

The collagenase participation in the collagen biodegradation in the uterus in the process of post-partum involution

R. Pretula

Laboratory of Morphology, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy
Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: ruslanpretula@yahoo.com. Manuscript received May 03, 2013; accepted November 28, 2013

Abstract

Background: The collagenase activity in the uterus in the process of post-partum involution has been studied. Using the biochemical investigation methods it has been determined that in the first three post-partum days the collagenase activity increases essentially and the intensity of collagenolysis becomes maximal. The results suggest that there is a close correlation between the decrease of the collagen level and the increase of the uterine collagenase activity.

Material and methods: Experiments were performed on female rats with the weight of 16–200 gr. The total number of the animals included into the experiment was 141. Rats were divided into 9 groups: groups 106 – advanced pregnancy (17–19 days); group 7 – the 10th day after the delivery; group 8 – the 15th day after the delivery; group 9 – virgin females, control. The uterus was taken for investigation. Female, that gave birth to at least 6 newborns, were taken for the research. The uterus was preserved in the solution of 10% formaldehyde. Histological specimens were colored by hematoxiline and eozine by the procedure of Van Gieson and Mallory.

Results: Electronically-histochemically the collagenase activity has been detected in lysosomes of macrophages and fibroblasts in the myometrium of the virgin uterus. In the post-partum period the collagenase is secreted into the intercellular space by smooth muscle cells, macrophages and fibroblasts to participate directly in the extracellular collagen resorption.

Conclusions: The intense extracellular catabolism of the collagen in the postpartum period in uterus occurs with the participation of the collagenase of smooth muscle cells, while the intracellular collagen degradation is realized by the collagenase of macrophages and fibroblasts.

Key words: collagenase, metalloproteinases, collagen biodegradation, *post-partum* uterus involution.

Participarea colagenazei la biodegradarea colagenului în uter în procesul involuției *post-partum*

Actualitatea cercetării. Biodegradarea matricei extracelulare (ECM) constituie un eveniment normal în remodelarea fiziologică asociată cu morfogeneza și dezvoltarea, precum și în procese cum ar fi angiogeneza, migrarea celulară, invazia tumorală și metastazare, vindecarea rănilor și involuția *post-partum* a uterului [1]. Ea asigură menținerea unui echilibru structural și funcțional dinamic al ECM, precum și al interrelațiilor ECM-celulă, asigurând în cele din urmă homeostazia tisulară. S-a demonstrat că colagenul majorității țesuturilor conjunctive prezintă subiectul unei remodelări și al unui circuit metabolic continuu, fenomen ce are loc atât în condiții fiziologice, cât și în cele patologice [2, 3, 4], iar organismul în normă dispune de toate posibilitățile necesare pentru reglarea cantității și distribuției structurilor conjunctive proprii.

Biodegradarea colagenilor *in vivo* este un proces complex, care se desfășoară în etape succesive, specifice acestui tip de proteine și cu particularități în funcție de tipul de colagen din țesut. O importanță primordială în biodegradarea țesutului conjunctiv este atribuită enzimelor lizozomale. Datorită structurii lor de triplu helix, organizat în fibre compacte puternic cross-linkate, colagenii fibrilari (tip I, II, III și X) sunt extrem de rezistenți la acțiunea majorității proteinazelor lizozomale. Totuși, există metalloproteinaze Zn-dependente capabile să inițieze degradarea acestor colageni, cele mai importante dintre ele fiind colagenazele. Ele scindează în mod unic colagenii interstițiali prin atacul la un singur situs din cadrul structurii helicale native, situat la 3/4 distanță de capătul NH₂ terminal al lanțului 1, rezultând 2 fragmente, ceea ce reprezintă 3/4 și respectiv 1/4 din lungimea fibrei inițiale. Producția de clivare se denaturează spontan la 37°C,

devenind susceptibile la proteinazele nespecifice din țesutul conjunctiv [5].

În prezent, metalloproteinazele matricei (MMPs; numite de asemenea colagenaze sau matrixine) sunt recunoscute ca enzime de importanță majoră în degradarea matricei extracelulare [6, 7, 8], fiind membri ai unei familii mai mari, în componența căreia în prezent sunt incluse cel puțin 26 de enzime [5, 8]. Există numeroase dovezi privind existența a două mecanisme în degradarea colagenilor – celui extracelular – dependent de colagenază și celui intracelular – independent de colagenază [9]. Procesul degradativ major este considerat de unii autori a fi cel extracelular, în care și sunt implicate în principal MMPs [6]. Însă, până în prezent nu este apreciat cu promptitudine care din aceste mecanisme este mai important și care sunt particularitățile interrelațiilor lor în procesul biodegradării matricei.

