactivității venei portă la acțiunea ET-1 s-a constatat și în stimularea adrenergică cu fenilefrină [84]. Mai mult, eliminarea calciului din perfuzatul Krebs a anihilat contracția iminentă acțiunii agonistului receptorului alpha-1 adrenergic, fenilefrinei, asupra inelelor izolate ale venei portă (Fig. 1.7).



**Fig. 1.7** Efectul fenilefrinei asupra contracției venei portă perfuzate fără calciu [87].

Contrația adrenergică și endotelinică a venei portă este mod natural contracarată prin oxidul nitric, nivelul căruia în hipertensiunea portală reproducă la șobolani s-a dovedit fi semnificativ elevat comparativ cu animalele intacte [85]. Efectul contractil al fenilefrinei (0,1 mM) și al soluției de KCl (10-80 mM) a fost diminuat față de paternul de referință. Concentrația soluției de KCl necesară pentru a induce ½ din platoul maxim contractil al inelelor izolate prin mecanismul de depolarizare a fost semnificativ mai mare.

Astfel, sub prisma exegezei rolului NO în promovarea reactivității venei portă se anunță importante 2 aspecte cardinale:

- (1)- NO eliberat de eNOS, cât și NO exogen eliberat în metabolizarea nitraților (eg, nitroprusiat de sodiu) diminuează platoul constrictor indus de fenilefrină și ET-1.
- (2)- Acetilcolina, deși stimulează eNOS în vederea producției de NO, induce contracția venei portă, efect dependent în parte de stimularea endoteliului în vederea eliberării de ET-1. Denumirea venei portă reduce activitatea contractilă a acetilcolinei, fapt ce demonstrează superioritatea mecanismului ET-1 în promovarea reactivității colinergice față de mecanismul NO.

Aceste subtilități inerente sunt importante în explicarea evoluției hipertensiunii portale legate nu numai de creșterea rezistenței vasculare hepatice (eg, inflamație, fibroză, ciroză, etc.), dar și de particularitățile răspunsului venei portă, precum și în elaborarea prevenirii manifestărilor clinice caracteristice hipertensiunii portale. Cauzele principale ale creșterii nivelului circulant de NO în hipertensiunea portală nu sunt pe deplin stabilite. Se prezumă rolul activării neuroendocrine în afecțiunile hepatice, care crește amplitudinea stresului hemodinamic, fapt ce rezultă în creșterea expresiei eNOS, precum și a creșterii expresiei NOS inductibile (iNOS) pe fundalul accentuării răspunsului inflamator și a stresului oxidativ. L.Caracul și colab. (2019) au demonstrat o

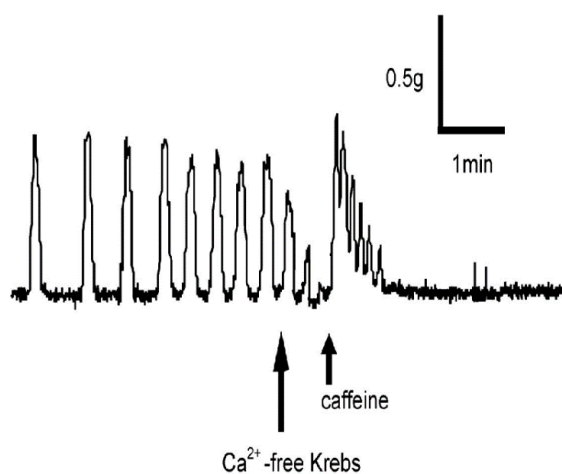
capacitate majorată de producție a NO și de endoteliul arterial, în contextul stimulării prin fenilefrină a arterei mezenterice izolate de șobolan cu afecțiunea acută sau cronică hepatică [86].

Sunt relatări care aduc la apel capacitatea endoteliului vascular de a sintetiza și elibera adluminal și abluminal nu numai ET-1, dar și catecolamine, norepinefrină și epinefrină [88]. Acțiunea autocrină și paracrină a acestora asupra celulelor peretelui vascular declanșează producția exagerată de radicali liberi de oxigen, fapt ce rezultă în metabolizarea prematură a NO și creșterea expresiei citokinelor proinflamatoare [89, 90]. În mod cumulativ, acești factori modifică reactivitatea vasculară, atât a arterelor, cât și a venelor.

Sub calota importanței reactivității venei portă în evoluția hipertensiunii portale și a manifestărilor clinice ale acesteia trebuie de abordat și efectul diferitor remedii de ameliorare morfo funcțională a ficatului sau a altor substanțe consumate asupra activității motorii a venei. Astfel, cafeina aflată în cafea este interesantă în acest context, dată fiind acțiunea ei benefică asupra fibrozei și cirozei hepatice prin stimularea angiogenezei, atenuarea stresului oxidativ și a mediatorilor inflamației [91, 92, 93]. Cercetările fundamentale au demonstrat că cafeina induce contracția inelelor izolate de vena portă, angrenând în exercițiu atât calciul intracelular înmagazinat în RS, cât și cationul extracelular [87, 94].

Blocarea receptorilor raiodinici expesați pe RS conduce la anihilarea în proporție de 35-40% a contracțiilor fazice induse de cafeină, fapt ce demonstrează ca anume prin activarea acestor receptori cafeina produce eliberarea calciului din depozitele RS.

Drept dovadă a rolului calciului extracelular este reducerea progresivă a platoul constrictor al inelelor izolate de vena portă indus de cafeină în perfuzia lor cu concentrația redusă de calciu sau în condiții de premedicație cu antagoniștii de calciu (Fig. 1.8).



**Fig. 1.8** Efectul cafeinei asupra contracției venei portă perfuzate fără calciu [87].



În condiții de perfuzie a inelelor izolate de vena portă cu concentrații sporite de potasiu cafeina produce doar o contracție care se stinge rapid. În concentrații crescute potasiul din perfuzat (20-100 mM) produce contracția fazică a venei portă dată fiind depolarizarea miocitului neted vascular. Important de menționat, că această depolarizare consecventă excesului de potasiu produce o contracție fazică a venei portă de scurtă durată, chiar în condiții de lipsă a calciului în perfuzat, fapt ce indică asupra acțiunii directe a depolarizării asupra eliberării calciului din SR. Activarea canalelor de potasiu atenuează contractilitatea venei portă indusă de concentrații majorate de potasiu extracelular [95].

#### 1.4. Efectele vasotrope ale tripsinei

Tripsinemia este o repercusiune a injuriei pancreasului exocrin iminentă predilect pancreatitei acute, care prin impactul proteolitic al enzimei declanșează leziuni celulare la distanță angrenate în interfață patogenetică a sindromului disfuncției poliorganice [96, 97]. Conceptul fiziopatologic coroborează ficatul drept organul expus cel mai precoce la impactul tripsiniei, acesta fiind urmat de pulmon. Ținta primară a acțiunii tripsinei circulantă excesiv în fluxul sangvin este endoteliul vascular, iar perturbarea microcirculației este vizată în sintonie cu efectele tripsinei de a periclita hemostaza, inclusiv prin creșterea activității de agregare a eritrocitelor cauzată de micșorarea sarcinii electrice de pe suprafața hematiilor rezultantă din degradarea glicoforinei A și eliberarea acidului sialic.

Astfel, cunoașterea efectelor vasotrope ale tripsinei la nivelul patului arterial, cât și cel venos, este importantă în vederea consolidării unui suport de predicție și prognozare a consecințelor tripsiniei. În plus, tripsină activează diferite proteaze (metaloproteinaze) ale matricei extracelulare vasculare (MMP) expresate în mod normal în formă de zimogen, cum ar fi colagenazele, gelatinazele, stromlizinele, matrilizinele, care pot influența detrimental mai multe fațete ale homeostaziei, inclusiv augmentarea răspunsului inflamator și destabilizarea plăcii aterogene, procese indispensabile de MMP (Fig. 1.9) [98, 99].

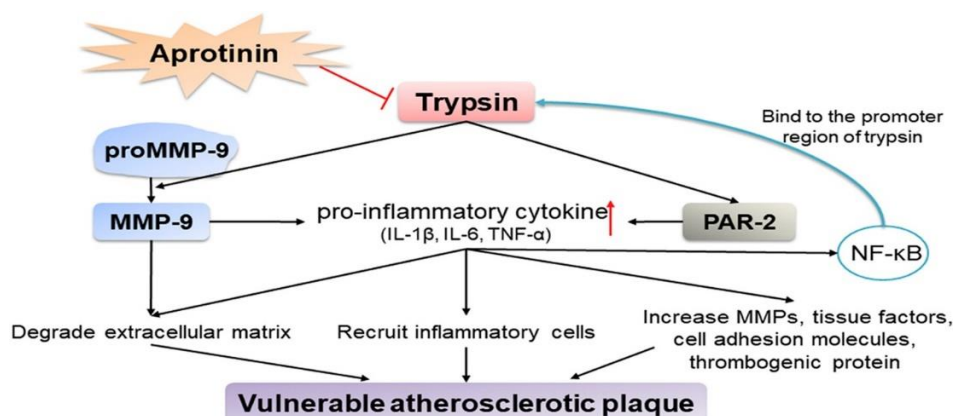


Fig. 1.9 Efectul tripsinei asupra plăcii aterogene intermediat de MMP și inflamație [99].

Efectul tripsinei de activare a MMP are tangențe concludente cu efectele sale vasotrope, întrucât activarea receptorilor activați de proteaze (RAP): RAP1 și RAP2 care promovează acțiune vasoconstrictoare și, respectiv, vasorelaxantă. Tripsină are o afinitate multiplu mai mare față de receptorii RAP2.

Cele mai precise date privind particularitățile răspunsului vascular consecvent acțiunii tripsinei sunt obținute *in vitro*, deci pe modele de perfuzie a vasului izolat. La ora actuală este mult mai consistent cercetată reactivitatea diferitor artere comparativ cu răspunsul venelor indiferent de fenotipul animalului de laborator utilizat în studiile experimentale.

Rolul receptorilor RAP2 a fost dovedit vizavi de efectul vasorelaxant al tripsinei exercitat asupra arterei coronariene izolate porcine [100]. Autorii au demonstrat că activarea RAP2 se impune prin creșterea influxului ionilor de calciu în endoteliocite, care a condus la expresia oxidului nitric și a factorului endotelial hiperpolarizant (EDHF). Astfel, efectul coronarorelaxant al tripsinei este endotelium dependent, iar inhibiția formării de NO, cât și blocarea canalelor de potasiu care asigură efectul de hiperpolarizare a miocitului neted vascular, au abolit acțiunea vasodilatatoare a proteazei. Aplicarea antagoniștilor canalelor de calciu de asemenea s-a soldat cu deprecierea notabilă a efectului coronarorelaxant al tripsinei. Pe de altă parte, nivelul citozolic al calciului în endoteliocit la acțiunea tripsinei se corelează direct cu gradul de contracție a arterei izolate. În faza inițială relaxarea platoului contractil al arterei coronare este mediată de NO și EDHF, iar în faza tardivă exercițiul vasodilatator este asigurat de acțiunea oxidului nitric. De remarcat, că *in vivo* concentrațiile fiziologice ale tripsinei nu induc arterodilatarea mediată prin RAP2 și influxul de calciu în endoteliocit. Nivelul plasmatic al tripsinei peste  $0.87 \mu\text{M}$  se consideră a fi nivelul pragal minimal de declanșare a vasorelaxării endotelium dependente prin mecanismul dependent de activarea receptorilor endoteliali RAP2 [101]. Hipertripsinemia inerentă pancreatitei acute este una din cauzele principale ale hipotoniei arteriale legată de efectul vasodilatator mediat prin mecanismul dependent de factorii endoteliali: NO și EDHF.

Cercetările efectuate pe model de aortă izolată de șobolan de asemenea au demonstrat efectul vasorelaxant al tripsinei endotelium dependent [102]. Autorii au constatat pe inelele de aortă cu endotelium intact că acțiunea tripsinei, similar acțiunii carbacolului, s-a manifestat prin efect vasodilatator în contiguitate cu creșterea concentrației ionilor de calciu în endoteliocit, cât și în miocitul neted vascular. Inhibiția sintezei de NO prin aplicarea LNMMA a curmat efectul vasorelaxant al tripsinei, indicând asupra rolului oxidului nitric în promovarea efectului vasotrop studiat. Pe inelele de aortă denudată însă, agentul parasimpatic nu a modificat conținutul de  $\text{Ca}^{2+}$ , iar tripsină totuși a condus la o elevare moderată a cationului fără contracția mediei musculare. Acțiunea tripsinei în concentrația de  $0,1 \mu\text{M}$  a crescut concentrația de calciu în celulele endoteliale

de circa 20 ori mai mult față de incrementul cationului în miocitele netede vasculare în cadrul perfuziei aortei denudate. Remarcabil, inelele de aortă contractate cu norepinefrină s-au relaxat sub acțiunea tripsinei, fapt ce s-a asociat cu o creștere moderată a calciului în miocitele netede vasculare. Receptorii RAP2 sunt exprasați în vasele de șobolan atât pe endoteliocite, cât și pe miocitele netede vasculare și în acest context este plauzibil de admis că afinitatea RAP2 endotelială față de tripsină este multiplu peste afinitatea RAP2 miocitară.

Creșterea concentrației calciului în endoteliocit sub acțiunea tripsinei este cauzată atât de sporirea influxului cationului extracelular, cât și de eliberarea acestuia din rezervele intracelulare, mecanismul fiind dependent de activarea sistemului inozitol-trifosfat. Rolul prostaciclinei în promovarea efectului relaxant al tripsinei vizavi de inelele de aortă de șobolan este mult inferior rolului NO, întrucât premedicația cu indometacină (inhibitorul neselectiv al ciclooxigenazei) a depreciat nesemnificativ vasorelaxarea comparativ cu acțiunea LNMMA.

Aportul receptorilor RAP2 privind efectul vasorelaxant al tripsinei este doar o fațetă a competenței lor biologice, dată fiind dovedită implicația lor în mai multe procese fiziologice și fiziopatologice, cum ar fi controlul activității pace-maker a celulelor Cajal [103], evoluția hipertensiunii arteriale la șobolani [104], atenuarea acțiunii angiotensinei II și a urotensinei [105], prezervarea vasodilatării în dishomeostazia circulatorie cauzată de diabetul zaharat de tip II [106]. Merită atenție faptul că stresul oxidativ crește expresia receptorilor endoteliali RAP2, iar efectul vasorelaxant al agoniștilor acestora este potențat [107]. Acest fenomen vine în acord cu evidența creșterii perfuziei pielii în condițiile activării stresului oxidativ pe fundalul excesului de neutrofile (sursă importantă de radicali liberi de oxigen și de MMP-9), vasodilatarea periferică fiind în parte mediată prin receptorii RAP2 [108].

Efectul vasodilatator iminent acțiunii *in vivo* a tripsinei asupra arterelor poate fi mediat și prin intermediul adrenomedulinei, dat fiind faptul că proteaza serinică activează canalele mecanosenzitive PIEZO-1 ale endoteliocitului prin care aceasta va ieși din celula endotelială și va acționa în manieră autocrină sau paracrină [109]. Activarea de către adrenomedulină a receptorilor endoteliali RAMP-2 din familia Gs conduce la activarea adenilatciclazei și consecvent la activarea proteinkinazei A și, respectiv, la fosforilarea enzimei de sinteză constitutivă a oxidului nitric, NOSe sau NOS<sub>3</sub>. Astfel, oxidul nitric se anunță un factor important în promovarea vasodilatării proprii tripsinei și, deci, a hipotensiunii arteriale ce asociază hipertripsinemia la pacienții cu pancreatită acută.

Efectul vasodilatator al tripsinei atestat *in vitro* și mediat prin receptorii RAP2, activați și de către trombină, a fost confirmat *in vivo* în cercetări fundamentale și doar un studiu uman realizat

pe voluntari sănătoși a fost decelat vizavi de monitorizarea efectelor arteriale și venoase ale administrării agonistului RAP2.

K.Emilsson și colab. (1997) printre primii au demonstrat că infuzia agonistului RAP2, SLIGRLETQPPI, a redus considerabil tensiunea arterială medie la șobolani anestizați de la 104 până la 60 mm Hg, efectul hipotensiv marcant fiind abolit prin administrarea inhibitorului NOSe, confirmând rolul cheie al NO în promovarea hipotensiunii arteriale indusă de hipertripsinemie la pacienții cu pancreatite [112]. J.Robin și colab. (2003) sunt primii cercetători, care au obținut date similare în examenul de pletismografie efectuat pe voluntarii sănătoși care au administrat agonistul RAP2, SLIGKV-NH<sub>2</sub>, efectul notabil fiind iminent răspunsului arterial [113]. Remarcabil, că autorii au stabilit rolul important în dilatarea atât a venei dorsale a antebrațului, cât și a arterei brahiale, nu numai al NO dar și al prostaciclinoi. În ambele arii vasculare efectul vasodilatator al agonistului receptorilor RAP2 a fost dependent de doză. Prezintă interes faptul, că efectul vasodilatator al tripsinei pe artere umane coronariene izolate este mai pronunțat, dacă acțiunea proteazei este precedată de premedicație cu mediatorii inflamației, cum ar fi IL-1 și TNF- $\alpha$  [114]. Potențarea efectului vasodilatator al tripsinei a fost explicată prin creșterea expresiei receptorilor RAP2 și RAP4, fenomen dovedit în diferite situații patologice asociate cu un status pro-inflamator accentuat. De menționat că activarea acestor receptori poate fi urmare și acțiunii nu numai a tripsinei pancreatice, dar și a altor factori endogeni, cum ar fi a triptazei eliberate de mastocite, a factorilor de coagulare VIIa și Xa sau a tripsinei extrapancreatice. Aceasta din urmă poate fi expresată și de endoteliocite, iar citokinele pro-inflamatoare și speciile reactive de oxigen măresc procesul dat.

Inhibitorul endogen natural al tripsinei,  $\alpha$ 1-antitripsină, proteină (51000 kD) sintetizată de către hepatocite, macrofage și chiar de celulele epiteliale ale căilor respiratorii este responsabil la cote de circa 90% de activitatea totală sangvinică antitripsinică. Efectul  $\alpha$ 1-antitripsinei se impune și prin inactivarea elastazei, enzima proteolitică care scindează mai multe proteine ale matricei extracelulare, cum ar fi elastina, fibronectina, laminina, colagenul de tip I, III și IV [110]. Hipertripsinemia durabilă poate în mod concludent să epuizeze capacitatea antitripsinică a sângelui, potențând efectul vasodilatator al tripsinei, iar acțiunea inhibitorului de tripsină s-a dovedit a fi un protector tisular eficient în modelul murin de injurie prin impactul ischemie-reperfuzie [111].

## 1.5. Concluzii

- Reactivitatea venei portă este un obiectiv important al medicinei, atât clinice, cât și fundamentale. Numărul limitat de cercetări experimentale în acest context este determinat de caracterul dificil și sofisticat al metodei de perfuzie a segmentelor venoase portale izolate, fapt ce impune o carență notabilă în înțelegerea aranjamentelor funcționale de orchestrare a contracțiilor ritmice ale venei portă. Totodată, capacitatea de propulsie adecvată a sângelui spre ficat după o ritmicitate datorată și controlată de celulele Cajal prezente în peretele venos reprezintă o pârghie importantă de eludare a instalării hipertensiunii portale.

- Miocitele netede aranjate longitudinal sunt expuse în zona exterioară a peretelui VP, iar miocitele circumflexe - în zona interioară. Miocitele longitudinale sunt menite să contracționeze forța de gravitație a sângelui, iar contracția miocitelor circumflexe atenuează presiunea hidrostatică a sângelui. Endoteliul VP expresează diferite tipuri de receptori, activarea cărora promovează contracția și relaxarea mediei musculare, determinând în consecință reducerea sau creșterea influxului sangvin în ficat, cum ar fi: receptorii muscarinici (M1 și M3), H1 către histamină, ETB către endotelina 1, alfa-2 către norepinefrină, AT2 către Ang II, B2 către bradikinină, etc. Miocitele VP expresează: M2, ETA, AT1, alfa-1, beta-2 adrenergici, H2.

- Contracția miocitului neted al VP este determinată de activarea canalelor L-type de calciu, creșterea citozolică a cationului inclusiv în cadrul eliberării din reticulul sarcoplasmic, precum și fosforilarea capetelor de miozină, fapt ce facilitează formarea legăturilor acto-miozinice. Relaxarea mușchiului neted începe odată cu procesul de defosforilare a lanțurilor ușoare de miozină. NO eliberat la activarea receptorilor endoteliali colinergici (M1 și M3) prin sinteza de cGMP conduce la stimularea proteinei kinazei dependente de cGMP, care, la rândul său, activează fosfataza lanțurilor ușoare de miozină, iar defosforilarea acestora declanșează procesul de relaxare a mușchilor netezi.

- Tripsina, o protează serinică eliberată în sânge de pancreasul exocrin, poate influența reactivitatea vasculară (arterială și venoasă) prin activarea receptorilor endoteliali PAR, cât și prin proprietățile ei proteolitice ce pot fi un reper de modificarea a echilibrului influențelor contractile/relaxante. Influența tripsinei asupra reactivității venei portale în diferite precondiționări (modificarea concentrației ionilor de calciu, sodiu, hidrogen, denudarea endoteliului, etc) este precar elucidată, iar repercusiunile iminente pot fi un mecanism de periclitare a performanțelor contractile ale venei portă, inclusiv la noima riscului hipertensiunii portale.

## **2. MATERIALE ȘI METODE**

### **2.1. Introducere. Subiecții.**

Prezentul studiu a fost efectuat pe un lot de 200 șobolani albi de gen masculin linia Vistar, în greutate de cca 180-200 grame, vârsta de 5-6 luni. Toate manipulațiile dureroase au fost executate sub narcoză, utilizându-se Nembutal în doză de 50 mg/kg greutate a animalului sau Tiopental de Na (0,1g/g). În termenii stabiliți și după terminarea experimentelor, animalele au fost sacrificate prin decapitare.

### **2.2. Procedura de preparare a organului izolat vena portă**

Șobolanului narcotizat i se deschidea cavitatea toracică, se gasea vena portă, după care, aproape de locul intrării în ficat, se aplica primul serfin care comprima net vena. În felul acesta vasul se supraumple cu sânge, devenind mărit și disponibil pentru manipularile ulterioare. Apoi se aplica al doilea serfin în partea de jos a vasului mai sus de confluența unei ramificații a ei în vena portă. Apoi cu foarfecele oftalmice se exciza mai jos de primul serfin (strict lângă el). Excizarea s-a continuat pe traiectul venei (longitudinal) efectuându-se separarea cât mai certă de țesut conjunctiv, fără a fi lezat însuși peretele vasului. Excizia venei se efectua îndată după serfin. Toate aceste manipulații trebuiau efectuate fără a întinde suplimentar vena, pentru a nu schimba contractilitatea ei, adică pentru păstrarea purității experimentale. Astfel, s-a obținut un segment de vena portă cca 4mm.

### **2.3. Condițiile și materialele necesare pentru asigurarea contracțiilor segmentului izolat de vena portă**

Odată extras din câmpul operator, respectivul segment izolat, cu tot cu serfine, era transferat în cutia Petri umplută cu soluția Krebs-Henseleit, încălzită și oxigenată preventiv. Această manoperă se efectua cât mai rapid posibil pentru a exclude în maximum acțiunea nefavorabilă a aerului asupra venei. Este oportună această nuanțare, deoarece vena portă, spre deosebire de altele, reprezintă un vas care posedă pace-maker, și influența dăunătoare a aerului, ar putea modifica proprietatea lui. Fiind plasată în cutia Petre cu soluția respectivă, segmentul de venă portă era supus din nou procedurii de separare, de astă dată mai minuțioasă, totuși pastrându-se integritatea ei. Ulterior vena portă izolată se transporta cu tot cu cutia Petre spre locul staționării definitive - băița termostatică. Întregul "pelerinaj" a venei portă, de la șobolan, inclusiv extragerea și separarea, cu staționarea intermitentă în cutia Petri, trebuia să dureze cât mai puțin timp posibil, care a fost limitat la cca 5-6 min. Acest termen trebuia păstrat cu strictețe la fiecare caz în parte, în vederea respectării purității experimentale, și expunerii minime sub influența aerului. Astfel,

ajunsă în băița termostatică, un capăt al venei portă cu tot cu serfin se fixa de un cârlig imobil situat aproape de fundul băiței. Al doilea capăt, cu serfinul respectiv, se insera de brațul mecanotronului 6MX1C, care servește ca traductor al forței. Poziția venei portă era strict perpendiculară corespunzător fundului băiței. Băița termostatică, cu volumul de 10 ml, era preventiv perfuzată cu soluția Krebs-Henseleit cu următorul conținut (mM): NaCl-122,0; KCl-4,7; NaHCO<sub>3</sub>-15,5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-1,2; CaCl<sub>2</sub>-2,5 mmol, MgCl<sub>2</sub>+6H<sub>2</sub>O-1,2 glucoza-11,5; temperatura 37<sup>0</sup> C, aeratia fiind realizată cu amestecul de gaze: O<sub>2</sub>-95%, CO<sub>2</sub>-5%; pH-7,3. Perfuzatul se pregătea nemijlocit înainte de experiment din soluții concentrate ale sărurilor enumerate mai sus. NaHCO<sub>3</sub> și glucoza se adăugau la sfârșit. Până la adăugarea calciului, soluția obținută se trata cu CO<sub>2</sub>, pentru a evita sedimentarea de Ca<sup>2+</sup>.

#### **2.4. Metoda și condițiile de înregistrare a funcției contractile a segmentului de vena portă**

Preparatul vascular izolat era supus extinderii pasive cu puterea de 4 mN. Semnalul de la mecanotron se transmitea la amplificatorul de precizie UBP2-03. Înregistrarea funcției contractile s-a efectuat cu autoinscriptorul K200 (RDG). Conracțiunile spontane ale venei portă izolate au fost determinate în regim izometric, preventiv efectuându-se calibrarea. Până la începerea acțiunilor experimentale, preparatul vascular se stabilizează în decurs de 45 min, până la adaptarea completă în condițiile “*in vitro*”. Ulterior se efectua înregistrarea timp de 10 min cu viteza peliculei de 1 min/cm, apoi schimbându-se la 5 sec/cm pentru desfășurarea nuanțată a contracțiilor respective timp de 1min.

După finisarea înregistrării, timp de 2 min se efectua înlocuirea soluției din băiță cu altă soluție Krebs preventiv încălzită și aerată în coloana de scurgere, unde era modificată concentrația anumitor ioni în dependență de sarcinile și exigențele cercetărilor la fiecare etapă în parte. În unele cazuri ingredientul sau substanța cercetată se introducea nemijlocit în băiță cu soluția Krebs, cum ar fi în cazul lotului cu tripsină “*in vitro*”. Volumul soluției introduse se corectea astfel încât, doza substanței corespunzătoare să fie eficientă, și volumul total al soluției din băiță cu presiunea osmotică respectivă să fie menținute. Îndată după introducerea se începea înregistrarea, regimul și exigențele păstrându-se acelașii, – integral 15 min, cu nuanțele descrise mai sus. Timpul total al unui experiment de la începutul stabilizării până la finisarea cercetării dura nu mai mult de 120 min, astfel prevenindu-se oboseala posibilă a segmentului de venă. Calibrarea repetitivă a aparatului era inevitabilă la sfârșitul oricăror experiențe. În fine, segmentul de vena portă cu lungimea aproximativă 5-8 mm se cântărea pentru ca indicii contractilității să fie raportați la mg/mg greutatea venei.

## 2.5. Parametrii investigați ai funcției contractile

S-au studiat următorii indici:

- amplitudinea contracției ( mg/mg ), prîn raportul forței contracției la masa porțiunii contractile a venei porte;
- frecvența contracției ( contracții / min );
- suprafața contracției ( mm<sup>2</sup> / min );
- intensitatea funcționării structurilor, prin produsul amplitudinii la frecvența contracțiilor ( mg / mg / min );
- timpul total al contracției ( sec );
- timpul contracției ( sec );
- timpul relaxării ( sec );

## 2.6. Etapele cercetării

Cercetările au fost îndeplinite după următorul plan general.

La prima etapă a fost estimată reactivitatea în condiții de modificare a ionilor de Ca în următoarea consecutivitate: CaCl<sub>2</sub> – 2,5 mM(normal), CaCl<sub>2</sub> – 1,25 mM(hiponormal), CaCl<sub>2</sub> – 7,5 mM(hipernormal), CaCl<sub>2</sub> – 10 mM(superhipernormal). Au fost cercetate următoarele loturi: lotul martor – 11, lotul cu pancreatită artificială – 13, lotul cu tripsină “*in vivo*” prin injectarea intravenoasă a tripsinei – 12 și lotul cu tripsină “*in vitro*” cu aplicarea tripsinei în băița de perfuzie – 10, - preparate de vena portă.

A doua etapă a cercetărilor a fost consacrată determinării reactivității în condiții de modificare a antagoniștilor naturali de Ca<sup>2+</sup> (Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>) normoNa<sup>+</sup> - 122 mmol/L, hipoNa<sup>+</sup> - 60 mmol/L (-50%), hyperNa<sup>+</sup> - 171 mmol/L (+40%); acidozei, înlocuind <sup>3</sup>/<sub>4</sub> NaHCO<sub>3</sub> din soluția Krebs pe NaCl, în acest fel investigându-se 2 loturi: lotul control – 19– preparate de vena porte și lotul “tripsină *in vitro*” – 16 – preparate. Este necesar de nuanțat că pentru a păstra intactă presiunea osmotică a soluției din băiță în cazul hipoNa<sup>+</sup> (60 mmol/l), în ea se adăuga saharoza.

În a treia etapă a cercetării au fost efectuate experimente cu aplicarea cafeinei pe fonul tripsinei și cercetării contracției maxime în urma depolarizării cu K<sup>+</sup>. În cadrul acestei părți au fost examinate de-aseamenea 2 loturi: lotul martor, și lotul tripsină *in vitro* respectiv câte 10 - preparate de vena porte. Pentru lotul martor au fost folosite soluțiile de cafeină de 1 mM, 3 mM, 10 mM, pe când pentru lotul tripsină *in vitro* a fost folosită soluția maximală de 10 mM. În ambele loturi după acțiunea cafeinei a fost introdusă soluția Krebs, care conținea 140 mM de KCl, substituindu-se 122 mmol de NaCl, astfel obținându-se soluția hyper K<sup>+</sup>.



În a patra etapă a cercetării a fost studiat răspunsul venei porte izolate la acetilcolină și carbacol. Cercetările consacrate determinării contractilității venei porte izolate la acțiunea acetilcolinei au fost efectuate cu sau fără introducerea preventivă a inhibitorului tripsinei și cu sau fără introducerea heparinei. Astfel au fost supuse cercetării 3 loturi: lotul control+acetilcolină – 6 preparate (șobolani), lotul control+heparină+acetilcolină – 6 și lotul control+inhibitorul tripsinei+acetilcolină – 6. Au fost folosite următoarele concentrații: acetilcolina –  $10^{-5}$  mmol/L, heparina  $10^{-4}$  mmol/L; 250 IU/anti-Xa, inhibitorul tripsinei – 336 IU/ml. Cercetările consacrate determinării contractilității venei porte izolate la acțiunea carbacolului au fost efectuate pe 2 loturi: lotul carbacol în vitro (1  $\mu$ mol/L, 100  $\mu$ mol/L și 1 mol/L) -12 preparate (șobolani) și lotul tripsină+carbacol (tripsină – 42 nM, carbacol – 1  $\mu$ mol/L) -10 preparate de venă portă izolată. În ultimul lot înainte de introducerea dozei finale de lucru de tripsină (42 nM), s-a estimat contractilitatea în prezența concentrațiilor minimale și medii, respectiv 10 și 21 nM.

A cincea etapă a cercetării a fost consacrată experiențelor cu denudarea endoteliului pentru a estima nivelul de implicare a factorilor endoteliali în contracția vasculară a venei porte cu și fără prezența tripsinei la modificările ionilor de Ca. Astfel a fost puse cercetării următoarele loturi: lotul martor - 11 preparate de venă portă, lotul tripsină *in vitro* - 10 preparate, lotul cu denudarea endoteliului - 9 preparate și lotul tripsină pe fundalul denudării - 9 preparate. În aceeași etapă sa analizat modificările unor parametri ai contracțiilor spontane fazice ai venei porte izolate a șobolanului la acțiunea tripsinei în prezența factorilor de eliberare și de blocare a oxidului nitric (NO): lotul martor în prezența și absența NO-10 preparate, lotul tripsină în prezența și absența NO -10 preparate, lotul cu denudarea endoteliului în prezența și absența NO -10 preparate, lotul cu denudarea endoteliului pe fundalul tripsinei - De altfel analiza amplitudinii contracțiilor a servit ca metodă de testare a prezenței endoteliului în toate loturile a acestei etape.

## **2.7. Modelele experimentale**

### **2.7.1 Hipertripsinemia prin leziunea pancreatică**

Reproducerea hipertripsinemiei prin leziunea pancreatică acută s-a realizat prin metoda, propusă de V.A. Malhasean și P.S. Simavorean [146]. S-a preferat acest model grație executării mai ușoare și reproducerii de 100% a lezării pancreatice, ceea ce este comod în special pentru studierea afectării conjugale a altor organe și sisteme în leziunea pancreatică. În decursul a 18-24 ore anticipat reproducerii pancreatice, animalele erau private de hrană, iar apa era la reținere în cantități nelimitate. Șobolanii erau supuși regimului de foame în scopul standartizării condițiilor experimentului, sincronizării ciclului secretor al celulelor acinoase pancreatice. Esența modelului constă în refrigerarea locală a pancreasului cu cloretil.

Pancreasul la șobolanii albi reprezintă o formațiune glandulară, amplasată liber în cavitatea abdominală, care constă din două porțiuni: splenică și duodenală. Segmentul lienal al glandei, ceva mai masiv, sub formă de cordon se instalează de-a lungul curburii mari a stomacului și splinei. Segmentul splenic alcătuiește 2/3 din masa totală a glandei. Segmentul duodenal este aplatizat pe mezoul duodenului. Canalul excretor principal traversează segmentul lienal în toată lungimea, apoi deviază printr-un orificiu comun. Din segmentul duodenal ductele excretorii se varsă direct în cavitatea duodenală.

Descrierea modelului: Sub narcoză cu nembotal, în condiții sterile, se execută o laparotomie mediană, lăsând 1 cm de la procesul xifoid. În incizie se scoate segmentul lienal al pancreasului împreună cu epiplonul și splina. Ultima se acoperă prin extensia marginilor plăgii operatorii, în scopul prevenirii scurgerii cloretilului în cavitatea abdominală. Splina se acoperă cu comprese de tifon, pentru a fi protejată de acțiunea traumatizantă a cloretilului. Ulterior se efectuează răcirea segmentului splenic al pancreasului din ambele părți ale organului până la apariția brumei (până la îngălbănire). Plaga operatorie se sutura etanș strat cu strat. Imediat după operație animalele primeau apă și hrană în cantități nelimitate.

Sacrificarea animalelor s-a efectuat la expirarea a 24 ore de la leziunea pancreatică. Acești termeni au fost utilizați în scopul studierii funcției contractile a venei porte în faza manifestărilor maxime ale leziunii pancreatice. În acest aspect au fost examinați 18 preparate de vena portă cărora le-a fost modelată pancreatita și ulterior studiată contractilitatea segmentului vascular în condiții de modificare a ionilor de Ca : 2,5 mM, 1,25 mM, 7,25 mM și 10 mM. Toate aceste concentrații au fost introduse consecutiv și studiată contractilitatea în fiecare caz. Paralel cu acest lot a fost studiat, pentru comparație și lotul control (25 preparate vasculare) la care sa estimat contractilitatea venei porte în condiții de modificare a concentrațiilor a ionilor respectivi.

### **2.7.2 Hipertripsinemia intravenoasă („tripsină *in vivo*,,)**

Hipertripsinemia a fost modelată și prin administrarea intravenoasă a tripsinei în vena femurală în doză de 0,5 mg /100 g în decurs de 5 min cu ajutorul pompei “PERPEX LKB” (Switzerland). Investigațiile s-au făcut la expirarea a 30 min de la infuzia tripsinei după stabilizarea tensiunii arteriale. Astfel au fost supuși cercetărilor, lotul cu “tripsină *in vivo*” prin injectarea intravenoasă a tripsinei – 13 preparate de vena portă la care s-a studiat contractilitatea venei porte în condiții de modificare a ionilor de Ca la aceleași concentrații ca și în cazul lotului cu pancreatită.

### **2.7.3 Modelarea „Tripsinei *in vitro*”**

“Tripsină *in vitro*” a fost modelată introducând tripsină în băița de infuzie în concentrație de 42,0 nom /L. Această concentrație a fost similară concentrației de tripsină la “tripsină *in vivo*”,

adică doza de 0,5 mg/100g. Aceste raționamente s-au executat grație faptului că băița termostatică conținea în sine exact atâta soluție cât sânge circula prin vasele șobolanului. Este oportun de accentuat, că înainte de introducerea tripsinei în băița preparatul de venă portă era deja stabilizat, remarcându-se contracții similare lotului control în aceeași situație. Au fost cercetate următoarele loturi cu “tripsină *in vitro*”:

- la modificarea ionilor de Ca ( 2,5mM, 1,25mM, 7,5mM și 10,0mM ) - 12 preparate de venă portă;
- în condiții de modificare a antagoniștilor naturali (  $\text{Na}^+$  și  $\text{H}^+$  ) de  $\text{Ca}^{2+}$  (normo  $\text{Na}^+$  - 122mM, hipona $^+$  - 60 mM (-50%), hiper Na – 171 mM (+40%) și acidoza înlocuind  $\frac{3}{4}$   $\text{NaHCO}_3$  din soluția Krebs pe NaCl ) – 16 preparate;
- cu aplicarea cafeinei pe fonul tripsinei și cercetării contracției maxime în urma depolarizării cu  $\text{K}^+$  ( după acțiunea cafeinei a fost introdusă soluția Krebs, care conținea 144 mM de KCl, substituindu-se 122 mM de NaCl, astfel obținându-se hiper  $\text{K}^+$  ) – 16 preparate vasculare;
- cu aplicarea carbacolului ( 1 $\mu$ mM ) pe fonul tripsinei – 10 preparate de venă;
- cu introducerea diferitor doze de tripsină ( 10,0 nM, 21,0 nM și 40,0 nM doza finală fiind cea de lucru.
- În condiții de denudare a endoteliului la modificarea ionilor de Ca

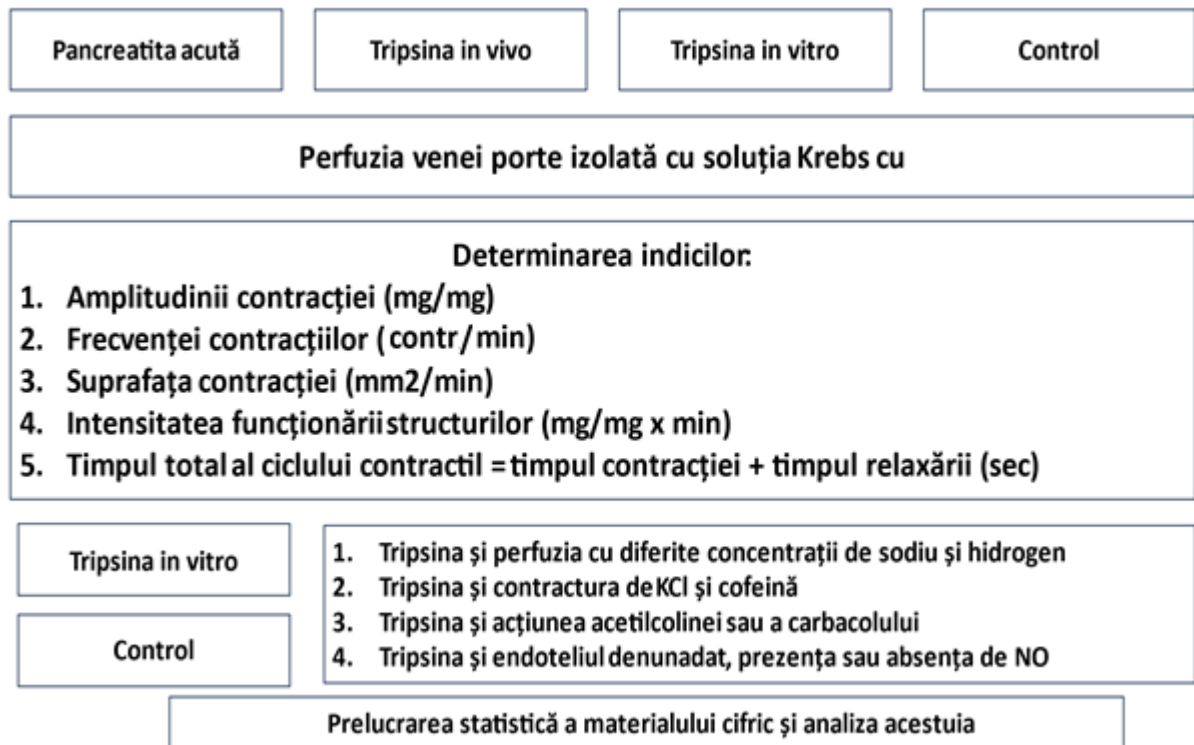
#### **2.7.4 Modelul denudat al venei**

Dezendotelizarea (denudarea) se efectua cu ajutorul acidului colic în felul următor:

După extracția din organism a venei porte preparatul de venă se pune într-o băiță cu soluție de acid colic timp de 20 secunde, după care se pune în ceașca Petri cu soluția Krebs timp de 3 minute. Ulterior se introduce în ceașca Petri cu apă distilată timp de 20 secunde. Astfel, ca urmare a acțiunii acidului colic, contracției și relaxării în soluția Krebs endoteliu se descvama. Ca dovadă concludentă a acesteia este cercetarea morfologică a preparatelor, cât și reacția preparatelor la factorii de eliberare și blocare a NO. În calitate de factor de eliberare a NO s-a utilizat L- argenina ( $10^{-5}$ M) și NADPH, iar blocarea sintezei NO s-a efectuat cu L-nitroarginină ( $10^{-5}$ M). Acești factori se introduceau consecutiv după ce fiecare din ei se aflau în băița termostatică timp de 15 min.

În fine este necesar de nuanțat că prezența fiecărei substanțe sau preparat în băița termostatică la toate etapele au fost strict 15 min și concomitent mergea înregistrarea; 14 min inițial cu viteză mică a peliculei, iar ultima minută cu viteză mare. Această regulă a fost indispensabilă în virtutea păstrării purității purității experimentale.

## 2.8. Design-ul studiului



## 2.9. Analiza statistică a datelor

Raportul rezultatelor prelucrării statistice a indicatorilor utilizați în studiu: protocolul prelucrării statistice a materialului primar include rezultatele obținute prin intermediul aplicației Google Colab. Pentru fiecare parametru au fost calculate media și deviația standart, mediana, percentila 25 și percentila 75. S-a folosit metoda de analiză statistică ANOVA cu testul posthoc Tukey pentru compararea șirurilor de valori în interiorul loturilor și între loturi după același algoritm. Rezultatele obținute sunt reprezentate sub formă de box plot, tabele și diagrame

## 2.10. Concluzii

- Studiul reactivității VP s-a efectuat pe segmente de venă de șobolan Wistar cu lungimea de 4 mm, care s-au perfuzat în baia de organe izolate cu soluția clasică Krebs-Henseleit. Înregistrarea funcției contractile s-a efectuat cu autoinscripatorul K200 (RDG), contracțiile spontane fiind determinate în regim izometric după calibrare. Inițial manevrelor segmentul VP s-a stabilizat 45 min, iar ulterior se efectua înregistrarea timp de 10 min cu viteza peliculei de 1 cm/min, apoi la viteza de 5 cm/sec.

- Parametrii funcționali înregistrați sau calculați pentru exegeza performanțelor contractile a VP inclusiv pe fundalul acțiunii diferitor concentrații de tripsină au fost: (1) amplitudinea contracției ( mg/mg ), prîn raportul forței contracției la masa porțiunii contractile a venei porte; (2)

frecvența contracției ( contracții / min ); (3) suprafața contracției (  $\text{mm}^2$  / min ); (4) intensitatea funcționării structurilor, prin produsul amplitudinii la frecvența contracțiilor ( mg / mg / min ); (5) timpul total al contracției ( sec ); (6) timpul contracției ( sec ) și (7) timpul relaxării ( sec ).

● Hipertripsinemia s-a reprodus *in vivo* (modelul de pancreatită acută și modelul de administrare i/venoasă a tripsinei), precum și *in vitro* (introducerea tripsinei în baia de perfuzie).

Precondiționările impuse au fost marcate prin:

- modificarea ionilor de Ca ( 2,5mM, 1,25mM, 7,5mM și 10,0mM ) - 12 preparate de venă portă;
- acțiunea antagoniștilor naturali de calciu (  $\text{Na}^+$  și  $\text{H}^+$  );
- acțiunea sodiului (normo  $\text{Na}^+$  - 122mM, hipona<sup>+</sup> - 60 mM (-50%), hiper Na – 171 mM (+40%);
- acțiunea acidozei (înlocuind  $\frac{3}{4}$   $\text{NaHCO}_3$  din soluția Krebs pe NaCl ) – 16 preparate;
- aplicarea cafeinei pe fonul tripsinei și cercetării contracției maxime în urma depolarizării cu  $\text{K}^+$  ( după acțiunea cafeinei a fost introdusă soluția Krebs, care conținea 144 mM de KCl, substituindu-se 122 mM de NaCl, astfel obținându-se hiper  $\text{K}^+$  ) – 16 preparate vasculare;
- aplicarea carbacolului ( 1 $\mu\text{M}$  ) pe fonul tripsinei – 10 preparate de venă;
- introducerea diferitor doze de tripsină (10,0 nM, 21,0 nM și 40,0 nM).
- denudare a endoteliului la modificarea ionilor de Ca.

● Procesarea statistică a datelor cifrice a inclus determinarea mediei, deviației standard, medianei, percentilele 25, 50 și 75, precum și valoarea p-Student.

### 3. PARTICULARITĂȚILE REACTIVITĂȚII VENEI PORTE LA ACȚIUNEA DIFERITOR FACTORI ȘI PRECONDIȚIONĂRI

#### 3.1. Contractilitatea venei portă izolate în pancreatita acută la modificarea concentrației ionilor de Ca

Amplitudinea contracției este un indice esențial al contractilității venei porte izolate. Dinamică acesteia în pancreatita acută la modificarea concentrației ionilor de Ca este prezentată în tabelul 3.1.

**Tabelul 3.1. Amplitudinea contracției (mg/mg) venei porte izolate în pancreatita experimentală**

	Martor				Pancreatită			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				13			
mean	35.5	12.4 <sup>o</sup>	73.6 <sup>o</sup>	75.3 <sup>o</sup>	21.6***	13.2 <sup>o</sup>	28.4 <sup>o</sup> ***	28.8 <sup>o</sup> ***
std	3.3	2.2	9.7	9.9	1.9	7.3	4.4	4.2
min	30	8.8	62.5	62.6	18.8	7	22.5	21.5
25%	34.4	10.8	66.2	67.4	20.5	8.5	25.8	26.3
50%	35.3	13.4	71.5	74.2	21.5	9.8	27.5	29.1
75%	37.9	14	78.4	84.2	22.8	14.8	29.1	30.2
max	40	15	91.7	90.2	25	33	39.5	39.1

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

<sup>o</sup> - în interiorul lotului - p<0,05;

Inițial la concentrația de 2,5 mM Ca<sup>2+</sup>, amplitudinea contracției se micșorează față de lotul martor cu circa 40% , de la 35,5 până la 21,6 mg/mg masa venei. La modificarea concentrației de Ca<sup>2+</sup> în soluția de perfuzie, de la 2,5mM la 1,25mM, se observă reducerea amplitudinii contracției pentru lotul martor, aproximativ de 3 ori, de la 35,5 la 12,4 mg/mg (p< 0,0001), iar pentru lotul pancreatită de la 21,6 la 13,2 mg/mg (p<0,0001). Micșorarea pentru lotul martor a fost mai semnificativă, dovada concludentă fiind faptul , că la aceeași concentrație a ionilor de Ca (1,25mM) statistic nu remarcăm nici o diferențiere între lotul pancreatită și lotul martor (p=0,24). Mărirea în continuare a concentrației până la 7,5 mM Ca<sup>2+</sup> duce la micșorarea esențială a amplitudinii în pancreatită față de martor ( 28,4 mg/mg – pancreatită și 73,6 – martorul, (p<0,0001)). Aproximativ aceeași situație se observă la concetrația de 10 mM, unde în cazul martorului amplitudinea este de 75,3 mg/mg, iar în pancreatită – 28,8 mg/mg (p<0,0001).

