

Received: 2011.11.02  
Accepted: 2012.01.10  
Published: 2012.01.30

## Molekularne i cytogenetyczne podstawy rozwoju mięśniaków macicy

### Molecular and cytogenetic evidence for the development of fibroids

Paweł Knapp<sup>1</sup>, Adrian Chabowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

<sup>2</sup> Zakład Fizjologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

#### Streszczenie

Mięśniaki macicy są jedną z najczęstszych niezłośliwych zmian rozrostowych dotyczących narządu płciowego u kobiet. Epidemiologia tego schorzenia często jest niemożliwa do oceny, gdyż znaczny odsetek mięśniaków macicy, to zmiany w stadium asymptotycznym. Etiologia mięśniaków macicy i ich biologia jest również słabo poznana, jednak niewątpliwy udział w etiopatogenezie tej choroby przypisywany jest hormonom steroidowym jajnika. Choć udział hormonów steroidowych jajnika (17 $\beta$ -estradiol [E<sub>2</sub>], progesteron [P<sub>4</sub>]) w patogenezie mięśniaków macicy jest dość dobrze poznany, dokładny mechanizm ich działania komórkowego i molekularnego pozostaje wciąż do końca nieokreślony. Mimo licznych prowadzonych badań naukowych nie udało się również zdefiniować genów odpowiedzialnych za powstawanie mięśniaków macicy. Ocena genetyczna tkanek mięśniaków macicy wykazała jednak, że prawie 50% tych niezłośliwych nowotworów stanowiły aberracje chromosomalne, z których najczęściej obserwowane to translokacja, duplikacja i delecja w chromosomie 7. Udział czynników wzrostowych (VEGF, TGF, PDGF, etc.) oraz rola apoptozy, a także indukcja procesów angiogenezy w transformacji do nieprawidłowej tkanki mięśnia macicy stanowią jeden z elementów kształtujących całościowy obraz etiopatogenezy tej choroby. W pracy omówiono dostępne dane literaturowe dotyczące molekularnych i cytogenetycznych podstaw rozwoju mięśniaków macicy.

Słowa kluczowe:

mięśniaki macicy • steroidy jajnikowe • proliferacja komórek błony mięśniowej macicy • czynniki wzrostowe • apoptoza

#### Summary

Uterine fibroids are the most common benign tumor of the female genital tract. Their epidemiology is probably highly underestimated because a high percentage of them are in the asymptomatic stage. The etiology of fibroids and their biology are still poorly understood, although steroid ovarian hormones, both estrogen and progestins, have played an important role in etiopathogenesis of this disease. Also no single candidate gene has been detected for commonly occurring uterine fibroids. Cytogenetic abnormalities, particularly translocation, duplication and deletions of chromosome 7, which are found in up to 50% of fibroid specimens, seem to play an important role during abnormal transformation of uterus smooth muscle. The key regulators that transform normal uterine tissue to fibroids are growth factors (VEGF, TGF, PDGF, etc.), angiogenesis and the process of apoptosis.

In this review, current knowledge about molecular and cytogenetic evidence on fibroid development is presented.

**Key words:** uterine fibroids • ovarian steroids • uterine smooth muscle cell proliferation • growth factors, apoptosis

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=979386>

**Word count:** 4305

**Tables:** –

**Figures:** –

**References:** 116

**Adres autora:** dr n. med. Paweł Knapp, Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. M. Skłodowskiej-Curie 24a, 15-276 Białystok; e-mail: knapp@umb.edu.pl

Mięśniaki macicy stanowią jeden z najczęstszych niezłośliwych guzów narządu płciowego u kobiety w okresie rozrodczym [55,76]. Guzy te stwierdzane są klinicznie u 25% wszystkich kobiet. Duży odsetek pozostaje jednak wciąż nierozpoznany, gdyż znaczna ich część przebiega bezobjawowo [76].