Examinând starea de ansamblu a acestei probleme, s-a constatat că și aspectele structurale ale proceselor de catabolizare a colagenului, de asemenea, nu au fost cercetate suficient. Afirmația se referă, în primul rând, la rolul diferitor elemente celulare în resorbția colagenului, la proporționarea colagenolizei intra- și extracelulare, la aspectele ultrastructurale ale resorbției colagenului. Rămân incerte sau contrariate și alte aspecte principiale ale acestei probleme.

În condiții fiziologice, unul din cele mai elocvente exemple de degradare rapidă și masivă a țesutului conjunctiv, îl reprezintă involuția *post-partum* a uterului – un proces acompaniat de resorbția intensă a colagenului prezent în uter la sfârșitul sarcinii.

Pe fond de sarcină, uterul crește de câteva ori în volum,

proces definit de hipertrofia, hiperplazia și poliploidia celulelor musculare netede, sporirea de 4-6 ori la șobolan și de 7-8 ori la om a cantității de collagen și majorarea de 3 ori la șobolan și de 4-5 ori la om a cantității de elastină. La 4-6 zile postnatale masa uterului de șobolan și la 8-12 zile a celui uman scade cu 90%, revenind treptat la normal [10].

Degradarea collagenului uterin, care constituie circa 20% din masa totală a uterului gestant, începe imediat după naștere și atinge cote maxime între 24 de ore și 4 zile postnatale [11]. Collagenul care, de obicei, are un nivel foarte redus de metabolizare (turnover), în involuția *post-partum* a uterului are o perioadă de înjumătățire (*half-life*) de numai 24 de ore. Peste 85% din collagenul prezent în structurile uterine spre finele perioadei de gestație se expun lizei în doar 4 zile postnatale, realizându-se unul din cele mai accelerate procese fiziologice de collagenoliză. Proteinele musculare, collagenul și elastina constituie componentele proteice principale, care în involuția postgestațională se expun proceselor de degradare realizată, după cum se presupune, prin intermediul proteolizei intracelulare [12].

Se consideră, că doar collagenazele pot dezintegra collagenul nativ nendenaturat pe fond de pH neutru [13] în contextul remodelărilor rapide, cum ar fi procesele de involuție postnatală a uterului. S-a determinat activitatea collagenazei chiar în fracțiunea insolubilă de homogenat tisular uterin în momentul involuției organice, prezumând că enzima are legătură cu substratul său – fibrilele collagenice [14]. Apoi s-a demonstrat, că în prima zi după naștere circa 85% din volumul total de collagenază se află în stare latentă, formă care se poate activa funcțional de tripsină sau de proteinaza serinică prezentă în structurile uterine [15]. Activitatea collagenazei se atestă minimă în timpul nașterii, dar se accentuează maximal la 24 de ore postnatale, pentru a reveni la indicii inițiali la 5 zile după naștere [16]. Se crede, că sursa de collagenază uterină sunt macrofagele, numărul cărora crește considerabil după naștere. Ipoteza nu a putut fi confirmată prin argumente plauzibile.

Un studiu relativ recent demonstrează cu probe de ordin enzimologic și imunologic, că celulele musculare netede din uterul postgestațional pot sintetiza collagenază *in vitro* [17]. Într-un alt studiu, efectuat *in vitro* cu ajutorul anticorpilor monoclonali la collagenaza uterină la șobolani, a fost demonstrată prezența enzimei în regiunea perinucleară a celulelor musculare netede, dar numai în miometrul uterului involutiv, lipsind în uterul *pre-partum* sau *negravid*. Rezultatele obținute constată, că celulele musculare netede sunt capabile să producă collagenaza *in vitro* și nu contravin ipotezei, că această enzimă joacă un rol principal în degradarea masivă a collagenului, care are loc în involuția *post-partum* a uterului. *Trebuie* de menționat un studiu biochimic și histochimic, în care în citoplasma celulelor musculare netede, a fost descoperită procolagenaza peste 1-3 zile *post-partum*, cu valori maxime în a 3-a zi postnatală și cu o ulterioară diminuare treptată spre a 5-a zi [18].

Mecanismele ce întrețin intensitatea involuției accelerate a uterului după naștere totuși nu sunt pe deplin cunoscute.

Rămâne deschisă o problemă de principiu – care este modalitatea de angajare a enzimelor lizozomice în degradarea collagenului din organism, precum și în activizarea formei latente a collagenazei. Nu s-a elucidat cu siguranță nici valoarea relativă a căilor de degradare intra- și extracelulară a collagenului. Nu se știe care ar fi rolul și gradul de angajare a diferitor elemente celulare din uter, precum și a enzimelor sale lizozomice în resorbția collagenică definită de involuția *post-partum*.