Dacă luăm modificarea concentrației ionilor de Ca în dinamică la fiecare lot în parte remarcăm următoarele: la micșorarea concentrației de la 2,5 mM la 1,25mM, se observă reducerea amplitudinii contracției pentru lotul martor de la 35,5 la 12,4 mg/mg (p< 0,0001), și pentru pancreatită de la 21,6 la 13,2 (p<0,0001); creșterea concentrației de Ca<sup>2+</sup> în perfuzie până la 7,5

mM duce la mărirea amplitudinii de asemenea în ambele loturi. În această situație din nou decalajul a fost mai mare, în comparație cu concentrația inițială, pentru lotul control de 2 ori, iar în lotul pancreatită a deviat doar de la 21,6 până la 28,8 mg/mg. La aceeași concentrație a ionilor de Ca remarcăm o micșorare mai evidentă a parametrului respectiv în pancreatită față de lotul martor (mai mult de 2 ori). Mărirea în continuare a concentrației la 10 mM condiționează o staționare a amplitudinii în ambele loturi, și aceeași diferență între ele ca și în cazul concentrației precedente. Totuși față de concentrația de 2,5 mM remarcăm o mărire a parametrului în ambele loturi, din nou mai evidentă în cazul lotului martor. (fig. A1.1 din Anexa 1).

Alt indice al contractilității este frecvența contracției, reprezentat în tabelul 3.2.

**Tabelul 3.2 Frecvența contracțiilor (cont/min) venei porte izolate în pancreatita experimentală**

	Martor				Pancreatită			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				13			
mean	6,2	12 ○	2,9 ○	2,1 ○	3 ***	3,8 *** ○	2 *** ○	0,8 *** ○
std	0,4	1,7	0,5	0,3	0,4	0,9	0	0,2
min	6	10	2	2	2	2	2	0,5
25%	6	11	3	2	3	4	2	0,5
50%	6	12	3	2	3	4	2	1
75%	6	12	3	2	3	4	2	1
max	7	15	4	3	4	5	2	1

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ – în interiorul lotului – p<0,05;

Conform rezultatelor remarcăm o micșorare a frecvenței în normo Ca<sup>2+</sup> (2,5 mM) în lotul pancreatită (3 cont/min; p<0,001) comparativ cu lotul martor (6,2 cont/min; p<0,0001). Reducerea dublă la această concentrație trece în reducere triplă la micșorarea concentrației ionilor de Ca, (12 cont/min- lotul martor; 3,8 cont/min-lotul pancreatită; p<0,0001). Creșterea concentrației de Ca<sup>2+</sup> în perfuzie de 3 ori față de normo Ca<sup>2+</sup> (7,5 mM) restabilește aproximativ decalajul dublu de micșorare a frecvenței (lotul martor – 2,9 cont/min; lotul pancreatită – 2 cont/min; p<0,0001). Majorarea în continuare a concentrației ionilor de Ca din nou mărește această diferență negativă (2,9 cont/min – lotul martor; 0,8 cont/min – lotul pancreatită; p<0,0001). Dacă luăm reactivitatea la ionii de calciu în fiecare lot în parte, remarcăm:

- micșorarea concentrației de Ca<sup>2+</sup> în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,25 mM duce la majorarea contracțiilor de 2 ori, statistic semnificativă, pentru lotul martor (de la 6,2 până la

12 cont/min;  $p < 0,0001$ ) și pentru lotul pancreatită mai puțin evidentă (de la 3 până la 3,8 cont/min;  $p < 0,0001$ );

- creșterea concentrației ionilor de Ca la 7,5 mM, cât și în continuare la 10 mM  $\text{Ca}^{2+}$  condiționează micșorarea frecvenței în ambele loturi, comparativ cu concentrația 2,5 mM  $\text{Ca}^{2+}$ , în lotul pancreatită fiind mai evidentă, de 3 ori în lotul martor și de 2,5 ori în lotul pancreatită (fig. A 1.2 din Anexa 1);

Următorul parametru al contractilității este intensitatea funcționării structurilor-(mg/mgxmin) care este nu altceva decât produsul dintre frecvență și amplitudine (tab. 3.3).

**Tabelul 3.3 Intensitatea funcționării structurilor (mg/mgxmin) venei porte izolate în pancreatita experimentală**

Concentrația calciului, mM $\text{Ca}^{2+}$	Martor				Pancreatită			
	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				13			
mean	228,5	147,3 ○	210,4	156,2 ○	64,2 ***	39,6 *** ○	53,7 *** ○	23,4 *** ○
std	45,1	21,4	25,8	20,7	6,6	6,6	7	5,7
min	180	105	173	128	50	32	39,5	15
25%	207,1	141,5	188,5	139,4	61	35	51,2	15,7
50%	222	150	210	153	64,5	38	53,4	26,2
75%	238,5	162,5	226,5	173	68,4	40	56,4	27,8
max	347,8	171	255	187,2	75	55	66,6	29,5

**Notă:** \* - între loturi; \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ;

○ - în interiorul lotului -  $p < 0,05$ ;

Acest indice reflectă o diminuare statistic semnificativă în lotul pancreatită (64,2 mg/mgxmin) comparativ cu lotul martor (228,5 mg/mgxmin) la concentrația inițială de 2,5 mM ( $p < 0,0001$ ). La micșorarea concentrației de 2 ori (1,25 mM) se observă de asemenea micșorarea IFS-ului în lotul pancreatită (39,6 mg/mgxmin) comparativ cu lotul martor (147,3 mg/mgxmin;  $p < 0,0001$ ). Aceeași micșorare se remarcă comparativ cu lotul martor la ambele concentrații majore de 7,5 mM și 10 mM, unde în cazul concentrației de 7,5 mM scade de la 210,4 până la 53,7 mg/mgxmin ( $p < 0,0001$ ), iar în cazul celei de 10 mM de la 156,2 la 23,4 mg/mgxmin ( $p < 0,0001$ ).

La același lot în parte se remarcă următoarele: în lotul martor se observă micșorarea indicelui (de la 228,5 la 147,3 mg/mgxmin;  $p < 0,0001$ ), la concentrația de 1,25 mM, iar la majorarea triplă a concentrației (7,5 mM) – aproape că revine la valoarea respectivă, apoi iarăși scade la concentrația de 10 mM (de la 228,5 până la 156 mg/mgxmin;  $p < 0,0001$ ); în lotul



pancreatită se semnalează reducerea parametrului la toate concentrațiile, mai semnificativă fiind la concentrația de 10 mM (de la 64,2 la 23,4 mg/mg $\times$ min ; p<0,0001) (fig. A 1.3 din Anexa 1).

Suprafața contracției (mm<sup>2</sup>/min) se micșorează în lotul pancreatită comparativ cu lotul martor de 2 ori (de la 919,9 la 435 mm<sup>2</sup>/min, p<0,0001) la concentrația de 2,5 mM (tab. 3.4).

**Tabelul 3.4. Suprafața contracției (mm<sup>2</sup>/min) venei porte izolate în pancreatita experimentală**

	Martor				Pancreatită			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				13			
mean	919,9	343,1 ○	1040,8 ○	1016,8	435 ***	265,6 *** ○	516,9 *** ○	401,5 *** ○
std	86,6	50,5	84,4	67,8	36,6	24,7	28,9	47,7
min	794	273	925	925	380	220	481	300
25%	865,5	308	980	972,5	403	250	498	400
50%	910	330	1025	1000	432	264	501	420
75%	994	392	1104,5	1067,5	469	280	528	430
max	1062	410	1200	1130	500	300	574	441

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Micșorarea concentrației de la 2,5 mM până la 1,25 mM de Ca<sup>2+</sup> semnalează de asemenea o micșorare a acestui indice mai puțin evidentă (de la 343,1 la 265,6 mm<sup>2</sup>/min, p<0,0001). Un decalaj, statistic semnificativ de diminuare, se remarcă la concentrațiile de 7,5 mM (de la 1040,8 la 516,9 mm<sup>2</sup>/min; p<0,0001) și 10 mM (de la 1016,8 la 401,5 mm<sup>2</sup>/min; p<0,0001).

Reactivitatea la concentrații diferite la fiecare lot în parte reflectă următorul fapt:

- în lotul martor, reducerea suprafeței, de la 919,9 la 343,1 mm<sup>2</sup>/min, la concentrația ionilor de Ca micșorată de 2 ori, apoi odată cu creșterea concentrației până la 7,5 mM se mărește și parametrul (până la 1040,8 mm<sup>2</sup>/min), iar în continuare, la ultima doză majoră 10 mM are o tendință de micșorare față de concentrația precedentă de 7,5 mM și aproape restabilirea față de concentrația inițială 2,5 mM;
- în lotul cu pancreatită, observăm o diminuare a suprafeței la micșorarea concentrațiilor ionilor de Ca (de la 435 la 265,6 mm<sup>2</sup>/min), apoi o creștere la concentrația de 7,5 mM. Odată cu continuarea majorării concentrației ionilor de Ca la 10 mM, observăm o micșorare a parametrului ca și în cazul lotului martor (fig. A1.4 din Anexă).

Timpul total de contracție (durata totală a contracției, sec) semnaleză o creștere neînsemnată în lotul pancreatită (6,3 sec) comparativ cu lotul martor (5,8 sec), la concentrația de 2,5 mM ( $p < 0,05$ ) (tab. 3.5).

**Tabelul 3.5. Timpul total de contracție (sec) a venei porte izolate în pancreatita experimentală**

Concentrația calciului, mM $Ca^{2+}$	Martor				Pancreatită			
	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				13			
mean	5,8	4,3 ○	15,4 ○	16,1 ○	6,3 *	4,9 * ○	12,2 *** ○	14,1 *** ○
std	0,8	0,5	0,9	1,1	0,6	0,8	0,7	0,6
min	5	4	15	15	6	4	11	13
25%	5	4	15	15	6	4	12	14
50%	6	4	15	16	6	5	12	14
75%	6	4,5	15	16,5	6	5	12	14
max	7	5	18	18	8	6	14	15

**Notă:** \* - între loturi; \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ;

○ - în interiorul lotului-  $p < 0,05$  ;

Același mod de majorare se observă și la schimbarea soluției precedente cu soluție de 1,25 mM  $Ca^{2+}$ , unde indicele crește neînsemnat de la 4,3 până la 4,9 sec ( $p < 0,05$ ).

La concentrația ionilor de Ca de 3 ori mai mare față de normo  $Ca^{2+}$ , se observă o micșorare certă a timpului total de contracție (de la 15,4 la 12,2 sec;  $p < 0,0001$ ). Creșterea în continuare a concentrației ionilor de Ca până la 10 mM lasă aceeași amprentă certă de micșorare (de la 16,1 la 14,1 sec;  $p < 0,05$ ).

La fiecare lot în parte reactivitatea la calciu semnifică următoarele:

- în lotul martor se remarcă o reducere a indicelui de la 5,8 la 4,3 sec la micșorarea concentrației până la 1,25 mM  $Ca^{2+}$ , apoi cu creșterea concentrației se mărește și durata contracțiilor, dovadă ar fi faptul că la concentrația de 7,5 mM, durata totală a contracției ajunge până la 15,4 sec, apoi în cazul concentrației de 10 mM se ridică până la 16,1 sec ( $p < 0,05$ );
- în lotul cu pancreatită, se remarcă aproximativ aceeași evoluție, unde de la concentrația de 2,5 mM până la 1,25 mM indicele se micșorează (de la 6,3 până la 4,9 sec), apoi se mărește la concentrația de 7,5 mM, depășind indicele inițial aproape de 2 ori, apoi iarăși se mărește mai puțin semnificativ la concentrația de 10 mM față de concentrația precedentă (7,5 mM – 12,2 sec, 10 mM – 14,1 sec) (fig. A1.5 din Anexa 1).

Conform rezultatelor prezentate în tabelul 3.6, se observă următoarea remarcă- la concentrația de 2,5 mM timpul fazei de contracție (durata contracției, sec) este aproape identic (martor - 2,9 sec; pancreatită - 3,2 sec).

**Tabelul 3.6. Timpul de contracție(sec) a veni porte izolate în pancreatita experimentală**

Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	Martor				Pancreatită			
	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				13			
mean	2,9	2,1 ○	2,6	2,6	3,2	2,5 ○	3 **	2,5 ○
std	0,4	0,2	0,2	0,2	0,3	0,5	0,3	0,4
min	2,5	2	2,5	2,5	3	2	2,5	2
25%	2,5	2	2,5	2,5	3	2	3	2
50%	3	2	2,5	2,5	3	2,5	3	2,5
75%	3	2,2	2,8	2,5	3	3	3	3
max	3,5	2,5	3	3	4	3,5	4	3

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

La concentrația de 1,25 mM, de asemenea nu se observă o schimbare statistică semnificativă. La majorarea concentrației ionilor de calciu la 7,5 mM, se remarcă o creștere de la 2,6 până la 3,0 sec comparativ cu martorul (p<0,005), iarăși o egalitate statistică în cazul concentrației de 10 mM.

La schimbarea concentrației de la 2,5 la 1,25 mM pentru lotul martor semnifică o micșorare a indicelui (de la 2,9 la 2,1 sec). Cu creșterea concentrației ionilor Ca<sup>2+</sup> la 7,5 mM și la 10 mM, se remarcă revenirea la starea inițială a indicelui.

În lotul pancreatită se evidențiază următoarea situație, micșorarea concentrației de Ca<sup>2+</sup> la 1,25 mM semnaleză reducerea indicelui (de la 3,2 la 2,5 sec), apoi revenirea lui la concentrația de 7,5 mM (3 sec), pentru a scădea la concentrația de 10 mM (2,5 sec) (fig. A1.6 din Anexa 1).

Ultimul indice, timpul de relaxare, ne descrie următoarele observări (tab. 3.7): valoarea indicelui este aproape identică la concentrația inițială în ambele loturi (2,9 sec- lotul martor, 3,2 sec -lotul pancreatită); apoi cu micșorarea concentrației la 1,25 mM față de martor din nou nu se remarcă o diferență statistică; pe când la concentrații mari de 7,5 mM și 10 mM observăm o micșorare semnificativă în lotul pancreatită (de la 12,7 la 9,2 sec – 7,5 mM, p<0,001; de la 13,5 la 11,6 sec – 10 mM, p<0,001).

**Tabelul 3.7 Timpul de relaxare a venei portă în pancreatita experimentală (sec)**

	Martor				Pancreatită			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				13			
mean	2,9	2,1 ○	12,7 ○	13,5 ○	3,2	2,4 ○	9,2 ***	11,6 ***
std	0,4	0,2	1	1	0,3	0,4	0,6	0,8
min	2,5	2	12	12,5	3	2	8	10,5
25%	2,5	2	12,5	12,5	3	2	9	11
50%	3	2	12,5	13,5	3	2,5	9	11,5
75%	3	2,2	12,5	13,8	3	2,5	9,5	12
max	3,5	2,5	15,5	15,5	4	3	10	13

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

În fiecare lot în parte cu schimbarea concentrațiilor remarcăm:

- în lotul martor se remarcă o micșorare (de la 2,9 la 2,1 sec) a timpului de relaxare, la scăderea concentrației ionilor de Ca, ca apoi să crească semnificativ la concentrația de 7,5 mM și 10 mM (7,5 mM – 12,7 sec; 10 mM – 13,5 sec, p<0,05);
- pentru lotul pancreatită este caracteristică aceeași situație dinamică, pentru concentrația micșorată a ionilor de calciu este semnalată o scădere a indicelui (de la 3,2 la 2,4 sec), apoi cu creșterea concentrațiilor ionilor de Ca, crește proporțional și indicele (7,5 mM – 9,2 sec; 10 mM – 11,6 sec) (fig. A1.7 din Anexa 1).

### 3.2. Contractilitatea venei porte izolate în condiții de tripsinemie provocată

#### *Contractilitatea în condiții de tripsină in vivo*

Acest model reprodus *in vivo* are menirea să confirme rezultatele obținute în modelul de pancreatită acută la conotația factorului trigger comun – hipertripsinemia. Valorile performanțelor contractile ale venei porte *in vitro* la prezența diferitor concentrații de calciu sunt prezentate în tabelul 3.8.

În condiții de tripsină în vivo, amplitudinea contracției semnifică următoarele modificări:

- Inițial la concentrația 2,5 mM amplitudinea contracției se micșorează cu 44% comparativ cu lotul martor (de la 35,5 până la 21,6 mg/mg masa venei);
- la schimbarea concentrației de Ca<sup>2+</sup> în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,5 mM, acest indice crește (de la 12,4 până la 13,2 mg/mg masa venei);

**Tabelul 3.8 Amplitudinea contractei (mg/mg) venei porte izolate în condiții de tripsină *in vivo***

	Martor				tripsină <i>in vivo</i>			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				13			
mean	35,5	12,4 ○	73,6 ○	75,3 ○	21,6***	13,2*** ○	28,4*** ○	28,8*** ○
std	3,3	2,2	9,7	9,9	1,9	7,3	4,4	4,2
min	30	8,8	62,5	62,6	18,8	7	22,5	21,5
25%	34,4	10,8	66,2	67,4	20,5	8,5	25,8	26,3
50%	35,3	13,4	71,5	74,2	21,5	9,8	27,5	29,1
75%	37,9	14	78,4	84,2	22,8	14,8	29,1	30,2
max	40	15	91,7	90,2	25	33	39,5	39,1

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

- ulterior cu creșterea triplă a ionilor de Ca (7,5 mM față de 2,5 mM) amplitudinea indică o micșorare cu 42% (p<0,001) față de martor, aproximativ identică cu decalajul la concentrația de 2,5 mM (tab 3.8);
- la concentrația de 10 mM se remarcă o micșorare mai evidentă a amplitudinii în lotul tripsină *in vivo* față de lotul martor cu 50% (75,3 mg/mg - martorul și 28,8 mg/mg - tripsină *in vivo*; p<0,001).

Reactivitatea la ionii de Ca în fiecare lot în parte semnalează următoarele:

- micșorarea concentrației de Ca<sup>2+</sup> în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,5 mM determină o diminuare a amplitudinii în ambele loturi (65% - lotul martor; 61% - lotul tripsină *in vivo*; p<0,001);
- ulterior cu creșterea concentrației până la 7,5 mM de Ca<sup>2+</sup>, acest indice sporește considerabil, în ambele loturi aproape identic, de două ori (+107%- lotul martor; +114% - lotul tripsină *in vivo*);
- creșterea în continuare a concentrației la 10 mM a ionilor de Ca provoacă de asemenea o sporire a indicelui circa de 2 ori în lotul martor (+112%; p<0,001), pe când în lotul tripsină *in vivo*, această majorare nu ajunge la limita decalajului dublu (+89%; p<0,001) (fig. A1.8 în Anexa 1).

**Tabelul 3.9. Frecvența contracțiilor(cont/min)veneii porte izolate în condiții de tripsină *in vivo***

Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	Martor				tripsină <i>in vivo</i>			
	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				13			
mean	6,2	12 ○	2,9 ○	2,1 ○	4,3 ***	18,1 *** ○	2 *** ○	1,6 ** ○
std	0,4	1,7	0,5	0,3	0,7	0,5	0	0,5
min	6	10	2	2	4	17	2	1
25%	6	11	3	2	4	18	2	1
50%	6	12	3	2	4	18	2	2
75%	6	12	3	2	4,2	18	2	2
max	7	15	4	3	6	19	2	2

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Frecvența contracțiilor relevă o diminuare cu 30% (p<0,001) în lotul tripsină *in vivo* (4,3 cont/min) față de lotul martor (6,2 cont/min) la concentrația inițială de 2,5 mM Ca<sup>2+</sup>. Reducerea dublă a concentrației ionilor de Ca determină o creștere de 50% (p<0,001) a aceluiași indice în cazul lotului tripsină *in vivo* (18,1 cont/min) față de lotul martor (12 cont/min) (tab 3.9). La concentrația de 7,5 mM se observă o scădere cu 29% (p<0,001) a frecvenței în lotul tripsină *in vivo* (2,0 cont/min) față de martor (2,9 cont/min). Majorarea de 4 ori a concentrației ionilor de calciu relevă de asemenea o micșorare cu 24 % (p<0,001). La micșorarea concentrației ionilor de Ca de la 2,5 mM la 1,25 mM acest indice crește aproape de 2 ori (+94%; p<0,001) în lotul martor și de 4 ori în lotul tripsină *in vivo* (de la 4,3 contracții/minut la 18,1 cont/min). Creșterea concentrației în soluția de perfuzie până la 7,5 mM reduce aproximativ egal frecvența, atât în lotul martor (53%), cât și în lotul tripsină *in vivo* (-52%). Mărirea în continuare a concentrației la 10 mM de Ca<sup>2+</sup> condiționează o diminuare a indicelui respectiv în ambele cazuri aproximativ de 3 ori (-66% - lotul martor și -63,5% - lotul tripsină *in vivo*) (fig. A1.9 în Anexa 1).

Intensitatea funcționării structurilor IFS dezvăluie că în condiții de tripsină *in vivo* (tab 3.10) se desfășoară următoarele modificări:

- în lotul tripsină *in vivo* la concentrația de 2,5mM, IFS-ul se reduce cu 62% (de la 228,5 la 83,3 mg/mgxmin) față de lotul martor. Acest decalaj este de 2,5 ori;
- la schimbarea concentrației în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,25 mM, acest indice, nu variază considerabil;

- ulterior cu creșterea triplă a ionilor de Ca (7,5 mM față de 2,5 mM) intensitatea funcționării structurilor semnalează o micșorare cu 57% (de la 210,4 la 90,1 mg/mgxmin);
- mărirea în continuare a concentrației la 10 mM sesizează de asemenea o micșorare cu 64% (de la 156,2 la 56 mg/mgxmin).

**Tabelul 3.10 Intensitatea funcționării structurilor(mg/mgxmin) venei porte izolate în condiții de tripsină *in vivo***

	Martor				tripsină <i>in vivo</i>			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				12			
mean	228,5	147,3 ○	210,4	156,2 ○	83,3 ***	141,8 ○	90,1 *** ○	56 *** ○
std	45,1	21,4	25,8	20,7	7,3	25,2	6,5	12
min	180	105	173	128	69,2	113	82,6	40
25%	207,1	141,5	188,5	139,4	81,6	124,8	84,8	45,2
50%	222	150	210	153	85	135	89,2	56,3
75%	238,5	162,5	226,5	173	87,2	155,2	94,8	61,6
max								

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Reactivitatea la ionii de Ca<sup>2+</sup> în fiecare lot în parte indică următoarele modificări:

- micșorarea concentrației de Ca<sup>2+</sup> în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,25 mM denotă o micșorare cu 33%, a intensității funcționării structurilor, în cazul lotului martor (de la 228,5 până la 147,3 mg/mgxmin);
- aceeași micșorare a concentrației în lotul tripsină *in vivo*, dimpotrivă indică o majorare cu 68% (de la 83,3 până la 141,8). Creșterea triplă a concentrației ionilor de Ca cauzează staționarea indicelui față de concentrația de 2,6 mM în lotul martor;
- în lotul tripsină *in vivo* se observă o anumită mărire cu 10% a acestui indice (de la 83,3 la 90,1 mg/mgxmin);
- sporirea în continuare a concentrației de 4 ori provoacă o micșorare a indicelui în ambele loturi față de concentrația inițială 2,5 mM (29%-lotul martor;33%-lotul tripsină *in vivo*).

Suprafața contracției în condiții de tripsină *in vivo* (tab 3.11):

- nu suferă modificări față de lotul martor la concentrația inițială de 2,5 mM;
- reducerea dublă a concentrației ionilor de calciu (de la 2,5 mM la 1,25 mM) semnifică o micșorare cu 22% a suprafeței contracției (de la 343,1 până la 269,7 mm<sup>2</sup>/min) față de lotul martor;

- cu creșterea concentrației de 3 ori față de concentrația inițială remarcăm o staționare a acestui indice;
- aceeași legitate este oportună și pentru ultima concentrație de 4 ori mai mare față de concentrația inițială, unde statistic nu sunt schimbări în lotul tripsină *in vivo* față de lotul martor.

**Tabelul 3.11 Suprafața contracției(mm<sup>2</sup>/min) venei porte izolate în condiții de tripsină *in vivo***

Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	Martor				tripsină <i>in vivo</i>			
	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				12			
mean	919,9	343,1 ○	1040,8 ○	1016,8	825,1	269,7** ○	1067,6 ○	1031,3 ○
std	86,6	50,5	84,4	67,8	171,2	49,9	49,3	93,9
min	794	273	925	925	356	215	1000	891
25%	865,5	308	980	972,5	808,2	230,5	1030	975
50%	910	330	1025	1000	848,5	262	1056	1048
75%	994	392	1104,5	1067,5	960,8	300	1110,2	1087,5
max	1062	410	1200	1130	975	389	1152	1184

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Reactivitatea la ionii de Ca<sup>2+</sup> în fiecare lot în parte semnifică următoarele:

- micșorarea concentrației de Ca<sup>2+</sup> în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,25 mM determină o reducere a acestui indice în ambele loturi (cu 63% - lotul martor; cu 70% - lotul tripsină *in vivo*; p<0,001);
- ulterior cu creșterea concentrației până la 7,5 mM de Ca<sup>2+</sup> acest indice sporește, iarăși în ambele loturi mai evident în lotul tripsină *in vivo* (+20% față de +13% - lotul martor);
- la mărirea concentrației ulterioare până la 10 mM, în lotul tripsină *in vivo* acest indice crește cu 16%, pe când în lotul martor statistic nu se remarcă modificări (fig. A1.10 în Anexa 1).

Timpul de contracție în condiții de tripsină *in vivo* (tab 3.12):

- se mărește de la 2,9 până la 3,7 în lotul tripsină *in vivo* la concentrația inițială de 2,5 mM față de lotul martor (+27%);
- la micșorarea concentrației până la 1,25 mM se micșorează și indicele cu 23% (de la 2,1 până la 1,2 sec);



- creșterea concentrației ionilor de Ca de 3 ori nu modifică timpul de concentrație în lotul tripsină *in vivo*, față de martor la aceeași concentrație;
- în schimb majorarea ulterioară a concentrației până la 10 mM mărește acest indice cu 18% în lotul tripsină *in vivo* față de martor (de la 2,6 la 3,1).

**Tabelul 3.12 Timpul de contracție (sec) a venei porte izolate în condiții de tripsină *in vivo***

Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	Martor				tripsină <i>in vivo</i>			
	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				12			
mean	2,9	2,1 ○	2,6	2,6	3,7 **	1,2 *** ○	2,5 ○	3,1 *** ○
std	0,4	0,2	0,2	0,2	0,8	0,3	0,3	0,3
min	2,5	2	2,5	2,5	3	1	2	3
25%	2,5	2	2,5	2,5	3,5	1	2,5	3
50%	3	2	2,5	2,5	3,5	1	2,5	3
75%	3	2,2	2,8	2,5	3,5	1,5	2,6	3
max	3,5	2,5	3	3	6	2	3	4

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Reactivitatea la ionii de Ca<sup>2+</sup> în fiecare lot în parte observăm următoarele:

- micșorarea concentrației ionilor de Ca în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,25 mM, produce reducerea timpului de contracție în ambele cazuri, mai esențial fiind în lotul tripsină *in vivo* (de la 3,7 la 1,2 sec (-56%)) față de lotul martor (de la 2,9 la 2,1 (-28%)).
- ulterior cu creșterea concentrației până la 7,5 mM, acest indice se micșorează doar în lotul tripsină *in vivo* (cu 31%), rămânând stabil față de concentrația inițială în lotul martor;
- la ultima concentrație de 10 mM din nou se micșorează indicele în lotul tripsină *in vivo* (de la 3,7 la 3,1 (-16)), pe când în lotul martor staționează (fig. A1.11 în Anexa 1).

Timpul de relaxare (sec) în condiții de tripsină *in vivo* (tab. 3.13):

- la concentrația inițială de 2,5 mM se mărește cu 175% față de lotul martor (de la 2,9 la 3,4 sec);
- la schimbarea concentrației ionilor de Ca<sup>2+</sup> în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,25 mM, acest indice se reduce cu 42%, (de la 2,1 la 1,2 sec);
- ulterior cu creșterea triplă a concentrației (7,5 mM față de 2,5 mM) timpul de relaxare indică de asemenea o reducere, dar în măsură mai mică cu 13% (de la 12,7 la 11,1) față de lotul martor;

- la concentrația de 10 mM se remarcă o micșorare semnificativă cu 62% (de la 13,5 la 5,2 sec) față de lotul martor la aceeași concentrație, în acest caz reducerea indicelui este de 2,5 ori.

**Tabelul 3.13. Timpul de relaxare (sec) a venei porte izolate în condiții de tripsină *in vivo***

	Martor				tripsină <i>in vivo</i>			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				12			
mean	2,9	2,1 ○	12,7 ○	13,5 ○	3,4 **	1,2 *** ○	11,1 *** ○	5,2 *** ○
std	0,4	0,2	1	1	0,6	0,3	1,1	1,1
min	2,5	2	12	12,5	2	1	10	3
25%	2,5	2	12,5	12,5	3,4	1	10	5
50%	3	2	12,5	13,5	3,5	1	10,8	5
75%	3	2,2	12,5	13,8	3,5	1,5	12,5	5,2
max	3,5	2,5	15,5	15,5	4,5	2	12,5	7

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Reactivitatea la ionii de Ca<sup>2+</sup> în fiecare lot în parte semnalează următoarele:

- micșorarea concentrației ionilor de Ca în soluția de perfuzie de la 2,5 la 1,25 mM determină o micșorare a timpului de relaxare în ambele loturi (cu 28% - lotul martor; cu 65% lotul tripsină *in vivo*);
- cu creșterea concentrației de 3 ori (7,5 mM față de 2,5 mM) se remarcă creșterea triplă a timpului de relaxare în lotul tripsină *in vivo* și creșterea de 4 ori în lotul martor;
- creșterea în continuare a concentrației la 10 mM a ionilor de Ca<sup>+</sup>, față de concentrația inițială de 2,5 mM, semnalează o creștere esențială de circa 4,5 ori în lotul martor (de la 2,9 la 13,5 sec) și doar cu 51% în lotul tripsină *in vivo* (de la 3,4 la 5,2 sec) (fig. A1.12 în Anexa 1).

Timpul total de contracție (durata totală de contracție) în condiții de tripsină *in vivo* (tab. 3.14) :

- se mărește în lotul tripsină *in vivo* față de lotul martor cu 22% (de la 5,8 până la 7,1 sec) la concentrația inițială de 2,5 mM;
- la schimbarea concentrației ionilor de Ca de la 2,5 mM la 1,25 mM se remarcă o scădere cu 43% (de la 4,3 la 2,4 sec) față de lotul martor (fig. A1.13);
- ulterior cu creșterea triplă față de concentrația inițială (7,5 mM) se observă o scădere a indicelui doar cu 14% (15,4 sec – lotul martor ; 13,2 sec – lotul tripsin *in vivo*);

- aproape de 2 ori scade acest indice la ultima concentrație (10 mM), în lotul tripsină *in vivo* față de lotul martor (de la 16,1 la 8,2 sec).

**Tabelul 3.14 Timpul total de contracție (sec) a venei porte izolate în condiții de tripsină *in vivo***

	Martor				tripsină <i>in vivo</i>			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				10			
mean	5,8	4,3 ○	15,4 ○	16,1 ○	7,1 ***	2,4 *** ○	13,2 *** ○	8,2 *** ○
std	0,8	0,5	0,9	1,1	0,7	0,7	1	1,1
min	5	4	15	15	6	2	12	6
25%	5	4	15	15	7	2	13	8
50%	6	4	15	16	7	2	13	8
75%	6	4,5	15	16,5	7,2	3	13,2	8,2
max	7	5	18	18	8	4	15	10

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05 ;

Reactivitatea la ionii de Ca<sup>+</sup> în fiecare lot în parte semnalează următoarele (tab. 3.14):

- micșorarea concentrației de la 2,5 mM la 1,25 mM determină o scădere a indicelui în ambele loturi, mai semnificativă fiind în lotul tripsină *in vivo*, aproape de 3 ori (de la 7,1 la 2,4 sec) pe când în lotul martor doar cu 28% (de la 5,8 la 4,3 sec)
- odată cu creșterea triplă a concentrației ionilor de Ca<sup>+</sup> (7,5 mM față de 2,5 mM) se remarcă o creștere aproape de 2 ori (de la 7,1 sec până la 13,2 sec) în cazul lotului tripsină *in vivo*, pe când în lotul martor de asemenea observăm o creștere, dar mai evidentă de circa 2,6 ori (de la 5,8 sec la 15,4 sec);
- ultima concentrație a ionilor de Ca (10 mM) față de concentrația inițială 2,5 mM semnifică de asemenea o majorare în ambele loturi ca și în concentrația precedentă, fiind din nou mai evidentă în lotul martor, de 2,7 ori (de la 5,8 sec la 16,1 sec), pe când în lotul tripsină *in vivo* doar cu 16% (de la 7,1 sec la 8,2 sec).

### 3.3. Contractilitatea venei porte izolate în condiții de acțiune a tripsinei *in vitro*

Tripsină fiind introdusă în băița de perfuzie și acționând mai rapid și direct asupra musculaturii netede vasculare a venei porte izolate induce următoarele modificări.

**Tabelul 3.15 Amplitudinea contracției (mg/mg) venei porte izolate în condiții de tripsină *in vitro***

	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				10			
mean	35,5	12,4 ○	73,6 ○	75,3 ○	24 ***	7,5 *** ○	33 *** ○	31,5 *** ○
std	3,3	2,2	9,7	9,9	3	1,6	3,6	3,4
min	30	8,8	62,5	62,6	20,2	5,6	27,5	24,5
25%	34,4	10,8	66,2	67,4	21,2	6,5	31	29,8
50%	35,3	13,4	71,5	74,2	24,6	7,1	32,4	31,6
75%	37,9	14	78,4	84,2	26,3	7,8	35	33,9
max	40	15	91,7	90,2	28,5	10,5	39,4	36,8

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05 ;

Amplitudinea contracției în condiții de tripsină *in vitro* (tab.3.15):

- inițial la concentrația de 2,5 mM amplitudinea se micșorează cu 32% în lotul tripsină *in vitro* (de la 35,5 la 24 mg/mg (greutatea venei)) (fig. A1.14 în Anexa 1);
- apoi la concentrația redusă de 2 ori, de asemenea se micșorează ca și la concentrația inițială dar, deja cu 40% față de lotul martor (7,5 mg/mg – lotul tripsină *in vitro*; 12,4 mg/mg – lotul martor);
- cu creșterea concentrației de 3 ori față de concentrația inițială, amplitudinea iarăși scade în comparație cu lotul martor cu 55% (de circa 2,2 ori, de la 73,6 mg/mg la 33 mg/mg);
- iar la concentrația și mai mare a ionilor de Ca<sup>+</sup> (10 mM) scade și mai mult cu 58%, lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor (31,5 mg/mg – lotul tripsină *in vitro* și 75,3 – lotul martorul).

Reactivitatea la ionii de Ca<sup>+</sup> în fiecare lot în parte semnalează următoarele:

- la schimbarea concentrației ionilor de Ca în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,25 mM evidențiem o scădere în ambele loturi cu un procentaj mai mult sau mai puțin comparabil între ele cu 65% lotul martor și cu 69% lotul tripsină *in vitro* (de la 35,5 mg/mg la 12,4 mg/mg – lotul martor; de la 24,0 la 7,5 mg/mg – lotul tripsină *in vitro*);
- la creșterea triplă a concentrației ionilor de Ca (7,5 mM față de 2,5 mM) se remarcă o majorare de 2 ori în lotul martor (de la 35,5 mg/mg la 73,6 mg/mg) și doar cu 37% crește amplitudinea contracției în lotul tripsină *in vitro* (de la 24 mg/mg la 33 mg/mg);

- ultima concentrație majorată a ionilor de Ca semnaleză de asemenea o creștere de 2,1 ori în lotul martor față de concentrația inițială de 2,5 mM (de la 35,5 până la 75,3 mg/mg) și o creștere mai puțin evidentă cu 31%, în lotul tripsină *in vitro* (de la 24 la 31,5 mg/mg).

**Tabelul 3.16 Frecvența contracțiilor (cont/min) venei porte izolate în condiții de tripsină *in vitro***

	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				10			
mean	6,2	12 ○	2,9 ○	2,1 ○	3,3 ***	14,1 *** ○	2 *** ○	1,7 * ○
std	0,4	1,7	0,5	0,3	0,7	0,7	0	0,5
min	6	10	2	2	2	13	2	1
25%	6	11	3	2	3	14	2	1,2
50%	6	12	3	2	3	14	2	2
75%	6	12	3	2	4	14,8	2	2
max	7	15	4	3	4	15	2	2

**Notă :** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Frecvența contracțiilor în condiții de tripsină *in vitro* (tab. 3.16):

- în lotul tripsină *in vitro* aceasta scade cu 47% (de la 6,2 la 3,3 cont/min) la concentrația inițială de 2,5 mM a ionilor de Ca față de lotul martor (fig. A1.15 în Anexa 1);
- la concentrația de 2 ori scăzută a ionilor de Ca (1,25 mM) se remarcă o majorare cu 18% (de la 12 la 14,1 cont/min);
- cu creșterea concentrației de 3 ori mărită față de concentrația inițială din contra frecvența scade cu o valoare de 42% (de la 2,9 la 2,0 cont/min);
- la concentrația de 4 ori mărită decât cea inițială (10mM) observăm o scădere de 14%.

Reactivitatea la ionii de Ca<sup>2+</sup> în interiorul fiecărui lot față de concentrația inițială semnaleză următoarele:

- la schimbarea concentrației de Ca<sup>2+</sup> în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,25 mM, frecvența contracției se mărește în interiorul ambelor loturi, doar cu remarca că, în lotul tripsină *in vitro* mai esențial de 4,3 ori (de la 3,3 la 14,1 cont/min) și ceva mai puțină creștere (aproape de 2 ori) se observă în lotul martor (de la 6,2 până la 12 cont/min);
- ulterior la concentrația de 7,5 mM a ionilor de Ca, se observă o scădere de 2,1 ori în lotul martor (de la 6,2 la 2,9) și doar cu 39% în lotul tripsină *in vitro*;

- la ultima concentrație majorată de 10 mM (de 4 ori mărită) se remarcă o scădere a frecvenței în ambele loturi față de concentrația inițială, decalajul fiind mai vădit în lotul martor aproape de 3 ori (de la 6,2 până la 2,1 cont/min) și aproape de 2 ori (de la 3,3 până la 1,7 cont/min) în lotul tripsină *in vitro*.

**Tabelul 3.17 Intensitatea funcționării structurilor (mg/mgxmin) venei porte izolate în condiții de tripsină *in vitro***

	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				10			
mean	228,5	147,3 ○	210,4	156,2 ○	80,3 ***	105,5 *** ○	66 *** ○	52,1 *** ○
std	45,1	21,4	25,8	20,7	4,8	16,4	7,1	12,5
min	180	105	173	128	73,2	84	55	34,4
25%	207,1	141,5	188,5	139,4	76,1	95,8	62,1	39,8
50%	222	150	210	153	80,8	100,6	64,7	57,4
75%	238,5	162,5	226,5	173	83,6	108,5	69,9	61,4
max	347,8	171	255	187,2	86,8	136,5	78,8	65

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Intensitatea funcționării structurilor în condiții de tripsină *in vitro* (tab. 3.17):

- în lotul tripsină *in vitro* scade de 2,7 ori față de lotul control (de la 228,5 până la 80,3) la concentrația inițială a ionilor de Ca (2,5mM);
- ulterior cu reducerea dublă a concentrației ionilor de Ca, acest indice de asemenea se micșorează dar cu un decalaj mai mic, procentajul fiind de 3,8% (de la 147,3 la 105,5 mM);
- aceeași situație se observă în cazul concentrației de 7,5 mM, în care devierea față de lotul control a lotului tripsină *in vitro* este de 3,2 ori (de la 210,4 la 66 mg/mgxmin);
- ca apoi la ultima concentrație majorată de 10 mM, relativ să se mențină la valoarea de 3 ori (156,2 mg/mgxmin – lotul martor, 52,1 mg/mgxmin – lotul tripsină *in vitro*) (fig. A1.16 în Anexa 1).

Reactivitatea comparativă în interiorul fiecărui lot în parte semnalează următoarele:

- în cazul lotului martor se observă o micșorare a IFS-ului cu 33% la scăderea dublă a ionilor de Ca<sup>+</sup> spre deosebire de cea inițială (de la 228,5 până la 147,3 mg/mgxmin);
- în lotul tripsină *in vitro* dimpotrivă se remarcă o creștere cu 31%, acesta ar putea fi explicată prin faptul că la această concentrație (1,25 mM), în lotul tripsină frecvența este mărită (IFS-ul fiind produsul dintre amplitudine) de 3 ori;

- observăm ca față de concentrația inițială în lotul martor nu sunt schimbări statistic veritabile, pe când în lotul tripsină *in vitro* intensitatea funcționării structurilor scade cu 18%, iarăși probabil din cauza scăderii frecvenții dar și a amplitudinii;
- ultima concentrație a ionilor de Ca 10 mM produce scădere atât în lotul martor cu 29% (de la 228,5 până la 156,2), cât și în lotul tripsină *in vitro* cu o valoare ceva mai mare, de 35% (de la 80,3 până la 52,1 mg/mgxmin ).

**Tabelul 3.18. Suprafața contracției (mm<sup>2</sup>/min) venei porte izolate în condiții de tripsină *in vitro***

	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				10			
mean	919,9	343,1 ○	1040,8 ○	1016,8	675,7 ***	164,9 *** ○	717,6 *** ○	609,4 *** ○
std	86,6	50,5	84,4	67,8	36,9	20,7	65,8	77,9
min	794	273	925	925	590	139	594	466
25%	865,5	308	980	972,5	663,5	151	681,2	592
50%	910	330	1025	1000	683,5	158,5	710	619
75%	994	392	1104,5	1067,5	699	182,2	774,8	649,8
max	1062	410	1200	1130	714	194	800	710

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Suprafața contracției (mm<sup>2</sup>/min) în condiții de tripsină *in vitro* (tab. 3.18):

- în lotul tripsină *in vitro* la concentrația ionilor de Ca inițială arată o micșorare în raport cu lotul control, de 27% (de la 919,9 până la 675,7 mm<sup>2</sup>/min);
- ulterior cu reducerea ionilor de Ca în soluția de perfuzie până la 1,25 mM, observăm de asemenea o scădere, însă mai evidentă în comparație cu primul decalaj, în lotul tripsină *in vitro* suprafața deminuează de 2 ori față de lotul martor (de la 343,1 până la 164,9 mm<sup>2</sup>/min);
- apoi la concentrația de trei ori mărită față de cea inițială (7,5 mM), remarcăm o micșorare puțin mai mică în comparație cu cazul anterior în lotul tripsină *in vitro* față de lotul mator, și anume cu 31% (de la 1040,8 până la 717,6 mm<sup>2</sup>/min);
- în final la concentrația de 10 mM se observă o micșorare a parametrului în lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor cu valoare de 40% (de la 1016,8 la 609,4 mm<sup>2</sup>/min) (fig. A1.17 în Anexa 1).

Reactivitatea la ionii de Ca<sup>2+</sup> în fiecare lot în parte semnifică următoarele modificări:

- în lotul martor, la schimbarea concentrației de la 2,5 mM la 1,25 mM suprafața contracției se micșorează comparativ cu concentrația inițială cu 63% (de la 919,9 până la 343,1 mm<sup>2</sup>/min), pe când în lotul tripsină *in vitro* se reduce indicele ceva mai mult cu 76% (de 4 ori);
- la concentrația de 7,5 mM indicele se mărește în lotul martor cu 13% față de concentrația inițială (de la 919,9 până la 1040,8 mm<sup>2</sup>/min) pe când lotul tripsină *in vitro* doar cu 6% (de la 675,7 până la 717,6 mm<sup>2</sup>/min);
- la ultima concentrație a ionilor de Ca<sup>+</sup> (10mM) se micșorează suprafața cu 10% de la 675,7 la 609,4 mm<sup>2</sup>/min în lotul tripsină *in vitro*, pe când în lotul martor se remarcă o tendință de mărire față de aceeași concentrație inițială a ionilor de Ca (fig. A1.17 în Anexa 1).

**Tabelul 3.19 Timpul total de contracție (sec) a venei porte izolate în condiții de tripsină *in vitro***

Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				10			
mean	5,8	4,3 ○	15,4 ○	16,1 ○	13,4 ***	3,3 *** ○	24 *** ○	14,8 * ○
std	0,8	0,5	0,9	1,1	1,6	0,7	1,2	1,1
min	5	4	15	15	10	3	21	13
25%	5	4	15	15	14	3	24	15
50%	6	4	15	16	14	3	24	15
75%	6	4,5	15	16,5	14	3	24,8	15
max	7	5	18	18	15	5	25	17

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Timpul total de contracție (durata totală a contracției, sec) în condiții de tripsină *in vitro* (tab. 3.19):

- în lotul tripsină *in vitro* crește de 2,2 ori față de lotul martor (de la 5,8 la 13,4 sec) la concentrația inițială de 2,5 mM a ionilor de Ca ;
- la concentrația ionilor de Ca de 1,25 mM acest indice scade față de lotul martor cu 21% (de la 4,3 până la 3,3 sec);
- la concentrația mărită față de cea inițială de 3 ori (7,5 mM) timpul total de contracție se mărește față de control cu 53% în lotul tripsină *in vitro*;
- ulterior la concentrația majorată finală de 10 mM dimpotrivă indicele scade nesemnificativ față de lotul martor la aceeași concentrație cu 7% (de la 16,1 la 14,8 sec).



Reactivitatea la modificarea concentrației ionilor de Ca în soluția de perfuzie la fiecare lot în parte față de indicele din concentrația inițială normală (25mM) semnifică următoarele modificări (fig. A1.18 în Anexa 1):

- la concentrația 1,25 mM (de 2 ori mai mică decât normo  $Ca^{2+}$ ) se remarcă o micșorare a suprafeței contracțiilor în lotul control cu 28% (de la 5,8 la 4,3 sec);
- la aceeași concentrație în lotul tripsină *in vitro* devierea este mai mare și este de 3,8 ori mai scăzută suprafața decât în lotul martor (de la 13,4 la 3,3 sec);
- la concentrația marită de  $Ca^{2+}$  (7,5 mM) se remarcă o creștere a indicelui în ambele loturi, însă deși se mărește indicele, devierea în acest caz este mai mare în lotul control, de 2,7 ori (de la 5,8 la 15,4 sec), pe când în lotul tripsină *in vitro* cu 46% (de la 13,4 la 24);
- la mărirea în continuare a ionilor de  $Ca^{+}$  în soluția de perfuzie se observă de asemenea o creștere aproximativ de aceeași variație în lotul martor comparativ cu soluția inițială de 2,5 mM (de la 5,8 la 16,1 sec), pe când în lotul martor creșterea este doar de 15% (de la 13,4 la 14,8 sec).