Transformacja, której jest poddawana błona mięśniowa macicy (*myometrium*) do innej histologicznie postaci tkankowej, jaką są mięśniaki jest wciąż nie do końca oczywista [47,48]. Do poznania biologii tego schorzenia wykorzystuje się obserwacje potwierdzone już w innych rozrostach nowotworowych, w których udokumentowano dwa odrębne etapy rozwoju zmian neoplastycznych: przekształcenie z prawidłowej komórki w nieprawidłową jej postać (defekt mutacyjny, genetyczny), oraz wzrost i proliferacja populacji „zdefektowanych” komórek. Badania Hashimoto i wsp. wykazały, iż mimo że mięśniaki mogą występować w grupie lub pojedynczo w macicy kobiety, niezależnie od wielkości każdy mięśniak rozwija się z pojedynczej komórki (koncepcja rozwoju monoklonalnego). Zgodnie z tezą o monoklonalnym pochodzeniu mięśniaków, badania grupy Hashimoto wykazały, że w strukturze tej tkanki oznaczona aktywność izoenzymu dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (A lub B) była identyczna w każdej komórce mięśniaka. Przeprowadzona analiza losowo wybranych 8–10 próbek uzyskanych z różnych części tego samego mięśniaka, w każdym przypadku dokumentowała znamiennej statystycznie ( $p < 0,001$ ), niemalże identyczną aktywność tego izoenzymu [36].

Potwierdzeniem koncepcji monoklonalnego pochodzenia mięśniaków macicy, była przedstawiona również w badaniach grupy Hashimoto inaktywacja genu PGK (kinazy fosfoglicerynowej) związanego z chromosomem X. Autorzy ci stwierdzili, iż we wszystkich komórkach nieprawidłowej tkanki mięśniowej dochodzi do nadekspresji tylko jednego typu alleli związanych z chromosomem X, wskazując tym samym, że nieprawidłowa proliferacja rozpoczyna się od pojedynczej komórki. Moment aktywacji potencjału decydującego o przekształcaniu się prawidłowej komórki mięśniówki macicy w nieprawidłową strukturę miocytu, który następnie mnoży się i staje się mięśniakiem pozostaje nieznan. Logicznym wydaje się zatem sformułowanie przedstawione przez Hashimoto i wsp., że cokolwiek inicjuje to przekształcenie, musi być częstym zjawiskiem u kobiet z wieloma mięśniakami, a rzadkim w przypadku pacjentek z jednym mięśniakiem macicy [36].

W ostatnich latach badania Alama i wsp., a także Wortham i wsp. oraz Vanharanta i wsp. umożliwiły identyfikację genów kodujących rzadkie zespoły uszkodzeń genetycznych związane z rozwojem elementów strukturalnych o cechach histologicznych mięśniaków macicy. Są to między innymi: dziedziczna mięśniakowatość gładkokomórkowa, zespół raka jasnokomórkowego nerki lub zespół licznych mięśniaków gładkokomórkowych macicy i skóry zwany również zespołem Reeda [2,5,91,103,108]. Jednym z głównych genów, którego zwiększona ekspresja jest obserwowana w wymienionych wyżej zespołach jest gen kodujący hydratazę fumarową, enzym mitochondrialny, biorący udział w cyklu Krebsa [100]. Gen kodujący ten enzym, nie został jednak zidentyfikowany jako dominujący w mięśniakach macicy występujących u większości diagnozowanych pacjentek [1,3,4]. Skłania to do rozważań na temat poligenowego pochodzenia tego schorzenia.

Istotne trudności pojawiające się w ustaleniu etiologii rozrostów mięśniówki macicy sprawiły, iż zaczęto poszukiwać istotnych korelacji wpływu środowiska na inicjację tych rozrostów. W latach 90 ub.w. Kodama i wsp. zauważyli, że mięśniaki macicy występowały częściej u kobiet, które przeżyły wybuch bomby atomowej. Badania autorów japońskich dotyczyły retrospektywnej analizy populacji kobiet, u których 15 lat i później od wybuchu jądrowego, stwierdzano klinicznie mięśniaki macicy. Współczynnik szans w tej grupie kobiet został wyliczony na poziomie 1,61 (95% przedział ufności 1,12–2,31) [50,51]. Autorzy ci wykazali, że istnieje zależność między dawką ekspozycyjną otrzymanego promieniowania powstałego w wyniku wybuchu jądrowego, a częstością występowania mięśniaków. Podobne wyniki opublikowano w raporcie „Radiation Effects Research Foundation Adult Health Report”, a praca ta zapoczątkowała serię artykułów – zwłaszcza autorów japońskich, dokumentujących wpływ promieniowania jako głównego czynnika środowiskowego w transformacji prawidłowego miocytu do jego postaci rozrostowej [46,50,51].