Cercetările în această direcție sunt deosebit de importante pentru soluționarea unor probleme imperative din domeniul maladiilor țesutului conjunctiv: afecțiuni reumatice, osteo- și artropatii, regresia modificărilor inflamatorii cronice și a celor sclerotice, cicatrizarea plăgilor, formarea cheloizilor, aderențelor ș.a.

Scopul investigațiilor constă în studierea unor mecanisme de implicare a collagenazei în biodegradarea collagenului în uter în procesul de involuție *post-partum*.

Material și metode

Experiențele s-au montat pe femele primipare de șobolani albi cu masa corporală de 160-200 g. Numărul total de animale incluse în experiențe a fost de 141 de șobolani. Animalele au fost subdivizate în 9 loturi: sarcină avansată (17-19 zile), 1-a, a 2-a, a 3-a, a 4-a, a 6-a, a 10-a și a 15-a zi după naștere și lotul martor – femele virgine. În calitate de material investigațional se preleva uterul animalelor experimentale. Pentru loturile de investigație erau selectate animalele, care născuse cel puțin 6 puișori. Toate animalele se preluau pe fond de lactație.

Prin metodele histologice s-au examinat prelevatele din uterul a 27 de animale. Materialul se fixa în formalină neutrală de 10%, cu includerea ulterioară în parafină. Secțiunile histologice au fost colorate cu hematoxilina și eozină, după Van Gieson și Mallory.

Pentru determinarea cantitativă a collagenului în uter s-a utilizat procedeul de determinare a hidroxiprolinei (HYP) – aminoacidului specific în exclusivitate moleculei de collagen, bazat pe proprietatea hidroxiprolinei de a se oxida în pirol sub acțiunea cloraminei B, produsele oxidării condensându-se în mediul acid cu p-dimetilaminobenzaldehidă, cu formarea unui compus colorat. Intensitatea colorației este direct proporțională cu cantitatea de hidroxiprolină și se estimează fotometric [19].

Activitatea collagenazei a fost determinată biochimic în omogenat de țesut uterin, metoda având la bază principiul descris de Smith și van Frank [20] cu folosirea în calitate de substrat Z-Pro-Ala-Gly-Pro-4MβNA ("BACHEM") și agentului de azocoplare Fast Blue B (FBB). Activitatea enzimei a fost raportată la mg de proteina în probă, astfel a fost apreciată activitatea specifică a collagenazei.

Materialul a fost supus prelucrării histochimice pentru determinarea activității collagenazei la nivel ultrastructural, în conformitate cu procedura descrisă de Smith și van Frank [20], cu folosirea în calitate de substrat Z-Pro-Ala-Gly-Pro-4MβNA ("BACHEM").

Rezultate și discuții

Modificările histologice ale uterului în procesul involuției sale post-partum. Sarcina se caracterizează prin modificări esențiale în structura tuturor tunicilor uterului. Endometrul este marcat prin hipertrofia lui în rezultatul proliferării țesutului stromal și a celui glandular, însoțită de o vascularizare marcată și edem. Miometrul suportă modificări structurale pronunțate prin hipertrofia lui datorită creșterii substanțiale a volumului miocitelor netede, dar și a sporirii cantității de țesut conjunctiv prin proliferarea fibroblastelor și creșterea atât a componentului fibros cât și celui amorf al matricei intercelulare.

Procesul de involuție *post-partum* al uterului în aspect histologic se manifestă prin procese de atrofie și distrofie a elementelor musculare, micșorarea volumului și degradarea țesutului conjunctiv. Reducerea stromei organului are loc inițial în urma reducerii substanței amorphe, apoi a degradării elementelor fibrilare. Acest proces poate fi rezultatul atât al diminuării activității sintetice a fibroblastelor, cât și a intensificării resorbției matricei conjunctive. De menționat, că involuția țesutului muscular anticipează regresia matricei conjunctive.

Astfel, preparatele histologice ale uterului animalelor experimentale, sacrificate în primele 15 zile postgestaționale, demonstrează o subțiere marcantă a fasciculelor de collagen și dispariția hipertrofiei celulelor musculare netede, ceea ce pune în evidență derularea în acest interval de timp a unui proces intens de catabolizare a collagenului.