**Tabelul 3.20. Timpul de contracție (sec) a venei porte izolate în condiții de tripsină *in vitro***

Concentrația calciului, mM $Ca^{2+}$	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				10			
mean	2,9	2,1 ○	2,6	2,6	2,6 **	1,6 *** ○	2,8	2,8 *** ○
std	0,4	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,5
min	2,5	2	2,5	2,5	2	1,5	2,5	1,5
25%	2,5	2	2,5	2,5	2,5	1,5	2,5	3
50%	3	2	2,5	2,5	2,5	1,5	3	3
75%	3	2,2	2,8	2,5	2,5	1,5	3	3
max	3,5	2,5	3	3	3	2,5	3	3

**Notă:** \* - între loturi; \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ;

○ - în interiorul lotului-  $p < 0,05$  ;

Timpul de contracție (dîn timpul total al contracției) în condiții de tripsină *in vitro* (tab. 3.20):

- în lotul tripsină *in vitro* este cu 12% mai mic decât în lotul martor la concentrația inițială 2,5 mM (de la 2,9 până la 2,6 sec);
- la concentrația diminuată de  $Ca^{2+}$  (1,25 mM) observăm o micșorare aproximativ cu aceeași variație (-11%) de la 2,1 la 1,6 sec față de lotul martor;

- la concentrația marită a ionilor de Ca de 7,5 mM nu se remarcă absolut nici o deosebire a lotului tripsină *in vitro* față de martor;
- pe când la majorarea în continuare a concentrației ionilor de Ca timpul de contracție în lotul tripsină *in vitro*, depășește același indice în lotul martor cu 12% (2,6 sec – lotul martor, 2,8 – lotul tripsină *in vitro*) (fig. A1.19 în Anexa 1).

Reactivitatea la modificările ionilor de Ca<sup>+</sup> în interiorul fiecărui lot în parte semnifică următoarele:

- la schimbarea concentrației ionilor de Ca de la 2,5 mM la 1,25 mM remarcăm o micșorare a timpului de contracție, în ambele loturi deși variația este ceva mai mare în lotul tripsină *in vitro* (cu 35% în lotul tripsină *in vitro* – de la 2,6 la 1,6 sec; cu 28% - lotul martor – de la 2,9 până la 2,1 sec);
- la majorarea concentrației ionilor de Ca<sup>+</sup> până la 7,5 mM la ambele loturi față de concentrația inițială nu se remarcă modificări statistice semnificative;
- la mărirea în continuare a concentrației ionilor de Ca (10 mM) observăm schimbări doar în lotul tripsină *in vitro* – o creștere cu 14% față de concentrația inițială (de la 2,6 până la 2,8 sec), în lotul martor nu remarcăm schimbări statistice semnificative, însă doar o tendință de scădere.

**Tabelul 3.21. Timpul de relaxare (sec) a venei porte izolate în condiții de tripsină *in vitro***

Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
	2.5	1.25	7.5	10	2.5	1.25	7.5	10
count	11				10			
mean	2,9	2,1 ○	12,7 ○	13,5 ○	10,8 ***	1,6*** ○	21,2 *** ○	12 *** ○
std	0,4	0,2	1	1	1,4	0,3	1,2	0,8
min	2,5	2	12	12,5	7,5	1,5	18,5	10,5
25%	2,5	2	12,5	12,5	11,1	1,5	21	12
50%	3	2	12,5	13,5	11,5	1,5	21	12
75%	3	2,2	12,5	13,8	11,5	1,5	22,1	12
max	3,5	2,5	15,5	15,5	12	2,5	22,5	14

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○- în interiorul lotului- p<0,05 ;

Ultimul indice, timpul de relaxare (ca parte componentă a timpului total) în condiții de tripsină *in vitro* (tab. 3.21):

- semnifică o creștere vădită de 3,7 ori în lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor (2,9 sec – lotul martor; 10,8 – lotul tripsin *in vitro*);

- la concentrația înjumătățită a ionilor de Ca (1,25 mM) se observă o scădere cu 21% (de la 2,1 la 1,6 sec);
- ulterior cu creșterea concentrației a ionilor de Ca<sup>+</sup> (7,5 mM) în lotul tripsină *in vitro* timpul de relaxare se mărește cu 66% față de lotul martor (12,7 sec– lotul martor; 21,2 sec- lotul tripsină *in vitro*), aceasta indică un decalaj de 1,7 ori mai mare în lotul tripsină *in vitro* decât în lotul martor;
- apoi la concentrația finală majorată a ionilor de Ca (10 mM) timpul de relaxare deja scade față de lotul martor în lotul tripsină *in vitro* cu 11% (de la 13,5 până la 12 sec).

Reactivitatea la modificările ionilor de Ca prin determinarea duratei relaxării contracției în interiorul fiecărui lot în parte (fig. A1.20), față de concentrația normală a ionilor de calciu (2,5 mM) semnalează următoarele:

- se constată o scădere esențială de 6,6 ori în lotul tripsină *in vitro* la o concentrație diminuată de 1,25 mM (de la 10,8 până la 1,6 sec);
- în același timp la aceeași concentrație în lotul control timpul de relaxare scade doar cu 28%;
- la schimbarea concentrației ionilor de Ca cu cea majoră de 7,5 mM constatăm o creștere de asemenea în ambele loturi doar că în lotul martor este mai accentuată de 4,4 ori (de la 2,9 până la 12,7), pe când în lotul tripsină *in vitro* se mărește aproximativ de 2 ori (de la 10,8 până la 21,2 sec);
- odată cu creșterea în continuare a concentrației ionilor de Ca în soluția de perfuzie până la 10 mM (de 4 ori mărită) timpul relaxării se mărește, deși în ambele loturi, totuși mai esențial se observă (de 4,7 ori), în lotul martor (de la 2,9 până la 13,5 sec), pe când în lotul tripsină *in vitro* decalajul de creștere este doar de 10%, și mai mult de atât față de precedenta concentrație de 7,5 mM a scăzut timpul de relaxare, în lotul martor deși comparativ cu aceeași concentrație 7,5 mM este mărită, decalajul este mult mai mic ca între prima și ultima concentrație (fig. A1.20 în Anexa 1).

### **3.4. Acțiunea tripsinei *in vitro* asupra reactivității venei porte izolate la acțiunea în diferite concentrații a ionilor de Na<sup>+</sup> și H<sup>+</sup>**

Amplitudinea contracției la modificarea concentrației ionilor de Na<sup>+</sup>, prezentată în tabelul 3.22, semnifică următoarele modificări:

- în lotul tripsină *in vitro* se remarcă în condițiile de normo Ca<sup>2+</sup> o scădere față de lotul martor cu 34% (de la 35,3 la 23,4 mg/mg greutatea venei);
- ulterior la mărirea concentrației ionilor de Na<sup>+</sup> (hiper Na) se semnalează de asemenea o scădere cu aceeași proporție de 34 % (de la 43,5 la 29,3 mg/mg) (fig. A1.21 în Anexa 1);

- la micșorarea concentrației ionilor de sodiu, deși amplitudinea în lotul tripsină *in vitro* scade față de lotul martor, aceasta diminuare este mai evidentă ca în cazul concentrațiilor de natriu anterioare și anume cu 70% (61,6 – lotul martor; 18,8 – lotul tripsină *in vitro*);
- în condiții de acidoză, din nou în lotul tripsină *in vitro* amplitudinea este diminuată, valoarea de cădere este de 53% (de la 21,9 la 10,3 mg/mg).

**Tabelul 3.22. Amplitudinea contractei (mg/mg) venei porte izolate în diferite concentrații ale ionilor de Na<sup>+</sup> și H<sup>+</sup>**

Concentrația Na <sup>+</sup> și H <sup>+</sup>	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza
count	19				16			
mean	35,3	43,5 ○	61,6 ○	21,9 ○	23,4 ***	29,3 *** ○	18,8 *** ○	10,3 *** ○
std	2,2	4,5	10,4	4,6	2,2	5,5	2,9	2
min	30,6	37,5	50,6	14,5	20,3	21,8	11,1	7,1
25%	34,3	39,6	55,4	20	21,9	27,5	18	9,4
50%	35,1	43,8	57	21,6	23,2	28,4	19,2	9,5
75%	35,9	46,2	64	24,4	23,9	28,9	20,8	11,8
max	39,7	53,3	86,7	31,5	28,1	46,8	22,5	15

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05 ;

Reactivitatea venei porte în condițiile de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup>, la fiecare lot în parte semnifică următoarele schimbări față de concentrația normală:

- la schimbarea soluției de la normo Na<sup>+</sup> la hiper Na<sup>+</sup> în ambele loturi se remarcă o creștere aproximativ cu aceeași valoare și anume în lotul martor – cu 24% (de la 35,3 până la 43,5%) și în lotul tripsină *in vitro* cu 25% (de la 23,4 până la 29,3 mg/mg);
- apoi cu scăderea concentrației hipo Na (față de normo Na) se observă în lotul martor o creștere de 1,8 ori (de la 35,3 până la 61,6 mg/mg greutate), în cazul lotului tripsină *in vitro* din contra se remarcă o scădere cu 20% (de la 23,4 până la 18,8 mg/mg);
- în cazul acidozei față de soluție inițială de normo Na<sup>+</sup> se constată o scădere în ambele loturi, deși în lotul tripsină *in vitro* amplitudinea scade mai evident cu 53% (de la 23,4 la 10,3 mg/mg greutatea venei), iar în lotul martor cu 38% (de la 35,3 la 21,9 mg/mg greutatea venei).

Frecvența contracțiilor (cont/min) care este prezentată în tabelul 3.23 în condiții de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup>:

- la prima concentrație de normo Na<sup>+</sup> (stabilizare) scade în lotul tripsină *in vitro* cu 45% (de la 6,2 până la 3,4 cont./min);

- la schimbarea soluției în baița de perfuzie cu hiper Na<sup>+</sup> se remarcă o micșorare cu 35% față de lotul martor (de la 3,8 până la 2,6 cont.min);
- pe când în soluție de hipoNa observăm o mică creștere de 15% (de la 3,2 până la 3,7 cont/min);
- în cazul soluției cu acidoză se remarcă o creștere a frecvenței de 2,7 ori (de la 1,8 până la 5 cont/min) (fig A1.22 în Anexa 1).

**Tabelul 3.23. Frecvența contracției (cont/min) venei porte izolate în diferite concentrații ale ionilor de Na<sup>+</sup> și H<sup>+</sup>**

Concentrația Na <sup>+</sup> și H <sup>+</sup>	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza
count	19				16			
mean	6,2	3,8 ○	3,2 ○	1,8 ○	3,4 ***	2,6 *** ○	3,7 **	5 *** ○
std	0,5	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5
min	5	3	3	1	3	2	3	4
25%	6	4	3	2	3	2	3	5
50%	6	4	3	2	3	3	4	5
75%	6,5	4	3	2	4	3	4	5
max	7	4	4	2	4	3	4	6

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului;

Reactivitatea venei porte la modificările ionilor de Na<sup>+</sup> în soluția de perfuzie în interiorul fiecărui lot în parte față de normoNa<sup>+</sup> este următoarea:

- la schimbarea concentrației ionilor de Na<sup>+</sup> spre o concentrație marită (hiper Na<sup>+</sup>) în ambele loturi se remarcă o scădere, însă în lotul martor cu 39% (de la 6,2 până la 3,8 cont./min);
- ulterior în soluțiile cu concentrația micșorată de Na<sup>+</sup> (hipo Na) în lotul martor remarcăm o scădere cu 49% (de la 6,2 până la 3,2 contr.min) pe când în lotul tripsină *in vitro* din contra observăm o mărire cu 7% (de la 3,4 până la 3,7 cont.min):
- acidoza produce o micșorare a frecvenței în lotul martor de 3,4 ori (de la 6,2 până la 1,8 cont/min) pe când în lotul tripsină *in vitro* din contra provoacă o mărire a frecvenței cu 45% (de 1,5 ori, de la 3,4 până la 5 cont/min).

Valoarea intensității funcționării structurilor în condiții de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup> indică următoarele modificări (tab. 3.24):

- o micșorare de 2,6 ori în prima soluție cu o concentrație normală de Na<sup>+</sup> a lotului tripsină *in vitro* față de lotul martor (de la 214,5 până la 80,1);

- ulterior cu mărirea concentrației ionilor de Na<sup>+</sup> în soluția de perfuzie (hiper Na<sup>+</sup>) se observă o micșorare mai mică ca în cazul de normo Na<sup>+</sup> de 53% (de la 159, 4 până la 74,5), în lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor (fig. A1.23 în Anexă);
- în soluțiile cu concentrația micșorată de Na<sup>+</sup> deși din nou se remarcă o scădere în lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor, totuși diminuarea este puțin mai evidentă – cu 66% (de la 196,9 până la 66,9);
- acidoza nu modifică statistic semnificativ intensitatea funcționării structurilor în lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor.

**Tabelul 3.24 Intensitatea funcționării structurilor (mg/mgxmin) venei porte izolate în diferite concentrații ale ionilor de Na<sup>+</sup> și H<sup>+</sup>**

Concentrația Na <sup>+</sup> și H <sup>+</sup>	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza
count	19				16			
mean	214,5	159,4 ○	196,9 ○	40,4 ○	80,1 ***	74,5 ***	66,9 ** ○	50,3 ○
std	15,3	28,7	31,5	8,6	16,3	17,8	14,6	11,3
min	183,6	114	151,8	26,6	60,6	49,6	33,3	35,5
25%	206,6	137,9	173,2	34,4	68,8	57,2	61,6	41,9
50%	210,6	156	192	40,4	72,9	79,9	71,2	47,2
75%	224,7	177	220,4	46,2	90,6	86,6	76,4	59,1
max	240,1	225,2	260	57,4	112,4	108,6	85,6	75

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Reactivitatea mușchiului neted venos în condiții de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup> în interiorul fiecărui lor în parte față de normoNa<sup>+</sup> produce următoarele modificări:

- la schimbarea concentrației ionilor de Na<sup>+</sup> de la concentrația normală la concentrația marită a respectivilor ioni se constată o micșorare a IFS-ului doar în lotul martor cu 26%, pe când în lotul tripsină *in vitro* acelașii indice nu suportă modificări statistic semnificative în comparație cu soluția inițială;
- în soluțiile cu o concentrație micșorată de Na<sup>+</sup> față de cele cu concentrație normală se remarcă o micșorare a indicelui în ambele loturi deși mai evidentă este diminuarea în lotul tripsină *in vitro* decalajul fiind 16% (de la 80,1 până la 66,9), pe când în lotul martor scăderea este doar cu 8% (de la 214,5 la 196,9 cont/min);
- acidoza produce micșorarea intensității funcționării structurilor de 4,9 ori în lotul martor (de la 214,5 până la 40,4), pe când în lotul tripsină *in vitro*, deși provoacă de asemenea diminuare, acidoza reduce valoarea IFS doar cu 30% (de la 80,1 până la 50,3).

**Tabelul 3.25 Suprafața contracției (mm<sup>2</sup>/min) venei porte izolate în diferite concentrații ale ionilor de Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>**

Concentrația Na <sup>+</sup> și H <sup>+</sup>	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza
count	19				16			
mean	947,9	1254,3 ○	1361,5 ○	686,6 ○	680,5 ***	783,6 *** ○	547,7 *** ○	170,2 *** ○
std	47,2	38,4	36,9	61	68,2	44	38,1	23,6
min	838	1189	1289	548	540	667	480	136
25%	926,5	1233	1350	657	657	765,8	515	153
50%	941	1250	1367	680	678,5	787,5	555	162
75%	963,5	1290	1386	705	690,2	811,8	577,5	195
max	1063	1313	1415	869	894	851	597	200

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Suprafața contracției în condiții de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup> (tab. 3.25):

- la prima concentrație de Na<sup>+</sup> (normo Na<sup>+</sup>) se micșorează în lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor cu 28% (de la 947,9 până la 680,5 mm<sup>2</sup>/mm);
- ulterior odată cu mărirea concentrației a ionilor de Na<sup>+</sup>, acest indice din nou se reduce, dar cu 37% față de lotul martor (lotul martor - 1254,3; lotul tripsină *in vitro* – 783,6 mm<sup>2</sup> /min) (fig. A1.24 în Anexa 1);
- în soluțiile cu o concentrație minimală a ionilor de Na<sup>+</sup> se observă o micșorare de 60% în lotul tripsină *in vitro* comparativ cu lotul martor, deci o diminuare mai evidentă decât în concentrațiile majorate a ionilor de Na<sup>+</sup>;
- acidoza produce o micșorare foarte semnificativă în lotul tripsină *in vitro* comparativ cu lotul martor, de 4 ori (de la 686,6 până la 170,2 mm<sup>2</sup>/min).

Reactivitatea venei porte în condiții de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup> față de soluția inițială stabilizatoare (normo Na<sup>+</sup>) în interiorul fiecărui lot în parte denotă următoarele modificări:

- la majorarea concentrației ionilor de Na<sup>+</sup> (hiper Na<sup>+</sup>) se observă o creștere a suprafeței contracției în ambele loturi mai evidentă fiind în lotul martor cu 31% (de la 947,9 mm<sup>2</sup>/min până la 1254,3 mm<sup>2</sup>/min) pe când în lotul tripsină *in vitro*, doar cu 15% (de la 680,5 până la 783,6 mm<sup>2</sup>/min);
- ulterior la o concentrație diminuată de Na<sup>+</sup> (hipo Na<sup>+</sup>) în lotul martor se remarcă o creștere (cu 43% față de soluția cu pH neutru (de la 947,9 până la 1361,5 mm<sup>2</sup>/min), în lotul tripsină *in vitro* din contra se remarcă o micșorare cu 20% (de la 680,5 până la 547,7 mm<sup>2</sup>/min);

- în condițiile acidozei față de concentrația nemodificată a ionilor de  $H^+$ , parametrul se micșorează în ambele loturi, în lotul martor cu 28% (de la 957,9 până la 686,5  $mm^2/min$ ), pe când în tripsină *in vitro* diminuarea este mai evidentă de 4 ori (de la 680,5 până la 170,2  $mm^2/min$ ).

**Tabelul 3.26 Timpul total de contracție (sec) a venei porte izolate în diferite concentrații ale ionilor de  $Na^+$ ,  $H^+$**

Concentrația $Na^+$ și $H^+$	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza
count	19				16			
mean	5,4	10 ○	8,9 ○	22,8 ○	11,5 ***	19 *** ○	9,2 ○	4 *** ○
std	0,9	1,1	0,9	1,2	1,2	1,5	1	0,7
min	4	9	7,5	20	10	16,5	8	3
25%	5	9,2	8,5	22	11	17,9	8,4	3,8
50%	5	10	8,5	23	11	19	9,2	4
75%	6	10	9	23	13	20	10	4,5
max	7,5	13	11	25	13	22	11	5

**Notă:** \* - între loturi; \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ;

○ - în interiorul lotului -  $p < 0,05$ ;

Timpul total de contracție în condiții de modificare a ionilor de  $Na^+$  (tab. 3.26):

- este 2,2 ori mai mare în lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor (5,4 – lotul martor; 11,5- tripsină *in vitro*), la o concentrație normală de  $Na^+$ ;
- în soluțiile cu o concentrație marită de  $Na^+$  de asemenea, ca și în soluții cu  $Na^+$  în normă se remarcă o creștere, dar cu decalaj de 1,9 în lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor (de la 10 până la 19 sec);
- la micșorarea concentrației ionilor de  $Na^+$  nu se remarcă modificări statistic semnificative în lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor;
- acidoza deprimă considerabil timpul total al contracției în lotul tripsină *in vitro* cu un decalaj de 5,8 ori în comparație cu lotul martor (de la 22,8 până la 4 sec).

Reactivitatea venei porte la modificarea ionilor de  $Na^+$  față de soluția inițială stabilizatoare (normo  $Na^+$ ) denotă următoarele schimbări în interiorul fiecărui lot în parte:

- în soluțiile majore de  $Na^+$  (hiper  $Na^+$ ) timpul total al contracției se mărește în ambele loturi, cu 86% în lotul martor (de la 5,4 până la 10 sec) și cu 65% în lotul tripsină *in vitro* (de la 11,5 până la 19 sec);



- apoi odată cu micșorarea concentrației ionilor de Na<sup>+</sup> (hipo Na) în lotul martor indicele se mărește cu 68% (de la 5,4 până la 8,9 sec), pe când în lotul tripsină *in vitro* din contra timpul total al contracției scade cu 20% (de la 11,5 până la 9,2 sec);
- acidoza comparativ cu soluțiile cu pH normal pentru vena porte mărește indicele în lotul martor de 4,3 ori (de la 5,39 până la 22,97 sec, pe când în lotul tripsină *in vitro* se micșorează cu 66% (de la 11,59 până la 3,97) (fig. A1.25 în Anexa 1).

**Tabelul 3.27 Timpul de contracție (sec) a venei porte izolate în diferite concentrații ale ionilor de Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>**

Concentrația Na <sup>+</sup> și H <sup>+</sup>	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza
count	19				16			
mean	2,7	2,7	2,7	2,9	2,6	4,2 *** ○	4,5 *** ○	2 *** ○
std	0,6	0,4	0,4	0,4	0,3	0,9	0,6	0,3
min	2	2,5	2,5	2,5	2	2,5	4	1,5
25%	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	3,9	4	1,9
50%	2,5	2,5	2,5	3	2,5	4,5	4,5	2
75%	2,5	2,8	2,8	3	3	5	5	2
max	5	4	3,5	4	3	5	5,5	2,5

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Timpul contracției în condiții de modificare a ionilor de Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup> (tab. 3.27):

- în ambele loturi este aproape identic în soluția stabilizatorie cu concentrație normală de Na<sup>+</sup>;
- ulterior în soluțiile cu o concentrație majorată de Na<sup>+</sup> acest indice se mărește cu 56% în lotul tripsină *in vitro* față de lotul martor (de la 2,7 până la 4,2 sec);
- în soluțiile de perfuzie cu o deficiență a ionilor de Na<sup>+</sup> (hipo Na<sup>+</sup>) remarcăm de asemenea o majorare, în lotul tripsină *in vitro* comparativ cu controlul, doar că această creștere are amploare ceva mai mare de 65% (de la 2,63 până la 4,53);
- în soluțiile în care este prezentă o concentrație mărită a ionilor de H<sup>+</sup> (acidoza) comparativ cu soluțiile stabilizatorii cu pH-ul normal se constată o scădere a timpului de contracție cu 31%, adică se reduce de 1,5 ori (de la 2,9 până la 2 sec) (fig. A1.26 în Anexa 1).

În ceea ce privește reactivitatea la modificarea concentrației ionilor de Na<sup>+</sup> și H<sup>+</sup> în interiorul fiecărui lot în parte:

- nu se constată nici o schimbare statistic semnificativă, în interiorul lotului martor atât în hiper Na<sup>+</sup>, hipo Na<sup>+</sup>, cât și în acidoză, pe când în interiorul lotului tripsină *in vitro* se observă o

creștere a timpului contracției odată cu sporirea concentrației ionilor de Na<sup>+</sup> în soluția de perfuzie (hiper Na<sup>+</sup>), cu 63% (de la 2,6 până la 4,2 sec) față de soluția inițială (normo Na<sup>+</sup>);

- odată cu micșorarea concentrației ionilor de Na<sup>+</sup> (hipo Na<sup>+</sup>) de asemenea ca și în cazul stării de hiper Na<sup>+</sup> se mărește indicele, doar ca valoarea procentuală a acestei mărituri este un pic mai evidențiată și anume de 72% (de la 2,6 până la 4,5 sec);
- ultima stare de acidoză denotă în interiorul lotului efectul tripsinei *in vitro*, astfel că față de soluția cu concentrația normală a ionilor de H<sup>+</sup>, timpul contracției scade cu 31% (de la 2,6 până la 2 sec).

**Tabelul 3.28 Timpul de relaxare (sec) a venei porte izolate în diferite concentrații ale ionilor de Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>**

Concentrația Na <sup>+</sup> și H <sup>+</sup>	Martor				tripsină <i>in vitro</i>			
	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza	normo Na	hiperNa	hipoNa	acidoza
count	19				16			
mean	2,7	7,3 ○	6,2 ○	19,9 ○	8,9 ***	14,8 *** ○	4,7 *** ○	2 *** ○
std	0,5	1	1	1,3	1,2	1,4	0,8	0,4
min	2	6,5	5	17	7	12,5	4	1,5
25%	2,5	6,5	5,5	19	8,5	14	4	1,9
50%	2,5	7	6	20	8,5	15	4,5	2
75%	3	7,5	6,2	20,5	10,1	15,2	5	2,1
max	4	10	8,5	22,5	10,5	17	6,5	2,5

**Notă:** \* - între loturi; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Timpul de relaxare (durata perioadei de relaxare) atestă următoarele schimbări vizavi de modificarea ionilor de Na<sup>+</sup> și celor de H<sup>+</sup> (tab. 3.28):

- în prima soluție unde toți ionii inclusiv cei de Na<sup>+</sup> se află în concentrații normale se remarcă o creștere a indicelui de 3,2 ori în comparație cu lotul martor (de la 2,7 la 8,9 sec);
- la schimbarea soluției cu o concentrație majoră de Na<sup>+</sup>, timpul de relaxare se mărește de 2 ori (de la 7,3 până la 14,8 sec);
- în soluțiile cu o concentrație micșorată de Na (hipoNa) se observă o scădere a indicelui cu 25% comparativ cu lotul martor (de la 6,2 până la 4,7 sec);
- acidoza, comparativ cu soluția stabilizatorie, obișnuită pentru contracțiile normale ale venei portă în lotul tripsină *in vitro*, comparativ cu martorul induce un decalaj de 5,2 ori mai mic (de la 19,9 până la 2 sec).

Reactivitatea mușchiului neted venos parțial la modificările ionilor de Na<sup>+</sup> și H<sup>+</sup> în fiecare lot în parte față de soluția cu conținut ionic stabil semnifică următoarele:

- în soluțiile de hiper  $\text{Na}^+$  timpul relaxării se mărește în lotul tripsină *in vitro* de 2 ori (de la 8,9 până la 14,8), pe când în lotul martor ceva mai mult de 2,7 ori (de la 2,7 până la 7,3 sec);
- la schimbarea soluției inițiale cu soluția deficientă de  $\text{Na}^+$  remarcăm o creștere a indicelui în lotul martor de 2,2 ori (de la 2,7 până la 6,2 sec), dar în lotul tripsină, din contra timpul relaxării se micșorează de 1,9 ori (de la 8,9 până la 4,7 sec);
- în soluția cu concentrația mărită a ionilor de  $\text{H}^+$  ca acidoza în lotul martor indicele crește de 7,5 ori (de la 2,7 până la 19,9), iar în lotul tripsină *in vitro* din contra scade de 4,5 ori (de la 8,9 până la 2 sec) (fig. A1.27 în Anexă).

### 3.5. Acțiunea tripsinei asupra contracturii venei porte izolate indusă de $\text{K}^+$ și cofeină

Rezultatele prezentate în tabelul 3.29 indică, că la depolarizarea susținută prin soluția de concentrație mare a ionilor de  $\text{K}^+$  (140 mM), anume prin procedura de calibrare a preparatului din vena portă, valoarea contractției maxime în lotul experimental este mai mică (-30%) comparativ cu lotul martor.

**Tabelul 3.29. Indicii contractilității venei porte izolate indusă de cofeină (10 mM) și soluția KCl (140 mM) în pretratarea ei cu tripsină (0,2 mg/mL), (media  $\pm$  DS)**

Nº	Indicii	Martor (n=10)	Tripsină (n=10)
1.	Amplitudinea, mg/mg,	35,5 $\pm$ 1,5 (39 $\pm$ 5%)	21,1 $\pm$ 1,6* (33 $\pm$ 5%)
2.	Frecvența, cont/min	6 $\pm$ 0,4	4 $\pm$ 0,4*
3.	IFS, mg/mg.min	214 $\pm$ 19	85 $\pm$ 9*
4.	Contract-cofeină, mg/mg	18 $\pm$ 1 (20 $\pm$ 3%)	10 $\pm$ 1* (16 $\pm$ 3%)
5.	Contract-KCl, mg/mg	92 $\pm$ 6 (100%)	64 $\pm$ 5* (100%)

**Notă:** \* -  $p < 0,05$ ; n – numărul de animale

Răspunsul contractil la cofeină (10 mM) în valoare absolută este de asemenea diminuat (-44%) în preparatele incubate (30 min) în soluție cu tripsină comparativ cu lotul martor. Prin aceasta se face imaginea atacării compartimentului reticulului sarcoplasmatic de proteaze. Analiza aportului acestui compartiment în contractura de calibrare indică că valoarea (16%) lui nu este semnificativ mai mică decât cea înregistrată în lotul martor (20%) ceea ce exclude probabilitatea implicării majore în efectele înregistrate.

Deoarece amplitudinea contracțiilor spontane prezentate în raport de contractia de calibrare de asemenea nu se deosebește esențial în ambele loturi (39% - martor; 33% - tripsină) se poate de

presupus că cauza depresiei contractilității și modificării programului de activitate contractilă a mușchiului vascular în răspuns la acțiunea tripsinei este alterarea compartimentului contractil, predominant de influxul  $Ca^{2+}$  prin canalele L-lente (tab 3.29).

### 3.6. Răspunsul venei porte izolate la acțiunea acetilcolinei și carbacol în prezența tripsinei

#### *Răspunsul venei porte la acetilcolină*

În scopul modelării mobilizării mastocitelor vasculare s-a utilizat excitantul natural al mastocitelor – acetilcolina.

**Tabelul 3.30. Modificările contractilității venei porte izolate la acțiunea acetilcolinei (Ach), inhibitorului tripsinei (Inh) și heparinei (Hep), (media ± DS)**

Loturi	Indicii	Amplitudinea, mg/mg	Frecvența, cont/min	IFS mg/mgxmin	Durata totală a contracției, sec
Martor (n=6)		34,5 ± 3,1	6 ± 0,5	206 ± 19	7 ± 1,5
Ach(10 <sup>-5</sup> M)		33,1 ± 2,7	1 ± 0,1*	33 ± 3*	29 ± 0,5*
Inh (336 IU/ml) (n=6)		13,1 ± 3,3*	6,5 ± 1,4	96 ± 20*	4,5 ± 1,4
Ach (10 <sup>-5</sup> M)		27,9 ± 6,3*	1 ± 0,4*	29 ± 15*	22,5 ± 4,1*
Hep(10 <sup>-5</sup> M) (n=6)		26,7 ± 3,0	6 ± 0,5	113 ± 31*	9 ± 0,8
Ach(10 <sup>-5</sup> M)		39,1 ± 1,2*	1 ± 0,1*	39 ± 1*	33 ± 0,8*

**Notă :** \* - p < 0,05 comparativ martor;

• - p < 0,05 comparativ Inh sau Hep.

Rezultatele prezentate în tabelul 3.30 indică că acetilcolina nu modifică esențial amplitudinea contracțiilor spontane, dar micșorează esențial frecvența acestor contracții de la 6 la 1 pe min (-83) cu creșterea concomitentă a duratei contracției de la 7 la 29 sec (de 4 ori). Intensitatea funcționării structurilor (IFS) scade de 6 ori (de la 206 până la 33mg/mgxmin) la acțiunea acetilcolinei pe contul micșorării frecvenței.

Inhibitorul tripsinei (soia) care în afără inhibiției triptazei, eliminată de mastocite și prevenirea sintezei oxidului nitric provocată de citochinine și lipopolizaharide, de asemenea inhibă influxul de  $Ca^{2+}$  în miocitele mușchiului neted vascular.

Rezultatele prezentate în tabelul denotă micșorarea amplitudinii contracției (+62%) de 2,6 în lotul inhibitorului față de lotul martor (de la 34,5 până la 13,1 mg/mg).

În același timp frecvența nu suferă modificări esențiale. Durata de asemenea nu semnaleză schimbări statistic semnificative, pe când IFS-ul se micșorează în lotul inhibitorului tripsinei de la 206 până la 96 mg/mgxmin. Această modificare este legată preponderent de micșorarea amplitudinii contracției.

Introducerea acetilcolinei pe fundalul inhibitorului tripsinei atestă că amplitudinea nu denotă o modificare statistic semnificativă, doar o mică tendință de micșorare pe când frecvența contracției scade de la 6 la 1 cont/min față de lotul martor. Durata contracției se mărește față de martor (de la 7 până la 22,55) de 3 ori. Intensitatea funcționării structurilor denotă o micșorare esențială de 7,2 ori (de la 206 mg/mgxmin până la 29 mg/mgxmin), bazată preponderent de micșorarea substanțială a frecvenței (tab 3.30).

Heparina este un stabilizator puternic al mastocitelor, fiind concomitent un antagonist al receptorilor inozitol trifosfat (rIP<sub>3</sub>) din membrana reticolului sarcoplasmatic.

Din tabelă 3.30 se evidențiază că heparina provoacă micșorarea amplitudinii contracțiilor spontane în valori nesemnificative, frecvența staționează. Durata totală a contracției se modifică esențial, în schimb IFS se micșorează de la (206 până la 113 mg/mgxmin) de 1,8 ori.

Răspunsurile la acetilcolină în prezența heparinei (10<sup>-4</sup> M; 250 M/anti-Xa) față de lotul martor nu prezintă modificări. Frecvența contracțiilor este micșorată substanțial (de la 6 până la 1 cont/min). Durata totală a contracției se mărește aproape de 5 ori (de la 7 până la 335) față de martor. Valoarea IFS se micșorează de 5,3 ori (de la 206 la 39 mg/mgxmin), este legată de scăderea considerabilă a frecvenței.

Răspunsul la acetilcolină în prezența inhibitorului tripsinei față de inhibitorul tripsin solitar denotă următoarele modificări: creșterea amplitudinii contracției de la (13,1 până la 27,9 mg/mg) circa de 2 ori; frecvența scade esențial de la 6,5 până la 1 cont/min; durata contracției se mărește de 5 ori (de la 4,5 până la 22,5); intensitatea funcționării structurilor se micșorează de 3,3 ori (de la 96 până la 29 mg/mgxmin).

Răspunsul la acetilcolină în prezența heparinei (10<sup>-4</sup> M; 250 M/anti-X) (tab.6) față de heparina solitară crește, atinge aproape valorile răspunsului preparatelor din lotul martor, ceea ce indică absența atacării compartimentului non-contractil. Frecvența se micșorează de la 6 până la 1 cont/min. Durata contracției acetilcolinei pe același fundal de heparină semnifică o creștere de 3,6 ori (de la 9 până la 33 sec). Intensitatea funcționării structurilor se micșorează aproape de 3 ori (de la 113 până la 39 mg/mgxmin) (tab 3.30). Aceste schimbări denotă că proteazele serinice când se eliberează din mastocite, determină o modificare a contractilității.

#### ***Răspunsul venei porte la acțiunea diferitor concentrații de tripsină și carbacol***

Acțiunea unei concentrații joase de tripsină (10 nM) a determinat o mărire a amplitudinii a venei porte cu 19%, suprafeței de contracție cu 14% și timpului total al contracției cu 33% comparativ cu stabilizarea. Aceasta creștere a timpului total al contracției este condiționată tranșant pe seama timpului relaxării (+71%), durata contracției propriu zise rămânând stabilă. De

asemenea modificări verosimile statistic determinate nu se observă în cazul frecvenței și intensității funcționării structurilor (tabelul 3.31).

**Tabelul 3.31 Contractilitatea venei porte izolate la acțiunea diferitor concentrații de tripsină, (media ± DS)**

Lot Indici	Stabilizare (n=10)	Tripsină 10,0 nM (n=10)	Tripsină 21,0 nM (n=10)	Tripsină 42,0 nM (n=10)
Amplitudinea, mg/mg	35,1±2,1	41,8±2,4*	32,9±4,7	23,4±2,1*
Frecvența, con/min	6,0±0,4	5,0±0,4	4,5±0,5*	3,5±0,5*
Suprafața, mm <sup>2</sup> /min	987±23	1121±27*	1059,5±36*	689±24*
IFS, mg/mg×min	209,7±65	206,8±11,6	146,2±12*	81,3±9,3*
Timpul total al contractiei, sec	5,7±0,7	7,6±0,5*	9,8±0,6*	12,7±0,8*
Timpul contractiei, sec	2,8±0,3	2,8±0,5	3,6±0,5	5,0±0,01*
Timpul relaxării, sec	2,8±0,3	4,8±0,9 *	6,2±0,6*	7,8±0,7*

*Notă:* \* - p>0,05

Majorarea în continuare a dozei de tripsină de 2 ori (21,0 nM), este însoțită de revenirea amplitudinii contractiei în limitele erorii statistic admise în raport cu stabilizarea fără de tripsină, concomitent este crescută suprafața contractiei cu o valoare ceva mai mică (+7%) decât doza inițială de tripsină în raport cu aceeași stabilizare. În continuare crește timpul total al contractiei (+41%). În același timp se remarcă reducerea frecvenței contractiei cu 25%. Valoarea IFS de asemenea scade (-30%), fără echivoc pe seama scăderii frecvenței.

Doza finală de tripsină (42,0 nM), care este totodată și doza de lucru, provoacă deja o scădere substanțială a indicilor contractiei venei portă în raport cu stabilizarea, cu excepția parametrilor de timp: amplitudinea contractiei (-33%), frecvența (-42%), suprafața (-30%), intensitatea funcționării structurilor (-61%) (tab. 3.31). Concomitent cresc parametrii de timp: cel mai mult crește timpul relaxării (de 2,8 ori), timpul total al contractiei se mărește de 2,2 ori, iar timpul fazei de contracție propriu zise se majorează cu 79%.

Așadar, *per ansamblu* este de menționat amplitudinea maximă a tripsinei în concentrația mică a tripsinei (10 nM) și declinul ei odată cu creșterea concentrației până al 21 și 42 nM (fig.A1.28 din Anexa 1). Frecvența contracțiilor venei porte izolate a avut o tendință similară, astfel că cei doi parametri care derivă, suprafața contracțiilor și intensitatea funcționării structurilor de asemenea au excelat prin valoarea lor maximă la concentrația tripsinei de 10 nM cu decrementul la creșterea concentrației cationului (figurile A1.29-A1.31 din Anexa 1). Timpul total de contracție, cât și derivatele iminente, timpul de contracție și relaxare, au avut o dinamică opusă

frecvenței contracției venei porte izolate (figurile A1.32 – A.134 din Anexa 1). Valorile acestor indici s-au decelat minime la concentrația calciului de 10 nM și maxime la concentrația cationului de 42 nM.

Acțiunea carbacolului asupra contractilității mușchiului neted vascular este similară tripsinei. Concentrația joasă de carbacol (1 μM) induce creșterea indicilor așa ca a: amplitudinii contracției (+26%), suprafeței contracțiilor (+89%), și în deosebi mai evidențiată, a timpului total al contracției, care crește de 3 ori, predilect pe contul timpului relaxării, care se mărește de 5 ori. Frecvența contracției cât și *Intensitatea funcționării structurilor* se micșorează evident cu 48% și, respectiv, 34% (tab. 3.32).

**Tabelul 3.32. Acțiunea carbacolului în diferite concentrații asupra contractilității venei porte izolate, (media ± DS)**

Indici \ Lot	Stabilizare (n=12)	Carbacol 1 μM (n=12)	Carbacol 100 μM (n=12)	Carbacol 1 mM (n=12)
Amplitudinea, mg/mg	34,4±3,4	43,2±3,6*	30,3±3,3	20,5±2,3*
Frecvența, con/min	6±0,4	3,1±0,4*	3,1±0,3*	2,3±0,5*
Suprafața, mm <sup>2</sup> /min	985,4±33,8	1864,4±137*	1371±77*	795±19,3*
IFS, mg/mg×min	207±20	137±20*	92,7±7,8*	46±8,8*
Timpul total al contracției, sec	6,1±0,5	18,9±1*	16,4±0,9*	11,4±0,8*
Timpul contracției, sec	3±0,2	3,6±0,8	3,3±0,6	5,6±0,4*
Timpul relaxării, sec	3±0,2	15,3±0,8*	12,9±0,8*	5,6±0,4*

**Notă:** \* - p>0,05 vs stabilizare

Ulterior la mărirea concentrației de carbacol (100 μM), forța de contracție (amplitudinea) revine la nivelul inițial, comparativ cu stabilizarea, frecvența contracției rămâne scăzută față de nivelul inițial (-48%), de altfel în aceeași măsură ca și doza anterioară. Suprafața contracțiilor este mărită cu 40%, mai puțin ca în prima doză, de asemenea rămâne crescut timpul total al contracțiilor (de 2,7 ori marit față de stabilizare), nemijlocit pe seama timpului relaxării, care este crescut de 4.3 ori. Intensitatea funcționării structurilor este micșorată ceva mai mult ca prima doză de carbacol (- 54%).

Carbacolul în doză maximală (1 mM) provoacă micșorarea considerabilă a amplitudinii contracțiilor cu 40%, IFS-ul cu 78% și suprafața contracțiilor cu 19%, comparativ cu stabilizarea în acelașii timp, timpul total al contracției fiind mărit față de nivelul inițial cu 87%, mai puțin ca primele 2 doze. În egală măsură sunt mărite timpul contracției și timpul relaxării (+86%).

Astfel, compararea dinamicii contractilității venei porte la acțiunea concentrațiilor crescânde de carbacol aduce la apel o similitudine notabilă cu dinamica acestora la acțiunea tripsinei în concentrații crescânde: valoarea maximă a amplitudinii și frecvenței contracției, cât și a derivatelor inerente (suprafața contracției și IFC) la concentrația minimală (1 μM) cu panta de decrement până la concentrația maximă de 1 mM (figurile A.135-A1.38 în Anexa1). Totodată, timpul total de contracție, timpul fazei de contracție și de relaxare demonstrează pe palierul creșterii concentrației carbacolului o ascensiune inteligibilă (figurile A1.39-A1.41 în Anexa 1).

Acțiunea carbacolului în concentrația de (1 μM) asupra venei porte izolate pretratată cu tripsină (42 nM), a provocat scăderea contracțiilor prin diminuarea majorității indicilor contracției (tab. 3.33). Astfel, amplitudinea contracției s-a redus 43%, suprafața contracției cu 43%, frecvența contracțiilor cu 62% și intensitatea funcționării structurilor cu 79. Totodată timpul total al contracției s-a mărit de 3,2 ori, în egală măsură atât pe baza timpului contracției, cât și pe baza timpului relaxării (tabelul 3.33).

**Tabelul 3.33. Acțiunea carbacolului asupra contractilității venei portă izolate în prezența tripsinei, (media ± DS)**

Indici \ Lot	Stabilizare (n=10)	Tripsină 42,0 nM (n=10)	Carbacol pe fundalul tripsinei 1 μM (n=10)
Amplitudinea, mg/mg	35,1±2,1	23,4±2,1*	19,4±1,3*
Frecvența, con/min	6,0±0,4	3,5±0,5*	2,3±0,5*
Suprafața, mm <sup>2</sup> /min	987±23	689±24*	564,5±53,4*
IFS, mg/mg×min	209,7±65	81,3±9,3*	44,5±7,7*
Timpul total al contracției, sec	5,7±0,7	12,7±0,8*	18,4±0,7*
Timpul contracției, sec	2,8±0,3	5,0±0,01*	9,1±0,5*
Timpul relaxării, sec	2,8±0,3	7,8±0,7*	9,3±0,4*

Notă: \* - p>0,05 vs stabilizare

### 3.7. Acțiunea tripsinei asupra venei porte izolate cu endoteliu denudat

#### *Contractilitatea venei porte în prezența și absența oxidului nitric cu endoteliu denudat în condiții de tripsină in vitro*

Studiindu-se contractilitatea venei porte în prezența și absența oxidului nitric (NO) cu endoteliu denudat sau cercetat următoarele loturi: lotul martor (lotul control cu endoteliu intact); lotul tripsină *in vitro* (cu endoteliu intact); lotul acid colic (lotul martor cu endoteliu denudat); lotul tripsină *in vitro* + acid colic (lotul tripsină cu endoteliu denudat).



**Tabelul 3.34. Acțiunea tripsinei asupra amplitudinii contracției (mg/mg) venei porte izolate cu sau fără endoteliu, precum și în prezența sau absența NO (media ± DS)**

Lotul	Stabilizarea	+ NO	- NO
<b>Martor (n=11)</b>	34,8 ± 3,99	28,65 ± 2,19 ○	35,4 ± 5,73 ●
<b>Tripsină <i>in vitro</i> (n=10)</b>	*** 24,31 ± 2,73	*** 15,73 ± 3,71 ○	*** 11,72 ± 2,6 ● ○
<b>Acid colic (n=9)</b>	*** 24,35 ± 2,15	25,7 ± 7,72 ▲▲	*** 22,61 ± 7,38 ▲▲
<b>Tripsină + acid colic (n=9)</b>	*** 12,83 ± 2,16 ▲▲▲ ■ ■ ■	*** 11,63 ± 2,91 ▲ ■ ■ ■	*** 10,94 ± 2,81 ■ ■

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului față de lotul martor- p<0,05 ;

● - în interiorul lotului față de lotul + NO - p<0,05;

Amplitudinea contracției venei porte izolate comparate între loturi semnifică modificări notabile (tabelul 3.34):

În soluțiile stabilizatorii, în lotul cu tripsină *in vitro* cu endoteliu intact față de lotul martor cu endoteliu intact acest indice se micșorează cu 30%. De asemenea în lotul cu denudarea endoteliului (acid colic) se remarcă același decalaj (-30%), față de lotul martor cu endoteliu intact. Același indice se micșorează mai evident, cu 61%, în lotul combinării tripsinei cu endoteliu denudat (lotul tripsină + acid colic). Deci, combinarea acestor 2 factori și mai mult micșorează indicele, decât influența separată. Între lotul tripsină *in vitro* și lotul acid colic (denudarea endoteliului) nu este o deosebire statistic semnificativă a amplitudinii, pe când în lotul cu combinarea tripsinei și denudarea endoteliului (tripsină + acid colic) indicele se micșorează față de lotul tripsină *in vitro* cu 48 %. Aceeași combinație a tripsinei cu endoteliu denudat indică o scădere identică cu 48% și față de lotul cu denudarea solitară (fig. A2.1 în Anexa 2).

În timpul eliberării oxidului nitric (+NO) se constată o micșorare a amplitudinii contracției cu 45% în lotul cu tripsină *in vitro* cu endoteliu intact față de lotul martor cu endoteliu intact. Pe când în cazul lotului martor cu endoteliu denudat nu este o deosebire statistic semnificativă comparativ cu lotul martor cu endoteliu intact. Combinarea tripsinei cu denudarea endoteliului (tripsină + acid colic) certifică o scădere evidentă de 2.7 ori a indicelui față de lotul martor cu endoteliu intact (-60%).

Amplitudinea contracției lotului martor cu denudarea endoteliului este crescută cu 63% comparativ cu lotul tripsină *in vitro* cu endoteliu intact. Tripsină pe fundalul denudării micșorează acest indice cu 26% față de influența separată a tripsinei, și mai mult scade amplitudinea (-55%) comparativ cu lotul cu denudarea separată (lotul acid colic) (fig. A2.1 în Anexa 2).

În timpul stopării eliberării oxidului nitric (-NO) amplitudinea contracției scade în lotul cu tripsină *in vitro* cu endoteliu intact față de lotul martor cu endoteliu intact de 3 ori (-67%). În lotul martor cu endoteliu denudat (lotul acid colic) acest indice 36% în raport cu același lot martor cu endoteliu intact, pe când comparativ cu lotul tripsină *in vitro*, din contra este crescut cu 93%. În timpul aceleași stopări de eliberare a NO în lotul tripsină cu denudarea endoteliului (lotul tripsină + acid colic), amplitudinea contracției descrește de 3,2 ori (-70%) comparativ cu lotul martor cu endoteliu intact și de 2 ori comparativ cu denudarea separată (-52%). Pe când în raport cu influența separată a tripsinei cu endoteliu intact (lotul tripsină *in vitro*) deosebiri statistice semnificative nu se constată. În interiorul fiecărui lot în parte, în timpul eliberării și stopării NO, comparativ cu stabilizare, amplitudinea contracției semnifică următoarele (fig. A2.1 în Anexa 2):

În lotul martor în timpul eliberării oxidului nitric (+NO) se micșorează amplitudinea cu 18%. Ulterior în timpul stopării oxidului nitric(- NO) nu se remarcă schimbări statistice semnificative, față de soluția inițială (stabilizare). Pe când între aceste două stări, (eliberarea și blocarea NO) există un decalaj de 24%, în sensul mării amplitudinii la stopare eliberării NO comparativ cu eliberarea NO.