Chociaż nie jest pewne w jaki sposób wcześniejsze promieniowanie promuje rozwój mięśniaków, energia jonizująca wywołuje nieprawidłowości cytogenetyczne wskazujące, że uszkodzenie komórek może być inicjatorem początkowej transformacji z prawidłowego miocytu do jego nieprawidłowej postaci [45]. Tym niemniej założenie to zaproponowane przez Yamada i wsp. poddano krytyce, a wielu autorów jest zdania, że zmiany cytogenetyczne są wtórnymi,



a nie pierwotnymi czynnikami wpływającymi na rozwój mięśniaków [78,85,86,101,111].

Ocena genetyczna komórek mięśniaków macicy wykazała, że prawie w 50% przypadków tych niezłośliwych nowotworów występowały aberracje chromosomalne, z których najczęściej obserwowane były translokacja, duplikacja i delecja [30,37,54,57,63,64,69,104,113]. Badania Andersena i wsp. wykazały, że najczęstszymi zmianami mutacyjnymi w genomie komórek budujących błonę mięśniową gładką są: delecje w chromosomie 7 i translokacje z udziałem chromosomów 7, 12 i 14. Obszar krytyczny na chromosomie 7 to prawdopodobnie jego ramię długie (7q21-22), gdzie kodowane są również geny, takie jak gen cytochromu P450, alfa-2 kolagen typu I i MET protoonkogen (hepatocyte growth factor receptor [7q31]) [6,30]. Przeprowadzona ocena genetyczna tkanek mięśniaków macicy wykazała również zrównoważone translokacje w chromosomach 12 i 14 (q13-15, q24) [8,12,22,79,102]. Z kolei badania Zenga i wsp. wykazały znaczne zmniejszenie ekspresji genów supresorowych w nowotworowych rozrostach miocytów macicy. Autorzy sugerowali, iż niewątpliwie stan ten może stanowić jedno z ogniw sprawczych wspomnianych rozrostów mięśniaków macicy [114,115]. Podobne obserwacje dostarczyły badania Kima i wsp. oraz Sozena i wsp., którzy wykazali zmniejszoną ekspresję genu supresorowego *mac25* mRNA w małych i dużych, nieleczonych mięśniakach w porównaniu z prawidłową mięśniówką [49,92]. Wyżej wspomniane badania wydają się sugerować, że koncepcja poligenowej patogenezy mięśniaków jest więc najbardziej prawdopodobna.

Istotnym było także zbadanie ekspresji genów uważanych za swoistych „strażników genomu”, w tym przede wszystkim *p53*. W badaniach Vosa i wsp., poddano ocenie ekspresję genu *p53* w mięśniakach i mięsakach gładkokomórkowych. Zaprezentowane wyniki badań wyraźnie wykazały, że mięśniaki gładkokomórkowe charakteryzują się zmianami w eksonach 5–8 będącymi punktami aktywności mutacyjnej genu *p53*, natomiast nie było takich zmian w żadnej z analizowanych próbek mięśniaków [24]. Podobne wyniki bardzo niskiej ekspresji genu *p53* w rozrostowej tkance mięśniowej gładkokomórkowej potwierdzili w badaniach Sun i wsp. oraz Mittal i wsp. [68,94]. Wzrost ekspresji genu *p53* był natomiast obserwowany w badaniach Sunga i wsp., gdzie analizie zostały poddane tkanki mięśniaków komórkowych atypowych. W badanej grupie chorych opisywany wzrost ekspresji genu *p53* występował prawie u 40% pacjentek i związany był ze zwiększeniem liczby elementów charakteryzujących się atypią komórkową w strukturze mięśniaka [56,95].