Modificarea masei uterului și cantității de hidroxiprolină în uter în proces de involuție post-partum. Investigațiile demonstrează că în timpul sarcinii, masa totală a uterului sporește aproximativ de 11 ori în comparație cu lotul martor, considerat 100% (fig. 1). Reducerea masei uterului poate fi constatată chiar din primele 24 de ore de involuție postnatală,

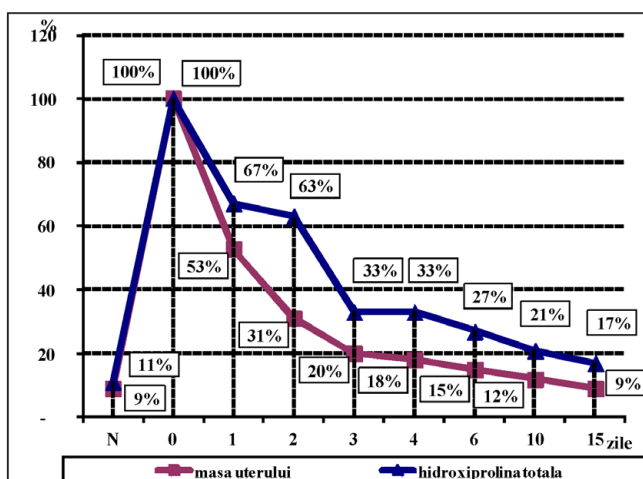


Fig. 1. Modificările masei uterului și conținutului de hidroxiprolină totală în uter în perioada de gestație și la diferiți termeni de involuție *post-partum*.

Notă: axa absciselor: N – lotul martor, 0 – lotul prenatal, 1-15 – termenii de involuție *post-partum* a uterului (zile); axa ordonatelor: masa uterului și conținutul hidroxiprolinei totale (în %).

alcătuiind la acest termen deja 53% din masa uterului prelevat la finele gestației. Ulterior, are loc o diminuare continuă a masei uterului și, spre finele perioadei cercetate, atinge valorile lotului martor alcătuiind 98%.

În timpul sarcinii, în uter are loc o sporire de circa 8 ori a cantității totale de hidroxiprolină, comparativ cu uterul virgin (fig. 1). Această creștere remarcabilă demonstrează, că în uterul gravid are loc majorarea considerabilă a cantității de collagen. La etapa de involuție *post-partum*, cantitatea aminoacidului studiat scade subit (cu 30% comparativ cu sarcina) chiar din prima zi postnatală. Trebuie de remarcat faptul, că în perioada de la 2 la 3 zile postnatale conținutul ei scade încă cu 30%. Astfel, aproximativ 67% din collagenul prezent la sfârșitul sarcinii este expus lizei în primele 3 zile postnatale. Începând cu a treia zi după naștere, cantitatea de hidroxiprolină scade mult mai lent, dar totuși la a 15-a zi a perioadei *post-partum*, ea devansează indicii lotului martor doar cu 49% (fig. 1).

Rezultatele experimentale de estimare a hidroxiprolinei au fost exprimate și ca concentrație a hidroxiprolinei la gram de țesut uterin (fig. 2). În perioada de gestație, concentrația de hidroxiprolină la gram de țesut se micșorează, probabil, datorită dezvoltării excesive a țesutului muscular și scăderii ponderii țesutului conjunctiv. La termenii postnatali, concentrația de hidroxiprolină la gram de țesut înregistrează valori, care depășesc parametrii uterului gravid. Acest fapt, însă, nu poate fi explicat prin sporirea cantității de collagen în această perioadă. Probabil, țesutul muscular, prezent într-o cantitate impresionantă în uterul gestant, suferă o degradare mai rapidă decât cel conjunctiv, mai ales la termenii inițiali ai perioadei postgestaționale. Deaceia, odată cu scăderea masei organului, are loc o schimbare a raportului dintre țesutul muscular și collagenul uterin în favoarea ultimului.

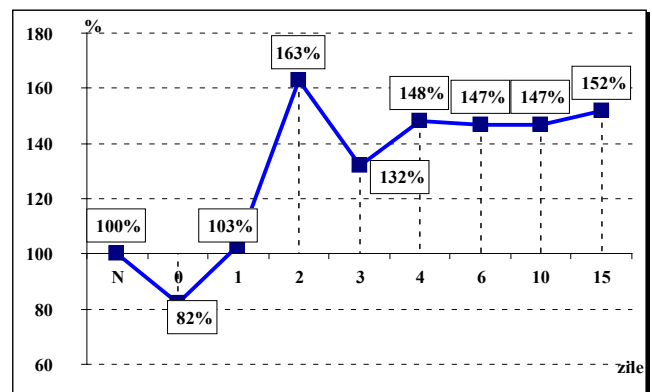


Fig. 2. Modificările conținutului de hidroxiprolină într-un gram de țesut uterin umed în perioada de gestație și la diferiți termeni de involuție *post-partum*.