În interiorul lotului tripsină *in vitro* cu endoteliu intact (tripsină *in vitro*), eliberarea de NO provoacă reducerea indicelui cu 35%, comparativ cu soluția stabilizatoare. Ulterior la stoparea eliberării de NO același indice iarăși scade față de soluția stabilizatoare însă cu un decalaj de 52%. Amplitudinea contracției la stoparea eliberării de NO este micșorată cu 25% comparativ cu același indice în momentul eliberării de NO.

În interiorul lotului martor cu denudarea endoteliului (lotul acid colic) nu se remarcă nici o deosebire statistic semnificativă atât la eliberarea cât și la stoparea eliberării de NO, de asemenea nu există variație nici între aceste două stări. În interiorul lotului cu combinarea tripsinei cu denudarea endoteliului (lotul tripsină + acid colic) de asemenea nu se constată schimbări statistice semnificative atât față de stabilizare, cât și comparativ între ele (eliberarea de NO față de blocarea eliberării de NO). Frecvența contracției în condiții de eliberare și blocare a NO atestă de asemenea schimbări importante (tabelul 3.35).

**Tabelul 3.35. Frecvența contracției (cont/min) venei porte izolate cu sau fără endoteliu, în prezența și absența NO (media ± DS)**

Lotul	Stabilizarea	+ NO	- NO
<b>Martor (n=11)</b>	6,2 ± 0,42	7,5 ± 0,85 <sup>○</sup>	7,2 ± 0,42 <sup>○</sup>
<b>Tripsină <i>in vitro</i> (n=10)</b>	*** 3,4 ± 0,52	*** <sup>○</sup> 2,6 ± 0,52	*** <sup>●</sup> 3,1 ± 0,57
<b>Acid colic (n=9)</b>	** 7,38 ± 0,92 ▲▲	6,88 ± 0,64 ▲▲▲	<sup>●</sup> 7,63 ± 1,19 ▲▲▲
<b>Tripsină + acid colic (n=9)</b>	*** 4,5 ± 0,53 ▲▲▲ ■ ■ ■	*** 4,63 ± 0,52 ▲▲▲ ■ ■ ■	*** 4,63 ± 0,52 ▲▲▲ ■ ■ ■

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului față de lotul martor - p<0,05;

● - în interiorul lotului față de lotul + NO - p<0,05.

În condițiile stabilizării se certifică o micșorare a frecvenței cu 45% a lotului tripsină *in vitro* cu endoteliu intact comparativ cu lotul martor cu endoteliu intact. Pe când în lotul martor cu denudarea endoteliului (lotul acid colic), din contra, acest indice se mărește cu 19% în raport cu același lot martor cu endoteliu intact. La combinarea tripsinei cu denudarea endoteliului de asemenea se constată o scădere care are o cotă de 27%. În lotul martor cu denudarea endoteliului (lotul acid colic) comparativ cu influența solitară a tripsinei (lotul tripsină *in vitro*), frecvența crește de 2.2 ori. Combinarea tripsinei cu denudarea endoteliului (lotul tripsină+ acid colic) comparativ cu lotul tripsină cu endoteliu intact indică o frecvență mărită cu 32%, pe când în lotul cu denudare solitară indicele scade cu 39% (fig. A2.2 în Anexa 2).

În condiții de eliberare a oxidului nitric (+NO), în lotul tripsină cu endoteliu intact (lotul tripsină *in vitro*) acest indice scade aproape de 3 ori comparativ cu lotul martor cu endoteliu intact. În aceeași condiție de eliberare a NO lotul cu endoteliu denudat (lotul acid colic) posedă o frecvență ce nu se deosebește statistic semnificativ în comparație cu lotul cu lotul martor cu endoteliu intact, pe când comparativ cu lotul tripsină cu endoteliu intact frecvența contracției este mărită de 2,6 ori. În lotul combinării tripsinei cu denudarea endoteliului deși frecvența contracției se micșorează cu 39 % comparativ cu lotul cu endoteliu intact, comparativ cu lotul cu denudare (lotul acid colic) descrește mai puțin (-33%), iar comparativ cu acțiunea separată a tripsinei fără denudare (lotul acid colic) din contra este crescută de 1,8 ori (+70%) (fig. A2.2 în Anexa 2).

În condiții de blocare a oxidului nitric se remarcă o scădere a indicelui în lotul tripsină cu endoteliu intact în comparație cu lotul martor cu endoteliu intact de 2.3 ori (57%). În lotul cu denudarea endoteliului (lotul acid colic) nu se observă o diferență statistic semnificativă, față de lotul martor cu endoteliu intact, în schimb în comparație cu lotul tripsină cu endoteliu intact frecvența crește de 2.4 ori. Combinarea tripsinei cu denudarea endoteliului prezintă un indice micșorat cu 36% față de lotul martor cu endoteliu intact, de asemenea micșorat cu 39% față de lotul martor cu denudarea endoteliului (lotul acid colic), și din contra crescut cu 49% față de lotul tripsină cu endoteliu intact.

În interiorul fiecărui lot în condiții de eliberare și blocare a NO se constată modificări caracteristice ale frecvenței comparativ cu nivelul de stabilizare (fig. A2.2 în Anexa 2).

În lotul martor cu endoteliu intact frecvența crește cu 21% în condiții de eliberare a oxidului nitric (+NO), pe când în condiții de blocare a eliberării oxidului nitric (-NO) se remarcă o majorare cu 16% față de starea inițială stabilizatoare.

În interiorul lotului tripsină *in vitro* față de soluția inițială se observă o micșorare a indicelui cu 24% în condiții de eliberare a NO, pe când în condiții de blocare a eliberării NO nu se constată schimbări statistic semnificative a frecvenței contracției, față de starea stabilizatoare, dar în comparație cu starea de eliberare de NO, stoparea eliberării oxidului nitric mărește indicile cu 19%. În interiorul lotului martor cu denudarea endoteliului nu se remarcă modificări statistic semnificative nici în condiții de eliberare a NO nici în condițiile blocării respectivei substanțe.

Intensitatea funcționării structurilor atestă următoarele schimbări (tab. 3.36). În condițiile stabilizării intensitatea funcționării structurilor se micșorează în lotul tripsină *in vitro* cu endoteliu intact față de lotul martor cu endoteliu intact cu 62%, și mai puțin semnificativă (-17%) este aceeași micșorare pentru lotul cu denudarea solitară (lotul acid colic) față de același lot martor. Totuși în lotul cu denudare acest indice crește de 2.2 ori față de lotul tripsină *in vitro*. Combinarea tripsinei cu denudarea endoteliului este caracterizată cu prezența unui IFS micșorat cu 74% (de 3,8 ori) față de lotul martor cu endoteliu intact, de asemenea scăzut dar cu 69% (de 3,1 ori) față lotul martor cu denudarea endoteliului, iar față de lotul tripsină cu endoteliu intact descreșterea este ceva mai mică, doar cu 32%, comparativ cu decalajul față de celelalte 2 loturi. Eliberarea de oxid nitric (+NO) prezintă intensitatea funcționării structurilor de 5,3 ori mai mic în lotul tripsină *in vitro* în comparație cu lotul martor cu endoteliu intact. În aceeași situație de eliberare a NO IFS-ul lotului cu denudarea solitară a endoteliului (lotul acid colic) nu evedentiază schimbări statistic semnificative.

**Tabelul 3.36 Intensitatea funcționării structurilor(mg/mg<sup>x</sup>min ) a venei porte izolate cu sau fără endoteliu și în prezența sau absența NO (media ± DS)**

Lotul	Stabilizarea	+ NO	- NO
Martor (n=11)	214,8 ± 18,0	210,5 ± 39,13	○ ● 257,0 ± 35,53
Tripsină <i>in vitro</i> (n=10)	*** 82,62 ± 16,0	*** ○ 39,42 ± 5,1	*** ○ ● 35,5 ± 3,09
Acid colic (n=9)	*** 178,13 ± 8,63 ▲▲▲	178,13 ± 39,84 ▲▲▲	*** 166,0 ± 32,07 ▲▲▲
Tripsină + acid colic (n=9)	*** 56,8 ± 4,64 ▲▲▲ ■■■	*** 52,89 ± 9,77 ▲▲▲ ■■■	*** 49,8 ± 9,98 ▲▲▲ ■■■

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului față de lotul martor- p<0,05;

● - în interiorul lotului față de lotul + NO- p<0,05;

Același lot cu denudarea endoteliului sporește de 4,5 ori în comparație cu lotul tripsină *in vitro* cu endoteliu intact. Combinarea tripsinei cu denudarea endoteliului (lotul tripsină + acid colic) posedă intensitatea funcționării structurilor aproape de 4 ori mai mică decât în lotul martor cu endoteliu intact. În comparație cu lotul martor cu endoteliu denudat, aceeași combinație a tripsinei cu denudarea prezintă un indice de 3,4 ori mai redus. Altfel este situația comparativ cu lotul tripsină endoteliu intact unde valoarea IFS a lotului propriu combinării tripsinei cu denudarea endoteliului crește cu 34%.

În condițiile stopării de NO se observă o scădere substanțială circa de 7,2 ori a indicelui în lotul tripsină *in vitro* comparativ cu lotul martor cu endoteliu intact, iar în lotul cu denudare (lotul acid colic) se remarcă o micșorare cu 32 % față de lotul martor. În schimb lotul cu denudare față de lotul tripsină *in vitro* IFS-ul semnalează o descreștere de 4,7 ori. Combinarea acestor 2 factori (tripsină și denudare) induce o scădere a indicelui de 5 ori (-80%) față de lotul martor cu endoteliu intact, de 3,3 ori (-70%) față de lotul cu denudare solitară (lotul acid colic), și din contra o mărire a intensității funcționării structurilor față de lotul tripsină.

În interiorul lotului control eliberarea oxidului nitric (+NO) nu prezintă schimbări statistic semnificative, pe când blocarea de oxid nitric prezintă o creștere a indicelui cu 20% comparativ

cu soluția stabilizatoare (fig. A2.3 în Anexa2). Condiția de blocare a NO semnifică de asemenea o creștere de 20% a indicelui și față de condiția de eliberare a NO.

În interiorul lotului tripsină *in vitro* se remarcă o scădere a IFS-lui de 52% la eliberarea oxidului nitric și asemenea scădere dar de 57% la blocarea NO. De asemenea se observă o scădere a indicelui în stare de blocare a NO față de starea de eliberare a NO cu 10%.

În interiorul lotului cu denudare separată față de starea de stabilizare nu se semnifică schimbări semnificative statistic semnificative a IFS-lui nici la eliberarea nici la blocarea de NO. De asemenea nu sunt remarcabile schimbări a intensității funcționării structurilor nici între aceste 2 stări (eliberare și blocare de NO).

În interiorul lotului cu combinarea tripsinei cu denudare (lotul tripsin+acid colic) la fel ca în cazul lotului cu denudare solitară nu se remarcă schimbări nici la eliberarea nici la blocarea NO, față de starea stabilizatoare, și nici între ele.

Suprafața contracției venei porte izolate atestă schimbări indispensabile de fezabilitatea endoteliului și a NO (tab. 3.37):

**Tabelul 3.37. Suprafața contracției (mm<sup>2</sup>/min) venei porte izolate cu sau fără endoteliu și în prezența sau absența NO (media ± DS)**

Lotul	Stabilizarea	+ NO	- NO
<b>Martor (n=11)</b>	922,4 ± 89,0	949,9 ± 81,0	983,3 ± 48,1
<b>Tripsină <i>in vitro</i> (n=10)</b>	*** 672,9 ± 40,3	*** ○ 575,4 ± 26,7	*** ○ ● 452,0 ± 26,3
<b>Acid colic (n=9)</b>	*** 663,8 ± 71,8	*** 653,4 ± 63,8 ▲	*** 669,3 ± 52,8 ▲
<b>Tripsină + acid colic (n=9)</b>	*** 502,3 ± 24,0 ▲▲▲ ■■■	*** 516,6 ± 49,5 ▲▲ ■■■	*** 518,8 ± 51,0 ▲▲ ■■■

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului față de lotul martor- p<0,05;

● - în interiorul lotului față de lotul + NO - p<0,05;

În lotul tripsină *in vitro* în starea de stabilizare suprafața contracției suprafața scade cu 27% față de lotul martor. Aceeași legitate este proprie și lotului cu denudare (-28%). Deosebiri statistic semnificative între lotul cu tripsină *in vitro* și lotul cu acid colic nu se constată. În lotul tripsină+acid colic se observă o scădere a suprafeței față de lotul martor cu 46%. De asemenea se

micșorează indicele și față de lotul tripsină *in vitro* și față de lotul cu denudare, accentuând că decalajul comparativ cu aceste 2 loturi este aproape în egală măsură: față de lotul tripsină *in vitro* scade cu 24%, iar față de lotul cu denudare (lotul acid colic) – cu 25%.

În condițiile de eliberare a oxidului nitric suprafața contracției suportă modificări importante. Astfel, în lotul cu tripsină *in vitro* suprafața contracției se micșorează semnificativ cu 40% în situația de eliberare a oxidului nitric, comparativ cu aceeași stare în lotul martor. De asemenea scăderea acestui indice este proprie și lotului cu denudare (-31%), doar că la acțiunea acidului colic suprafața este crescută cu 13% față de lotul tripsină *in vitro*. La combinarea acestor 2 factori (tripsină+acid colic) se distinge o scădere a suprafeței comparativ cu celelalte loturi cu diferit grad de diversificare în descendență: față de lotul martor cu 40%, față de tripsină *in vitro* cu 21%, față de lotul acid colic cu 10%.

În condițiile de blocare a oxidului nitric (-NO) se atestă propensiunea de reducere a suprafeței de contracție în toate 3 loturi: în lotul tripsină *in vitro* cu 54% (de 2,2 ori), în lotul cu denudare (lotul acid colic) cu 32%, în lotul combinării acestor 2 factori (tripsină+acid colic) cu 47%. Totuși, comparativ cu lotul tripsină *in vitro*, acest indice este crescut în lotul acid colic cu 48%. În lotul cu combinarea tripsinei cu denudare (lotul tripsină +acid colic), în situația blocării de NO suprafața se micșorează și față de lotul martor (-47%), dar și față de denudarea separată (-22%). Însă, comparativ cu lotul cu acțiunea separată a tripsinei indicele este crescut cu 15%.

În interiorul fiecărui lot în parte suprafața contracției atestă schimbări ilustrate lapidar în fig. A2.4 din Anexa 2. În interiorul lotului control eliberarea oxidului nitric induce o tendință de creștere a suprafeței comparativ cu starea de stabilizare, de asemenea blocarea NO semnifică aceeași tendință de mărire a indicelui față de stabilizare. Deosebiri semnificative statistic semnificative a indicelui în starea de blocare a oxidului nitric față de starea de eliberare a acestuia nu se remarcă. În interiorul lotului tripsină *in vitro* la eliberarea oxidului nitric (NO) se remarcă o micșorare a indicelui cu 15% față de starea de stabilizare. La blocarea NO se observă o micșorare cu 33% comparativ cu stabilizarea, iar față de starea de eliberare NO micșorarea este de 21%.

În interiorul lotului cu denudare (lotul acid colic) se constată o micșorare a suprafeței de contracție cu 31% la eliberarea NO comparativ cu stabilizarea. Blocarea NO induce o micșorare a indicelui asemănătoare cu starea de eliberare (-32%). Bineînțeles în asemenea caz deosebire semnificativ statistice între starea de eliberare și starea de blocare nu se remarcă.

La combinarea tripsinei cu denudare (lotul tripsină+acid colic) nu se remarcă schimbări statistic semnificative nici la eliberarea, nici la blocarea NO. De asemenea, nu sunt schimbări statistic semnificative între starea de eliberare și blocare NO.

Timpul total de contracție (durata totală a contracției) în contextul eliberării și blocării oxidului nitric atestă următoarele schimbări (tab. 3.38).

**Tabelul 3.38 Timpul total de contracție (sec) cu sau fără endotelium și în prezența sau absența NO, (media ± DS)**

Lotul	Stabilizarea	+ NO	- NO
Martor (n=11)	5,6 ± 0,7	5,3 ± 0,48	6,2 ± 0,63
Tripsină <i>in vitro</i> (n=10)	*** 12,2 ± 1,32	*** 13,65 ± 1,94	*** 11,35 ± 0,82
Acid colic (n=9)	6,19 ± 0,92 ▲▲▲	*** 6,81 ± 1,0 ▲▲▲	*** 7,5 ± 0,6 ▲▲▲
Tripsină + acid colic (n=9)	*** 7,5 ± 0,53 ▲▲▲ ■	*** 6,56 ± 0,73 ▲▲▲	6,81 ± 0,53 ▲▲

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului față de lotul martor - p<0,05;

● - în interiorul lotului față de lotul + NO - p<0,05;

În condițiile stabilizării timpul total de contracție se mărește circa de 2,2 ori în lotul tripsină *in vitro* față de lotul control, pe când în lotul cu denudare (lotul acid colic) nu se observă schimbări statistic semnificative comparativ cu același lot control. Însă se remarcă o mărire a indicelui în lotul cu acid colic (denudare) în comparație cu lotul cu acțiune separată a tripsinei (lotul tripsină *in vitro*). Combinarea acestor 2 factori (lotul tripsină+acid colic) induce o mărire a timpului total cu 34% față de lotul control și cu 21% față de lotul cu denudare (lotul acid colic). Din contra, față de lotul cu acțiunea separată a tripsinei (tripsină *in vitro*) se distinge o scădere a indicelui cu 38%.

În condițiile eliberării NO se constată o creștere a timpului total de contracție de 2,6 ori în lotul cu acțiunea separată a tripsinei (lotul tripsină *in vitro*) comparativ cu lotul control. În lotul cu denudare față de același lot control se relevă de asemenea o creștere a indicelui, însă cu o cotă cu mult mai mică de 28%. Respectiv, în mod rezonabil, este logică și scăderea indicelui în lotul cu denudare (lotul acid colic) față de lotul tripsină *in vitro*.

În condițiile blocării NO se observă o creștere a timpului total de contracție cu 83% în lotul tripsină *in vitro*, și doar cu 21% în lotul cu denudare (lotul acid colic) comparativ cu lotul martor. Totuși acest indice este micșorat în lotul cu denudare față de lotul tripsină *in vitro* cu 44%. Combinarea denudării cu acțiunea tripsinei (lotul tripsină+acid colic) nu relevă schimbări statistic semnificative a timpului total de contracție în comparație cu lotul control (doar o tendința de



creștere), totodată se observă o tendință de creștere față de lotul cu denudare separată, și invers o micșorare sigură față de lotul tripsină *in vitro* (-40%).

În interiorul fiecărui lot în parte schimbările timpul total de contracție pot fi decelate în (fig. A2.5 din Anexa 2). În interiorul lotului control la eliberarea oxidului nitric (+NO) nu se semnifică schimbări statistice semnificative a timpului total de contracție comparativ cu stabilizarea, la blocarea NO se observă o tendință de creștere. Totuși acest indice este mărit cu 20% la blocarea oxidului nitric decât starea de eliberare a NO.

În interiorul lotului tripsină *in vitro* de asemenea eliberarea NO nu relevă schimbări statistice semnificative a timpului total de contracție comparativ cu starea stabilizatoare și nici blocarea NO nu induce schimbări semnificative. Dar la blocarea NO indicele se micșorează cu 17% (în mod invers ca în cazul lotului control unde blocarea induce creșterea față de eliberarea NO).

În interiorul lotului cu denudare (lotul acid colic) la eliberarea oxidului nitric se constată o creștere doar cu 10% a timpului total de contracție comparativ cu stabilizarea, și la blocarea NO de asemenea crește, dar semnificativ, cu 21%.

În interiorul lotului cu combinarea acestor 2 factori (tripsin+denudare) denotă o tendință de micșorare (-13%) la eliberarea de NO, dar și la blocarea NO (-9%).

Timpul de contracție atestă următoarele schimbări privitor la stările de eliberare și de blocare a oxidului nitric (tabelul 3.39).

**Tabelul 3.39. Timpul fazei de contracție (sec) a venei porte izolate cu sau fără endoteliu și în prezența sau absența NO, (media ± DS)**

Lotul	Stabilizarea	+ NO	- NO
<b>Martor</b> (n=11)	2,8 ± 0,35	2,65 ± 0,25	2,8 ± 0,42
<b>Tripsină <i>in vitro</i></b> (n=10)	2,65 ± 0,24	2,7 ± 0,63	*** ○ ● 5,6 ± 1,17
<b>Acid colic</b> (n=9)	2,69 ± 0,37	2,75 ± 0,53	2,63 ± 0,35 ▲▲▲
<b>Tripsină + acid colic</b> (n=9)	2,5 ± 0,0 *	2,88 ± 0,52	2,56 ± 0,18 ▲▲▲

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului față de lotul martor - p<0,05;

● - în interiorul lotului față de lotul + NO - p<0,05;

Timpul fazei de contracție, comparând loturile între ele, arată absența schimbărilor statistic semnificative a loturilor de cercetare față de control dar și în comparație unul cu altul cu excepția lotului cu combinarea tripsinei cu denudare (tripsină+acid colic), unde se remarcă o tendință de micșorare a acestui indice cu 11% față de lotul control, iar față de lotul tripsină *in vitro* și lotul acid colic schimbări semnificative statistic semnificative nu se observă.

În condițiile de eliberare a NO de asemenea nu se remarcă diferențe statistic semnificative a timpului fazei de contracție între loturile de cercetare comparativ cu lotul control și de asemenea nu se observă deosebiri statistice între ele. Acest fenomen este caracteristic de această dată și pentru ultimul lot (combinarea tripsinei cu denudare).

În condițiile de blocare a NO se remarcă o creștere a timpului fazei de contracție de 2,1 ori față de lotul control. Comparativ cu același lot control acest indice nu semnifică schimbări semnificativ statistice în lotul cu denudare. În schimb în lotul cu denudare timpul fazei de contracție este micșorat de 2,1 ori față de lotul tripsină *in vitro*.

În lotul cu combinarea tripsinei cu denudare (tripsină+acid colic) nu se constată deosebiri semnificativ semnificative a timpului fazei de contracție cu loturile control și lotul cu denudare (lotul acid colic). În schimb, față de acțiunea solitară a tripsinei (lotul tripsină *in vitro*) se remarcă o micșorare de 2,2 ori (-54%).

Schimbările indicelui în interiorul fiecărui lot sunt ilustrate în fig.A2.6 din Anexa 2.

În interiorul lotului control nu se remarcă schimbări semnificativ semnificative a timpului fazei de contracție nici la eliberarea nici la blocarea NO față de starea de stabilizare.

În interiorul lotului tripsină *in vitro* eliberarea NO nu induce o schimbare statistic semnificativă a timpului fazei de contracție comparativ cu starea de stabilizare, însă blocarea NO atestă o creștere de 2,1 ori față de stabilizare, iar comparativ cu eliberarea NO – de circa de 2 ori.

În interiorul lotului cu denudare nu se remarcă schimbări statistic semnificative a timpului fazei de contracție nici la eliberarea nici la blocarea NO față de starea de stabilizare.

În interiorul lotului cu combinarea tripsinei cu denudare nu se remarcă schimbări statistic semnificative a timpului fazei de contracție la eliberarea oxidului nitric (NO), nici la eliberarea sau blocarea NO. Așadar, remarcăm schimbări doar în interiorul lotului tripsină *in vitro*.

Durata relaxării contracției în contextual eliberării și blocării NO comparativ cu lotul control dar și în comparație loturile experimentale între ele atestă următoarele schimbări (tab. 3.40)

**Tabelul 3.40. Timpul fazei de relaxare (sec) a venei porte izolate cu sau fără endoteliu și în prezența sau absența NO, (media ± DS)**

Lotul	Stabilizarea	+ NO	- NO
<b>Martor (n=11)</b>	2,8 ± 0,35	2,65 ± 0,24	3,4 ± 0,52 ○ ●
<b>Tripsină <i>in vitro</i> (n=10)</b>	*** 9,65 ± 1,43	*** 10,75 ± 2,4	*** 5,65 ± 1,06 ○ ●
<b>Acid colic (n=9)</b>	3,5 ± 0,87 ▲▲▲	** 4,06 ± 0,78 ▲▲▲	*** 4,81 ± 0,7
<b>Tripsină + acid colic (n=9)</b>	*** 5,0 ± 0,53 ▲▲▲ ■ ■	** 3,69 ± 0,84 ○ ▲▲▲	** 4,25 ± 0,53 ○ ● ▲▲

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului față de lotul martor- p<0,05;

● - în interiorul lotului față de lotul + NO- p<0,05;

În lotul tripsină *in vitro* durata relaxării este de 3,4 ori mai mare față de lotul control în stările de stabilizare. De asemenea la stabilizare acest indice nu semnifică schimbări statistic semnificative a lotului cu denudare (lotul acid colic) față de lotul control, în schimb durata relaxării a lotului acid colic este de 2,8 ori mai mare decât în lotul cu acțiunea solitară a tripsinei (acțiunea tripsină *in vitro*).

La eliberarea oxidului nitric durata relaxării este de circa 4 ori mai mare decât în lotul control. Față de același lot control acest indice este cu 53% mai mare față de lotul control și de 2.7 ori mai mic (-62%) decât în lotul tripsină *in vitro*. Combinarea acestor doi factori (tripsină + acid colic) semnifică o creștere a duratei de relaxare cu 39% față de lotul control, o micșorare cu 66% (aproximativ 3 ori) față de lotul cu acțiunea solitară a tripsinei și nici o schimbare statistic semnificativă față de lotul cu denudare solitară (lotul acid colic). La blocarea NO se remarcă o creștere cu 66% a duratei de relaxare în lotul tripsină *in vitro* comparativ cu lotul control. Lotul cu denudare (lotul acid colic), semnaleză de asemenea o creștere a indicelui față de lotul control însă, într-o proporție mai mică(+41%).

Combinarea tripsinei cu denudare (lotul tripsină+acid colic) indică o creștere a duratei de relaxare cu 25% față de lotul control, în același timp arată o micșorare cu 25% față de lotul tripsină *in vitro*. Schimbări semnificative ale indicelui inerente combinări de doi factori, cu acțiunea solitară a denudării schimbări semnificativ semnificative nu se constată.

Schimbările indicelui în interiorul fiecărui sunt prezentate grafic în fig.A2.7 din Anexa 2.

În interiorul lotului control față de starea de stabilizare la eliberarea oxidului nitric (NO) schimbări semnificative a duratei de relaxare nu se remarcă, în schimb la blocarea NO se observă o creștere cu 21% față de starea de stabilizare și cu 28% față de starea de eliberare NO.

În interiorul lotului cu tripsină *in vitro* de asemenea nu se remarcă schimbări statistic semnificative a duratei de relaxare la eliberarea NO, față de starea de stabilizare, pe când la blocarea NO acest indice scade veritabil cu 41%. Totodată se observă o micșorare a indicelui în starea de blocare față de starea de stabilizare cu 47%.

În interiorul lotului acid colic nu se remarcă schimbări semnificativ statistic semnificative nici la eliberarea nici la blocarea NO comparativ cu starea de stabilizare și nici între aceste două stări aparte (eliberare și blocare NO) nu observăm deosebiri statistic semnificative.

În interiorul lotului cu combinarea tripsinei cu denudare la eliberarea NO se remarcă o micșorare a duratei de relaxare cu 26% față de starea de stabilizare și o scădere cu 15% la blocarea NO. Aceeași blocare de NO induce o creștere a indicelui cu 15% față de starea de eliberare NO.

#### ***Contractilitatea venei porte în prezenta sau absența endoteliului în condiții de acțiune in vitro a tripsină în diferite concentrații ale ionilor de Ca***

Rezultatele studiului atestă că în lotul cu tripsină pe fundalul endoteliului intact, cât și în lotul martor cu denudarea endoteliului amplitudinea contracției scade cu circa 32-33% (de la 35,5 până la 24 mg/mg în lotul tripsină cu endoteliul intact și până la 23,7 în lotul martor cu denudarea endoteliului) (tabelul 3.41).

Combinarea tripsinei cu denudarea endoteliului reduce esențial acest indice cu 61%. Micșorarea concentrației ionilor de Ca în soluția de perfuzie de la 2,5 mM la 1,25 mM duce la reducerea amplitudinii contracției, față de lotul martor, în loturile tripsină cu endoteliul intact și în cazul de combinare a tripsinei cu denudarea endoteliului cu circa 37-40%. Dimpotrivă, în lotul cu denudarea solitară, la aceeași concentrației a ionilor de Ca, se remarcă o creștere cu 32%. La concentrațiile majore de Ca (7,5 mM și 10 mM) se observă o scădere în toate 3 loturi față de lotul martor cu endoteliul intact:

- în lotul tripsină cu endoteliul intact – cu 55-58%;
- în lotul cu denudarea solitară(lotul acid colic) – cu 69-71%;
- tripsină pe fundalul denudării(lotul tripsină+acid colic) – 76-77%.

În interiorul fiecărui lot observăm următoarea legitate în dinamică la modificarea ionilor de calciu, la micșorarea concentrației  $Ca^{2+}$  până la 1,25 mM se constată o scădere în toate 3 loturi:

- în lotul martor – cu 65%;
- în lotul tripsină – cu 69%;

- în lotul cu denudare cu 30%;
- în lotul tripsină pe fundalul denudării – cu 43% (fig. A2.8 sin Anexa 2).

**Tabelul 3.41 Amplitudinea contracției (mg/mg) venei porte izolate în prezența sau absența endoteliului și la acțiunea diferitor concentrații de calciu (media ± DS)**

Lotul	Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>			
	2,5	1,25	7,5	10
<b>Martor</b> (n=11)	35,5 ± 3,28	12,45 ± 2,19	73,63 ± 9,65	75,3 ± 9,89
<b>Tripsină <i>in vitro</i></b> (n=10)	*** 24,03 ± 3,03	*** 7,52 ± 1,59	*** 33,01 ± 3,57	*** 31,5 ± 3,46
<b>Acid colic</b> (n=9)	*** 23,73 ± 4,34	** 16,47 ± 3,22 ▲▲	*** 22,57 ± 5,23 ▲▲▲	*** 22,07 ± 2,79 ▲▲▲
<b>Tripsină + acid colic</b> (n=9)	*** 13,76 ± 2,35 ▲▲▲ ■ ■ ■	*** 7,9 ± 1,9 ■ ■ ■	*** 17,88 ± 2,32 ▲▲▲ ■	*** 17,29 ± 2,79 ▲▲▲

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

La mărirea concentrației ionilor de Ca în limitele 7,5-10 mM se observă o creștere a amplitudinii în lotul martor – 107 și 112% (circa de 2 ori) , în lotul tripsină – 37 și 31%, în lotul tripsină pe fundalul denudării – 30 și 25% față de concentrația inițială. Denudarea endoteliului fără tripsină nu produce modificări semnificative.

Frecvența contracțiilor spontane a venei porte scade de la 6,18 până la 3,3 cont/min (47%, p<0,001) în lotul cu tripsină solitară (tabelul 3.42).

Creșterea acestui indice se remarcă în lotul cu denudarea endoteliului, de la 6,18 până la 7,56 cont/min (23%, p<0,01), cât și în lotul tripsină pe fundalul denudării (+98%) (aproximativ de 2 ori). La micșorarea dublă a concentrației ionilor de Ca se remarcă o scădere a indicelui cu 33% (de la 12 până la 8 cont/min) în lotul cu denudare și o mărire a frecvenței în loturile cu aplicarea tripsinei, mai esențială fiind în lotul tripsină pe fundalul denudării (60% față de 18%).

Creșterea concentrației ionilor de Ca în limitele 7,5 mM și 10 mM semnifică o micșorare a frecvenței, față de martor în lotul cu tripsină (31 și 14%), pe când în loturile cu endotelium denudat din contra crește (denudarea solitară – 64% și, respectiv, 138% (de 2.4 ori), tripsină pe fundalul denudării – 42 și 38%).

**Tabelul 3.42. Frecvența contracției (cont/min) venei porte izolate în prezența sau absența endoteliului și la acțiunea diferitor concentrații a ionilor de Ca<sup>2+</sup> (M ± DS)**

Lotul	Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>			
	2,5	1,25	7,5	10
<b>Martor (n=11)</b>	6,18 ± 0,48	12 ± 1,67 <sup>○</sup>	2,91 ± 0,54 <sup>○</sup>	2,09 ± 0,3 <sup>○</sup>
<b>Tripsină <i>in vitro</i> (n=10)</b>	*** 3,3 ± 0,67	*** <sup>○</sup> 14,1 ± 0,73	*** <sup>○</sup> 2,0 ± 0,0	* <sup>○</sup> 1,8 ± 0,42
<b>Acid colic (n=9)</b>	** 7,56 ± 1,13 ▲▲▲	*** <sup>○</sup> 8,0 ± 0,71 ▲▲▲	*** <sup>○</sup> 4,78 ± 0,67 ▲▲▲	*** <sup>○</sup> 5,0 ± 0,5 ▲▲▲
<b>Tripsină + acid colic (n=9)</b>	*** 12,33 ± 0,5 ▲▲▲ ■■■	*** <sup>○</sup> 19,22 ± 1,09 ▲▲▲ ■■■	*** <sup>○</sup> 4,11 ± 0,33 ▲▲▲ ■	*** <sup>○</sup> 2,89 ± 0,33 ▲▲▲

**Notă :** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05 ;

În interiorul fiecărui lot în parte se remarcă următoarele schimbări la modificarea concentrației ionilor de calciu (fig. A2.9 din Anexa 2):

- în lotul control micșorarea dublă de Ca mărește aproape de 2 ori frecvența față de concentrația inițială. Mărirea în perfuzie a ionilor de Ca în limitele 7,5 și 10 mM reduce indicele cu 53 și 66% (la ultima concentrație aproape de 3 ori);
- în lotul cu tripsină solitară se observă o creștere de circa 4 ori a indicelui în cazul micșorării concentrației duble, pe când mărirea concentrației de 3 și de 4 ori micșorează indicele respectiv cu 31 și 14%;
- în lotul cu denudarea separată se constată o anumită staționare a frecvenței statistic determinată în timpul micșorării duble, și o micșorare a ei cu 37 și 34% în timpul creșterii concentrației în limitele 7,5 și 10 mM;
- combinarea tripsinei cu denudarea arată că față de concentrația inițială de 2,5 mM indicele se mărește cu 56% la micșorarea ionilor de Ca în perfuzie. În timpul măririi concentrației ionilor de Ca în limitele 7,5 – 10 mM acest indice scade cu 66-76%.

Suprafața contracțiilor spontane indică o scădere a indicelui la concentrația inițială de 2,5 mM în toate 3 loturi, comparativ cu lotul martor, mai evidentă fiind în lotul cu combinarea tripsinei cu denudarea (-53%) (tabelul 3.43).

**Tabelul 3.43. Suprafața contracției (mm<sup>2</sup>/min) venei porte izolate în prezența sau absența endoteliului, la acțiunea diferitor concentrații ale ionilor de calciu (M ± DS)**

Lotul	Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>			
	2,5	1,25	7,5	10
<b>Martor</b> (n=11)	919,9 ± 86,6	343,1 ± 50,5	1041,7 ± 85,2	1007,7 ± 57,0
<b>Tripsină <i>in vitro</i></b> (n=10)	*** 675,7 ± 36,9	*** 164,9 ± 20,7	*** 714,6 ± 65,8	*** 609,9 ± 77,8
<b>Acid colic</b> (n=9)	*** 648,1 ± 94,6	*** 296,3 ± 69,9 ▲▲▲	*** 683,6 ± 39,9	*** 671,6 ± 32,0 ▲
<b>Tripsină + acid colic</b> (n=9)	*** 439,4 ± 81,6 ▲ ■■■	*** 108,7 ± 11,2 ▲ ■■■	*** 367,6 ± 45,4 ▲ ■■■	*** 557,6 ± 35,5 ▲ ■■■

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

La acțiunea separată a acestor 2 factori această scădere este mai puțin pronunțată (lotul tripsină – 27%, lotul cu denudare – 30%). La micșorarea concentrației ionilor de Ca se remarcă de asemenea o scădere în toate 3 loturi, față de lotul martor, mai evidentă fiind din nou în cazul combinării tripsinei cu denudarea - 68%. În loturile cu acțiune separată a factorilor reducerea este mai puțin pronunțată în cazul denudării (-13%) decât în cazul tripsinei (-52%). Aproximativ aceeași situație de scădere în toate 3 loturi se menține la mărirea concentrației ionilor de Ca în limitele de la 7,5 la 10 mM. În aceste cazuri în lotul de combinare a factorilor scăderea este mai evidentă (65 și 45%), pe când în lotul tripsină ea este 31% și 39%, iar în lotul cu denudarea asemănător -34 și 33%.

În cazul comparării indicelui în interiorul fiecărui lot schimbarea concentrației ionilor de calciu excelează prin schimbări ilustrate în fig. A2.10 din Anexa 2:

- în lotul maror la micșorarea concentrației ionice de Ca de 2 ori, indicele scade cu 63%, la mărirea triplă a concentrației crește cu 13% și la mărirea de 4 ori a concentrației de Ca crește cu 9,6%;
- în lotul tripsină solitară la micșorarea concentrației până la 1,25 mM se micșorează indicele cu 76%, iar la mărirea concentrației în limitele 7,5 mM și 10 mM – de asemenea scade, dar mai puțin pronunțat cu 5 și 10%;

- în lotul cu denudare la scăderea dublă a concentrației ionice de Ca indicele scade cu 55%, iar în timpul creșterii de 3 și de 4 ori a concentrației ionice de Ca modificări statistic determinate nu se remarcă;
- în lotul tripsină cu denudarea endoteliului remarcăm o scădere a indicelui cu 75% la micșorarea dublă a concentrației ionice de Ca, o scădere cu 16% la mărirea concentrației de 3 ori, și o creștere cu 27% la concentrația finală de 10 mM.

Intensitatea funcționării structurilor (IFS), care este produsul dintre amplitudine și frecvență, se micșorează în toate 3 loturi față de lotul martor la concentrația inițială de 2,5 mM (tabelul 3. 44).

**Tabelul 3.44. Intensitatea funcționării structurilor (mg/mg<sup>x</sup>min) venei porte izolate în prezența sau absența endoteliului și la acțiunea diferitor concentrații de calciu (M ± DS)**

Lotul	Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>			
	2,5	1,25	7,5	10
<b>Martor (n=11)</b>	219,4 ± 23,7	147,5 ± 20,9 ○	210,4 ± 25,8	156,2 ± 20,7 ○
<b>Tripsină <i>in vitro</i> (n=10)</b>	*** 80,3 ± 4,77	** ○ 105,5 ± 16,36	*** ○ 66,02 ± 7,15	*** ○ 52,02 ± 12,53
<b>Acid colic (n=9)</b>	* 187,2 ± 38,41 ▲▲▲	○ 129,7 ± 24,1 ▲	*** ○ 109,3 ± 33,7 ▲▲	*** ○ 107,2 ± 17,1 ▲▲▲
<b>Tripsină + acid colic (n=9)</b>	** 169,4 ± 27,3	149,0 ± 35,0	*** ○ 73,7 ± 12,6	*** ○ 49,4 ± 7,3

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Este important de nuanțat (menționat) că această scădere este mai pronunțată în cazul tripsinei luată separat (63%), pe când în loturile denudate mai puțin exprimată (15% - în lotul cu denudarea separată și 23% - în lotul cu tripsină pe fundalul denudării). La micșorarea concentrației ionilor de Ca acest indice scade în lotul cu tripsină (28%), pe când în celelalte 2 staționează în limitele statistice. La creșterea concentrației ionilor de Ca în limitele 7,5 și 10 mM se remarcă micșorarea indicelui în toate 3 loturi față de lotul martor: în lotul cu denudarea separată mai puțin evidentă (48 și 30%), pe când în loturile cu tripsină este mai pronunțată (lotul tripsină solitară – 69 și 67%, lotul tripsină pe fundalul denudării – 65 și 69%).

În interiorul loturilor se decelează următoarele legități incrementale și decrementele privind platoul inerent concentrației normale a calciului (fig. A2.11 din Anexa 2):



- în lotul martor la micșorarea dublă a ionilor de Ca cât și la mărirea ei de 4 ori se remarcă o scădere a IFS-ului cu 33 și 28%, pe când la majoritatea triplă indicele staționează;
- în lotul tripsină solitară IFS-ul se mărește cu 31% la reducerea dublă a concentrației ionilor de Ca, pe când creșterea ei în limitele 7,5 și 10 mM se micșorează cu 18 și 35%;
- în lotul cu denudare acest indice scade și la reducerea dublă a concentrației (-30%), cât și în cazul măririi triple (-41%) și cvadruple (-43%) a concentrației ionilor de Ca;
- în lotul tripsină pe fundalul denudării scăderea este oportună doar în cazul creșterii concentrației ionilor de Ca în limitele 7,5 și 10 mM cu următoarea semnificație procentuală – 54 și 71%. În cazul micșorării concentrației ionilor de 2 ori indicele staționează în limitele statistice.

Un alt indice important al contractilității este timpul total de contracție care, în raport cu lotul martor, la valoarea de 2,5 mM a ionilor de Ca se mărește circa de 2 ori în lotul cu tripsină (de la 5,8 până la 12,6 sec), se micșorează în cazul combinării tripsinei cu denudarea cu 33%, și staționează în cazul denudării separate (tabelul 3.45).

**Tabelul 3.45. Timpul total de contracție (sec) a venei porte izolate în prezența sau absența endoteliului și la acțiunea diferitor concentrații ale ionilor de Ca<sup>2+</sup> (M ± DS)**

Lotul	Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>			
	2,5	1,25	7,5	10
<b>Martor</b> (n=11)	5,8 ± 0,75	4,2 ± 0,6	15,4 ± 0,92	16,1 ± 1,13
<b>Tripsină <i>in vitro</i></b> (n=10)	*** 12,6 ± 1,17	** 3,3 ± 0,68	*** 23,5 ± 1,27	* 14,9 ± 0,74
<b>Acid colic</b> (n=9)	6,33 ± 0,97 ▲▲▲	*** 6,28 ± 1,06 ▲▲▲	*** 7,22 ± 0,51 ▲▲▲	*** 6,72 ± 0,71 ▲▲▲
<b>Tripsină + acid colic</b> (n=9)	*** 3,89 ± 0,42 ▲▲▲ ■■■	*** 2,0 ± 0,0 ▲▲▲ ■■■	*** 5,78 ± 0,44 ▲▲▲ ■■■	*** 5,78 ± 0,44 ▲▲▲ ■

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

La micșorarea concentrației ionilor de Ca până la 1,25 mM indicele se mărește în cazul denudării solitare (+50%), comparativ cu lotul martor, în lotul cu tripsină staționează și în lotul combinării ambilor factori se micșorează ca și la concentrația inițială, dar mai esențial (circa de 2 ori). Sporirea ionică a Ca în perfuzie până la 7,5 mM micșorează indicele în loturile denudate (denudarea solitară cu 53%, tripsină pe fundalul denudării cu 63%), și se mărește cu 53% (de la

15,4 până la 23,5 sec) în cazul tripsinei separate, în raport cu lotul martor. Creșterea ulterioară a concentrației până la 10 mM semnaleză de-acum o scădere, deși ne semnificativă cu 7% în lotul tripsină și mult mai evidentă în loturile denudate (denudarea solitară cu 58%, tripsină pe fundalul denudării cu 64%), în comparație cu lotul martor.

În interiorul loturilor se decelează următoarele legități incrementale și decrementele ale indicelui vizavi de platoul inerent concentrației normale a calciului (fig. A2.12 din Anexa 2):

- în lotul control indicele crește la mărirea concentrației ionice de Ca în limitele 7,5 și 10 mM aproximativ de 2,5 ori, pe când în cazul micșorării duble a ionilor indicele staționează față de concentrația inițială de 2,5mM;
- în lotul cu tripsină solitară la micșorarea dublă a ionilor de Ca durata totală a contracției se micșorează aproape de 4 ori, pe cand în cazul mării concentrației până la 7 mM crește cu 53%, la concentrația de 10 mM se mărește cu 18% în comparație cu concentrația normală a ionilor de calciu;
- în lotul cu endoteliul denudat (lotul acid colic) la micșorarea ionilor de Ca până la 1,25 mM, cât și la concentrația de 10 mM indicele staționează, pe când la concentrația de 7,5 mM indicele se mărește cu 15% ( $p < 0,0010$ );
- în lotul tripsină pe fundalul denudării se remarcă o scădere a indicelui cu 49% în cazul micșorării de 2 ori a concentrației ionilor de Ca, și se mărește cu 49% în ambele concentrații majore.

Timpul fazei de contracție față de martor se micșorează în loturile cu aplicarea tripsinei (în lotul tripsină solitară cu 10%, și în lotul tripsină+denudare cu 34%), pe când în lotul denudării solitare statistic neschimbător (tabelul 3.46).

La micșorarea concentrației în perfuzie până la 1,25 mM se remarcă o staționare în lotul cu denudare separată, pe când în loturile tripsinice se micșorează, mai evident aproape de 2 în lotul de combinare a tripsinei cu denudarea, iar în lotul tripsină solitară se micșorează cu 19%. La creșterea concentrației ionilor de Ca în limitele 7,5 și 10 mM remarcăm o staționare a indicelui în loturile denudate și o creștere moderată în lotul tripsină separată la concentrația de 10 mM (12%).

În interiorul loturilor se decelează următoarele legități incrementale și decrementele ale indicelui vizavi de platoul inerent concentrației normale a calciului (fig. A2.13 din Anexa 2):

- în lotul control la concentrațiile majore de Ca se observă o staționare, pe când la concentrația mică de 1,25 mM o micșorare cu 28%;

- în lotul tripsină solitară staționarea este prezentă doar la concentrația de 7,5 mM, pe când la concentrația finală de 10 mM durata contracției se mărește cu 12%. La concentrația mică de 1,25% indicele se micșorează cu 35%;
- în lotul cu denudarea separată nu se observă schimbări semnificative statistic determinate la modificarea ionilor de Ca, cu excepția ultimei concentrații de Ca unde remarcăm o mică micșorare de 11%.
- în lotul tripsină pe fundalul denudării se remarcă o scădere aproape dublă la micșorare concentrației până la 1,25 mM și o creștere cu 48% la concentrația de 7,5 mM. La concentrația finală creșterea semnifică o pondere de 43%.

**Tabelul 3.46. Timpul fazei de contracție (sec) a venei porte izolate în prezența sau absența endoteliului și la acțiunea diferitor concentrații ale ionilor de calciu (M ± DS)**

Lotul	Concentrația calciului, mM Ca <sup>2+</sup>			
	2,5	1,25	7,5	10
Martor (n=11)	2,9 ± 0,37	2,1 ± 0,23	2,7 ± 0,25	2,6 ± 0,2
Tripsină <i>in vitro</i> (n=10)	* 2,55 ± 0,28	*** 1,65 ± 0,34	2,7 ± 0,35	** 2,9 ± 0,21
Acid colic (n=9)	2,67 ± 0,35	2,3 ± 0,56	2,3 ± 0,5	2,39 ± 0,49
Tripsină + acid colic (n=9)	*** 1,94 ± 0,3	*** 1,0 ± 0,0	2,89 ± 0,22	2,78 ± 0,26

**Notă :** \* - față de lotul martor; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ - p<0,05; ▲▲ - p<0,01; ▲▲▲ - p<0,001;

■ - față de lotul acid colic; ■ - p<0,05; ■■ - p<0,01; ■■■ - p<0,001;

○ - în interiorul lotului - p<0,05;

Timpul fazei de relaxare arată o creștere semnificativă de 3,7 ori în lotul de tripsină și în lotul cu denudarea solitară, mai puțin evidentă (+28%) comparativ cu lotul martor la concentrația inițială de 2,5 mM. (tabelul 3.47).