Równie istotna w analizie etiopatogenezy mięśniaków macicy w ostatnim czasie stała się ocena białka p16, inhibitora 2A cyklinozależnej kinazy (CDKN2A), będącego białkiem supresorowym guza kodowanym przez gen *CDKN2A*. Liczni autorzy wykazali, że istnieje silna, statystyczna zależność pomiędzy ekspresją *p16*, a odsetkiem atypowych komórek tworzących strukturę mięśniaka [7,60,64,75]. Jest to szczególnie dobrze udokumentowane w badaniach guzów złośliwych – mięsakorakach, w których odsetek pozytywnych reakcji immunohistochemicznych białka p16 oszacowano na 86,4%. Badania Bodnar-Adler i wsp. wykazały także udział p16, jako czynnika pełniącego istotną

rolę w rozwoju mięsaków. Kolejnym wnioskiem płynącym z tej analizy było to, iż ocena ekspresji p16 może stanowić użyteczny immunohistochemiczny marker, w sytuacjach w których histologiczna ocena rozrostów mięśniówki macicy jest niejednoznaczna lub oceniany mięśniak gładkokomórkowy zawiera atypowe komórki klasyfikując guz jako tzw. „borderline tumor” [15, 75].

Podobne dane uzyskano analizując występowanie Ki-67 – białka kodowanego przez gen *MKI67*, będącego wskaźnikiem indeksu mitotycznego oraz frakcji dzielących się komórek. W licznych badaniach wykazano, że mimo obserwowanego potencjału proliferacyjnego w mięśniakach gładkokomórkowych, nie stwierdzono nadekspresji Ki-67 w tych strukturach tkankowych. Znamienno statystycznie wzrost wspomnianej ekspresji tego białka uzyskiwano natomiast w guzach o typie mięśniaków dotyczących mięśniówki macicy [19,82,88,98].

W ostatnich latach coraz częściej zwraca się uwagę na udział genów *TSC* (*TSC* – tuberous sclerosis complex gene) w procesach etiopatogenezy różnego rodzaju guzów. Stwierdzono, iż utrata funkcji tych genów u człowieka jest jednym z czynników mogących indukować rozwój złośliwych i niezłośliwych nowotworów. Obserwowana utrata funkcji tych genów w mięśniakach macicy, wydaje się stanowić element sugerujący genetyczne podłoże tej choroby [23]. Peng i wsp. wykazali, że w ponad 50% przypadków mięśniaków macicy, stwierdza się zmniejszony poziom produktu genu *TSC* – białka tuberyny. Brak lub zmniejszona ekspresja tego białka w mięśniakach macicy, jako skutek mutacji genu *TSC* jest prawdopodobnie jednym z najważniejszych molekularnych defektów związanych z rozwojem ludzkich rozrostów miometrium [80,81].

#### REGULACJA WZROSTU MIĘŚNIAKÓW MACICY

Transformacja prawidłowej tkanki mięśnia macicy do mięśniaka jest procesem wieloetapowym. Niewątpliwie początkowym czynnikiem indukującym patologiczny rozrost miometrium, ze zmianą jego struktury, są zmiany dotyczące genomu komórki. Nabycie swoistego potencjału proliferacyjnego oraz „nieśmiertelność” komórek wchodzących w skład guza, to istota mechanizmów rozwoju wszystkich nowotworów. Komórka niezdolna do włączenia procesu programowanej śmierci (apoptozy) zaczyna się niekontrolowanie dzielić tworząc rozrost nowotworowy. Istotnymi składowymi w procesie nowotworzenia są także nabywanie zdolności guza do unaczynienia oraz obserwowane w nowotworach inwazyjnych nabywanie zdolności do tworzenia nacieków i przerzutów. Kilka czynników najprawdopodobniej wpływa na wzrost mięśniaków macicy. Są to: steroidy jajnikowe, czynniki wzrostu, czynniki regulujące proces angiogenezy, a także wspomniany wyżej proces hamowania apoptozy [22,79].