Notă: axa absciselor: N – lotul martor, 0 – lotul prenatal, 1-15 – termenii de involuție *post-partum* a uterului (zile); axa ordonatelor: conținutul hidroxiprolinei (în %).

O analiză comparativă a modificării masei uterului și cantității totale de hidroxiprolină (luând drept 100% valorile lotului prenatal), precum și analiza modificărilor conținutului

de hidroxiprolină într-un gram de țesut uterin pe parcursul perioadei postgestaționale (fig. 2), demonstrează net că la termenii inițiali, țesutul muscular suferă o degradare cu mult mai rapidă decât țesutul conjunctiv, ceea ce denotă încă o dată complexitatea procesului de colagenoliză. Rezultatele obținute sunt foarte demonstrative pentru a arăta că involuția *post-partum* a uterului este un model optim pentru studierea colagenolizei în condiții fiziologice, deoarece este însoțită de procese involutive considerabile, pe parcursul cărora, conform rezultatelor obținute, în primele 15 zile se supune degradării aproximativ 83% de colagen tisular uterin.

Astfel, în procesul de involuție *post-partum* a uterului în primele 3 zile se catabolizează 2/3, iar în decursul a 15 zile – 83% din colagenul prezent în uterul gravid. Se evidențiază două faze de degradare majoră a colagenului: primele 24 de ore postnatale și perioada de 48-72 de ore. În fiecare din aceste perioade, se catabolizează aproximativ a câte 30% din cantitatea de colagen prezentă în uter la sfârșitul sarcinii.

Dinamica activității colagenazei în uter în proces de involuție post-partum. Determinarea activității specifice a colagenazei în uterul virgin, în perioada de gestație și *post-partum* a permis elucidarea unor particularități în dinamica modificării activității colagenolitice în uter, în perioada post-gestațională. Astfel, în perioada de gestație enzima investigată a demonstrat o activitate specifică sporită neesențial, comparativ cu valorile lotului martor, dar în primele 24 de ore postgestaționale, activitatea colagenazei sporește semnificativ, ceea ce indică includerea activă a acestei proteinaze în resorbția colagenului (fig. 3).

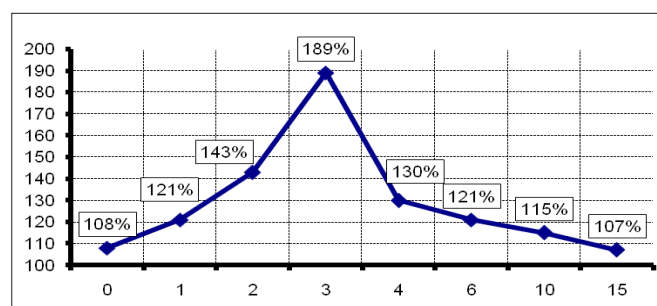


Fig. 3. Modificările activității specifice a colagenazei în uter în perioada de gestație și la diferiți termeni de involuție *post-partum*.

Notă: axa absciselor: 0 – lotul prenatal, 1-15 – termenii de involuție *post-partum* a uterului (zile); axa ordonatelor: activitatea specifică a colagenazei (în % comparativ cu lotul martor, considerat 100%).

Activitatea colagenazei continuă să crească vertiginos și în următoarele 2-3 zile după naștere, cea mai spectaculoasă sporire observându-se la a 3-a zi *post-partum*, când indicii enzimactivității constituie 189%, comparativ cu lotul martor. Luând în considerație faptul degradării intense a țesutului conjunctiv, specificat pentru această perioadă, putem spune că la etapa dată are loc cea mai intensă resorbție a colagenului în uter.

După 3 zile, activitatea enzimei scade paralel cu masa uterului și conținutul total de hidroxiprolină.

Astfel, determinarea activității specifice a colagenazei în uter a permis constatarea faptului, că intensitatea colagenolizei sporește statistic veridic chiar din prima zi după naștere și devine maximală la ziua a treia când este, practic, de două ori mai mare decât în lotul martor (fig. 3). După cum s-a demonstrat mai sus, anume în primele trei zile postnatale și este degradat circa 70% din colagenul uterin, iar masa uterului scade de circa 5 ori. Incepând cu a patra zi după naștere, activitatea colagenazei în peretele uterin începe să scadă și după 15 zile se apropie de valorile lotului martor.

Rezultatele obținute demonstrează explicit, că există o corelație strânsă între scăderea cantității de colagen uterin și creșterea activității colagenazei. Astfel, putem afirma că degradarea rapidă a colagenului în primele trei zile *post-partum* are loc cu participarea nemijlocită a colagenazei, activitatea căreia sporește esențial anume în această perioadă.