La combinarea acestor 2 factori indicele se micșorează cu 34%. Micșorarea concentrației ionilor de Ca semnifică o creștere a timpului fazei de relaxare aproape de 2 ori în cazul denudării separate (de la 2,1 până la 4 sec), comparativ cu lotul martor, pe când în loturile cu aplicarea tripsinei se remarcă o micșorare a indicelui, fiind mai evidentă în cazul combinării tripsinei cu denudarea (52% față de 19%). La mărirea concentrației până la 7,5 mM se observă o creștere în lotul tripsină solitară cu 70% și o scădere în loturile denudate (61% - denudare separată și 77% - tripsină pe fundalul denudării). La creșterea concentrației până la 10 mM se semnaleză o scădere

a indicelui în toate 3 loturi: mai pronunțate fiind în lotul combinării tripsinei cu denudarea (-77% ; circa de 4.5), de asemenea în lotul cu denudarea separată (-67%; circa de 3 ori), și mai puțin pronunțată în lotul cu tripsină solitară (-11%).

**Tabelul 3.47. Timpul fazei de relaxare (sec) a venei porte izolate în prezența sau absența endoteliului, la acțiunea diferitor concentrații ale ionilor de calciu ( $M \pm SD$ ) (sec)**

Lotul	Concentrația calciului, mM $Ca^{2+}$			
	2,5	1,25	7,5	10
<b>Martor (n=11)</b>	$2,9 \pm 0,37$	$2,1 \pm 0,23$	$12,7 \pm 0,96$	$13,5 \pm 1,02$
<b>Tripsină <i>in vitro</i> (n=10)</b>	*** $10,85 \pm 1,44$	** $1,65 \pm 0,34$	*** $21,2 \pm 1,18$	** $12,0 \pm 0,85$
<b>Acid colic (n=9)</b>	$3,67 \pm 0,97$ ▲▲▲	** $4,0 \pm 1,17$ ▲▲▲	*** $4,89 \pm 0,22$ ▲▲▲	*** $4,39 \pm 1,93$ ▲▲▲
<b>Tripsină + acid colic (n=9)</b>	*** $1,94 \pm 0,17$ ▲▲▲ ■ ■ ■	*** $1,0 \pm 0,0$ ▲▲▲ ■ ■ ■	*** $2,89 \pm 0,22$ ▲▲▲ ■ ■ ■	*** $3,0 \pm 0,35$ ▲▲▲ ■ ■ ■

**Notă:** \* - față de lotul martor; \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ;

▲ - față de lotul tripsină; ▲ -  $p < 0,05$ ; ▲▲ -  $p < 0,01$ ; ▲▲▲ -  $p < 0,001$ ;

■ - față de lotul acid colic; ■ -  $p < 0,05$ ; ■■ -  $p < 0,01$ ; ■■■ -  $p < 0,001$ ;

○ - în interiorul lotului -  $p < 0,05$  ;

În interiorul loturilor se decelează următoarele legități incrementale și decrementele ale indicelui vizavi de platoul inerent concentrației normale a calciului (fig. A2.14 în Anexa 2):

- în lotul control se micșorează acest indice la scăderea dublă a ionilor de Ca cu 28% și se mărește de circa 4,5 ori în ambele concentrații majore;
- în lotul tripsină solitară, la micșorarea ionilor de Ca, timpul fazei de relaxare scade circa de 6,5 ori, însă la concentrațiile majore, acest indice crește aproape de 2 ori la concentrația de 7,5 mM și doar cu 10% la concentrația de 10 mM;
- în lotul cu denudarea separată indicele se mărește la concentrația de 7,5 mM (32%), precum și la concentrația de 10 mM (19%), la concentrația de 1,25 mM indicele staționează;
- în lotul tripsină pe fundalul denudării se observă o micșorare a indicelui cu 49% la scăderea concentrației până la 1,25 mM și o creștere cu 53 % la concentrația de 7,5 mM a ionilor de Ca. Mărirea în continuare a concentrației calciului în perfuzat până la 10 mM indică de asemenea creșterea timpului relaxării cu 58%.

### 3.8 Concluzii

- Amplitudinea contracției segmentelor izolate de venă portală în modelele de hipertripsinemie (*in vivo* și *in vitro*) este mai mică față de indicele martor în toate concentrațiile de calciu aplicate,

iar frecvența contracțiilor a fost în dependență de concentrația cationului. Intensitatea funcționării structurilor, ca un produs al amplitudinii și frecvenței, a reflectat aceeași dinamică a acestor 2 indici.

- Hipo- și hipernatriemia, precum și acidoza s-au manifestat prin reducerea amplitudinii contracției segmentelor VP tratate *in vitro* cu tripsină în condițiile de concentrație normală a ionilor de calciu. Pentru acidoză a fost inerentă majorarea multiplă a frecvenței contracțiilor față de lotul martor.
- Pretratarea segmentelor izolate de VP cu tripsină a redus semnificativ amplitudinea contracției induse de acțiunea cafeinei și soluției de KCl. Acetilcolina a demonstrat un efect similar asupra amplitudinii contracțiilor în lotul martor și cu tripsină *in vitro*, dar a redus frecvența contracțiilor în cadrul acțiunii tripsinei. Totodată, carbacolul a diminuat și mai mult amplitudinea contracției VP comparativ cu valoarea acestui indicele în lotul martor.
- Denudarea endoteliului prin acțiunea acidului colic a dedublat amplitudinea contracției VP la acțiunea tripsinei, dar a crescut semnificativ frecvența contracțiilor. Totuși, intensitatea funcționării structurilor a fost depreciată pe contul declinului amplitudinii contracțiilor.
- La concentrația minimă de calciu (1,25 mM) denudarea nu a avut efect asupra amplitudinii contracției VP la acțiunea tripsinei, dar pe fundalul creșterii concentrației cationului (7 și 10 mM) reculul practic dublu al indicelui se menține. Frecvența contracțiilor VP la concentrațiile majorate ale calciului rămâne semnificativ elevată.

## 4. DISCUȚII

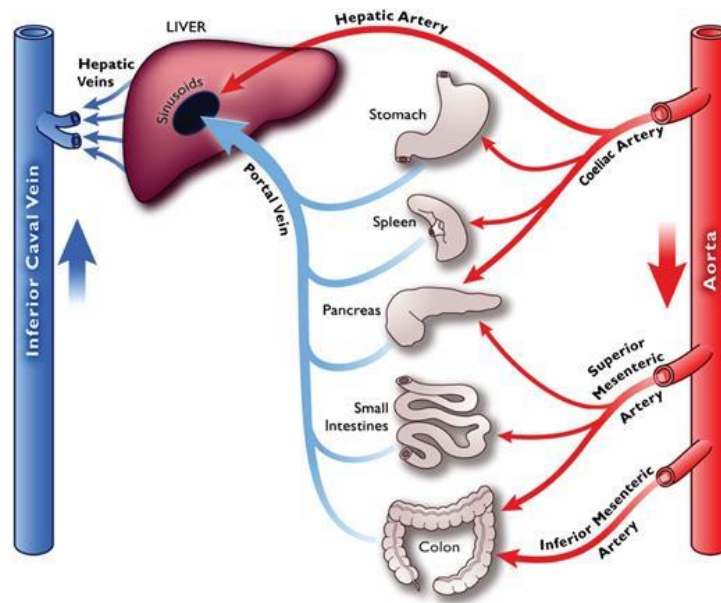
Elevarea nivelului circulant al tripsinei, enzima proteolitică serinică eliberată de pancreasul exocrin, este o repercusiune iminentă a leziunii glandulare, predilect a pancreatitelor acute de oricare geneză. Apanajul conceptual acumulat coroborează rolul concludent al excesului de tripsină circulantă în evoluția diferitor manifestări clinice ale pancreatitei, în primul rând a hipotensiunii arteriale sustenabile, simptom care asociază coerent mai multe fațete ale sindromului disfuncției poliorganice. Ținta primară a tripsinei este endoteliul vascular al arterelor și venelor, iar caracterul reactivității vasculare este în contiguitate cu abilitatea enzimei de a activa clasa receptorilor activați de proteaze (RAP) cuplați cu proteina G membranară (RAP1-RAP4), semnalizarea mediu intern al celulei fiind asociată cu creșterea influxului de calciu și a eliberării cationului din rezervele intracelulare [115, 116]. Primul receptor studiat cu circa 30 de ani în urmă, RAP1, a fost găsit și pe suprafața plachetelor, iar ca ligand specific s-a decelat trombina, proteaza ce finalizează etapa 3 enzimatică a formării trombusului prin depolimerizarea fibrinogenului. Actualmente sunt aduse la apel mai multe proteaze serinice (eg, triptaza eliberată de mastocite, kalicreina, catepsina G, plasmina, trombina, etc.) capabile să activeze diferite subfamilii de RAP exprasați pe trombocite, endoteliocite, miocitele netede vasculare, cardiomiocite, fibroblastele interstițiale [117].

Efectul vasorelaxant al tripsinei exercitat asupra arterelor din sistemul circulator mare în concentrația sangvină peste pragul fiziologic ( $>0,87$  nm/ml) este documentat în mai multe cercetări fundamentale efectuate *in vitro* pe diferite segmente de artere, utilizând diverse fenotipuri de animale de laborator (șobolani, șoricei, porcine, iepuri, etc.). Datele obținute confirmă relevanța mecanismului principal al efectului vasorelaxant al proteazei, determinat de activarea preponderentă a receptorilor PAR2 de pe endoteliocit care rezultă prin intermediul calciului incremental în eliberarea oxidului nitric (NO), prostacilcinei (PGI<sub>2</sub>) și a factorului hiperpolarizant derivat de endoteliu (EDHF). Receptorii RAP2 exprasați pe media musculară netedă a arterelor sunt implicați în controlul tonusului vascular bazal în condițiile afectării endoteliului vascular și activării sistemului simpatic, micșorarea tonusului vascular fiind repercusiunea activării proteinkinazei dependente de AMPc (adenozinmonofosfat ciclic) care contribuie la defosforilarea lanțului greu de miozină și relaxarea vasului.

Important de menționat că efectele vasotrope al tripsinei sunt mult mai precar studiate pe vene, iar vena portă impune la această noimă o poziție deosebită din mai multe considerente:

1. Este vena care colectează sânge din cel mai compliant sistem venos al organismului, sistemul splanhnic, care poate înmagazina până la 25% din volumul sângelui circulant, acesta fiind urmat după gradul de complianță de către sistemul venos cutanat [118, 119].

Bazinul venos al stomacului, splinei, pancreasului și intestinului formează magistrala venoasă ce intră în ficat (Fig. 12).



**Fig. 4.1** Venele ce confluează și formează bazinul venei portă [118].

2. Vena portă excelează prin prezența *pace-maker*-ului realizat de către celulele Cajal, iar ritmicitatea contractilă spontană a venei este pe o parte un reper și instrument de asigurare a propulsării sângelui venos din sistemul splanhnic în ficat în condiții fiziologice precum și de perturbare a reactivității, iar pe de altă parte este o țintă a vulnerabilității acestui proces sub acțiunea diferitor factori endogeni sau exogeni.

3. Periclitarea reactivității și motricității venei portă poate afecta considerabil perfuzia intrahepatică și metabolismul general, fie prin contractilitatea depreciată sau prin constricție inerentă sindromului hipertensiunii portale extrahepatice asociată cu congestie sangvină abdominală și ascită.

4. Odată ce vena pancreasului se „varsă” direct în vena portă, aceasta este ținta primată de expunere acțiunii hipertripsinemiei în cazul diferitor injurii ale glandei exocrine. Astfel, efectele vasotrope eventuale ale excesului tripsinei asupra venei portă pot fi un mecanism concludent de afectare a reactivității ei în contextul manifestărilor clinice proprii pancreatitelor.

Sub aspectul celor menționate scopul cercetării fundamentale a constat în „Evaluarea *in vitro* a particularităților acțiunii tripsinei asupra venei portă și a factorilor ce pot influența motricitatea segmentelor venoase izolate”.

Studiul a fost realizat pe un lot de 200 șobolani albi de gen masculin linia Wistar, utilizând modelul de perfuzie a segmentelor izolate de venă portă (cu lungimea medie de 5 mm) perfuzate clasic cu soluția Krebs-Henzeleit [70, 120, 121, 122, 123]. Prin intermediul echipamentului experimental aplicat (mecanotronul 6MX1C, amplificatorul UBP2-03 și autoinscriptorul K200) au fost înregistrați 7 indici funcționali care per ansamblu oferă posibilitatea de estimare a particularităților reactivității venei portă după calibrarea necesară, cum ar fi: (1) amplitudinea contracției, (2) frecvența contracției, (3) suprafața contracției, (4) intensitatea funcționării structurilor, (5) timpul total al contracției, (6) timpul contracției și (7) timpul relaxării.

În vederea estimării caracterului influenței tripsinei asupra reactivității venei portă au fost formate 3 loturi de studii în dependență de originea excesului de tripsină:

1. Hipertripsinemie *in vivo* determinată de pancreatita acută reproducă.
2. Hipertripsinemie *in vivo* determinată de injectarea intravenoasă a tripsinei.
3. Hipertripsinemie *in vitro* determinată de administrarea tripsinei în baia de perfuzie a inelelor izolate de venă portă.

Lotul martor a inclus perfuziile venei portă cu toată paleta de aplicare a diferitor factori naturali utilizați și în primele 3 loturi, dar fără acțiunea tripsinei.

Manevrele de decelare a impactului diferitor precondiționări asupra reactivității venei portă pe fundalul acțiunii tripsinei sau nu au inclus:

- Aplicarea diferitor concentrații de calciu, precum și a antagoniștilor naturali ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ ).
- Aplicarea cafeinei.
- Aplicarea acetilcolinei și carbacolului, precum și a inhibitorului de sinteză a NO.
- Denudarea endoteliului.

Datele obținute evidențiază particularități importante ale reactivității venei portă sub acțiunea excesului de tripsină produs *in vivo* și *in vitro*, inclusiv în contextul modelarea diferitor precondiționări ale perfuziei.

Astfel, în pancreatita acută amplitudinea contracției venei portă (ACVP) la concentrația normală a calciului în perfuzat (2,5 mM) este depreciată față de indicele martor cu până la 40%. Remarcabil, că odată cu creșterea concentrației cationului până la 10 mM valoarea ACVP în pancreatită a crescut analogic lotului martor, dar rata incrementului este de peste 3 ori mai mică. Și frecvența contracției venei portă a fost subiacentă nivelului martor la concentrația normală a calciului (recul este aproape egal cu 50%), iar elevarea cationului a produs în ambele loturi micșorarea acestui indice în măsură practic egală. Respectiv și intensitatea funcționării structurilor, estimată ca produsul amplitudinii și frecvenței contracțiilor a fost în pancreatita acută decelată la



cota medie de 1/3 din valoarea indicelui martor. Pe fundalul declinului acestor 3 parametri importanți ai reactivității vasculare în pancreatita acută timpul total al contracției venei portă în pancreatita acută a crescut semnificativ la concentrația normală a calciului, iar la concentrațiile sporite (7,5-10 mM), dimpotrivă, semnificativ s-a redus. Rolul timpului contracției și relaxării venei portă vizavi de modificarea timpului total de contracție față de martor este parțial diferit. La concentrația normală a calciului s-a urmărit majorarea ambelor indici, la concentrația de 7,5 mM a fost stabilită micșorarea cu până la 30% a timpului relaxării, iar la concentrația maximă – declinul lor în măsură aproape egală.

Pentru a confirma efectul anume al tripsinei în modificarea reactivității venei portă în lotul cu pancreatită acută am determinat valoarea aceluși indici în lotul 2 (reproducerea *in vivo* a hipertripsinemiei prin infuzia *i/v* a proteazei). Modificarea lor calitativă și cantitativă a fost aproape similară. Amplitudinea contracției este notabil micșorată în medie cu 44%, comparativ cu valoarea ei martor la concentrația normală a calciului în perfuzat, dar pe fundalul creșterii cationului incrementul ambelor loturi a fost egal. Analogic și frecvența contracției este semnificativ redusă față de martor la concentrația normală sau sporită a calciului, astfel că este inteligibilă și discrepanța semnificativă a intensității funcționării structurilor. Timpul de contracție și timpul de relaxare au valori majorate la concentrația normală a calciului, iar la concentrația maximă a cationului ultimul, spre deosebire de timpul contracției, se depreciază substanțial, cu 2/3 față de martor, fapt ce a condiționat dedublarea timpului total de contracție la concentrația calciului de 10 mM în timp ce la valoarea indicelui la concentrația normală a  $Ca^{2+}$  rămâne, ca și în pancreatita acută, superioară valorii martor.

Așadar, diminuarea amplitudinii contracției venei portă în modelele de reproduce *in vivo* a hipertripsinemiei este o inerentă importanță a reactivității acesteia, care n se menține și în cadrul elevării concentrației calciului în perfuzat. Valoarea conceptuală a acestui fenomen devine și mai concludentă, dată fiind stabilirea legității date și în condițiile de administrare în baia de perfuzie a tripsinei la toate concentrațiile de calciu utilizate. Mai mult, și frecvența contracțiilor s-a decelat veritabil sub nivelul martor, fapt ce a condus la un recul substanțial al valorii intensității funcționării structurilor, diapazonul acestuia fiind apreciat între 60 și 70% în dependență de concentrația calciului în perfuzat. Timpul total al contracției venei portă la concentrația normală a calciului este de asemenea majorat, dar sporul de 117% este datorat creșterii timpului de relaxare cu circa 270%, deși timpul de contracție este în declin moderat. La concentrația maximă a calciului diferența parametrului este considerabil atenuată.

O fațetă importantă a reactivității venei portă la acțiunea *in vitro* a tripsinei este reducerea mai concludentă a amplitudinii contracției, comparativ cu modificarea indicelui martor, în

condițiile de acidoză reprodusă prin micșorarea bicarbonatului din perfuzat, raportul decrementului relativ fiind egal cu 55,8:37,75%. În contextul acestor modificări este importantă dinamică frecvenței contracțiilor, care a excelat prin creșterea acesteia la acțiunea tripsinei cu circa 50%, în timp ce în lotul martor valoarea ei s-a depreciat în medie cu 71%. Astfel, acțiunea tripsinei în acidoză a condus la o valoare mai mare a intensității structurilor versus martor datorită incrementului marcant al frecvenței contracției. În contiguitate cu creșterea frecvenței contracțiilor este și reducerea semnificativă a timpului total al contracției venei portă expusă acțiunii tripsinei pe fundal de acidoză, reculul fiind mai mare de 5 ori, fapt datorat reducerii cu peste 80% a timpului relaxării. Reducerea contractilității venei portă sub acțiunea tripsinei care devine mai accentuată pe fundalul acidozei poate un factor ce limitează influxul de sânge în ficat prin sistemul portal. Efectul vasorelaxant al acidozei este concludent dovedit pentru arterele de conduită și, în special, pentru arterele rezistive ale circuitului mare, manifestarea comună fiind propensiunea spre hipotensiune arterială [124, 125, 126, 127]. Mecanismele acestui efect sunt atribuite relaxării endotelii dependente mediate prin NO și prostacilcină, precum și hiperpolarizării mediei musculare în urma activării canalelor de potasiu. Privind răspunsul patului venos în condiții de acidoză, datele acumulate sunt controversate, deși majoritatea evidențelor obținute pe mai multe tipuri de animale de laborator indică efecte similare reactivității arterelor.

Cu referire la reactivitatea venei portă în acidoză analiza literaturii de specialitate nu a identificat studii concludente în acest sens. Totuși, potrivit lui S. Selicean și colab. (2021) în afecțiunile ficatului asociate cu acidoză este constată creșterea influxului sangvin în ficat prin bazinul portal [128]. Acest fenomen poate fi o repercusiune a micșorării tonusului bazal al venei portă, evidență care vine în acord cu rezultatele studiului nostru, dată fiind decelată micșorarea amplitudinii contracției în ambele serii. Elevarea frecvenței contracțiilor în acidoză sub acțiunea tripsinei *in vitro* este o consecință opusă rezultatului din seria martor. Acesta din urmă poate fi explicat prin efluxul potasiului celular în spațiul extracelular, care conduce la creșterea potențialului de repaos și micșorarea activității electrofiziologice a pace-makerului peretelui venei. Micșorarea mai concludentă în acidoză a amplitudinii contractilității venei portă pretrată cu tripsină este inteligibil legată de periclitarea relației calciu-capacitate, fapt dovedit și în condițiile de stimulare maximă a influxului de calciu.

Decalajul contractilității venei portă față de prototipul intact a fost stabilit în condiții de depolarizare cu soluția de KCl (140 mM), când aceasta este pretrată cu tripsină în concentrația de 0,2 mg/ml. Depolarizarea sustenabilă a segmentelor de venă, cât și a segmentelor de arteră, induce contracția vasculară maxim posibilă cauzată de influxul maximal al ionilor de calciu predilect prin canalele lente (ie, L-type). În experimentele noastre contracția prin depolarizare a

veneii portă în lotul martor s-a impus printr-o valoare medie a amplitudinii contracției de 92 mg/mg, în timp ce sub acțiunea tripsinei *in vitro* aceasta s-a notat redusă cu 30% (64±5 mg/mg). Prin urmare se poate admite că o cauză de micșorare a contractilității veneii portă sub acțiunea tripsinei în diferite concentrații de calciu, precum și în acidoză, ar fi periclitarea de către protează a sistemului membranar de intrare a calciului extracelular. Deși miocitul neted vascular nu excelează prin rezerve concludente de calciu intracelular, contracția acestuia este datorată într-o măsură și eliberării cationului înmagazinat în reticulul sarcoplasmic.

Cafeina este un stimulator al mobilizării calciului din rezervele intracelular, efect mediat de activarea receptorilor „ryanodine” și inhibiția recaptării cationului de către reticulul sarcoplasmic [129]. La nivelul celulei endoteliale cafeina crește producția de NO (în măsură mai mică prostacilina) stimulată de calciul eliberat, inducând astfel efectul vasorelaxant endotelium dependent. La nivelul miocitului neted vascular cafeina crește prin intermediul calciului eliberat de reticulul sarcoplasmic producția de AMP ciclic, fapt ce rezultă în relaxarea mediei musculare, efect datorat activării fosfatazei AMPc dependente. În plus, vasorelaxarea inerentă acțiunii cafeinei este legată de inhibiția fosfodiesterazei-5 și prelungirea timpului de acțiune a GMP ciclic.

În cercetarea noastră acțiunea cafeinei s-a manifestat prin reducerea contractilității veneii portă în ambele loturi, reculul amplitudinii contracției veneii portă incubată cu tripsină fiind de 20% versus martor, astfel că discrepanța s-a dedublat comparativ cu valoarea inițială (40%). Plauzibil de admis, că acțiunea depresivă a tripsinei asupra contractilității veneii portă este preponderent legată de afectarea sistemului de asigurare a calciului extracelular prin canalele membranare lente.

Acțiunea acetilcolinei asupra veneii portă intacte a condus la o reducere nesemnificativă a amplitudinii contracției, dar s-a impus prin micșorarea marcantă (de circa 6 ori) a frecvenței contracției. Remarcabil, că acțiunea inhibitorului tripsinei și a influxul de Ca<sup>2+</sup> (soia) în miocitele netede vasculare a redus semnificativ amplitudinea contracției cu 62% în asociere cu păstrarea aceluiași declin al frecvenței. Pe fundalul inhibitorului tripsinei (soia) depresia contractilității de 62% s-a redus până la o cotă medie de 19%.

În condițiile pretratării veneii portă cu heparină, stabilizatorul mastocitelor, acțiunea tripsinei nu s-a manifestat prin modificarea notabilă a amplitudinii contracțiilor, dar frecvența, totuși, s-a depreciat la cote similare. Plauzibil de admis, că acțiunea acetilcolinei asupra veneii portă este dependentă de efectul ei de stimulare a mastocitelor.

Efectul acțiunii tripsinei asupra veneii portă în diferite concentrații este versatil. În concentrația 10 nM tripsină a determinat o amplitudine a contracției semnificativ peste platoul de stabilizare cu 19%. Creșterea concentrației tripsinei până la 21 nM a redus amplitudinea contracției

până la valoarea de stabilizare, iar în concentrația maximă de 42 nM aceasta s-a depreciat până la un recul statistic semnificativ de 33,3%. Merită atenție faptul că pe palierul acestui declin al concentrației tripsinei s-a urmărit micșorarea continuă a frecvenței contracțiilor cu până la 42%, iar creșterea timpului contracției și al relaxării a demonstrat în fond cote egale.

Efectul acțiunii carbacolului asupra venei portă în concentrație progresivă (de la 1  $\mu$ M până al 1 mmol/L) a fost similar celui decelat la acțiunea tripsinei în concentrații crescânde. Astfel, incrementul amplitudinii contracției iminent concentrației minime de 26% a fost schimbat prin decrement de 40,4% în concentrația maximă. Totodată, declinul frecvenței contracțiilor a fost dublu mai profund, comparativ cu acțiunea tripsinei, și a constituit în medie 62%. Dar, spre deosebire de acțiunea tripsinei, timpul relaxării a fost în descreștere odată cu creșterea concentrației carbacolului, astfel, că micșorarea frecvenței contracțiilor are la bază reducerea vitezei de contracție. Valoarea decrementului amplitudinii contracției proprii acțiunii tripsinei în concentrația maximă a crescut dacă proteaza a acționat pe fundalul premedicației cu carbacol. Analogic și frecvența contracțiilor a fost mai mică în medie cu 35%, iar declinul timpului de relaxare a contracțiilor iminent acțiunii carbacolului a fost anihilat.

Prin urmare, carbacolul potențează acțiunea depresivă a tripsinei asupra motricității venei portă și acest fenomen poate fi rezultatul cumulativ al deprecierei aportului ionilor de calciu.

Impune o semnificație conceptuală deosebită și evidența micșorării de 2 ori mai pronunțată a amplitudinii contracției a tripsinei pe fundalul denudării chimice a endoteliului vascular prin acțiunea acidului colic. Remarcabil, că efectul denudării endoteliale s-a impus printr-o micșorare a amplitudinii contracției similară acțiunii tripsinei (circa 30%) comparativ cu indicele lotului martor cu endoteliu intact. În același timp denudarea endotelială a condus la creșterea frecvenței contracțiilor cu 19% și acest efect (denudare+tripsină) a temperat declinul indicelui inerent acțiunii solitare a tripsinei de la 3,4 până la 4,5 1/min.

Denudarea endoteliului limitează declinul amplitudinii contracției față de indicele lotului martor în condițiile concentrației dedublate de calciu, 1,25 mM (30 versus 65%), precum și față de indicele lotului cu tripsină (30 versus 43%). Totodată, denudarea endoteliului a redus și creșterea amplitudinii contracției în lotul martor și lotul cu tripsină în condiții de elevare a concentrației calciului până la 10 mM, iar acțiunea sa solitară s-a impus prin valori reduse ale amplitudinii față de cea atestată în concentrația normală a calciului, 2,5 mM.

Denudarea endoteliului n-a modificat per se caracterul modificării frecvenței contracțiilor, astfel că în toate concentrațiile de calciu aplicate s-a menținut același trend: creșterea ei în concentrația minimală a calciului (1,25 mM) și micșorarea în concentrațiile excesive (7,5-10 mM) în lotul martor, precum și în lotul cu tripsină.

Endoteliul vascular este implicat nu numai în asigurarea răspunsului vasorelaxant prin intermediul eliberării de NO, prostaciclina și factorul hiperpolarizant, dar și în reglarea răspunsului vasoconstrictor, în primul rând, prin eliberarea abluminală a endotelinei 1 (ET-1), una din cele potente oligopeptide vasoconstrictoare (cedează doar urotensinei). Astfel, odată ajuns prin difuzie la nivelul miocitului neted vascular, ET-1 activează receptorii specifici ETA și ETB, determinând creșterea calciului în mioplasmă și, respectiv, contracția acestuia. Efectul vasoconstrictor al ET-1 este propriu nu numai arterelor, dar și venelor, inclusiv venei portă. De remarcat în acest context rezultatele obținute de către H.Wang și colab. (1997), care au demonstrat *in vitro* că efectul vasoconstrictor al ET-1 exercitat asupra venei portă este mediat predilect prin intermediul receptorilor ETA, iar în condiții de leziune a endoteliului concentrația oligopeptidului scade proporțional severității injuriei [130]. Oxidul nitric temperează acțiunea vasoconstrictoare a ET-1, iar în afectarea sistemului de formare a NO, cum ar fi în ciroza hepatică, efectul vasoconstrictor al ET-1 asupra venei portă este augmentat [131].

În cercetarea noastră lipsa de NO a potențat, deși ne semnificativ (35 vs 34 mg/mg), amplitudinea contracției în lotul martor, dar în lotul cu tripsină, dimpotrivă, penuria de NO s-a impus prin reducerea mai mult ca dublă a acesteia (11 versus 24 mg/mg). Cu toate acestea denudarea a depreciat în măsură mai mare contractilitatea venei porta în lotul cu tripsină comparativ cu lotul martor (47 versus 30%).

Prin urmare, tripsină afectează sistemul NO-ET-1 de control al activității motorii a venei portă și acest mecanism poate fi un element important al interfeței de declanșare și evoluție a complicațiilor hepatice inerente pancreatitelor acute și hipertripsinemiei.

## CONCLUZII GENERALE

1. Caracterul modificărilor reactivității venei portă (estimate prin amplitudinea și frecvența contracției, suprafața și intensitatea funcționării structuri, timpul de contracție și relaxare) la acțiunea tripsinei in vivo sau in vitro este similar cu inerențele decelate în modelul de pancreatită acută, fapt ce indică asupra rolului hipertripsinemiei în declanșarea perturbărilor tonusului venei portă iminente pancreatitei acute.
2. Acțiunea in vitro a tripsinei asupra segmentelor izolate de venă portă se impune prin micșorarea semnificativă cu 32,31% a amplitudinii contracției în mediu de concentrație normală a calciului (2,5 mM) față de martor, precum și prin reducerea cu 46,61% a frecvenței contracțiilor spontane. Remarcabil, că la dedublarea concentrației de calciu în soluția Krebs reculul amplitudinii contracției a fost comparabil în loturi, dar la creșterea acesteia de 3 ori (7,5 mM) incrementul martor a fost de 2,85 ori mai mare, fapt ce indică asupra acțiunii detrimentale a tripsinei asupra canalelor L-type-Ca din membrana miocitelor netede ale venei portă.
3. Acidoza a redus mai concludent amplitudinea contracției la acțiunea in vitro a tripsinei cu 48% față de paternul martor: 55,85% vs 37,75%. Totodată modificarea frecvenței contracției a avut un caracter dihotomic: reducerea ei cu 70,37% în lotul martor și elevarea cu 46% la acțiunea tripsinei, fapt ce a contribuit la atingerea unor valori fără devieri semnificative ale intensității funcționării structurilor:  $50,28 \pm 2,83$  vs  $43,64 \pm 2,89$  mg/mg·min (martor). Plauzibil de admis că tripsină limitează acțiunea acidozei de micșorare a fosforilării fosfolambanului, proteina implicată notabil în controlul contracției fazice a venei portă.
4. Pretratarea segmentelor izolate din vena portă cu tripsină modifică notabil amplitudinea contracției la stimularea M-colinoreceptorilor prin carbacol în concentrația de 1 μM. Dacă în lotul martor amplitudinea contracției spontane a crescut cu 26%, atunci sub acțiunea tripsinei acest indice s-a micșorat cu 33,34%, fapt ce poate fi determinat de periclitarea răspunsului endoteliocitelor în vederea reducerii eliberării de endotelină-1, factoriul vasoconstrictor cheie de asigurare a contracției venei portă.
5. Pe fundalul denudării segmentelor izolate din vena portă reculul amplitudinii contracției spontane iminente acțiunii tripsinei a crescut cu 30% față de martor. Astfel, se poate de admis că acțiunea tripsinei de reducere a amplitudinii contracției a venei portă este determinată atât de acțiunea detrimentală a enzimei asupra membranei miocitului neted, cât și asupra endoteliocitului.

## **RECOMANDĂRI PRACTICE**

1. Elevarea nivelului circulant al tripsinei la pacienții cu pancreatite acute și cronice trebuie să fie concludent monitorizată și contracarată, astfel că reducerea contractilității venei portă în raport direct cu concentrația proteazei poate fi un factor prehepatic al hipertensiunii portale cu consecințele iminente.
2. Acidoza și leziunile endoteliale sunt condiționări capabile să accentueze declinul contractilității venei portă sub acțiunea hipertripsinemiei, astfel că pot fi predictorii ai congestiei sangvine portale.

## BIBLIOGRAFIE

1. CARLCON, B. M. The human body: linking structure and function. 2017, Elsevier, University of Michigan Medical School, USA: ISBN 978-0-12-804254-0. 378 p.
2. CARNEIRO, C. et al. All about portal vein: a pictorial display to anatomy, variants and physiopathology. In: *Insights Imaging*. 2019, nr 10(1), p. 38.
3. ALUKAL, J. J., THULUVATH, P. J. Gastrointestinal Failure in Critically Ill Patients With Cirrhosis. In: *Am J Gastroenterol*. 2019, nr 114(8), pp. 1231-1237.
4. SIMONETTO, D.A., LIU, M., KAMATH, P.S. Portal Hypertension and Related Complications: Diagnosis and Management. In: *Mayo Clin Proc*. 2019, nr 94(4), pp. 714-726.
5. MINDIKOGLU, A.L., PAPPAS, S.C. New Developments in Hepatorenal Syndrome. In: *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018, nr 16(2), p.162.
6. CHENG, Z. et al. Identification of hepatosensitive region and their neural connections in the hippocampus of rats. In: *Folia Morphol*. 2022, nr 81(2), pp. 261–270.
7. ADORI, C. et al. Disorganization and degeneration of liver sympathetic innervations in nonalcoholic fatty liver disease revealed by 3D imaging. In: *Science Advances*. 2021, nr 7(30). DOI: 10.1126/sciadv.abg5733.
8. VAN LIMMEN, J. et al. Effect of norepinephrine infusion on hepatic blood flow and its interaction with somatostatin: an observational cohort study. In: *BMC Anesthesiology*. 2022, nr 22(1), p. 202. DOI: 10.1186/s12871-022-01741-2.
9. SUN, S., LIU, L. Urotensin II: an inflammatory cytokine. In: *Journal of Endocrinology*. 2019, nr 249(3), pp. 107-117.
10. SVISTUNOV, A.A. et al. Urotensin II: molecular and biological activity. In: *Current Protein and Peptide Science*. 2018, nr 19(9), pp. 924-934. DOI:10.2174/1389203718666170829162335.
11. REX, D.A. et al. The network map of urotensin-II mediated signaling pathway in physiological and pathological conditions. In: *Journal of Cell Communication and signaling*. 2022, DOI: 10.1007/s12079-022-00672-4.
12. DONG, H.M., ICHIMURA, K., SAKAI, T. Structural Organization of Hepatic Portal Vein in Rat with Special Reference to Musculature, Intimal Folds, and Endothelial Cell Alignment. In: *The Anatomical Record*. 2010, nr 293, pp. 1887–1895.
13. MONASTYRSKA, N. Quantitative morphological analysis of the venous bed of the common bile duct in postresection portal hypertension. In: *Journal of Education, Health and Sport*. 2020, nr 10(20), pp. 358–363. DOI 10.12775/JEHS.2020.10.10.034.



14. HARHUN, M.I. et al. Function of interstitial cells of Cajal in the rabbit portal vein. In: *Circ Res.* 2004, nr 95(6), pp. 619-626. DOI: 10.1161/01.RES.0000143014.04535.a3.
15. KOSTIN, S., POPESCU, L.M. A distinct type of cell in myocardium: interstitial Cajal-like cells (ICLCs). In: *J Cell Mol Med.* 2009, nr 13(2), pp. 295-308. DOI:10.1111/j.1582-4934.2008.00668.x.
16. PASTERNAK, A., SZURA, M., GIL, K., MATYJA, A. Interstitial cells of Cajal — systematic review. In: *Folia Morphol.* 2016, nr 75 (3), pp. 281–286. DOI: 10.5603/FM.a2016.0002.
17. AL-SHBOUL, O.A. The importance of interstitial cells of Cajal in the gastrointestinal tract. In: *Saudi J Gastroenterol.* 2013, nr 19, pp. 3-15.
18. HO, C.M. et al. Accumulation of free cholesterol and oxidized low-density lipoprotein is associated with portal inflammation and fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. In: *J Inflamm.* 2019, nr 16(7). DOI :10.1186/s12950-019-0211-5.
19. MAK, K.M. The Hepatic Central Vein: Anatomical and Molecular Links to Perivenous Liver Biology. In: *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research.* 2019, nr 8(5), pp. 2932-2945
20. ANTON, A. et al. The Pathophysiology of Portal Vein Thrombosis in Cirrhosis: Getting Deeper into Virchow’s Triad. In: *Journal of Clin Med.* 2022, nr 11(3), p. 800. DOI:https://doi.org/10.3390/jcm11030800.
21. TRINIDADE, M.R., ASSUNCAO, H.C.R., TORRES, T.C. Venous endothelium reactivity to Angiotensin II: A study in primary endothelial cultures of rat vena cava and portal vein. In: *Experimental Cell Research.* 2017, nr 362(1). DOI:10.1016/j.yexcr.2017.11.016.
22. BOCKX, I. et al. High-frequency vagus nerve stimulation improves portal hypertension in cirrhotic rats. In: *British Medical Journal.* 2011, nr 61(4). DOI: http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301396.
23. KONG, H. Endothelin receptors promote schistosomiasis-induced hepatic fibrosis via splenic B cells. In: *PLoS Pathog.* 2020, nr 16(10). DOI: 10.1371/journal.ppat.1008947.
24. KANG, S.H., KIM, M.Y., BAIK, S.K. Novelty in the pathophysiology and management of portal hypertension: New treatments on the horizon. In: *Hepatol Int.* 2017. DOI: 10.1007/s12072-017-9806-1.
25. ZENG, X. et al. TMEM16A regulates portal vein smooth muscle cell proliferation in portal hypertension. In: *Exp Ther Med.* 2018, nr 15(1), pp. 1062-1068. DOI:10.3892/etm.2017.5466.
26. OOSTERHOFF, L. et al. Characterization of endothelial and smooth muscle cells from different canine vessels. In: *Front Physiol.* 2019. DOI:https://doi.org.10.3389/fphys.2019.00101.

27. SALAZAR-ENCISO, R. et al. Mineralocorticoid receptor in calcium handling of vascular smooth muscle cells. *Calcium and Signal Transduction*, Ed. Buchholz JN and Behringer EJ, 2018. DOI:10.5772/interchopen.79556.
28. POGODA, K., KAMERITSCH, P., MANNELL, H., POHL, U. Connexins in the control of vasomotor function. In: *Acta Physiol (Oxf)*. 2019, nr 225(1).
29. JACKSON, W.F., BOERMAN, E.M. Voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channel activity modulates smooth muscle cell calcium waves in hamster cremaster arterioles. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2018, nr 315(4), pp. 871-878.
30. MURPHY, R.A., REMBOLD, C.M. The latch-bridge hypothesis of smooth muscle contraction. In: *Can J Physiol Pharmacol*. 2005, nr 83(10), pp. 857-864. DOI: 10.1139/y05-090.
31. BROZOVICH, F.V. et al. Mechanisms of Vascular Smooth Muscle Contraction and the Basis for Pharmacologic Treatment of Smooth Muscle Disorders. In: *Pharmacological Reviews*. 2016, nr 68 (2), pp. 476-532. DOI: 10.1124/pr.115.010652.
32. COBEȚ, V. Reglarea tonusului coronarian prin hiperpolarizare: mecanism compensator în disfuncția endotelială. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științe Medicale*. 2010, nr. 2(25), pp. 65-72.
33. KLABUNDE, R. Cardiovascular Physiology Concepts. New Third Edition. Published by Wolters Kluwer. 2021, nr 265 ISBN-13: 9781975150075.
34. WIRTH, A., OFFERMANN, S. G-protein-coupled receptors in smooth muscle. *Muscle, Fundamental Biology and Mechanisms of Disease*. 2012, nr 2, pp. 1145-1153. DOI: 10.1016/B978-0-12-381510-1.00085-5.
35. ALEXANDER, S.P. et al. The concise guide to pharmacology 2021/22: G protein-coupled receptors. In: *Br J Pharmacol*. 2021, nr 176 (1), pp. 27-156.
36. NAGANO, K. et al. Cooperative action of APJ and  $\alpha$ 1A-adrenergic receptor in vascular smooth muscle cells induces vasoconstriction. In: *The Journal of Biochemistry*. 2019, nr 165(5), pp. 383–392. DOI:10.1093/jb/mvz071.
37. FAJMUT, A. Molecular mechanisms and targets of cyclic guanosine monophosphate in vascular smooth muscles. In: *Muscle Cell and Tissue*, 2021. DOI: 10.5772/interchopen.97708.
38. LEHNERS, M., DOBROWINSKI, H., FEIL, S., FEIL, R. cGMP Signaling and Vascular Smooth Muscle Cell Plasticity. In: *J Cardiovasc Dev Dis*. 2018, nr 5(2), p.20. DOI: 10.3390/jcdd5020020.

39. HILDEBRAND, S. et al. PDGF regulates guanylate cyclase expression and cGMP signaling in vascular smooth muscle. In: *Commun Biol.* 2022, nr 5, p. 197. DOI: 10.1038/s42003-022-03140-2.
40. TODIRAS, M. et al. Endothelial dysfunction in ACE2 gene-deleted mice: role of oxidative stress and nitric oxide imbalance. *Hypertension.* 2010, nr 56(6), p. 1171.
41. BKAILY, G. et al. Vascular smooth muscle remodeling in health and disease. In: *Can J Physiol Pharamcol.* 2021, nr 99(2), pp. 171-178. DOI: 10.1139/cjpp-2020-0399.
42. ASHRAF, J.V., AL HAJ ZEN, A. Role of vascular smooth muscle cell phenotype switching in arteriogenesis. In: *Int J Mol Sci.* 2021, nr 22(19). DOI: 10.3390/ijms221910585.
43. WEI, W., SMRCKA, A. Subcellular  $\beta$ -Adrenergic Receptor Signaling in Cardiac Physiology and Disease. In: *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* 2022, nr 4(11). DOI: 10.1097/FJC.0000000000001324.
44. ZHU, L. et al. Angiotensin (1-7) alleviates post-resuscitation myocardial dysfunction by suppressing oxidative stress through the phosphoinositide 3-kinase, protein kinase B, and endothelial nitric oxide synthase signaling pathway. In: *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* 2021, 78(1), pp. 65-76. DOI: 10.1097/FJC.0000000000001037.
45. MEDINA, D., ARNOLD, A.C. Angiotensin-(1-7): Translational Avenues in Cardiovascular Control. In: *Am J Hypertens.* 2019, nr 32(12), pp.1133-1142. DOI:10.1093/ajh/hpz146.
46. MILLER, A.J., BINGAMAN, S.S., MEHAY, D., MEDINA, D., ARNOLD, A.C. Angiotensin-(1-7) Improves Integrated Cardiometabolic Function in Aged Mice. In: *Int J Mol Sci.* 2020, 21(14). DOI:10.3390/ijms21145131.
47. CHAPPELL, M.C. The Angiotensin-(1-7) axis: formation and metabolism pathways. In: Santos, R. (eds) *Angiotensin-(1-7)*. Springer, 2019, Cham. DOI: 10.1007/978-3-030-22696-1\_1.
48. SANTOS, R.A.S. et al. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: focus on Angiotensin-(1-7). In: *Physiol Rev.* 2018, nr 98, pp. 505–553.
49. GRACE, J.A., KLEIN, S., HERATH, C.B. Activation of the Mas Receptor by Angiotensin-(1-7) in the Renin–Angiotensin System Mediates Mesenteric Vasodilatation in Cirrhosis. In: *Gastroenterology.* 2013, nr 145(4), pp. 874-884. DOI:10.1053/j.gastro.2013.06.036.
50. IWAKIRI, Y, TREBICKA, J. Portal hypertension in cirrhosis: Pathophysiological mechanisms and therapy. In: *JHEP.* 2021, nr 3(4). DOI: 10.1016/j.jhepr.2021.100316.
51. LAPI, D., CAMMALLERI, M., MONTE, M.D., MARO, M. The Effects of Angiotensin II or Angiotensin 1-7 on Rat Pial Microcirculation during Hypoperfusion and Reperfusion Injury: Role of Redox Stress. In: *Biomolecules.* 2021, nr 11(12). DOI: 10.3390/biom11121861.

52. TSAI, H.J. et al. Angiotensin-(1-7) treatment blocks lipopolysaccharide-induced organ damage, platelet dysfunction, and IL-6 and nitric oxide production in rats. In: *Sci Rep*. 2021, nr 11, p. 610. DOI: 10.1038/s41598-020-79902-x.
53. AL-AGHAWANI, W., HUSSEIN, B. Study the effect of convolvulus arvensis on the contraction of isolated vascular smooth muscle fibers portal vein. In: *Open Access Library Journal*. 2022, nr 9, pp. 1-8. DOI: 10.4236/oalib.1108407.
54. MOHRMAN, D., HELLER, L. Vascular control. In: *Cardiovascular Physiology*. Lois Jane Heller. CDU Library Resource. 9th ed., McGraw-Hill, 2018. 398 p.
55. BARRET, K.E., BARMAN, S.M., BROOKS, H.L. Cardiovascular Regulatory Mechanisms. In: *Ganong's Review of Medical Physiology*. 2019, p. 1792 ISBN 978-1-260-12240-4.
56. ZHU, Y., HE, L., QU, J., ZHOU, Y. Regulation of vascular smooth muscle cell stiffness and adhesion by  $[Ca^{2+}]_i$ : an atomic force microscopybased study. In: *Microsc. Microanal.* 2018, nr 24, pp. 708–712. DOI: 10.1017/S1431927618015519.
57. ZHANG, J., HERRERA, A.M., PARE, P.D., SEOW, C.Y. Dense-body aggregates as plastic structures supporting tension in smooth muscle cells. In: *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2010, nr 299(5), pp. 6310-638. DOI: 10.1152/ajplung.00087.2010.
58. COBEȚ, V., TACU, L. Ang 1-7 blunts *in vitro* induced acute heart failure. In: *European Journal of Heart Failure*, 2017, nr 19, p.597.
59. JARAJAPU, Y.P.R. Targeting Angiotensin-Converting Enzyme-2/Angiotensin-(1-7)/Mas Receptor Axis in the Vascular Progenitor Cells for Cardiovascular Diseases. In: *Molecular Pharmacology*. 2021, 99(1), pp. 29-38. DOI:10.1124/mol.119.117580.
60. KOVAL, S.M. Relations of angiotensin-(1-7) with hemodynamic and cardiac structural and functional parameters in patients with hypertension and type 2 diabetes. *Arterial Hypertension*. 2019, nr 23(3), pp. 183-189. DOI: 10.5603/AH.a2019.0012.
61. AZUSHIMA, K., MORISAWA, N., TAMURA, K., NISHIYAMA, A. Recent research advances in renin-angiotensin-aldosterone system receptors. In: *Current Hypertension Reports*. 2020, nr 22(3), pp. 1-10.
62. TOUYZ, R.M. et al. Vascular smooth muscle contraction in hypertension. In: *Cardiovasc Res*, 2018, nr 114, pp. 529–539. DOI: 10.1093/cvr/cvy023.
63. HUANG, H., SUN, Z., HILL, M.A., MEININGER, G.A. A calcium mediated mechanism coordinating vascular smooth muscle cell adhesion during KCl activation. In: *Front Physiol*, 2018, nr 9. DOI: 10.3389/fphys.2018.01810.