#### Rola steroidów jajnikowych

Wprawdzie udział hormonów steroidowych jajnika (17β-estradolu [E<sub>2</sub>], progesteronu [P<sub>4</sub>]) w patogenezie mięśniaków macicy jest dość dobrze poznany, jednak dokładny mechanizm ich działania komórkowego i molekularnego pozostaje wciąż do końca nieokreślony. Zarówno w badaniach na modelu zwierzęcym, jak i na liniach

komórkowych, przyjmuje się, że  $E_2$  to pierwotny element stymulujący potencjał wzrostowy mięśniaków [43,109]. Liczne analizy kliniczne potwierdziły, że wzrost mięśniaków występuje głównie u kobiet w wieku rozrodczym, a potencjał patogenetyczny zmniejsza się w stanach hip estrogenizmu, takich jak menopauza lub w trakcie leczenia agonistą GnRH [66,71]. Szczególnie w tym ostatnim przypadku obserwowano stabilizację procesów rozrostowych miometrium, a także zmniejszenie wielkości obserwowanych wcześniej w mięśniach macicy mięśniaków [9,10,93]. Nie stwierdzono jednak, aby nieprawidłowe stężenia krążących endogennych hormonów płciowych ( $E_2$ ,  $P_4$ ) mogły stymulować rozwój mięśniaków gładkokomórkowych.

W mięśniakach macicy aktywność mitotyczna zmienia się w zależności od cyklu miesięczkowego i jest najwyższa w fazie lutealnej oraz podczas ciąży [43]. Badania Bairda i wsp. wykazały, że ciąża stanowi jednak bardziej czynnik cytoprotekcyjny, niż indukujący nieprawidłowy rozrost mięśnia macicy [9,10]. Chociaż omówione zjawiska można uznać za stan fizjologiczny, z dominującą rolą progesteronu w drugiej fazie cyklu płciowego, obecność innych endogennych steroidów płciowych oznacza, że obserwowana aktywność proliferacyjna mięśniaków stanowi niejako wypadkową działania wspomnianych hormonów endogennych (estrogeny, progesteron), a nie reakcję na izolowany steroid płciowy. Liczne badania wykazały zwiększoną ekspresję genu receptora estrogenowego w tkankach mięśniaków macicy niż w prawidłowym miometrium, a także zwiększoną odpowiedź komórek guza na stymulację estrogenową w porównaniu z prawidłowymi komórkami [10,82,93].

Badania Huntera i wsp., wykorzystujące hodowle komórkowe pochodzące z mięśniaków macicy od szczurów „Eker”, stały się próbą ustalenia zależności między indeksem proliferacyjnym tkanki mięśniaków obserwowanym we wspomnianych liniach, a ekspozycją na hormony płciowe. Zaobserwowano, że w 65% przypadków samic szczurów „Eker” dochodziło do spontanicznego rozwoju mięśniaków w okresie 16 miesięcy po estrogenowej ekspozycji hormonalnej [40]. W grupie tej linie komórkowe uzyskane z tkanki mięśniowej, charakteryzowały się wysoką ekspresją receptorów estrogenowych i progesteronowych [21,105]. Linie komórkowe pochodzące z mięśniaków gładkokomórkowych u szczurów „Eker” (ELT 3) proliferowały w hodowli w sposób zależny od dawki w reakcji na stymulację  $17\beta$ -estradiolem [21,105]. Badania Huntera wykazały także, że implementacja komórek z omawianych linii komórkowych „czystym” immunologicznie myszom wywołuje proliferację miocytów macicy, a powstałe hetero-przeszczepy wykazują podobny model odpowiedzi *in vivo* na egzogenną stymulację  $17\beta$ -estradiolu [38].

Badania prowadzone na liniach uzyskanych z hodowli komórek z ludzkich mięśniaków przez Barbarisiego i wsp., również potwierdziły zależność między nabywanym potencjałem proliferacyjnym mięśniaków macicy, a stymulacją estrogenową. Dodatkowo zauważono, iż stymulacja hormonalna obniża potencjał apoptotyczny komórek zmienionego miometrium [13]. W opinii Chena i wsp. zjawisko to związane było jednak ze zwiększoną stymulacją progestageną [18].

Doświadczenia prowadzone na linii ELT3 wykazały także, że różnorodne stężenia oraz ligandy receptorów

estrogenowych wywołują różne efekty na poziomie komórkowym. Indukcja ELT3 dietylostilbestrolem powodowała zwiększanie się indeksu proliferacyjnego komórek linii, a klinicznym odwzorowaniem obserwowanym u szczurów „Eker” było gwałtowne powiększenie się mięśniówki macicy. Odwrotny efekt – zmniejszenie się masy mięśnia macicy uzyskiwano po stymulacji tamoksyfenem – selektywnym modulatorem receptora estrogenowego [87]. Badania Fotsisa i wsp. oceniające wpływ genistyny, estrogenu pochodzenia roślinnego na ELT3 wykazały, iż małe i średnie stężenia hormonu powodowały w warunkach *in vitro* proliferację linii komórkowej mięśniaków, natomiast wysokie stężenia genistyny wywoływało efekt inhibicyjny, obserwowany również w liniach komórkowych estrogeniezależnych [32].