Cercetarea electron-histochimică a activității colagenazei în uter în proces de involuție post-partum. În uterul virgin, produsul reacției la colagenază sub aspect de microgranulații se evidențiază în lizozomii unor macrofage și fibroblaste.

Pentru a urmări implicarea colagenazei în procesele de resorbție a colagenului, am cercetat distribuția enzimei în uter la nivel ultrastructural după 3 zile postnatale, când activitatea proteinazei atinge cote maxime (fenomen confirmat de indicii biochimici fixați de noi).

Particularitatea pregnantă, pe care am urmărit-o în timpul examenelor electron-histochimice asupra uterului, în proces de involuție postnatală, este eliberarea (secreția) colagenazei din celulele musculare netede și celulele conjunctive spre spațiul intercelular. Acest fenomen este demonstrat de cumulațiile de produs al reacției în spațiile intercelulare, pe citolemă și fibrilele de colagen din vecinătate. Produsul de reacție se evidențiază în preajma diferitor elemente celulare, dar mult mai des și în cantități mai mari pe lângă celulele musculare netede. În mediul endocelular al miocitelor, activitatea colagenazei este infimă.

La 3 zile postnatale, printre celulele musculare netede se distingeau benzi groase de colagen, în care se identifică o reacție intensă la colagenază. Cantități considerabile de produs al reacției sub formă de granulații solitare sau de conglomerate granulare, mai mult sau mai puțin omogene, se află dispuse pe citolema celulelor musculare netede sau chiar pe fibrilele colagenice, alăturate celulelor musculare netede sau în profunzimea stratului fibrotic.

Macrofagele conțineau produsul de reacție la colagenază în lizozomi și în diferite vacuole. În citoplasma celor mai multe macrofage se disting cantități diferite de vacuole, conținând fibrile fragmentate de colagen. Activitatea colagenazei s-a evidențiat și la nivel extracelular, dovadă fiind dislocarea produsului reacției, mai des în cantități mici, sub formă de granule solitare, pe citolema macrofagelor, precum și pe fibrilele de colagen adiacente.

Fibroblastele conțineau produsul de reacție la colagenază în lizozomi și în diferite vacuole. Ca și în macrofage, în citoplasma multor fibroblaste se observau diferite cantități de vacuole și fagolizozomi, care includ fragmente fagocitate

de fibrile de collagen la diferite etape de degradare. Am detectat și o oarecare activitate extracelulară a enzimei: o mică cantitate de produs al reacției se distingea sub formă de granule solitare pe citolema fibroblastelor și pe fibrilele de collagen adiacente.

Concomitent cu resorbția extracelulară, în uterul involutiv are loc și resorbția intracelulară a collagenului prin activitatea macrofagelor și fibroblastelor. Numărul excesiv de macrofage și fibroblaste prezenți în această perioadă de involuție a uterului, și numărul considerabil de vacuole cu collagen din citoplasma acestora, denotă faptul că atât macrofagele, cât și fibroblastele sunt antrenate în procesul de resorbție intracelulară a collagenului prin fagocitarea fibrilelor de collagen și liza acestora la nivelul fagolizozomilor.

Faptul că rezultatele reacției la prezența collagenazei se atestă în spațiul extracelular sub formă de conglomerate aderente cu fibrilele collagenice denotă, mai mult ca sigur, activitatea collagenolitică pregnantă a enzimei, manifestată și în spațiile extracelulare.

Astfel, creșterea drastică a activității enzimelor lizozomice, în special a collagenazei, determinată de noi în primele 3 zile postgestaționale, este însoțită în aceiași termeni de o activitate extracelulară deosebită a acestei enzime, revelată electron-histochimic. În această perioadă a involuției *post-partum* a uterului, are loc secreția intensă a collagenazei, în principal, din celulele musculare netede, precum și din elementele celulare conjunctive, spre spațiul extracelular – fenomen decelat de noi prin cercetările electron-histochimice. În aceste condiții, precum o atestă și rezultatele explorărilor noastre, masa principală a structurilor conjunctive atât la periferie (în imediata apropiere a celulei), cât și din profunzimea acestor straturi interpuse (adică la o relativă îndepărtare de elementele celulare), se expune acțiunii degradante a collagenazei, dar probabil și a altor proteinaze lizozomale.

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

Conchidem, că celulele musculare netede secretă spre spațiul extracelular collagenază (și alte proteinaze lizozomale), care solubilizează matricea collagenică. Macrofagele și fibroblastele, pe lângă participarea în resorbția extracelulară alături de celulele musculare netede, captează și degradează intralizozomal fibrilele fragmentate de collagen cu participarea nemijlocită în acest proces a collagenazei și a altor proteinaze lizozomale.