64. LI, N. et al. Vascular extracellular matrix and fibroblasts-coculture directed differentiation of human mesenchymal stem cells toward smooth muscle-like cells for vascular tissue engineering. In: *Mater Sci Eng.* 2018, nr 93, pp. 61–69. DOI: 10.1016/j.msec.2018.07.061.
65. SANYOUR, H.J. et al. Membrane cholesterol and substrate stiffness coordinate to induce the remodeling of the cytoskeleton and the alteration in the biomechanics of vascular smooth muscle cells. In: *Cardiovasc Res.* 2019, nr 115, pp. 1369–1380. DOI: 10.1093/cvr/cvy276.
66. TSAI, M.S. et al. Galectin-1 restricts vascular smooth muscle cell motility via modulating adhesion force and focal adhesion dynamics. In: *Sci Rep.* 2018, nr 8. DOI: 10.1038/s41598-018-29843-3.
67. ZHU, Y. et al. Calcium in vascular smooth muscle cell elasticity and adhesion: novel insights into the mechanism of action. Mini Review Article. *Front Physiol, Sec. Vascular Physiology*, 2019. DOI: 10.3389/fphys.2019.00852.
68. SHEN, K., KENCHE, H., ZHAO H., LI, J. The role of extracellular matrix stiffness in regulating cytoskeletal remodeling via vinculin in synthetic smooth muscle cells. In: *Biochem Biophys Res Commun.* 2019, nr 508, pp.302–307. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.11.142.
69. CHENG J. et al. Ion channels and vascular diseases. In: *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019, nr 39, pp.46–56. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.312004.
70. SAULEA, A., ROTARU, V., OJOG, V. Refelctions about estimative method of the isolate portal vein contractility. In: *Anale științifice ale USMF „N.Testemițanu”*. 2011, Ediția a XII-a, volumul 1, Probleme medico-biologice și farmaceutice, pp.261-264.
71. ROSSIGNOLI, P., PEREIRA, O., CHIES, A. Orchidectomy enhances the effects of phenylephrine in rat isolated portal vein. In: *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2010, nr 37(3), pp.368-374. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2009.05313.x.
72. GIACALONE, A.G., MERRITT, M.E., RAGAVAN, M. *Ex Vivo* Hepatic Perfusion Through the Portal Vein in Mouse. DOI: 10.3791/63154-v.
73. AL-AGHAWANI, W., HUSSEIN, B. Study the Effect of *Convolvulus arvensis* on the Contraction of Isolated Vascular Smooth Muscle Fibers Portal Vein. In: *Open Access Library Journal.* 2022, nr 9, pp.1-8. DOI: 10.4236/oalib.1108407.
74. CHIES, A.B., ROSSIGNOLI, P. Exercise increases the phenylephrine effects in isolated portal vein of trained rats. In: *Vascular Pharmacol.* 2009, nr 51(2-3), pp.125-132. DOI: 10.1016/j.vph.2009.05.003.

75. ROSSIGNOLI, P. et al. Orchidectomy enhances the expression of endothelin-1 and ETB receptors in rat portal vein. In: *J Smooth Muscle Res.* 2014, nr 50, pp.85-92. DOI: 10.1540/jsmr.50.85.
76. KUCZMARSKI, A., WELTI, L., MOREAU, K., WENNER, M. ET-1 as a Sex-Specific Mechanism Impacting Age-Related Changes in Vascular Function. In: *Front Aging.* 2021, nr 2. DOI: 10.3389/fragi.2021.727416.
77. WEN, B., LIANG, J., DENG, X., CHEN, R. Effect of Fluid Shear Stress on Portal Vein Remodeling in a Rat Model of Portal Hypertension. In: *Gastroenterology Research and Practice.* 2015, nr 41, pp.1-7. DOI:10.1155/2015/545018.
78. HE, X.J. et al. Morphological and biomechanical remodeling of the hepatic portal vein in a swine model of portal hypertension. In: *Annals of Vascular Surgery.* 2012, nr 26(2), pp.259-267.
79. TSYBENKO, V. et al. Vasoconstrictor effect of acetylcholine in veins of the liver. In: *Bull Exp Biol Med.* 2007, nr 143, pp.291–294. DOI:10.1007/s10517-007-0092-0.
80. TSYBENKO, V.O. et al. Elucidation of the mechanisms of acetylcholine constrictor action on the portal vein and its intrahepatic branches. In: *Fiziol Zh.* 2006, nr 52(5), pp.28-33.
81. GUIMARAES, C., CALIXO, J., RAE, G. Potent Constrictor Actions of Endothelin-1, Endothelin-2, and Endothelin-3 in Rat Isolated Portal Vein. In: *Hypertension.* 1992, nr 19 (Suppl.II), pp.79-86.
82. PATARICZA, I., HOHN, I., BALOGH, A. Comparison of the Vasorelaxing Effect of Cromakalim and the New Inodilator, Levosimendan, in Human Isolated Portal Vein. In: *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2000, nr 52(2), pp.213-217. DOI:10.1211/0022357001773715.
83. BADAWI, JK., DING, A. Inhibitory effects of the ATP-sensitive potassium channel openers cromakalim, pinacidil and minoxidil on the carbachol–response curve in porcine detrusor muscle. In: *Arab Journal of Urology.* 2012, nr 2, pp.207-215, DOI: 10.1016/j.aju.2011.12.009.
84. SCHWIETERT, R., WILHELM, D., WILFFERT, B., VAN ZWIETEN, P.A. Functional study on the effects of nifedipine, cromakalim, and the absence of extracellular Ca<sup>2+</sup> on alpha 1-adrenoceptor-mediated excitation-contraction coupling in isolated rat portal vein: comparison with depolarization-mediated excitation-contraction coupling. In: *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* 1993, nr 21(5), pp.739-748. DOI:10.1097/00005344-199305000-00008.
85. LI, X.R. et al. Overproduction of nitric oxide inhibits vascular reactivity in portal hypertensive rats. In: *World J Gastroenterol.* 1997, nr 3(4), pp.221-224. DOI: 10.3748/wjg.v3.i4.221.

86. CARACUEL, L. et al. Acute-on-chronic liver disease enhances phenylephrine-induced endothelial nitric oxide release in rat mesenteric resistance arteries through enhanced PKA, PI3K/AKT and cGMP signalling pathways. In: *Scientific Reports*. 2019, nr 9, p.6993.  
DOI: 10.1038/s41598-019-43513-y.
87. BURT, R.P. Phasic contractions of the rat portal vein depend on intracellular Ca<sup>2+</sup> release stimulated by depolarization. In: *Heart and Circulatory Physiology*. 2003, nr 284(5), pp.H1808-H1817. DOI: 10.1152/ajpheart.00637.2002.
88. SORRIENTO, D., SANTULLI, G., DEL GIUDICE, C. Endothelial Cells Are Able to Synthesize and Release Catecholamines Both *In vitro* and *In vivo*. In: *Hypertension*. 2012, nr 60, pp.129-136. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.189605.
89. LOMAN, A., VILHJALMSSON, A., MCGARRITY, S. Metabolic Response in Endothelial Cells to Catecholamine Stimulation Associated with Increased Vascular Permeability. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2022, nr 23(6), p.3162.  
DOI:10.3390/ijms23063162.
90. BOUTAGU, N., FOWLER, J., SESSAL, W. A Vectorial, ER-Mitochondria Link to Energy Homeostasis in the Vascular Endothelium. In: *Cell Metabolism*. 2020, nr 32, pp.150-153.  
DOI: 10.1016/j.cmet.2020.07.010.
91. CHANG, C.C., et al. Effects of Caffeine Treatment on Hepatopulmonary Syndrome in Biliary Cirrhotic Rats. In: *Int J Mol Sci*. 2019,nr 20(7), p.1566. DOI:10.3390/ijms20071566.
92. AMER, M.G., MAZEN, N.F., MOHAMED, A.M. Caffeine intake decreases oxidative stress and inflammatory biomarkers in experimental liver diseases induced by thioacetamide: Biochemical and histological study. In: *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2017, nr 30(1), pp.13-24. DOI: 10.1177/0394632017694898.
93. BARCELOS, R. et al. Caffeine effects on systemic metabolism, oxidative-inflammatory pathways, and exercise performance. In: *Nutrition Research*. 2020, nr 80, pp.1-17.  
DOI:10.1016/j.nutres.2020.05.005.
94. SHIMAMURA, K., MORIYAMA, K., SUNANO, S. Caffeine-induced contraction of rat portal vein and effects of K-depolarization, Na-removal and low temperature. In: *J Smooth Muscle Res*. 1991, nr 27(2), pp.75-85. DOI: 10.1540/jsmr.27.75.
95. MUKERJI, M.S., LEATHARD, H.L., HUDDART, H. The Effect of progesterone on spontaneous and agonist-evoked contractions of the rat aorta and portal vein. In: *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2000, nr 52 (7), pp.843-849.  
DOI: 10.1211/0022357001774525.

96. GE, P. et al. Intestinal barrier damage, systemic inflammatory response syndrome, and acute lung injury: A troublesome trio for acute pancreatitis. In: *Biomed Pharmacother.* 2020, nr 132, p.110770. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110770.
97. SHA, H., MA, Q., JHA, R.K. Trypsin is the culprit of multiple organ injury with severe acute pancreatitis. In: *Med Hypotheses.* 2009, nr 72(2), pp.180-182. DOI: 10.1016/j.mehy.2008.09.007.
98. LUO, Y. et al. Comprehensive Mechanism, Novel Markers and Multidisciplinary Treatment of Severe Acute Pancreatitis-Associated Cardiac Injury – A Narrative Review. In: *Journal of Inflammation Research.* 2021, nr 14, pp.3145-3169. DOI: 10.2147/JIR.S310990.
99. SHI, J. et al. Expression of ectopic trypsin in atherosclerotic plaques and the effects of aprotinin on plaque stability. In: *Biophysics.* 2020, p. 690. DOI: 10.1016/j.abb.2020.108460.
100. NAKAYAMA T., et al. Mechanism of trypsin-induced endothelium-dependent vasorelaxation in the porcine coronary artery. In: *Br J Pharmacol.* 2001, nr 134(4), pp.815-826. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704318.
101. TEMLER, RS., FELBER, JP. Radioimmunoassay of human plasma trypsin. *Biochim. Biophys. Acta.* 1976, nr 445, pp.720–728.
102. KANEKO, D., KOMATSU, H., OHAMA, T., SATO, K. Effects of Trypsin on Cytosolic Calcium Levels in the Rat Aortic Endothelium. In: *J Vet Med Sci.* 2011, nr 73(8), pp.1001-1005.
103. CHOI, N.R., KIM, J.N., KIM, B.J. Trypsin Depolarizes Pacemaker Potentials in Murine Small Intestinal Interstitial Cells of Cajal. In: *Appl Sci.* 2022, nr 12(9). DOI: 10.3390/app12094755.
104. ANDO, M. et al. Impairment of Protease-Activated Receptor 2-Induced Relaxation of Aortas of Aged Spontaneously Hypertensive Rat. In: *Biol Pharm Bull.* 2018, nr 41(5), pp.815-819. DOI: 10.1248/bpb.b17-00987.
105. BHAT, LK., SELOKAR, I., RAUT, D. Novel target for hypertension drug discovery. In: *Curr Hypertens Rep.* 2021, nr 23(4), p.19. DOI: 10.1007/s11906-021-01137-6.
106. KAGOTA, S., CHIA, E. , MCGUIRE, J. Preserved arterial vasodilatation via endothelial protease-activated receptor-2 in obese type 2 diabetic mice. In: *British Journal of Pharmacology.* 2011, nr 164 (2), pp. 358-371. ISSN 1476-5381.
107. AMAN, M., HIRANO, M., KANAIDE, H., HIRANO, K. Upregulation of proteinase-activated receptor-2 and increased response to trypsin in endothelial cells after exposure to



- oxidative stress in rat aortas. In: *J Vasc Res.* 2010, nr 47(6), pp.494-506. DOI: 10.1159/000313877.
108. CHEN, J. et al. Neutrophils Enhance Cutaneous Vascular Dilation and Permeability to Aggravate Psoriasis by Releasing Matrix Metalloproteinase 9. In: *Journal of Investigative Dermatology.* 2021, nr 141(4), pp.787-799. DOI: 10.1016/j.jid.2020.07.028.
109. IRING, A. et al. Shear stress-induced endothelial adrenomedullin signaling regulates vascular tone and blood pressure. In: *J Clin Invest.* 2019, nr 129(7), pp.2775-2791. DOI: 10.1172/JCI123825.
110. FAZLEEN, A., WILKINSON, T. The emerging role of proteases in  $\alpha$ 1-antitrypsin deficiency and beyond. In: *ERJ Open Research.* 2021, nr 7, DOI:10.1183/23120541.00494-2021.
111. PLAYFORD, R.J., MARCHBANK, T. Pancreatic secretory trypsin inhibitor reduces multi-organ injury caused by gut ischemia/reperfusion in mice. In: *PLoS ONE.* 2020, nr 15(1), DOI: 10.1371/journal.pone.0227059.
112. EMILSSON, K. et al. Vascular effects of proteinase-activated receptor2 agonist peptide. In: *Journal of Vascular Research.* 1997, nr 34(4), pp.267-272.
113. ROBIN, J. et al. Protease-Activated Receptor 2-Mediated Vasodilatation in Humans *In vivo*. Role of Nitric Oxide and Prostanoids. In: *Circulation.* 2003, nr 107, pp.954-959. DOI: 10.1161/01.CIR.0000050620.37260.75.
114. GAMILTON, J.R., FRAUMAN A.G., COCKS T.M. Increased expression of protease-activated receptor 2(PAR2) and PAR4 in human coronary artery by inflammation stimuli unveils endothelium-dependent relaxation to PAR2 and PAR4 agonists. In: *Circ Res.* 2001, nr 89, pp.92-98.
115. HAN, X., NIEMAN, M.T., KERLIN, B.A. Protease-activated receptors: An illustrated review. In: *Res Pract Thromb Haemost.* 2021, nr 5(1), pp.17-26. DOI: 10.1002/rth2.12454.
116. LALA, T., HALL, R.A. Adhesion G protein-coupled receptors: structure, signaling, physiology, and pathophysiology. In: *Phys Rew.* 2022, nr 102(4), pp.1587-1624. DOI: 10.1152/physrev.00027.2021.
117. PEACH, C.J., EDGINTON-MITCHEL, L.E., BUNNETT, N.W., SCHMIDT, B.L. Protease-activated receptors in health and disease. In: *Phys Rew.* 2023, nr 103(1), pp.717-785. DOI: 10.1152/physrev.00044.2021.
118. HARPER, D., CHANDLER, B. Splanchnic circulation. In: *BJA Education,* nr 16(2), pp. 66-71. DOI: 10.1093/bjaceaccp/mkv017.
119. AKHONDI H., GANJALI S., NAGALLI S. Splanchnic Venous Thrombosis. In: *StatPearls .* 2022 . PMID: 31985963.

120. OJOG, V., SAULEA, A., ROTARU, V., LOZOVANU, S. Changes of the portal vein longitudinal muscles contraction to acetylcholine action. In : *Physiology: from observation to molecular mechanism. The XIIth National Congress of The Romanian Society of Physiology, with international participation*. Craiova, Romania 26 -28 may, 2016, p. 43-44.
121. SAULEA, A., LOZOVANU, S., OJOG, V., GANENCO, A., COREȚCHI, E. Role of endothelium in the contractile response of isolated portal vein to trypsin action. *31st National Conference of the Romanian Physiology Society Physiology Today: Innovation, Integration, Translation*, Timișoara, România. 25-26 octombrie 2019, supliment 1 pp. 28-29. ISSN 1223-2076.
122. YOONG, Y.L. et al. Adrenoreceptor-mediated responses in the isolated portal vein of the hypothyroid rat. In: *J Auton Pharmacol*. 1982, nr 2(3), pp.161-168.  
DOI: 10.1111/j.1474-8673.1982.tb00485.x.
123. SAULEA, A., ROTARU, V., OJOG, V., VOVC, V. Contractilitatea venei portă izolate în pancreatita acută. *Materialele conferinței științifice a colaboratorilor și studenților USMF, Chișinău*, 1998, p. 92.
124. AKANJI, O., WEINZIERL, N., SCHUBERT, R., SCHILLING, L. Acid sensing ion channels in rat cerebral arteries: Probing the expression pattern and vasomotor activity. *Life Sci* 2019, nr 227, pp.193–200.
125. YARSTEV, V.N. Paradoxical effects of acidosis on the noradrenaline-induced and neurogenic constriction of the rat tail artery at low temperatures. In: *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2021, nr 9(10). DOI: 10.1139/cjpp-2020-0740.
126. SAULEA, A., VOVC, V., ROTARU, V. Influența creșterii concentrației tripsinei în sânge asupra tensiunii arteriale. *Materialele Conferinței științifice a colaboratorilor și studenților USMF. Chișinău*, 1999, p.82.
127. VOVC, V., ROTARU, V., OJOG, V. Contractilitatea vasculară la acțiunea tripsinei. A XVI-a Conferință Națională de fiziologie cu participare internațională. “Cercetări de fiziologie clinică și experimentală”. *Rezumate*. Craiova, 1999, p.40.
128. SELICEAN, S. et al. Regression of portal hypertension: underlying mechanisms and therapeutic strategies. In: *Hepatology International*. 2021, nr 15, pp.36-50.  
DOI: 10.1007/s12072-021-10135-4.
129. REGGIANI, C. Caffeine as a tool to investigate sarcoplasmic reticulum and intracellular calcium dynamics in human skeletal muscles. In: *J Muscle Res Cell Motil*. 2021, nr 42, pp.281–289. DOI: 10.1007/s10974-020-09574-7.

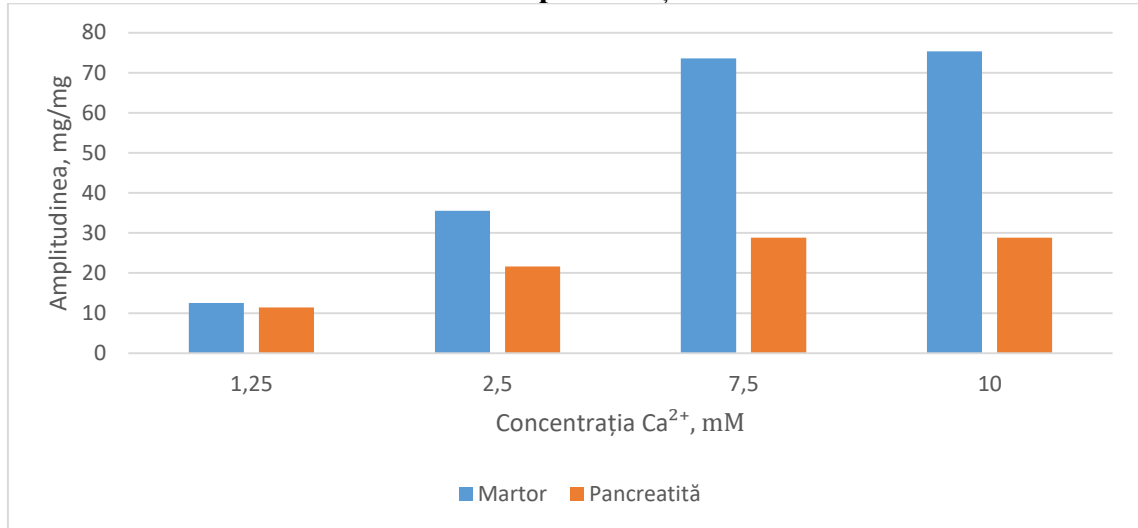
130. WANG, H., SHIBAMOTO, T., MIYAHARA, T. Endothelin-1 selectively contracts portal vein through both ETA and ETB receptors in isolated rabbit liver. In: *American Journal of Physiology*. 1997, nr 273(7). DOI: 10.1152/ajpgi.1997.273.5.G1036.
131. PETROWSKY, H. et al. Endothelin-induced contraction of the portal vein in cirrosis. In: *Eur Surg Res*. 1999, nr 31, pp.289-296. DOI: 10.1159/000008705.
132. CARNEIRO, C. et al. All about portal vein: a pictorial display to anatomy, variants and physiopathology. In: *Insights Imaging*. 2019, nr 10, p.38. DOI:10.1186/s13244-019-0716-8.
133. EZHILARASAN, D. Endothelin-1 in portal hypertension: The intricate role of hepatic stellate cells. In: *Exp Biol Med (Maywood)*. 2020, nr 245(16), pp.1504-1512. DOI: 10.1177/1535370220949148.
134. WEINZIRL, J. et al. Splenic rhythms and postprandial dynamics in physiology, portal hypertension, and functional hyposplenism. A review. *Digestion*. 2021, nr 102, pp. 326-334. DOI:10.1159/000507346.
135. KOSHIKAWA, N., NAGASHIMA, Y., MIYAGI, Y., YANOMA, S. Expression of trypsin in vascular endothelial cells. In: *FEBS Lett* 1997, nr 409, pp. 442-448.
136. HAN, X., NIEMAN, MT., KERLIN, BA. Protease-activated receptors: an illustrated review. In: *Res Pract Thromb Haemost*. 2021,nr 5(1), pp.17-26. DOI: 10.1002/rth2.12454.
137. CHANDRABALAN, A., RAMACHANDRAN, R. Molecular mechanisms regulating Proteinase-Activated Receptors (PARs). In: *FEBS Journal*. 2021, nr 288(8), pp. 2697-2726. DOI:10.1111/febs.15829.
138. KAGOTA, S., MARUYAMA, K., MCGUIRE, J.J. Characterization and functions of protease-activated receptor 2 in obesity, diabetes and metabolic syndrome: A Systemic Review. In: *Bio Med research International*. 2016, DOI:10.1155/s016/3130496.
139. LEE-RIVERA, I., LOPEZ, E., LOPEZ-COLOME, A.M. Diversification of PAR signaling through receptor crosstalk. In: *Cell Mol Biol Lett*. 2022, nr 27, p. 77. DOI:10.1186/s11658-022-00382-0.
140. ZHANG, X. et al. Endothelial PAR2 activation evokes resistance artery relaxation. In: *Journal of Cellular Physiology*. 2023, nr 238, pp. 776-789. DOI: 10.1002/jcp.30973.
141. MCCARRON, J.G. et al. Heterogeneity and emergent behaviour in the vascular endothelium. In: *Current Opinion in Pharmacology*. 2019, nr 45, pp. 23–32. DOI:10.1016/j.coph.2019.03.008.
142. KIM, S. et al. PAR-1 is a novel mechano-sensor transducing laminar flow-mediated endothelial signaling. In: *Sci Rep*. 2018, nr 8. DOI:10.1038/s41598-018-33222-3.

143. AMAN, M. et al. Upregulation of proinase-activated receptor-2 and increased response to trypsin in endothelial cells after exposure to oxidative stress in rat aortas. In: *J Vasc Res.* 2010, nr 47, pp.494–506. DOI:10.1159/000313877
144. МАЛХАСЯН, В. А., СИМАОРЯН, П. С. Новый способ получения экспериментальной модели острого панкреатита. В: *Экспериментальная хирургия и анестезиология.* 1972, №3, сс. 30-32.

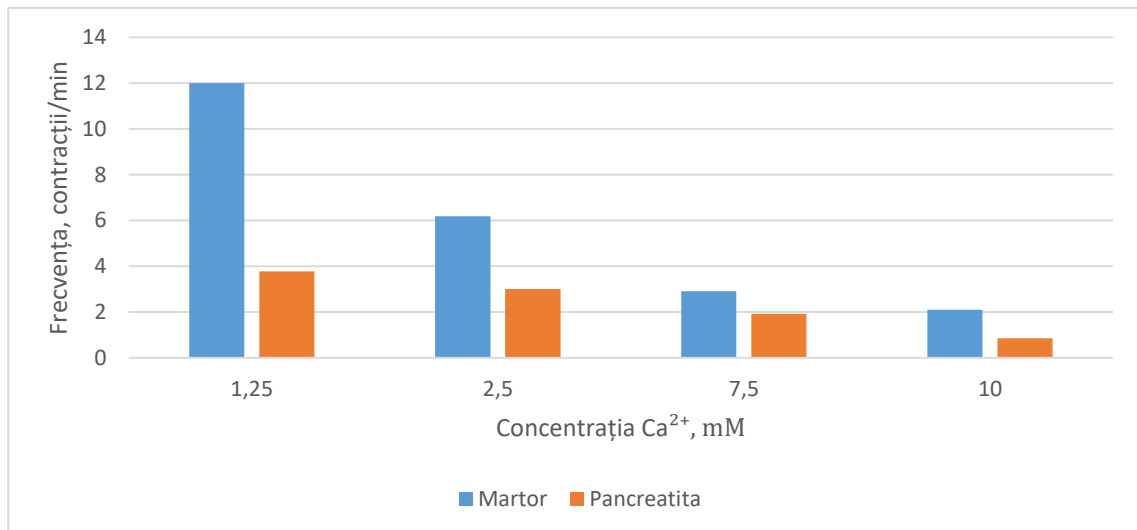
## ANEXE

### Anexa 1

#### Indicii contractilității venei portă cu endoteliu intact în prezența tripsinei asociată cu diferite precondiționări

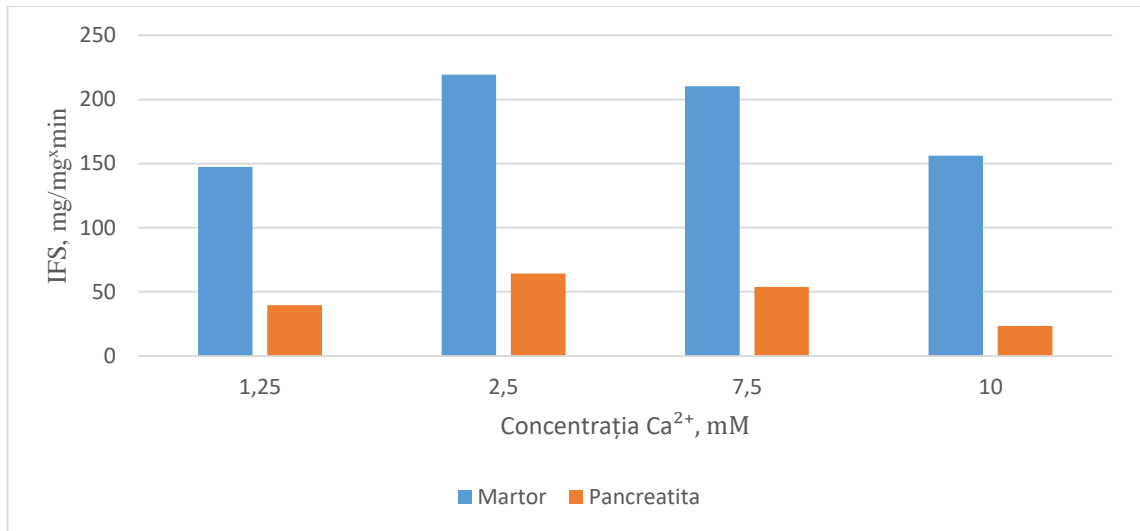


**Fig. A1.1. Amplitudinea contracției în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca**

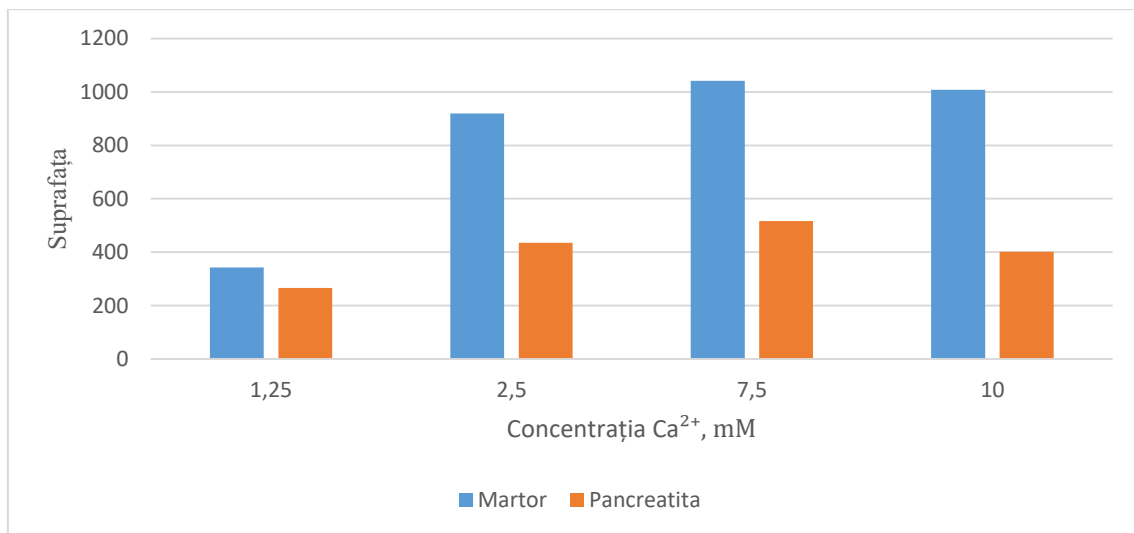


**Fig.**

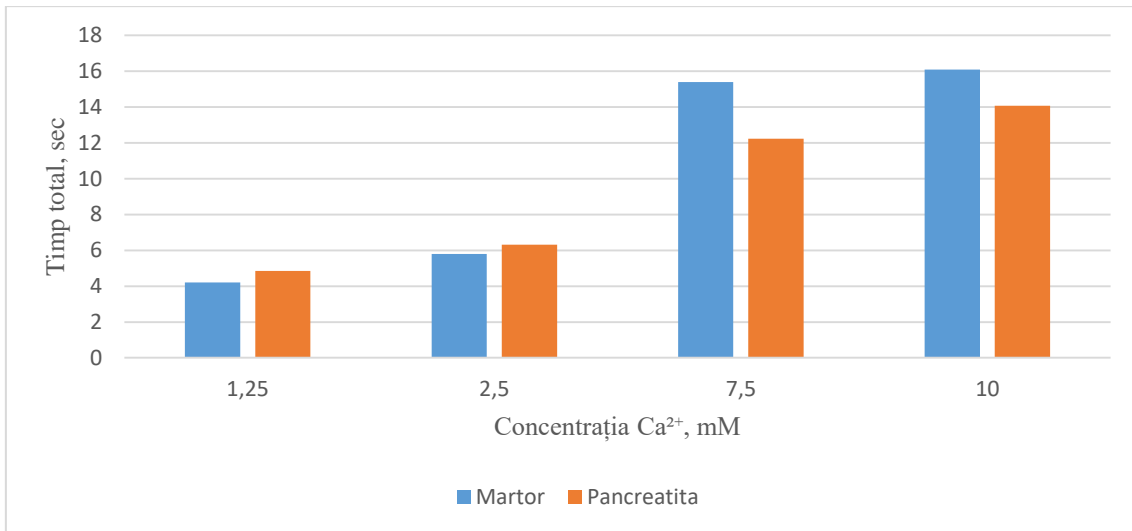
**A1.2 Frecvența contracției în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca**



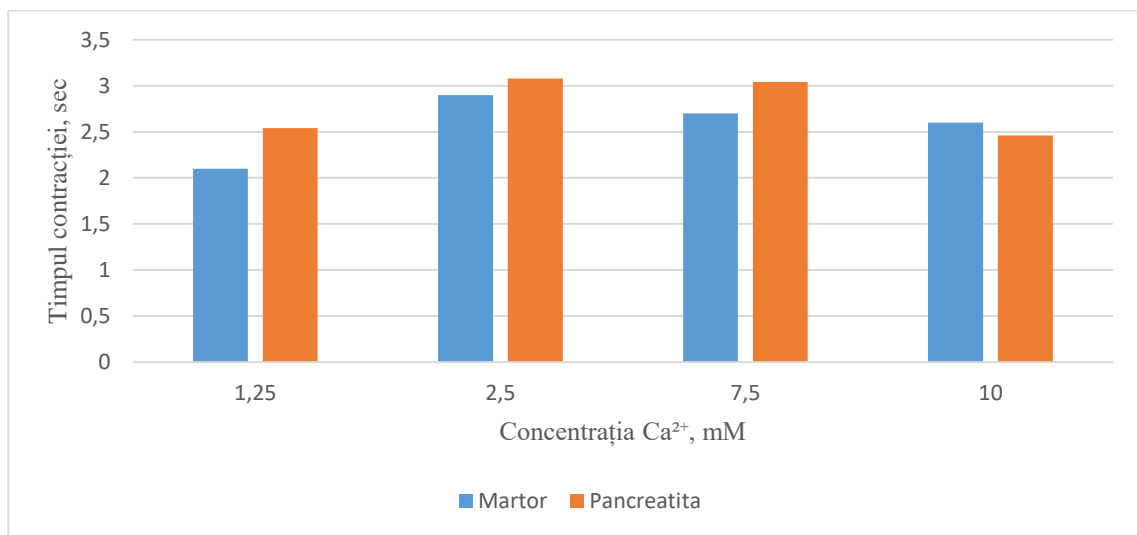
**Fig. A1.3 Intensitatea funcționării structurilor în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca**



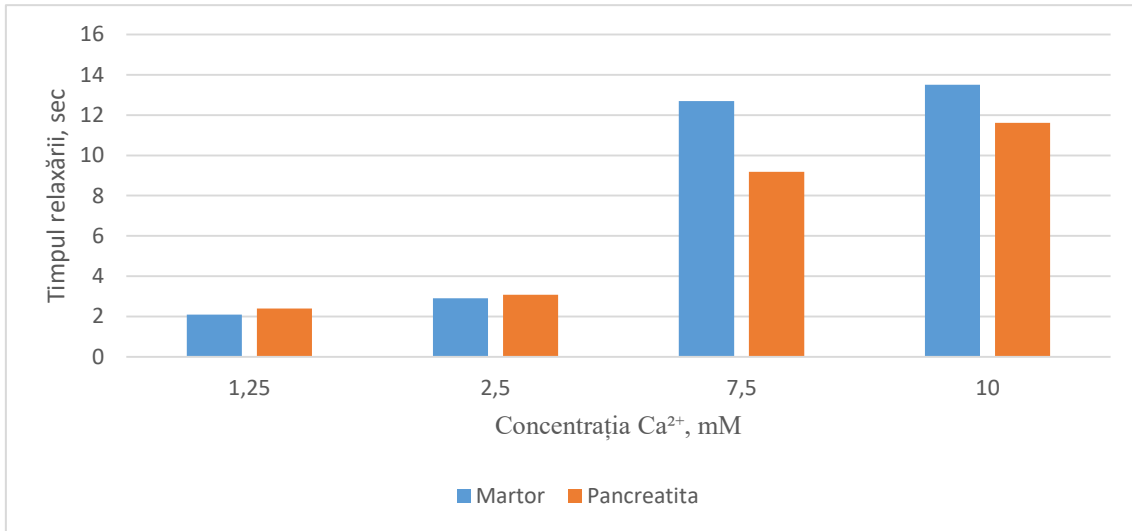
**Fig. A1.4 Suprafața contracției în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca**



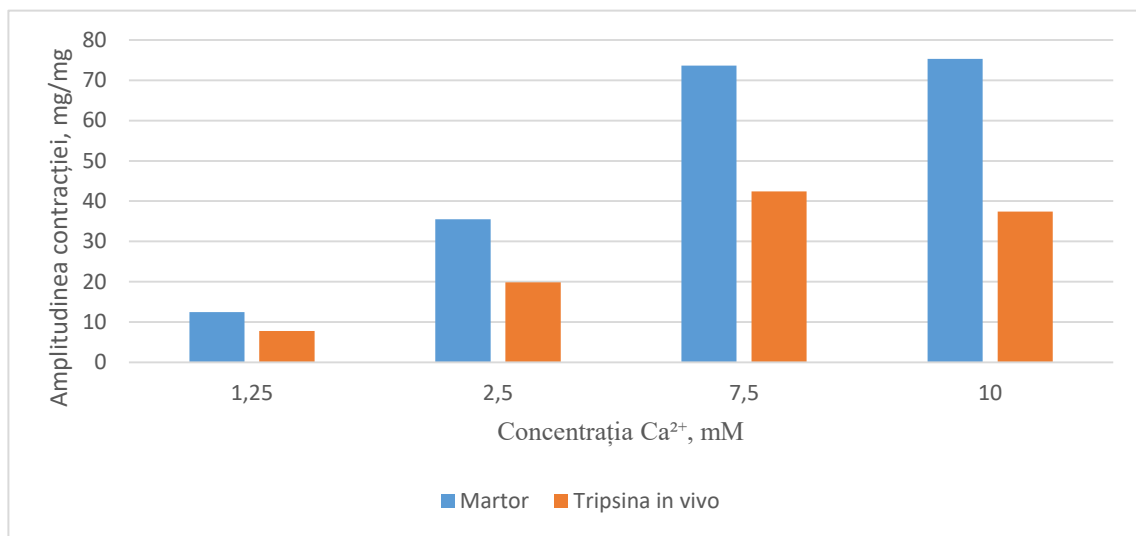
**Fig. A1.5 Timpul total de contracție în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca**



**Fig. A1.6 Timpul de contracție în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca**

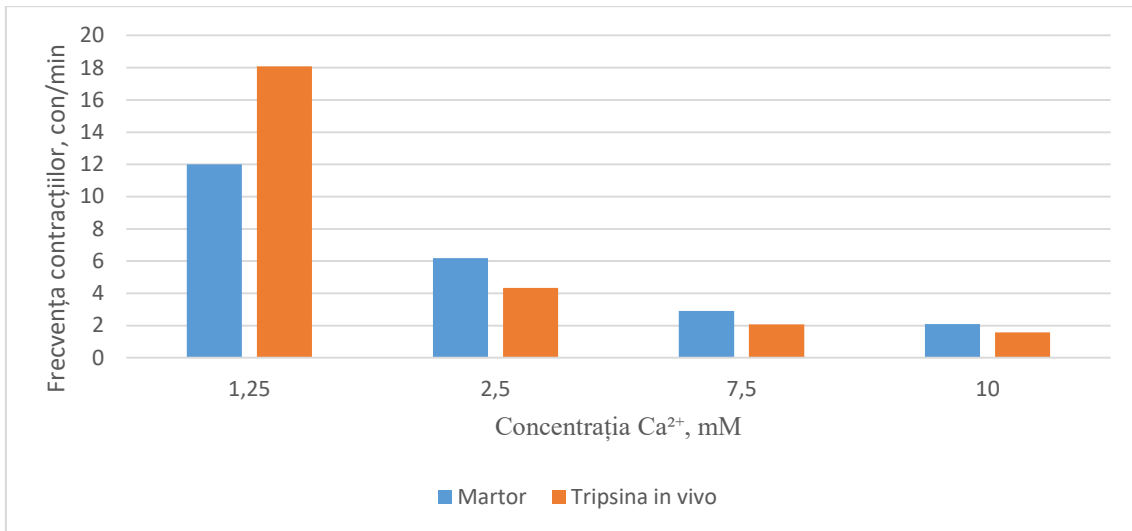


**Fig. A1.7** Timpul de relaxare în lotul martor și lotul pancreatită la diferite concentrații a ionilor de Ca

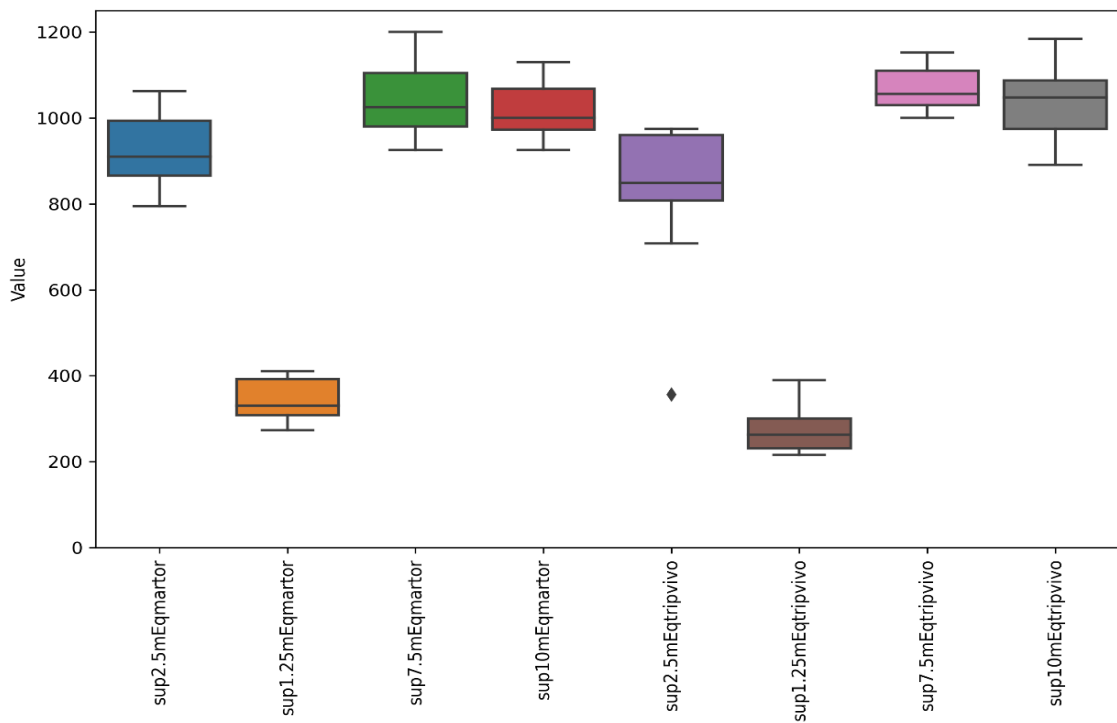


**Fig. A1.8** Amplitudinea contractiei în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca



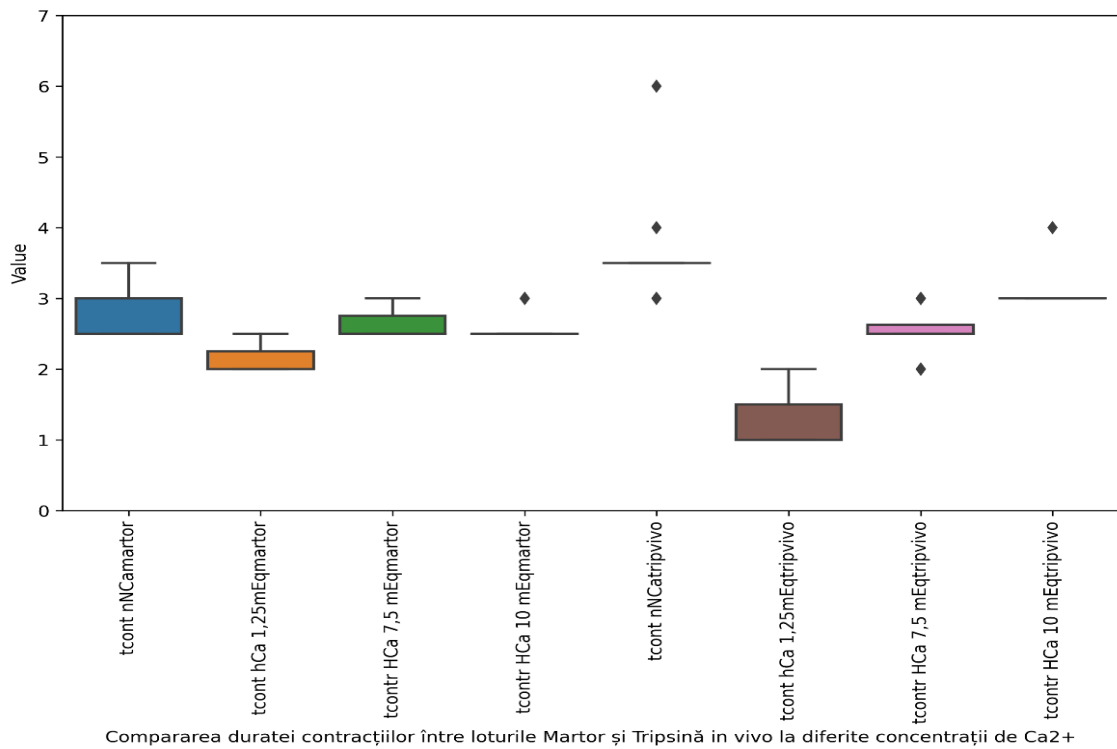


**Fig. A1.9** Frecvența contracțiilor în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca

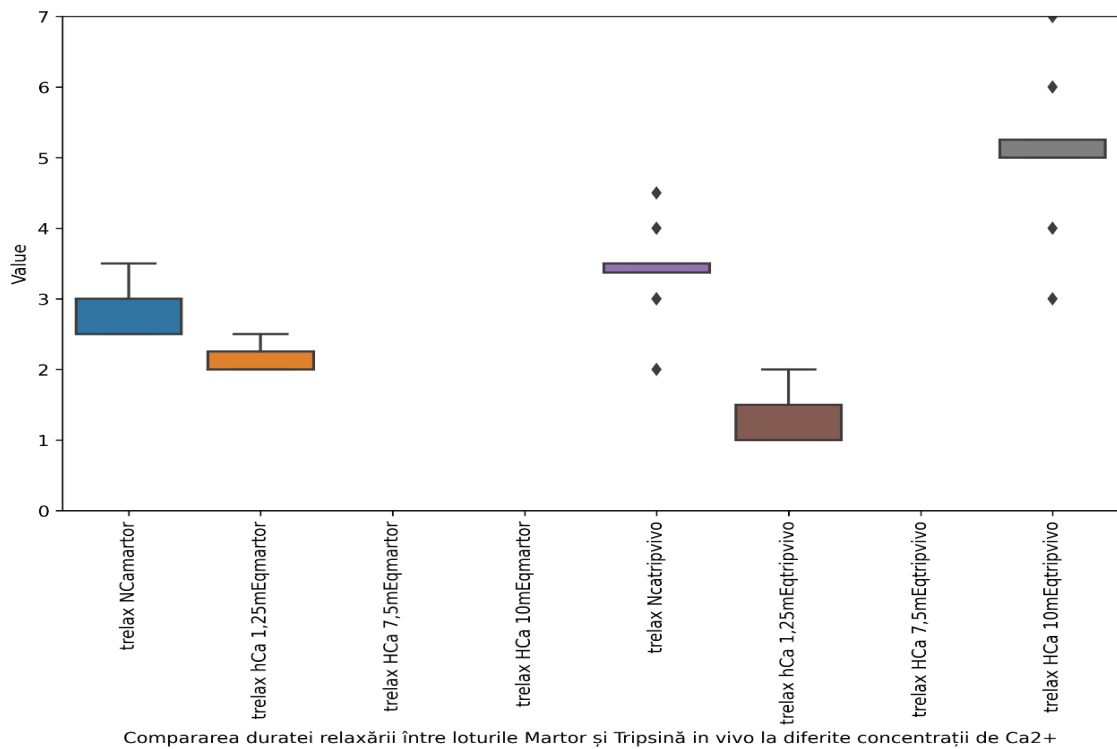


Compararea suprafeței contracțiilor între loturile Martor și Tripsină in vivo la diferite concentrații de Ca<sup>2+</sup>

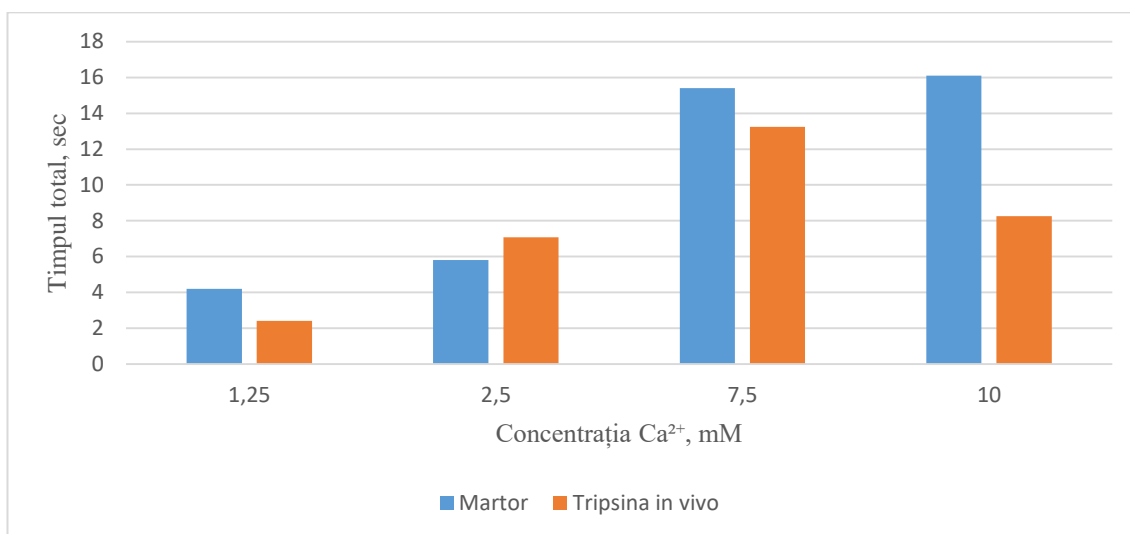
**Fig. A1.10** Suprafața contracției în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca



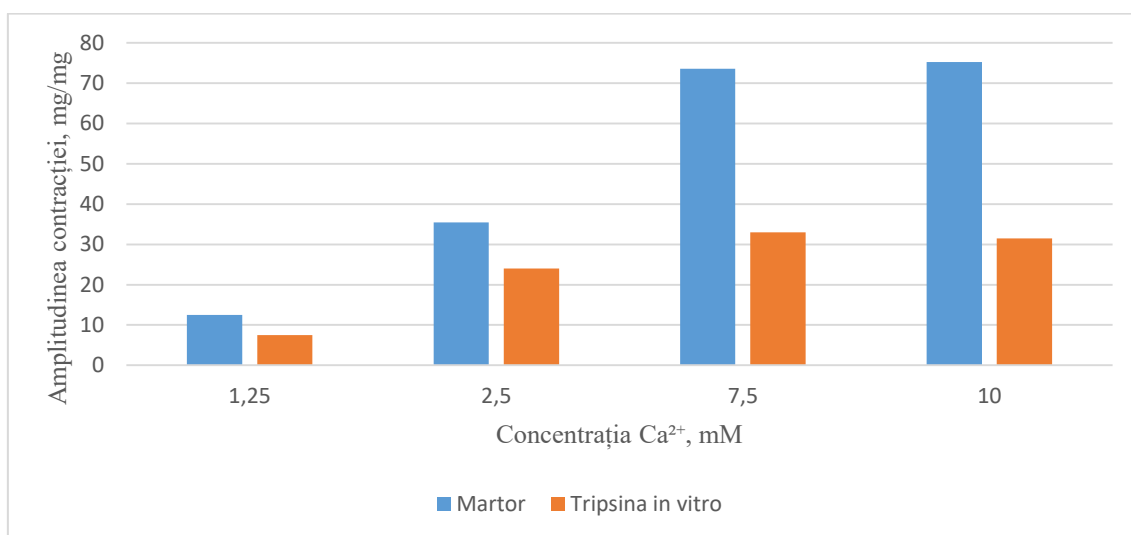
**Fig. A1.11** Timpul de contracție în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca



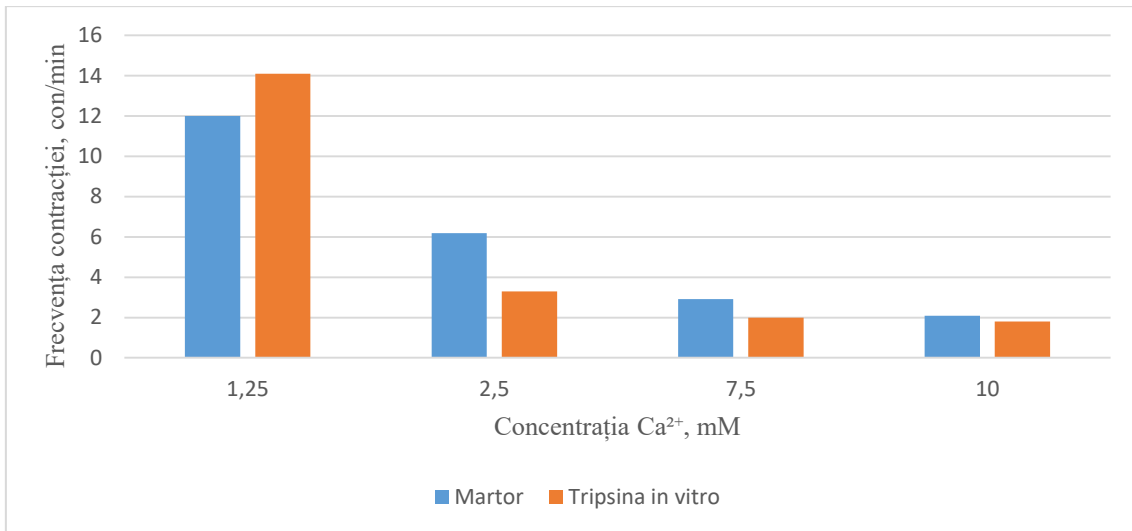
**Fig. A1.12** Timpul de relaxare în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca



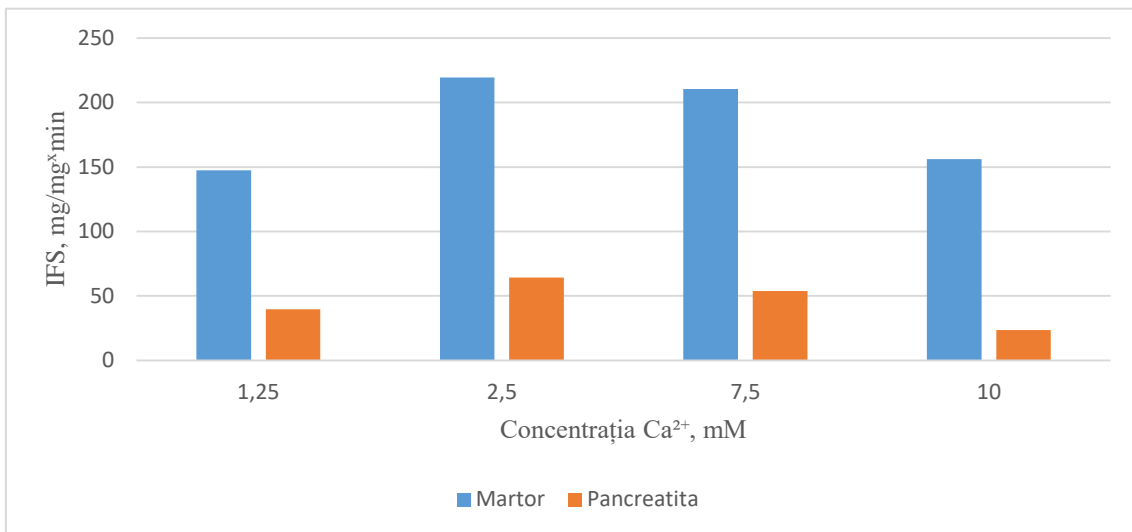
**Fig. A1.13 Timpul total de contracție în lotul martor și lotul tripsină *in vivo* la diferite concentrații a ionilor de Ca**



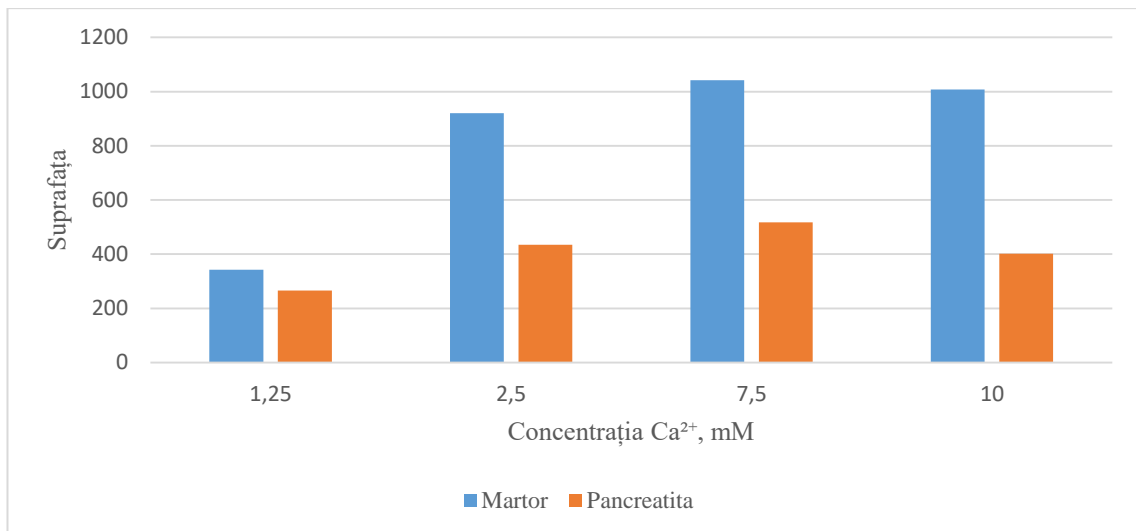
**Fig. A1.14 Amplitudinea contracției în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca**



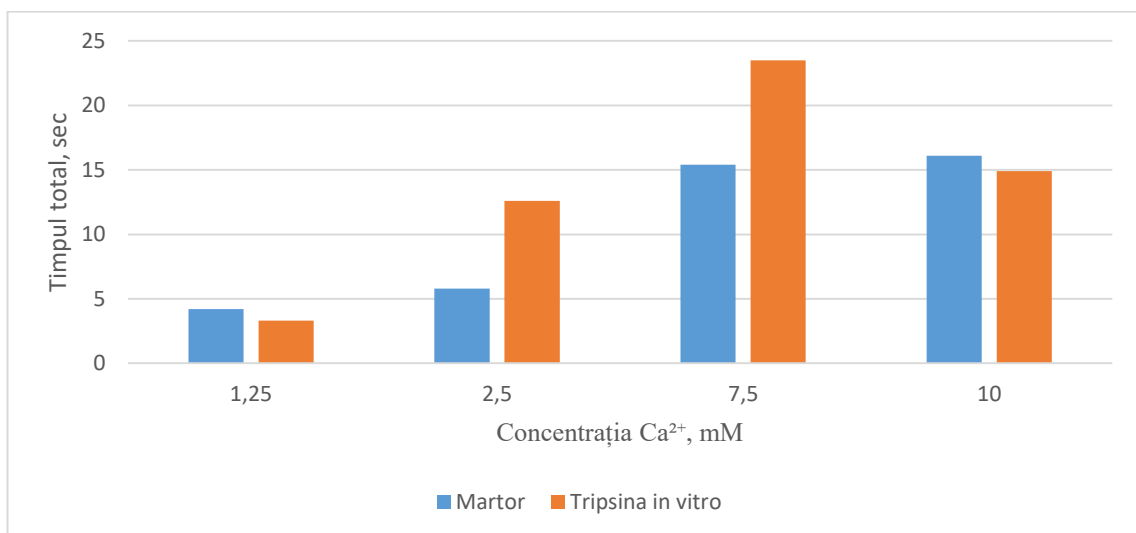
**Fig. A1.15 Frecvența contracțiilor în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca**



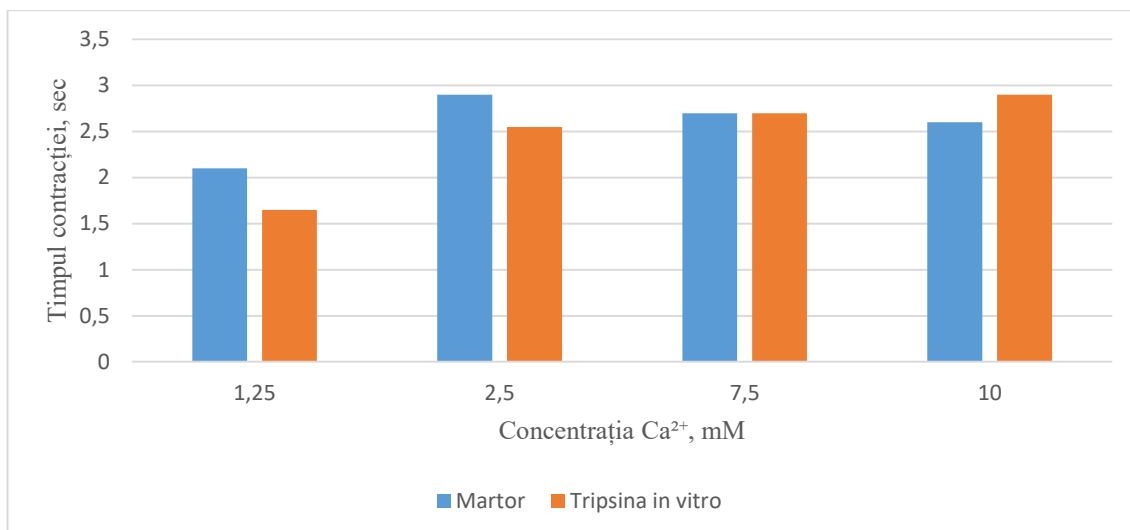
**Fig. A1.16 Intensitatea funcționării structurilor în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca**



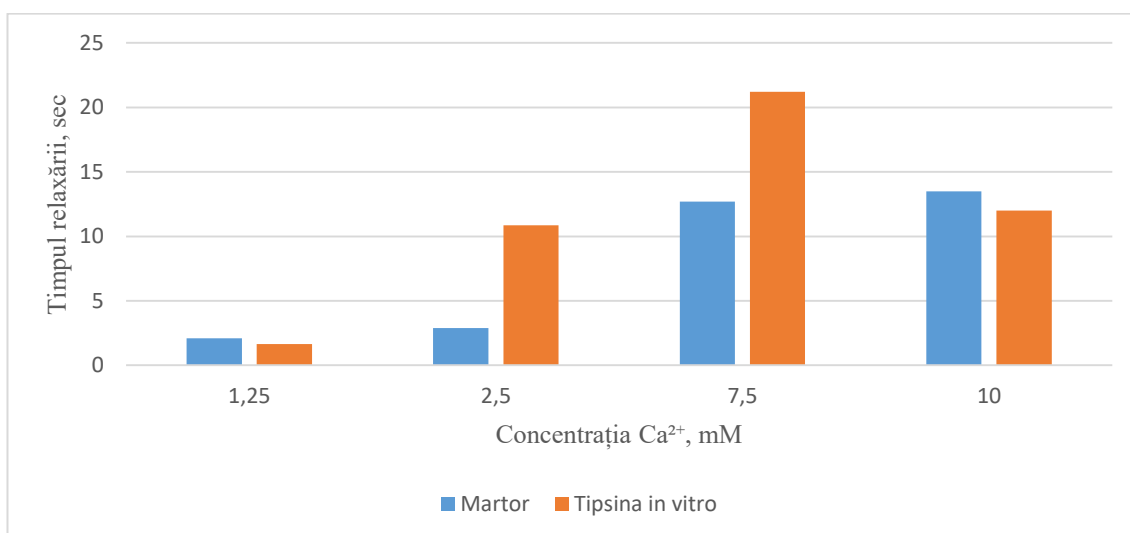
**Fig. A1.17** Suprafața contracției în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca



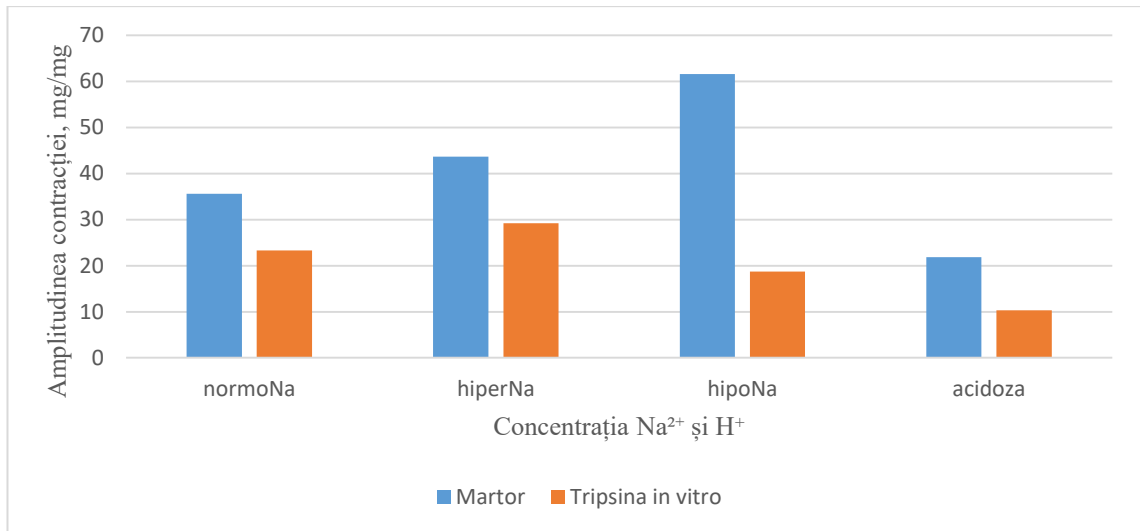
**Fig. A1.18** Timpul total de contracție în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca



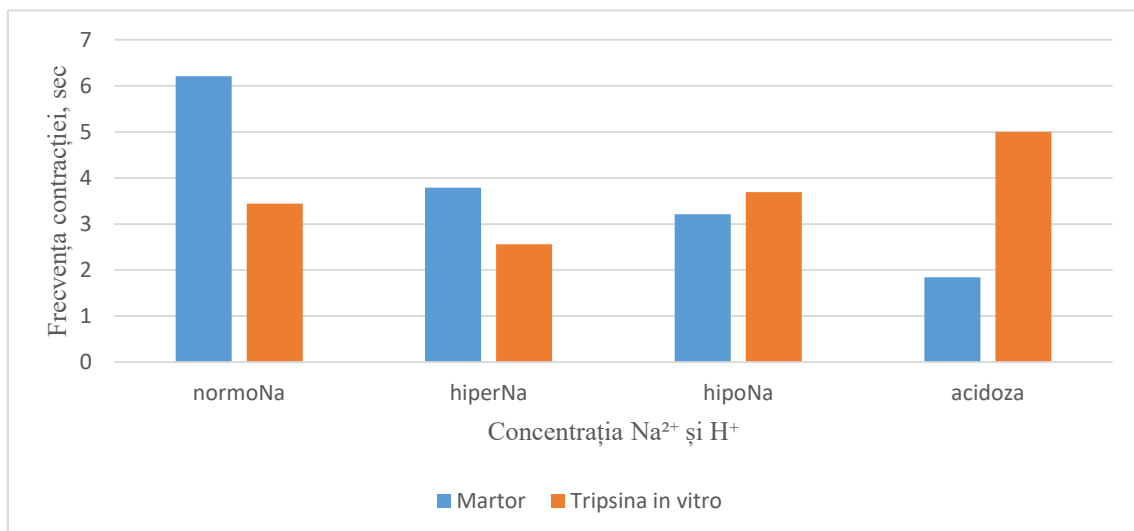
**Fig. A1.19 Timpul de contracție în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca**



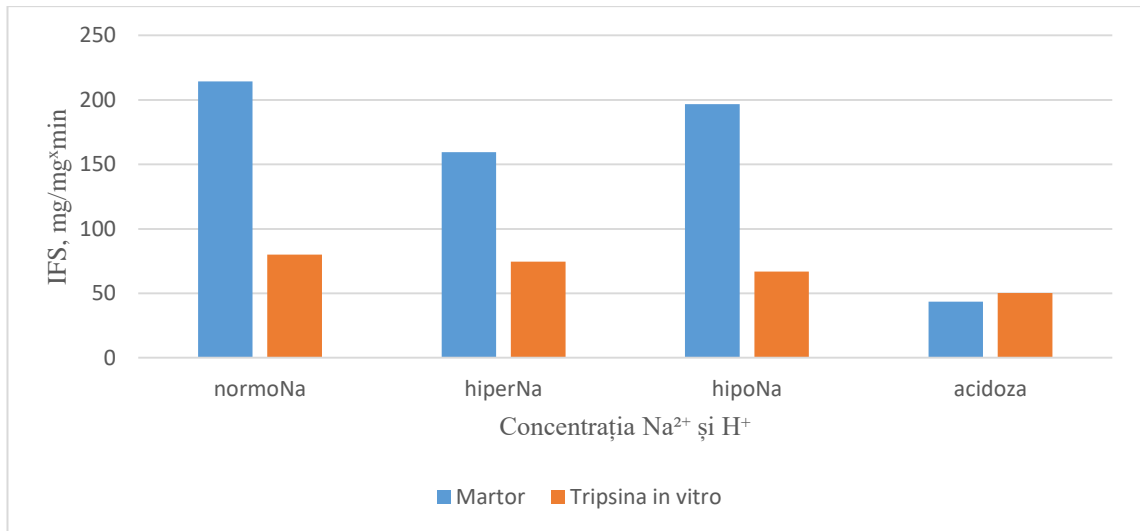
**Fig. A1.20 Timpul de relaxare în lotul martor și lotul tripsină *in vitro* la diferite concentrații a ionilor de Ca**



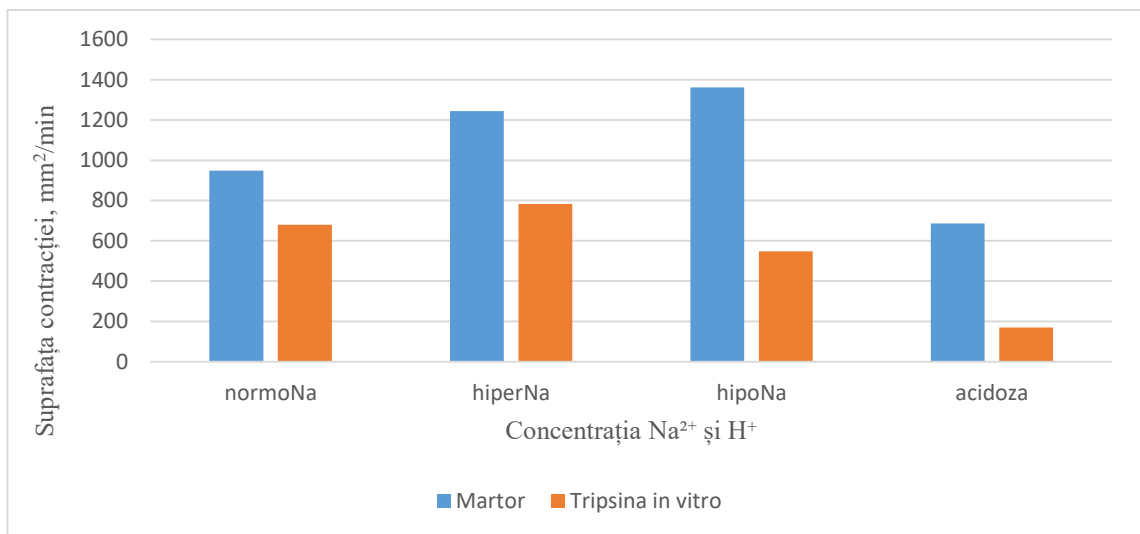
**Fig. A1.21 Amplitudinea contracției în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hiperNa<sup>+</sup>, hipoNa<sup>+</sup> și acidoză**



**Fig. A1.22 Frecvența contracției în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hiperNa, hipoNa și acidoză**

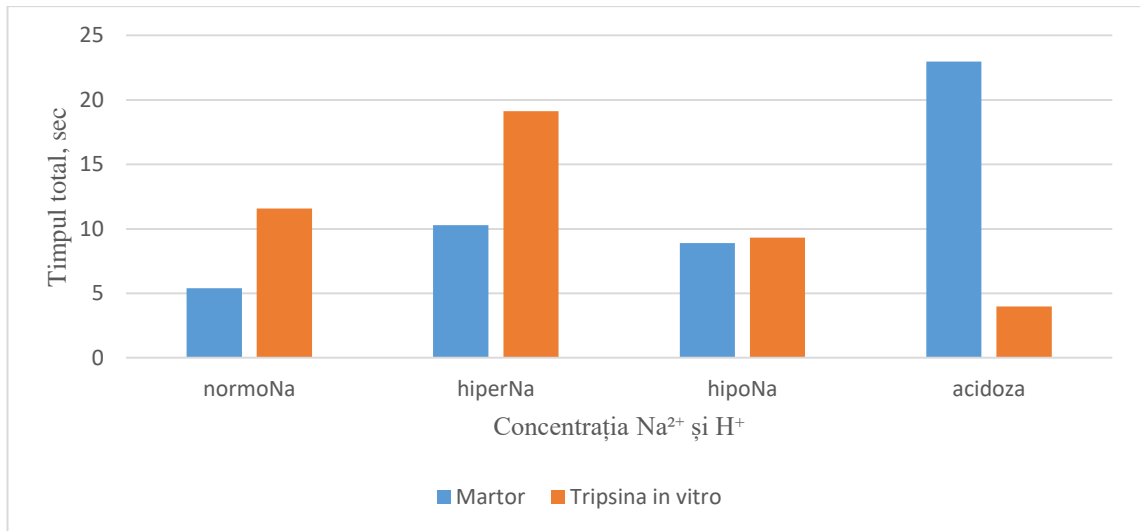


**Fig. A1.23 Intensitatea funcționării structurilor în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hiperNa, hipoNa și acidoză**

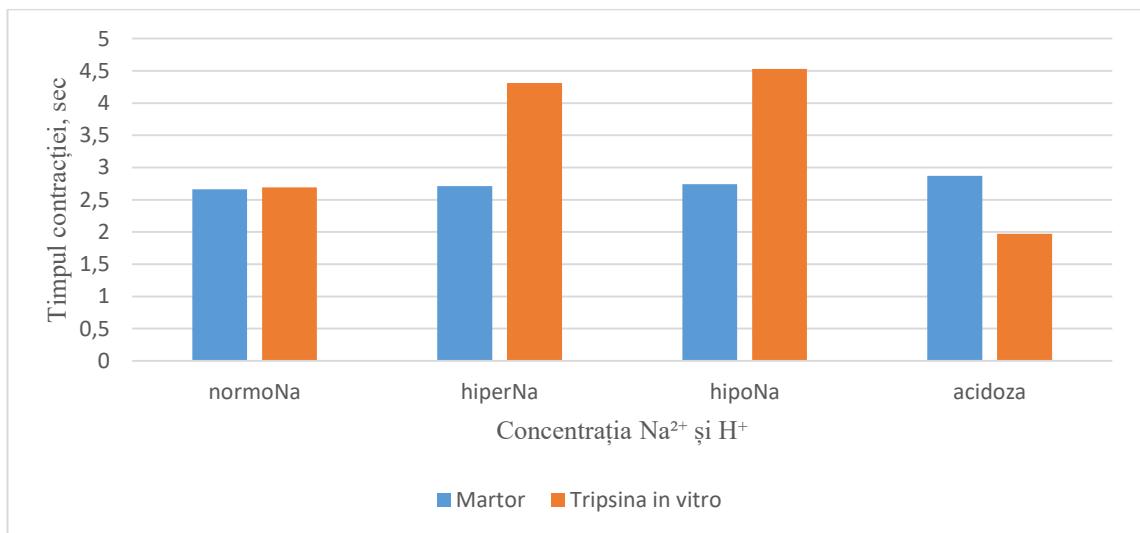


**Fig. A1.24 Suprafața contracției în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hiperNa, hipoNa și acidoză**

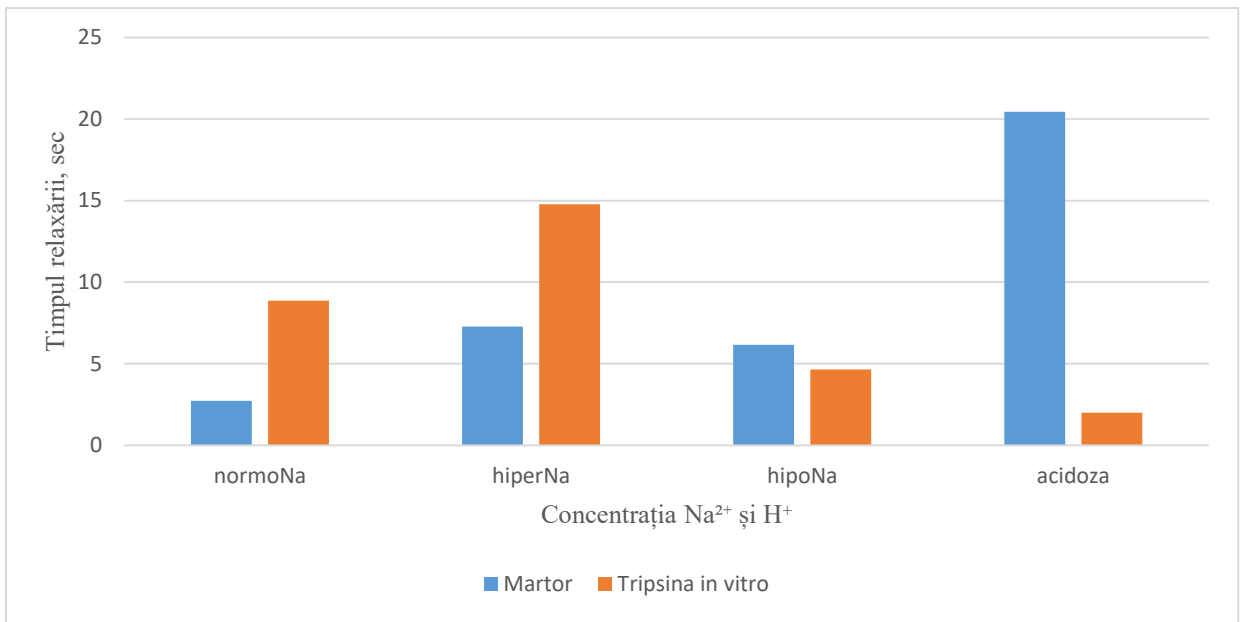




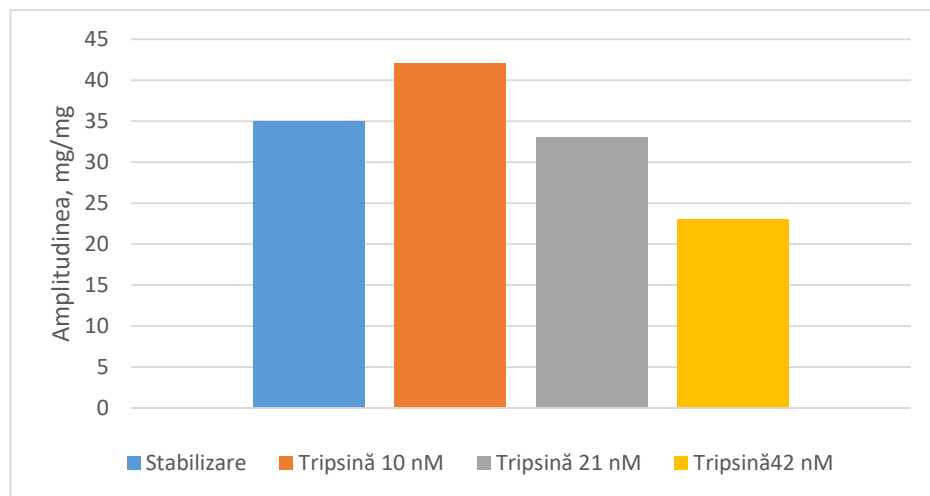
**Fig. A1.25** Timpul total de contracție în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hiperNa, hipoNa și acidoză



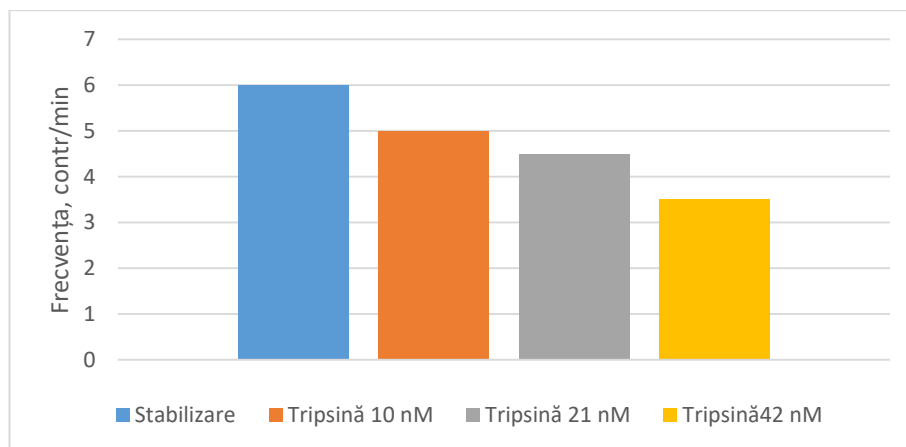
**Fig. A1.26** Timpul de contracție în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hiperNa, hipoNa și acidoză



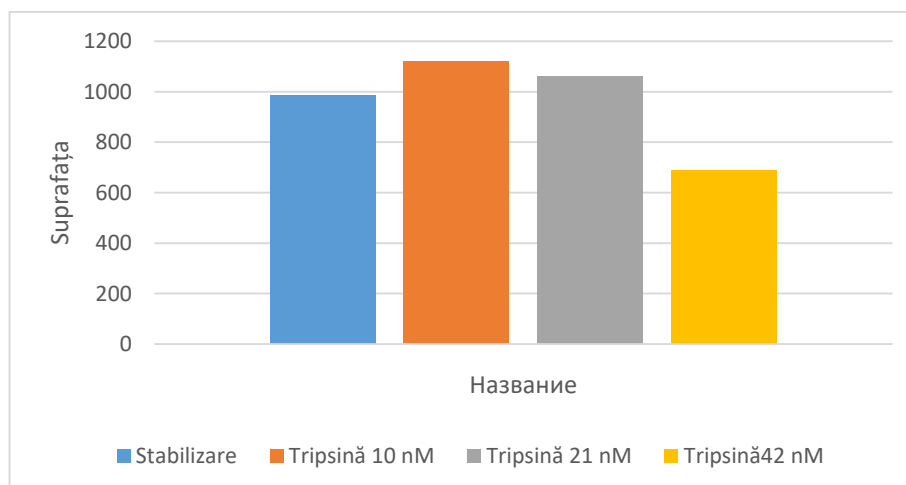
**Fig. A1.27** Timpul de relaxare în lotul tripsină *in vitro* și lotul martor în condiții de hiperNa, hipoNa și acidoză



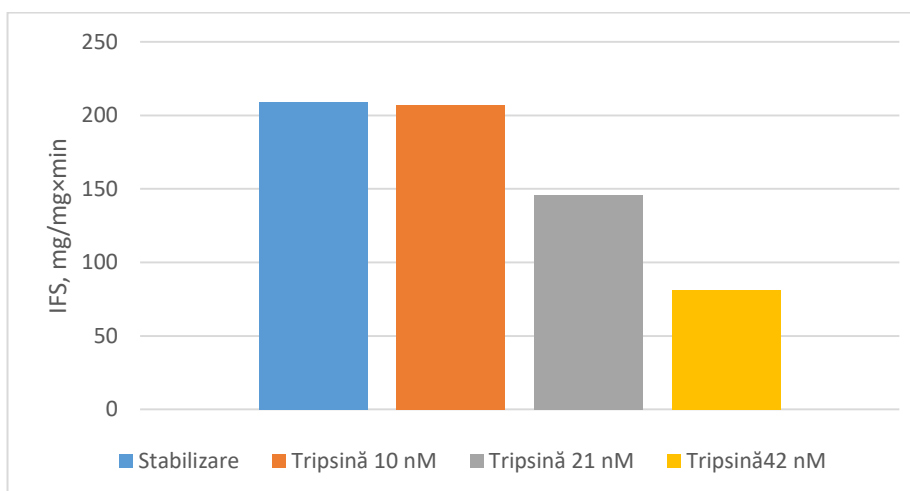
**Fig. A1.28** Amplitudinea contractei în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină (mg/mg)



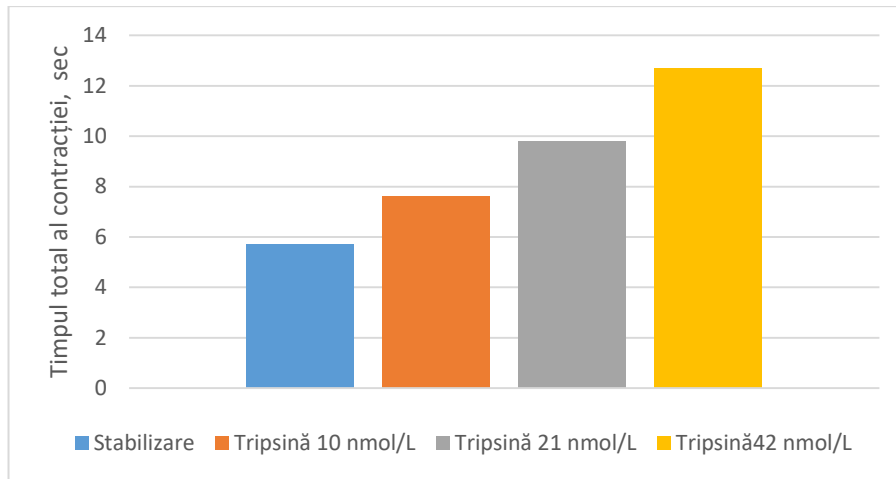
**Fig. A1.29 Frecvența contracției în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină (cont/min)**



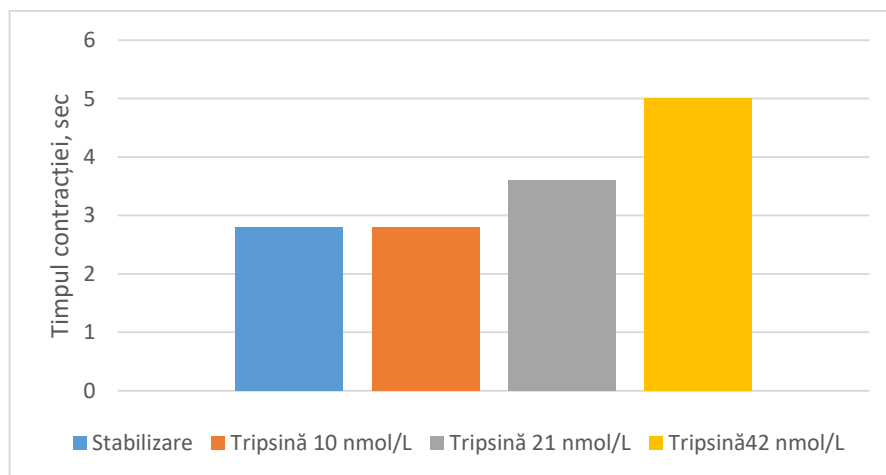
**Fig. A1.30 Suprafața contracției în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină (mm<sup>2</sup>/min)**



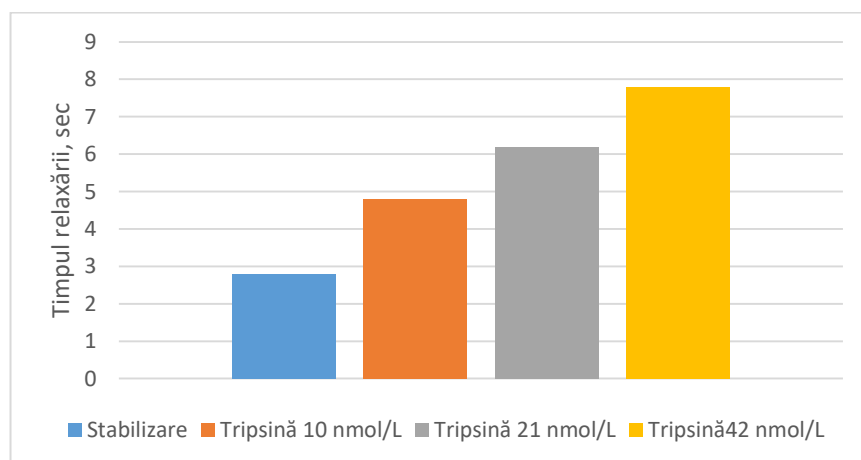
**Fig. A1.31 Intensitatea funcționării structurilor în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină (mg/mg×min)**



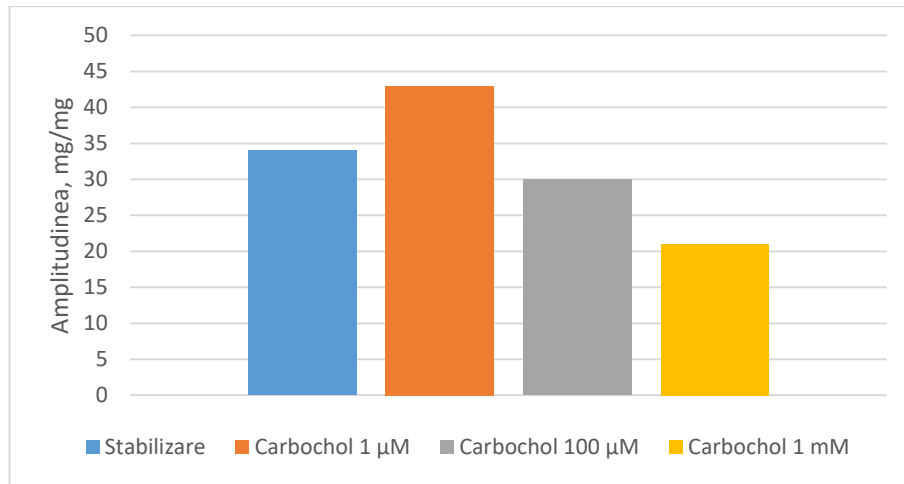
**Fig. A1.32 Timpul total de contracție în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină (sec)**



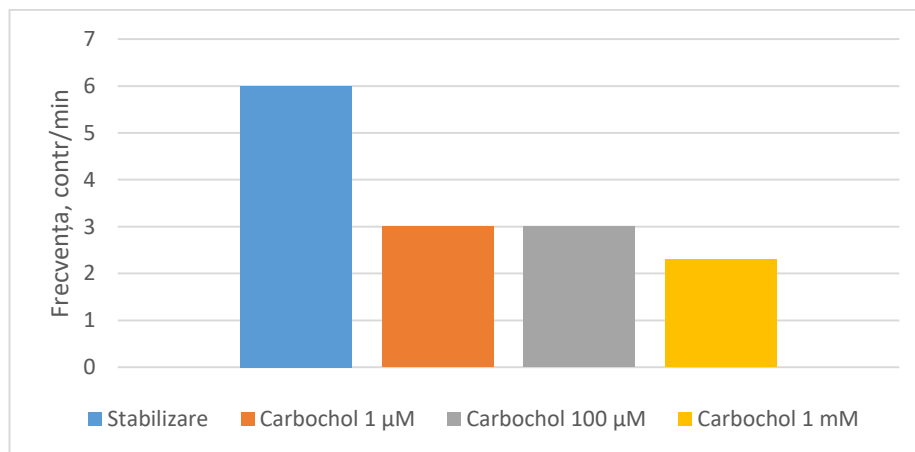
**Fig. A1.33 Timpul de contracție în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină (sec)**



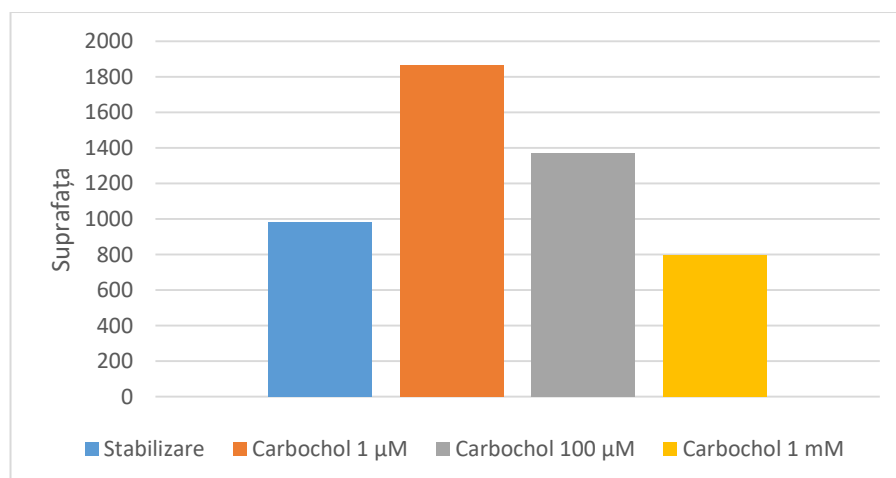
**Fig. A1.34 Timpul de relaxare în condiții de tripsină *in vitro* la diferite concentrații de tripsină**



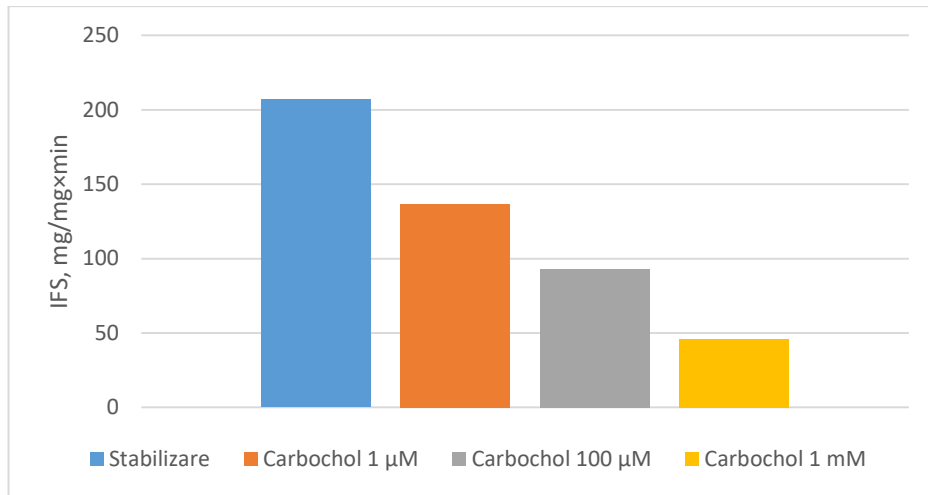
**Fig. A1.35 Amplitudinea contracției la acțiunea diferitor doze de carbacol (mg/mg)**



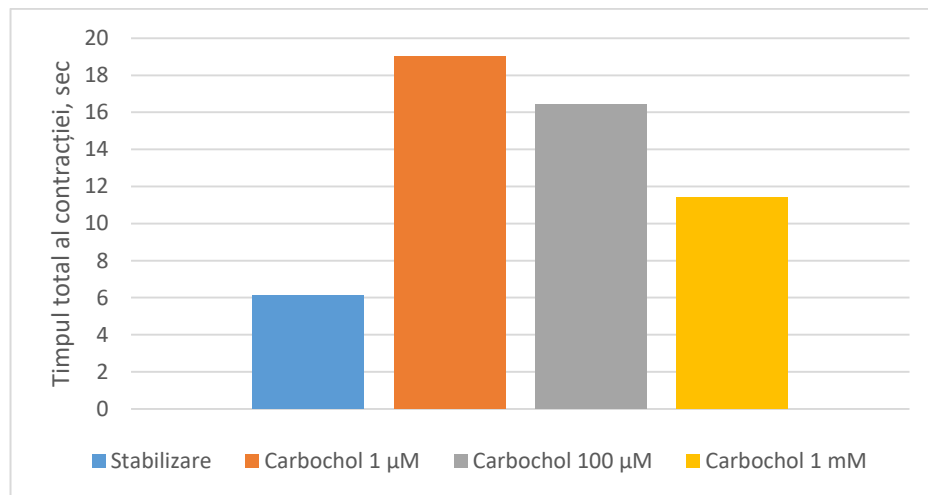
**Fig. A1.36 Frecvența contracției la acțiunea diferitor doze de carbacol (cont/min)**