Concluzii

1. Procesul de involuție *post-partum* a uterului, în aspect histologic, se manifestă prin procese de atrofie și distrofie a elementelor musculare, micșorarea volumului și degradarea țesutului conjunctiv. Reducerea stromei organului are loc inițial în urma reducerii substanței amorfe, apoi decomplexării elementelor fibrilare. Acest proces poate fi rezultatul atât al diminuării activității sintetice a fibroblastelor, cât și a

intensificării resorbției matricei conjunctive. Involuția țesutului muscular anticipează reducerea matricei extracelulare a țesutului conjunctiv. Restabilirea completă a structurii uterului are loc la 2 săptămâni *post-partum*.

2. În procesul de involuție *post-partum* al uterului, în primele 3 zile se catabolizează 2/3, iar în decursul a 15 zile – 83% din collagenul prezent în uterul gravid. Se evidențiază două faze de degradare majoră a collagenului: primele 24 de ore postnatale și perioada de 48-72 de ore. În fiecare din aceste perioade, se catabolizează aproximativ câte 30% din cantitatea de collagen prezentă în uter la sfârșitul sarcinii.

3. În perioada involuției *post-partum*, sporește esențial activitatea collagenazei în uter, intensitatea collagenolizei devenind maximală la a treia zi *post-partum*. Există o corelație strânsă între scăderea cantității de collagen uterin și creșterea activității collagenazei, fapt care demonstrează că degradarea rapidă a collagenului în uter în perioada *post-partum* are loc cu participarea nemijlocită a collagenazei.

4. În perioada post-gestațională, collagenaza este secretată de către celulele musculare netede, macrofage și fibroblaste spre spațiul extracelular pentru a se angaja nemijlocit în resorbția extracelulară a collagenului.

5. Catabolizarea extracelulară intensă a collagenului din uterul în proces de involuție *post-partum* prin intermediul collagenazei, are loc cu concursul major al celulelor musculare netede, pe când liza intracelulară a collagenului este realizată de către macrofage și fibroblaste.

References

1. Amalinei C, Caruntu ID, Balan RA. Biology of metalloproteinases. *Rom J Morphol Embryol*. 2007;48(4):323-334.
2. Benyon RC, Iredale JP. Is liver fibrosis reversible? *Gut*. 2000;46:443-446.
3. Everts V, van der Zee E, Creemers L, et al. Phagocytosis and intracellular digestion of collagen, its role in turnover and remodeling. *Histochemical Journal*. 1996;28(4):229-245.
4. Fallowfield J, Hayes P. Pathogenesis and treatment of hepatic fibrosis: is cirrhosis reversible? *Clin Med*. 2011;11(2):179-83.
5. Cîmpean A, Caloianu M. Metalloproteinaze cu rol în biodegradarea collagenilor [Metalloproteinases role in biodegradation of collagens]. *Progrese în științe biologice [Progress in the field of biological Sciences]*. 1996;1(1):96-105.
6. Borkakoti N. Matrix metalloproteinases: variation on a theme. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*. 1998;70(1):73-94.
7. Hornebeck W, Lafuma C. Matrix metalloproteinases (MMP). *Comptes Rendus des Sciences de la Societe de Biologie et de Ses Filiales*. 1991;185(3):127-134.
8. Reynolds JJ. Collagenases and tissue inhibitors of metalloproteinases: a functional balance in tissue degradation. *Oral Disease*. 1996;2(1):70-76.
9. Shingleton W, Smith RE, Van Frank. Collagenase: a key enzyme in collagen turnover. *Biochemistry & Cell Biology*. 1996;74(6):759-775.
10. Jeffrey JJ. Collagen and collagenase: pregnancy and parturition. *Seminars in Perinatology*. 1991;15(2):118-126.
11. Woessner JF Jr. Regulation of matrilizin in the rat uterus. *Biochemistry & Cell Biology*. 1996;74(6):777-784.
12. Crow J, More L, Howe S. The mast cells of the human uterus. *Apmis*. 1988;96(10):921-926.
13. Krane S. Is collagenase (matrix metalloproteinase -1) necessary for bone and other connective tissue remodeling? *Clinical Orthopedics Related Research*. 1995;313:47-53.
14. Ryan J, Woessner J. Mammalian collagenase: direct demonstration in homogenates of involuting rat uterus. *Biochem. Biophys. Rec. Commun*. 1971;44(1):144-149.

15. Woessner JF. A Latent Form of Collagenase in the Involuting Rat Uterus and Its Activation by a Serine Proteinase. *Biochem. J.* 1977;161(3):535-542.
16. Osmers R, Tschesche H, Szeverenyi, et al. Serum collagenase levels during pregnancy and parturition. *Europ. J. Obstet., Gynecol & Reprod. Biol.* 1994;53(1):55-57.
17. Jeffrey JJ, Ehlich LS, Roswit WT. Serotonin: an induce of collagenase in myometrial smooth muscle cells. *J. Cell Physiol.* 1991;143(3):390-406.
18. Takamoto N, Leppert PC, Yu SY. Cell death and proliferation and its relation to collagen degradation in uterine involution of rats. *Connect. Tissue Res.* 1998;37(3-4):163-175.
19. Sharayev PN. Metod opredeleniya svobodnogo i svyazannogo oksiprolina v syvorotke krovi [The method for determination of free and conjugated hydroxyproline in the blood serum]. *Lab. delo [Laboratory issues]* 1981;5:283-285.
20. Smith RE, van Frank RM. The use of amino acid derivatives of 4-methoxy-B-naphthylamine for the assay and subcellular localization of tissue proteinases. In: *Lysosomes in Biology and Pathology*. New York, 1975;123-249.

Pulmonary thromboembolism associated with surgical diseases

*R. Scerbina, Gh. Ghidirim, V. Lescov, M. Cupcea, A. Muravca

Nicolae Anestiadi Department of Surgery, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy
Chisinau, the Republic of Moldova

*Corresponding author: romeo.scerbina@yahoo.com. Manuscris received June 28, 2013; accepted March 14, 2014

Abstract

Background: The pulmonary thromboembolism (PTE) has demonstrated a serious evolution and a high lethality level and is on the third place as a cause of a sudden death and remains one of the most actual issues in medicine. The actuality of the problem consists not only in the disease severity and lethality, but also in the difficulties in the diagnostics.

Material and methods: By the necropsy data, the incidence of PTE is estimated as about 15% of cases. A retrospective study of 33 patients who died from PTE in the period of 2008-2013 is presented. In the studied group the following risk factors have been identified: intravenous catheters, surgery, immobilization in bed, smoking and atrial fibrillation. In the studied group PTE prophylaxis has been performed with heparin, nadroparin and enoxaparin. The authors have been dissatisfied with the research due to PTE fatality.

Results: It has been revealed that an important factor in decreasing the lethality is the administration of antiplatelet drug support to all the patients with PTE risk.

Conclusions: 1. PTE is a frequent complication with a high lethality even in the case of its prevention. 2. The presence of risk factors, regardless of their number, strongly requires a preventive treatment. 3. The most effective anticoagulant drugs at the moment are those from the group of anticoagulants with a low molecular weight in preventive doses (Fondaparinux, Enoxaparin, Nadroparin). 4. It is necessary to reevaluate the anticoagulant medication support and prescribe it to the people above 40 years old. 5. The problem of PTE remains open for the further research with regard to the evidences of risk factors and the lethality decrease.

Key words: pulmonary thromboembolism, prophylaxis, lethality.

Tromboembolismul pulmonar asociat patologiilor chirurgicale

Introducere

Diagnosticul și tratamentul tromboembolismului arterelor pulmonare (TEP) rămâne una din cele mai actuale probleme din medicină. Aceasta este legată de o răspândire largă a TEP, care decurge grav și cu o letalitate înaltă. Conform statisticilor anatomice și clinice din SUA, embolia masivă este a treia cauză de moarte subită [14], anual decedând unul din 1000 populație generală [33].

TEP este un diagnostic curent, cu o frecvență de 15-20 de cazuri la 1000 de pacienți, cu 3-5 cazuri letale. În secțiile de chirurgie toracică și abdominală, TEP se întâlnește la fiecare al treilea pacient, constituind principala cauză a letalității postoperatorii (10-27% după intervenții chirurgicale generale și 24% după intervențiile ortopedice). Iar în secțiile de terapie

intensivă, TEP se stabilește în 7-16% cazuri din totalul de pacienți spitalizați [33].

Mulți pacienți decedază în primele ore de la declanșarea bolii, fără a primi un tratament adecvat. Letalitatea printre pacienții netratați constituie 30-40%, iar în cazul unui tratament precoce, ea scade până la 8-10% [33].

Tabelul 1

Scorul Geneva revizuit

Variabile	Punctaj
Factori predispozanți	
Vârsta > 65 de ani	+1
TVP și EP în antecedente	+3
Intervenție chirurgicală sau fractură în ultima lună	+2
Afecțiuni malignă	+2