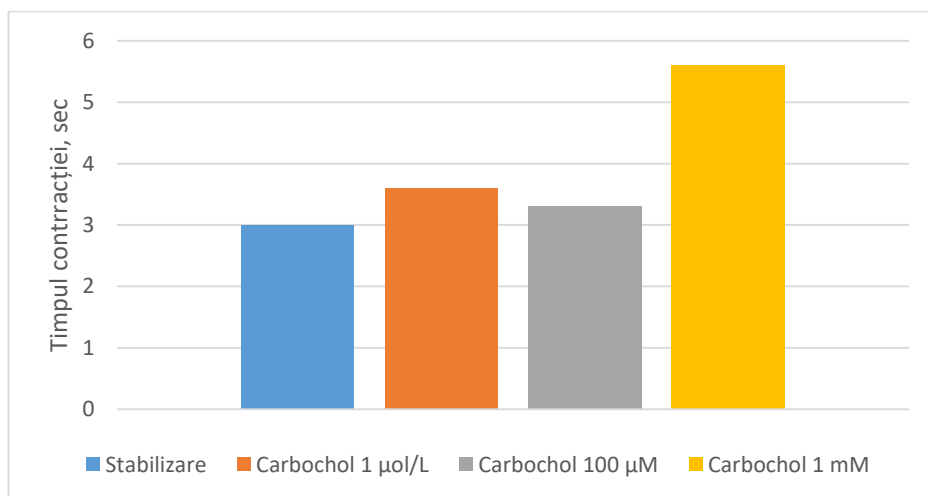
**Fig. A1.37 Suprafața contracției la acțiunea diferitor doze de carbacol (mm<sup>2</sup>/min)**



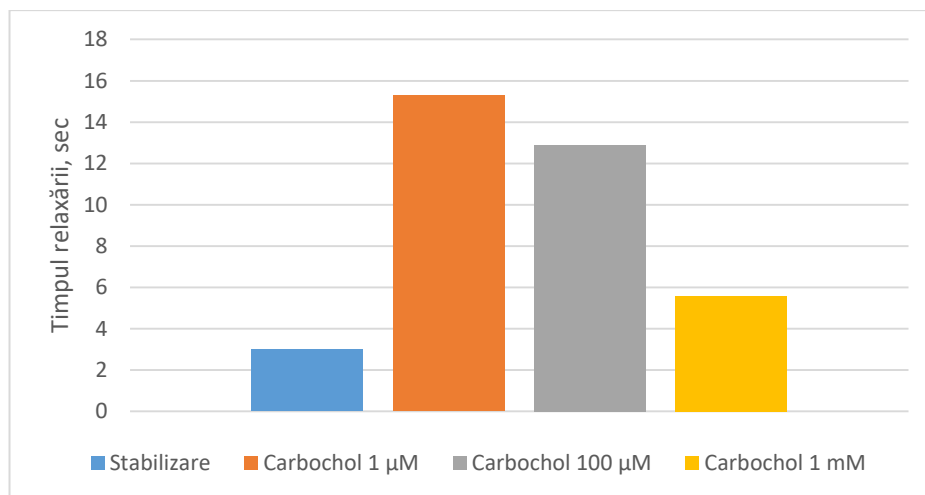
**Fig. A1.38 Intensitatea funcționării structurilor la acțiunea diferitor doze de carbacol (mg/mg<sup>x</sup>min)**



**Fig. A1.39 Timpul total de contracție la acțiunea diferitor doze de carbacol (sec)**

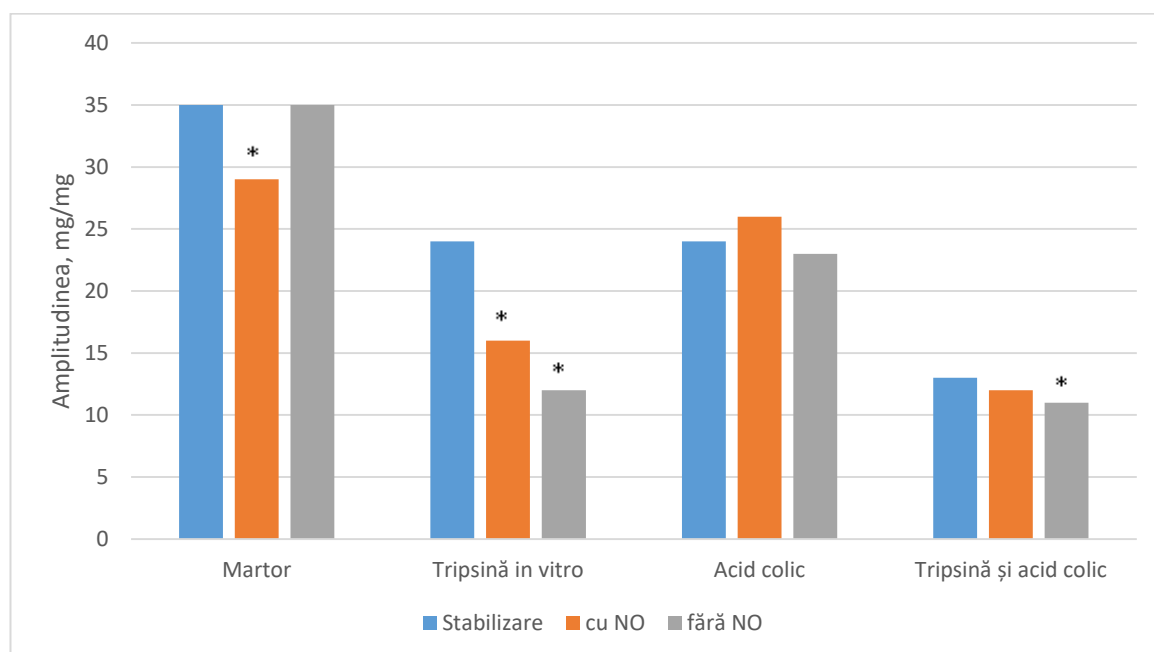


**Fig. A1.40 Timpul de contracție la acțiunea diferitor doze de carbacol (sec)**

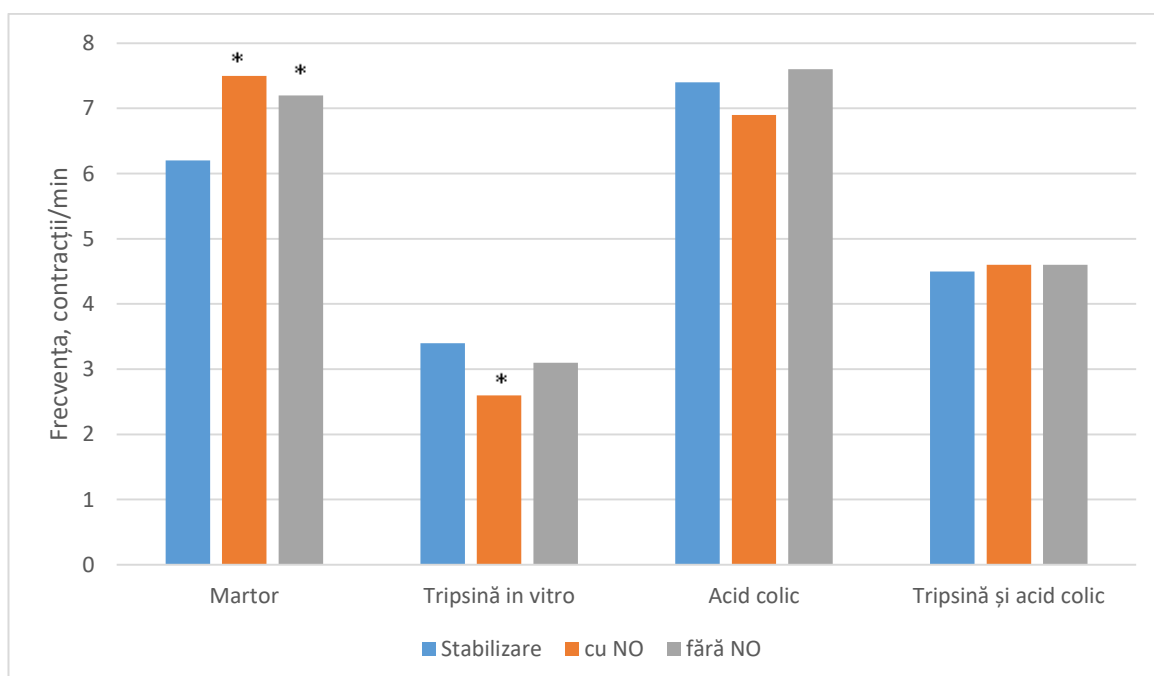


**Fig. A1.41 Timpul de relaxare acțiunea diferitor doze de carbochol (sec)**

### Indicii contractilității venei portă cu endoteliu denudat în prezența tripsinei asociată cu diferite precondiționări

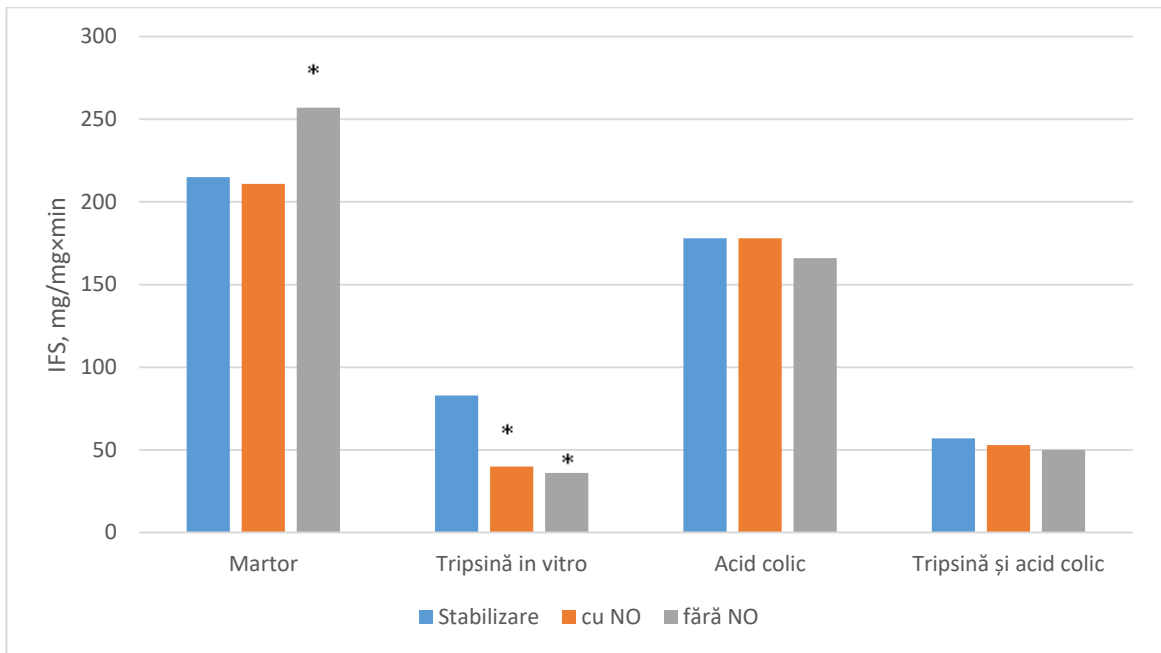


**Fig. A2.1. Amplitudinea contracției în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența sau absența NO. \* - semnificativ vs stabilizare**

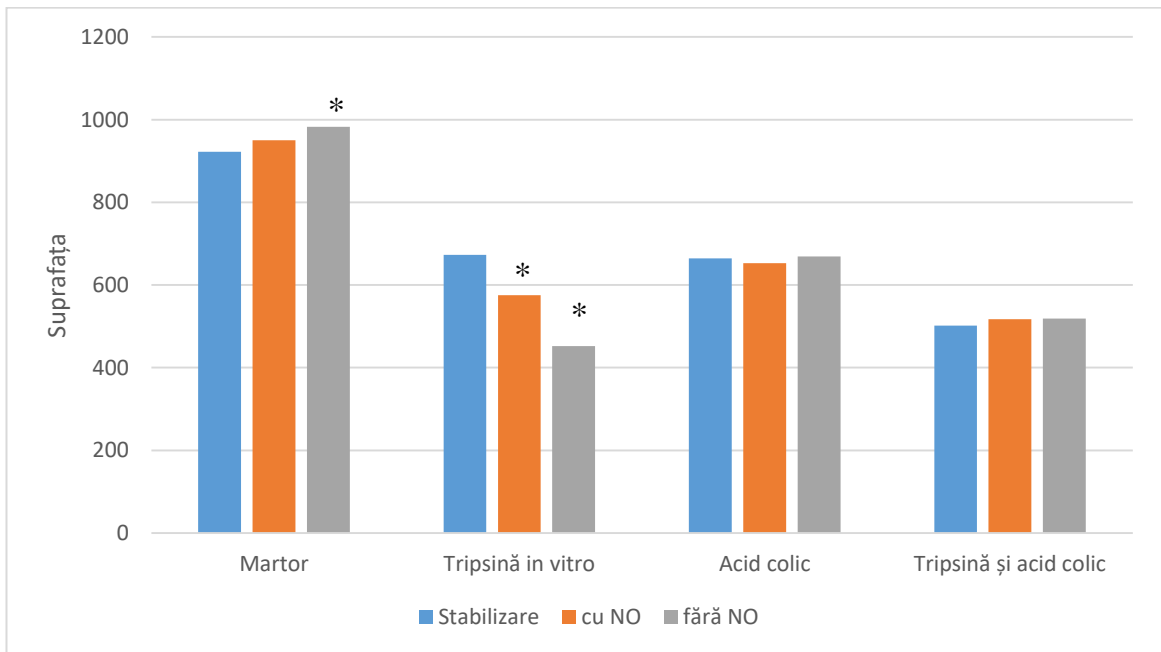


**Fig. A2.2 Frecvența contracției în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența sau absența NO. \* - semnificativ vs stabilizare**

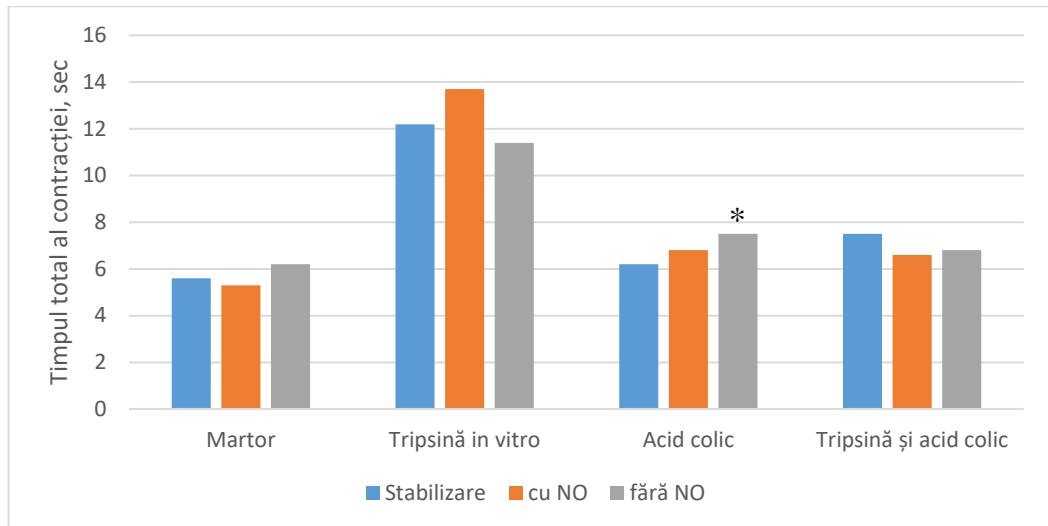




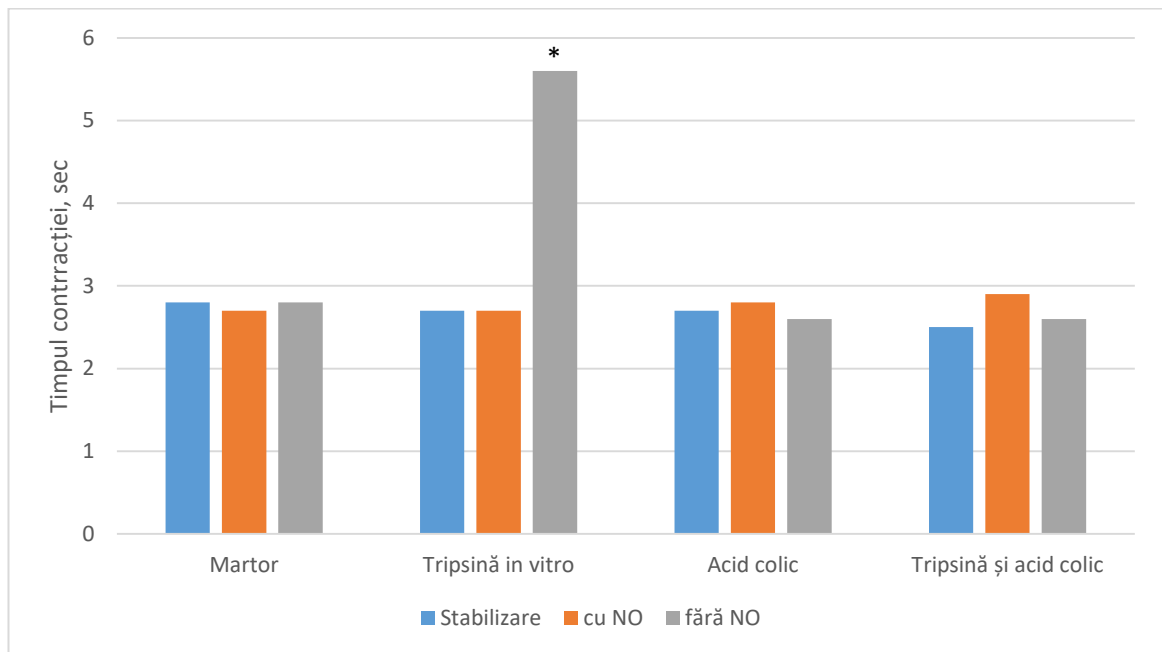
**Fig. A2.3. Intensitatea funcționării structurilor în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența sau absența NO. \* -semnificativ vs stabilizare**



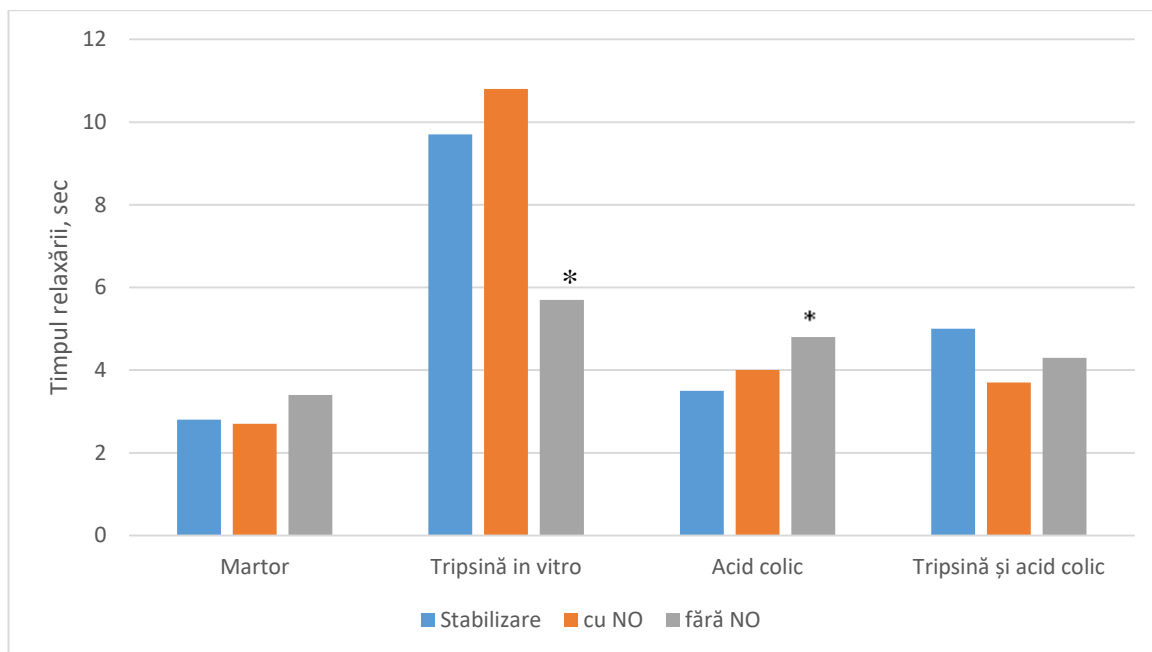
**Fig. A2.4 Suprafața contracției în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO. \* - semnificativ vs stabilizare**



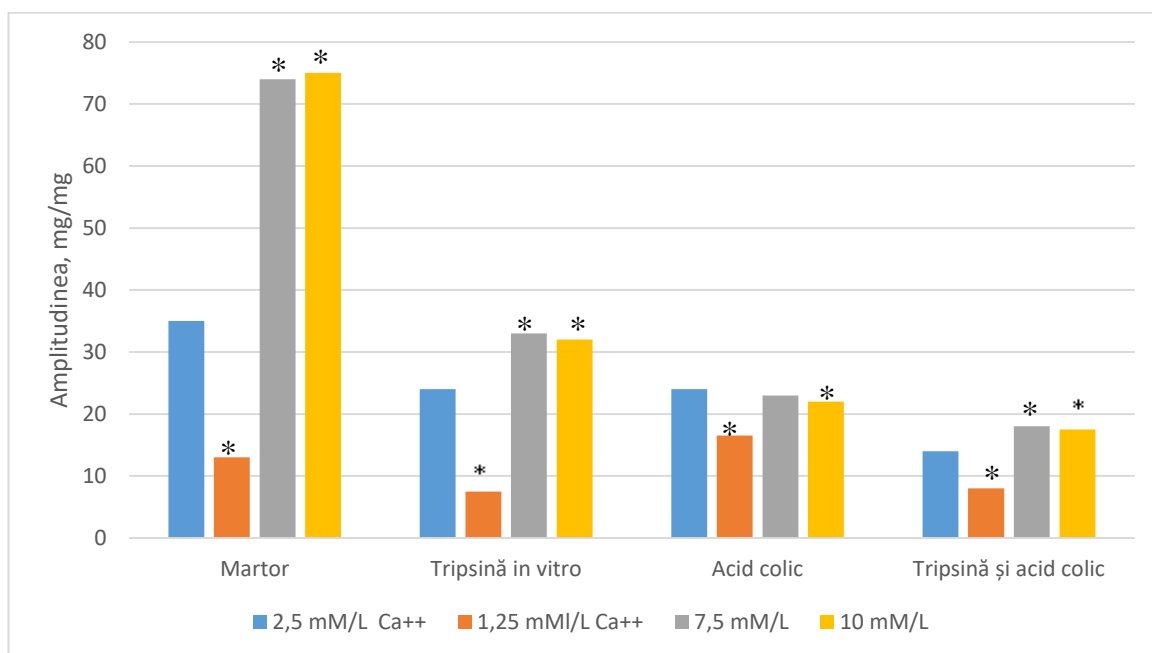
**Fig. A2.5. Timpul total de contracție în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO. \* - semnificativ vs stabilizare**



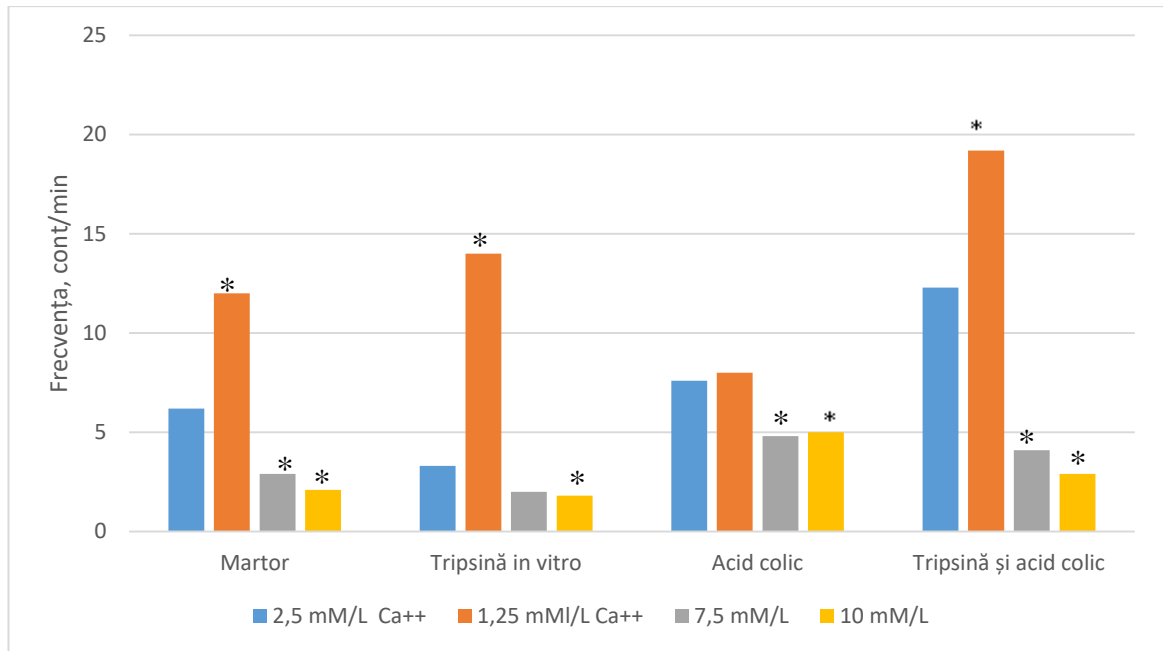
**Fig. A2.6. Timpul fazei de contracție în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO. \* - semnificativ vs stabilizare**



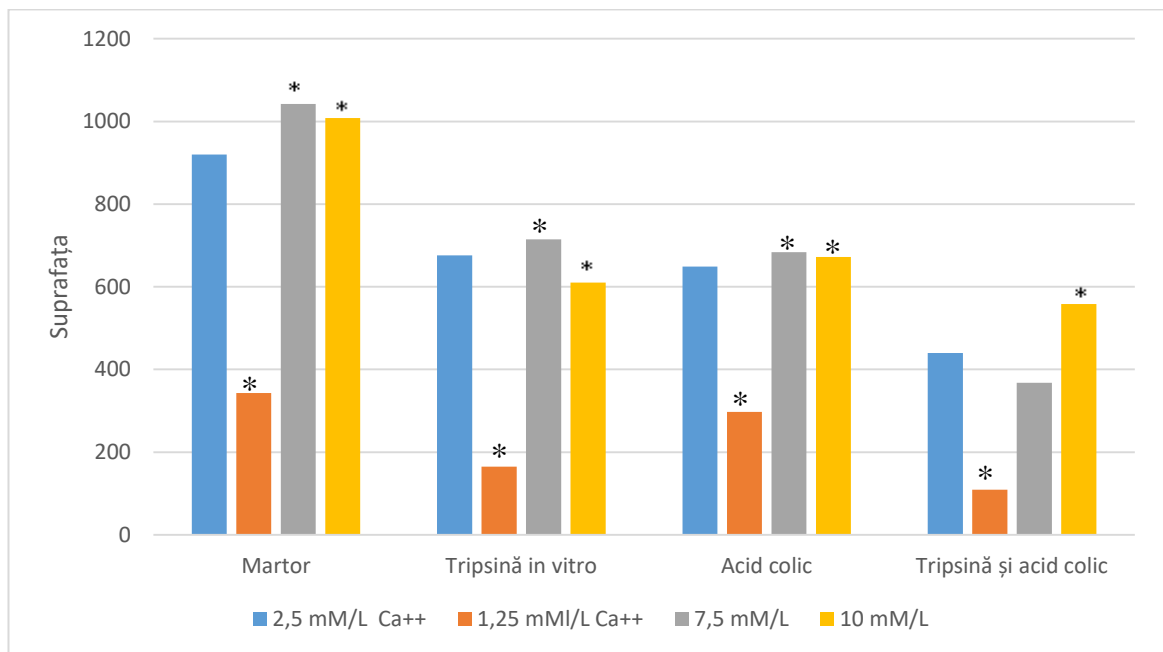
**Fig. A2.7 Timpul fazei de relaxare la loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic în prezența și absența NO. \* - semnificativ vs stabilizare**



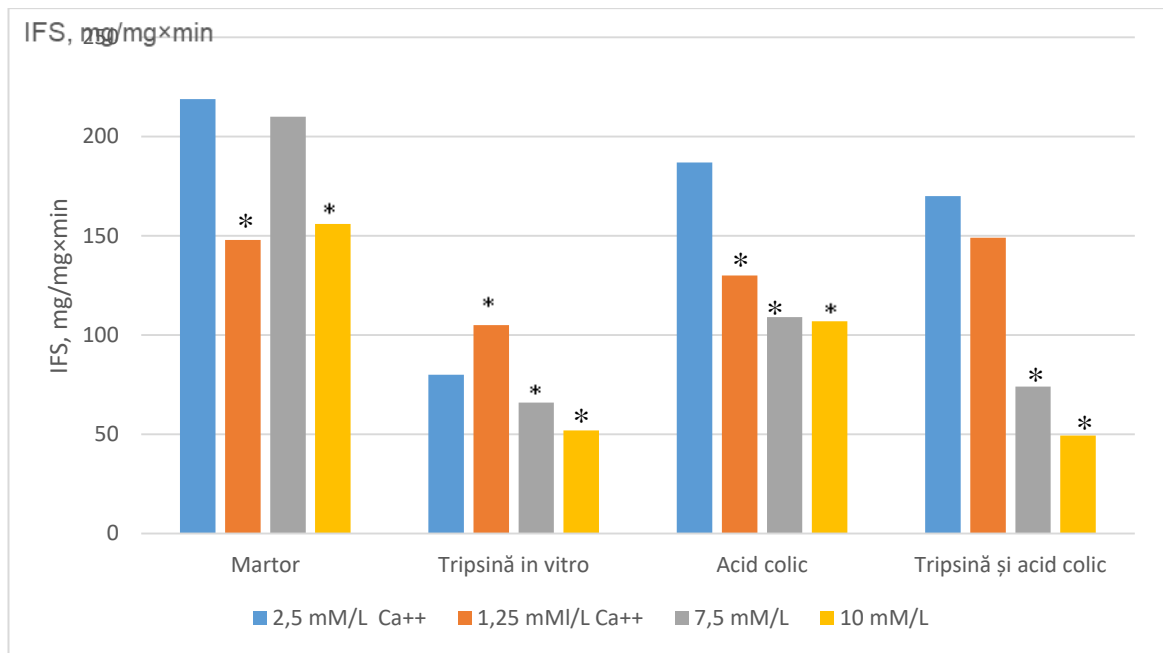
**Fig. A2.8. Amplitudinea contracției în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic la diferite concentrații a ionilor de Ca<sup>2+</sup>. \* - semnificativ vs Ca (2,5 mM/L)**



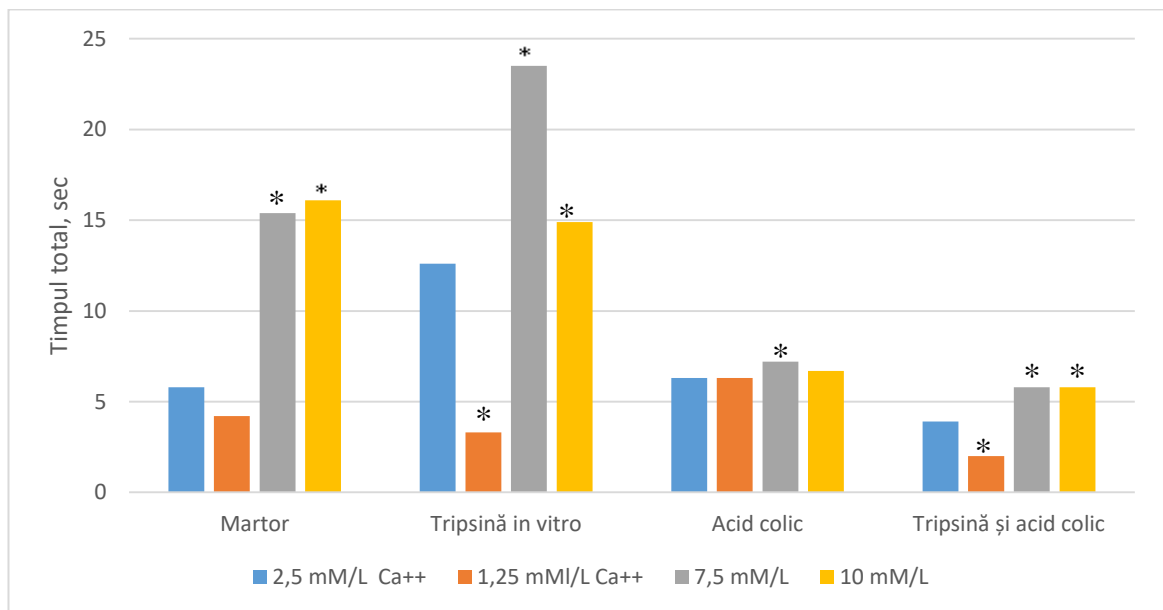
**Fig. A2.9. Frecvența contracției în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic la diferite concentrații a ionilor de Ca<sup>2</sup>. \* - semnificativ vs Ca (2,5 mM/L)**



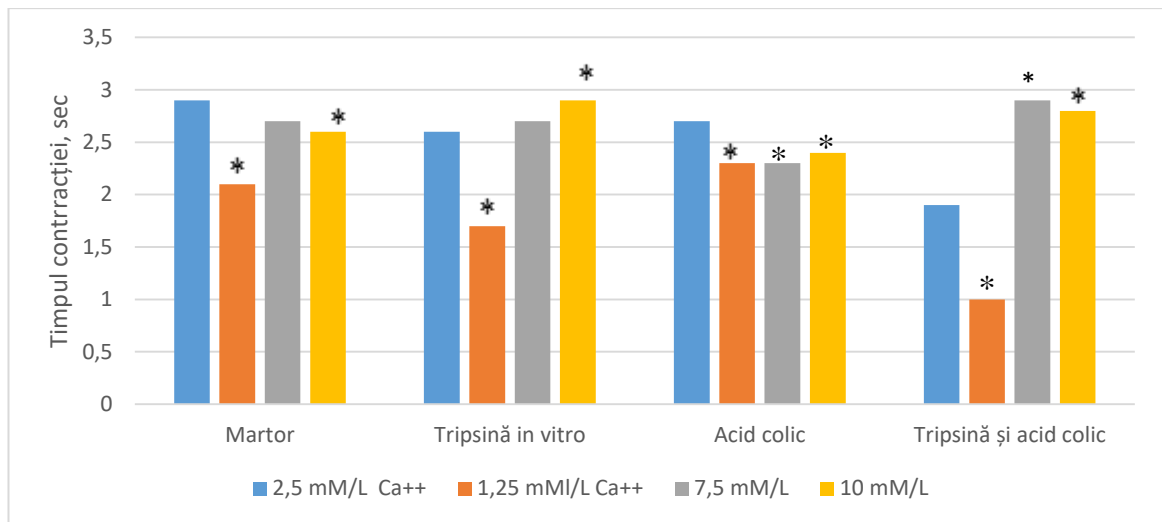
**Fig. A2.10. Suprafața contracției în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic la diferite concentrații a ionilor de Ca<sup>2</sup>. \* - semnificativ vs Ca (2,5 mM/L)**



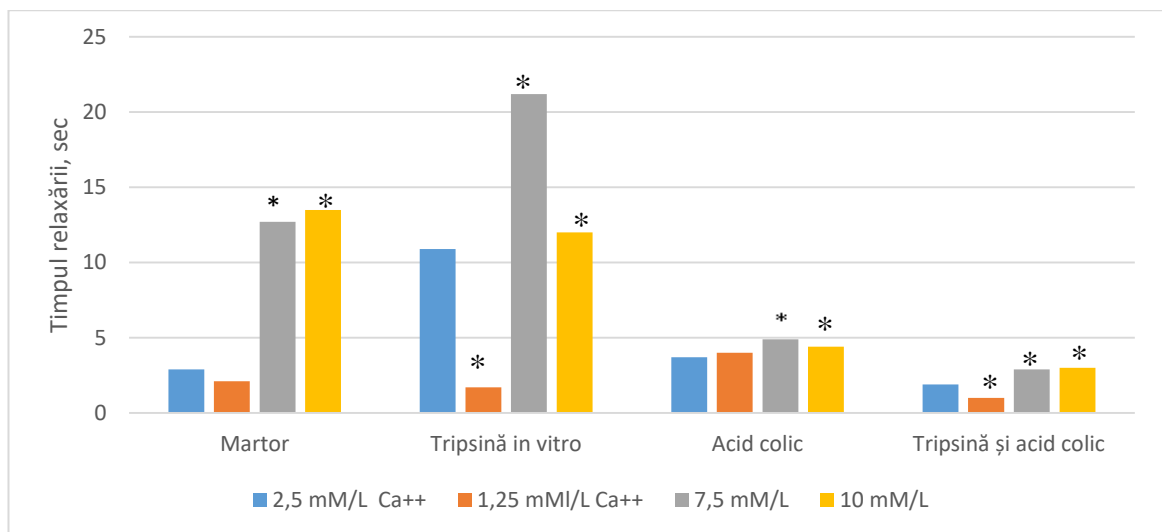
**Fig. A2.11. ISF în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic la diferite concentrații a ionilor de Ca<sup>2</sup>. \* - semnificativ vs Ca (2,5 mM/L)**



**Fig. A2.12. Timpul total de contracție în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic la diferite concentrații a ionilor de Ca<sup>2</sup>. \* - semnificativ vs Ca (2,5 mM/L)**



**Fig. A2.13 Timpul contracției în loturi: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic, la diferite concentrații a ionilor de Ca<sup>2</sup>. \* - semnificativ vs Ca (2,5 mM/L)**



**Fig. A2.14. Timpul fazei de relaxare în loturile: martor, tripsină *in vitro*, acid colic, tripsină + acid colic, la diferite concentrații a ionilor de Ca<sup>2</sup>. \* - semnificativ vs stabilizare**

	<b>INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA</b>	Pag. 1 / 1
<b>Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate</b>		

**APROB**

**Prorector pentru activitate de cercetare,  
USMF „Nicolae Testemițanu” din RM  
prof. univ., dr. hab. șt. med.,  
academician al AȘM**

  
 Stanislav GROPPA

10 mai 2023

**ACTUL nr. 74**

**DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI**

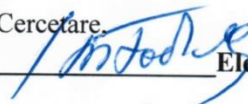
(în procesul științifico – practic /științifico-didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare: REACTIVITATEA VENEI PORTAE LA ACȚIUNEA TRIPSINEI CORELATĂ CU CONCENTRAȚIA DE CALCIU ȘI DE OXID NITRIC PE FONDAL DE ACIDOZĂ.**
2. **Autori:** OJOG Victor, asist.univ., doctorand, SAULEA Aurel, dr.hab.șt.med., prof.univ.
3. Numărul inovației: *Nr.6044 din 04 Mai 2023.*
4. **Unde și când a fost implementată:** IP USMF „N. Testemițanu”, Catedra de fiziopatologie și fiziopatologie clinică; Catedra de farmacologie și farmacologie clinică., în perioada 2020-2023 aa.
5. **Eficacitatea implementării:** Reactivitatea venei portae privită prin prisma modelului de hipertripsinemie reprodus in vivo pentru modelarea pancreatitei acute, cât și prin acțiunea tripsinei administrată in vitro asupra venei portae izolată, poate fi un predictor și o țintă terapeutică a periclitării circuitului portal în situațiile clinice asociate cu hipertripsinemie, în primul rând în pancreatite.
6. **Rezultatul implementării:** În evaluarea situațiilor clinice asociate cu hipertripsinemie, în primul rând în pancreatite, este strict necesar de ținut cont de acidoza, cât și leziunea endotelială, care diminuează potențialul contractil al venei portae, iar acest efect devine și mai pronunțat pe fundalul acțiunii tripsinei, fapt ce justifică algoritmul de corectare a reactivității venei portae prin ameliorarea dezechilibrului acido-basic și disfuncției endoteliale, în afară de atenuarea activității tripsinice a sângelui.

*Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.*

Șef departament, Departamentul Cercetare

dr. hab. șt. med., conf. univ.



**Elena RAEVSCHI**

Șef Departament didactic

dr. șt. med., conf. univ.



**Silvia STRATULAT**

Șef Catedra de fiziologie

a omului și biofizică



**Svetlana LOZOVANU**





Republica Moldova  
Ministerul Sănătății

# CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 6044

Pentru inovația cu titlul

**REACTIVITEA VENEI PORTAE LA  
ACȚIUNEA TRIPSINEI CORELATĂ CU  
CONCENTRAȚIA DE CALCIU ȘI DE OXID NITRIC PE  
FONDAL DE ACIDOZĂ**

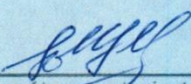
Inovația a fost înregistrată pe data de  
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)  
**OJOG Victor , SAULEA Aurel**



Data eliberării

04 Mai 2023

  
(Semnătura autorizată)





## **Declarația privind asumarea răspunderii**

Subsemnatul, declar pe răspundere personală, că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Ojog Victor

Semnătura

Data

## CV

### Curriculum vitae Europass



#### Informații personale

Nume / Prenume

**Victor Ojog**

Adresă(e)

Str. Nicolae Testemitanu, nr. 23, bl. 1, ap. 65; MD 2025, or.  
Chișinău, R. Moldova

Telefon(oane)

(+373 22) 20 54 18 (serviciu)

Mobil: (+373 79) 25 51  
86

Fax(uri)

E-mail(uri)

[victor.ojog@usmf.md](mailto:victor.ojog@usmf.md)

Naționalitate(-tăți)

Republica Moldova

Data nașterii

25.04.1969

Sex

Masculin

#### Locul de muncă vizat / Domeniul ocupațional

**IP USMF „Nicolae Testemițanu”,  
Catedra de fiziologie a omului și biofizică**

#### Experiența profesională

Perioada

**Septembrie 2009 – iunie 2023**

Funcția sau postul  
ocupat

Asistent universitar

Activități și responsabilități principale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lucrul metodic-didactic (conducerea lecțiilor practice (în limbile română, rusă și engleză), elaborarea prelegerilor și planurilor pentru lecții practice, a setului de teste pentru evaluarea cunoștințelor studenților)</li> <li>• Activitate științifică - conducător științific la teze de licență, lucrul asupra tezei de doctor în medicină Membru al Societății Fiziologilor din România</li> </ul>
Numele și adresa angajatorului	IP USMF "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova.
Tipul activității sau sectorul de activitate	Catedra de fiziologie a omului și biofizică
Perioada	<b>Septembrie 2001 – septembrie 2009</b>
Funcția sau postul ocupat	Asistent universitar
Activități și responsabilități principale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lucrul metodic-didactic (conducerea lecțiilor practice (în limbile română, rusă și engleză), elaborarea setului de teste pentru evaluarea cunoștințelor studenților)</li> <li>• elaborarea și editarea ghidului de lucrări practice pentru studenți</li> <li>• Activitate științifică - lucrul asupra tezei de doctor în medicină</li> </ul>
Numele și adresa angajatorului	IP USMF "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova.
Tipul activității sau sectorul de activitate	Catedra Biofizică, Informatică și Fiziologia Omului
Perioada	<b>Aprilie 1998 – septembrie 2001</b>
Funcția sau postul ocupat	Cercetător științific inferior
Activități și responsabilități principale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lucrul metodic-didactic (conducerea lecțiilor practice în limbile română și rusă)</li> <li>• Activitate științifică - lucrul asupra tezei de doctor în medicină</li> </ul>
Numele și adresa angajatorului	IP USMF "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova.
Tipul activității sau sectorul de activitate	Catedra Fiziologia și Reabilitare Medicală
Funcția sau postul ocupat	Asistent universitar
Activități și responsabilități principale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lucrul metodic-didactic (conducerea lecțiilor practice în limbile română și rusă)</li> </ul>
Numele și adresa angajatorului	IP USMF "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova.

Tipul activității sau sectorul de activitate	Catedra Fiziologia normală
<b>Educație și formare</b>	
Perioada	<b>August 1995– iunie 1998</b>
Calificarea / diploma obținută	-doctorat în medicină
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	Fiziologia normală și patologică
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	IP USMF "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova
Perioada	<b>August 1994 – iunie 1995</b>
Calificarea / diploma obținută	Medic-rentghenolog, certificat nr.516
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	Rentghenologia
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	Centru Oncologic, or. Chișinău, Republica Moldova
Perioada	<b>Septembrie 1986 - iunie 1994</b>
Calificarea / diploma obținută	Medic de profil general, diploma de studii superioare universitare E 014139
Disciplinele principale studiate / competențe profesionale dobândite	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Specialitatea medicină generală</li> </ul>
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	IP USMF "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova.

**Alte formări /  
instruiri**

- Stagiu de specializare în Fiziologie:  
01.03.2013-31.03.2013, Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova, România  
04.02.2002 – 28.02.2002, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa” din Iași, România
- Psihopedagogie:  
01.04.2008–26.04.2008 – curs de perfecționare continuă în domeniul medicinei „Psihopedagogia învățământului superior”, Facultatea de perfecționare a medicilor, IP USMF "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova, Chișinău, Republica Moldova  
28.01.2008–30.01.2008 – curs de perfecționare continuă în domeniul medicinei „Actualități și metodologii contemporane în procesul didactic la disciplinele medico-biologice și preclinice”, Facultatea de perfecționare a medicilor, IP USMF "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova, Chișinău, Republica Moldova
- Altele:
- Iunie 2018 – curs de perfecționare continuă în Criminologie și Științe socio-umaniste „Inițiere în psihotraumatologie”, Centru de instruire profesională continuă, Institutul de științe penale și criminologie aplicată, Chișinău, Republica Moldova
- Iulie 2018 curs de perfecționare continuă în Criminologie și Științe socio-umaniste „Inițiere în psihologie clinică judiciară”, Centru de instruire profesională continuă, Institutul de științe penale și criminologie aplicată, Chișinău, Republica Moldova
- Octombrie 2018 curs de perfecționare continuă în Criminologie și Științe socio-umaniste „Managementul timpului”, Centru de instruire profesională continuă, Institutul de științe penale și criminologie aplicată, Chișinău, Republica Moldova
- 10.10.2018-06.11.2018 curs de perfecționare continuă în Domeniul socio-umanistic, juridic și administrativ „Psihotraumatologie generală”, Centru de instruire profesională continuă, Institutul de științe penale și criminologie aplicată, Chișinău, Republica Moldova
- 25.04.2019-26.06.2019 curs de perfecționare continuă în Domeniul socio-umanistic, juridic și administrativ „Psihotraumatologie specială”, Centru de instruire profesională continuă, Institutul de științe penale și criminologie aplicată, Chișinău, Republica Moldova
- 16.08.2019-23.08.2019 cursul „Dezvoltarea gândirii strategice”, Centru de instruire profesională continuă, Institutul de științe penale și criminologie aplicată, Chișinău, Republica Moldova

Membrul activ al Societății Române de Fiziologie din România

**Aptitudini și competențe personale**

Limba(i) maternă(e) română

Limba(i) străină(e) cunoscută(e)  
Autoevaluare

*Nivel european (\*)*

**Rusă**  
**Engleză**

Înțelegere		Vorbire		Scriere
Ascultare	Citire	Participare la conversație	Discurs oral	Exprimare scrisă
C1	C1	C1	C1	C1
B1	B1	A2	A2	B1

(\*) [Nivelul Cadrului European Comun de Referință Pentru Limbi Străine](#)

**Competențe și aptitudini Organizatorice**

- Punctualitate
- Amabilitate
- Lucru în echipă
- Planificare
- Coordonare

**Competențe și aptitudini PC**

Windows, MS Office applications: Word, Excel, Power Point, E-mail formats and Internet

Permis(e) de conducere

**Informații suplimentare**

Persoane de referință:

- Victor Vovc, Catedra de fiziologie a omului și biofizica, [victor.vovc@usmf.md](mailto:victor.vovc@usmf.md), 022205416
- Svetlana Lozovanu, șef Catedră de fiziologie a omului și biofizica, [svetlana.lozovanu@usmf.md](mailto:svetlana.lozovanu@usmf.md), 022205418