Liczni autorzy sugerują także, że progesteron ( $P_4$ ) może stanowić pierwotny czynnik indukujący nieprawidłowy rozrost mięśniówki macicy [43,65,83,84]. W stosunku do prawidłowego miometrium, mięśniaki macicy charakteryzują się wspomnianą już wcześniej zwiększoną liczbą mitoz w fazie lutealnej, a także zwiększoną ekspresją receptorów progesteronowych. Ishikawa i wsp. wykazali, że istnieje ścisła korelacja między fazą cyklu płciowego (faza sekrecyjna/lutealna), a obserwowanym komórkowym potencjałem proliferacyjnym mięśniówki macicy. Przedstawiono, że ekspresja antygenu *Ki-67* związana z proliferacją komórek w mięśniakach macicy zmniejszała się w fazie folikularnej cyklu miesięczkowego, a zwiększała się w fazie lutealnej i podczas ciąży. Zwiększone stężenie progesteronu w drugiej fazie cyklu płciowego, stanowiło w opinii Ishikawy i wsp. główny, pierwotny czynnik indukujący nieprawidłową proliferację miometrium [43].

Stan zwiększonej aktywności mitotycznej oraz nadekspresji receptorów progesteronowych był również obserwowany u pacjentek leczonych progestagenami z powodu mięśniaków macicy. Wykazano, w badaniach na liniach komórkowych, że progesteron reguluje funkcję niektórych białek, uczestniczących w procesach proliferacji komórkowej w tym m.in.: antyapoptotycznego białka Bcl-2 oraz antygenu *PCN* (*PCNA* – proliferating cellular nuclear antigen) [98]. Mauro i wsp. porównując aktywność proliferacyjną mięśniaków oraz komórek prawidłowego mięśnia macicy wykorzystując ocenę *PCNA* stwierdzili znamienny wzrost potencjału proliferacyjnego komórek mięśniaków macicy zarówno w fazie folikularnej, jak i wydzielniczej w stosunku do komórek prawidłowego miometrium. Dokładna analiza obu faz cyklu płciowego potwierdziła znacznie większy wzrost tego potencjału w fazie lutealnej. Natomiast w prawidłowym mięśniach macicy potencjał proliferacyjny w obu fazach cyklu menstruacyjnego nie różnił się. Badania z użyciem przeciwciał anti-*PCNA* u kobiet po menopauzie, które nie przyjmowały hormonalnej terapii zastępczej, wykazały brak aktywności proliferacyjnej badanych mięśniaków gładkokomórkowych. W grupie pacjentek przyjmujących hormonalną terapię zastępczą estrogenowo-progestagenową, obserwowano tylko nieznaczny wzrost aktywności proliferacyjnej komórek mięśniaków, porównywalny do analizowanego w okresie perimenopauzy [65]. Opisane wyżej zależności dokumentują udział steroidów jajnikowych jako jeden z podstawowych elementów uczestniczących w etiopatogenezie mięśniaków macicy [8,13,19,32,43].



## Rola czynników wzrostu i angiogeneza

Wielopoziomowość procesów związanych z indukcją proliferacji tkanki mięśniowej macicy do nieprawidłowej postaci sprawiła, iż w ostatnich latach szczególną uwagę zwrócono na prawdopodobną rolę czynników wzrostu w stymulowaniu nieprawidłowego rozwoju miometrium. Badania Hydera i wsp. przeprowadzone na modelu zwierzęcym, analizujące wpływ steroidów płciowych na wydzielanie czynników wzrostu oraz ekspresję ich receptorów wykazały, że istnieje dość ścisła zależność między tymi elementami (IGF, VEGF, TGF) w aspekcie rozwoju mięśniaków macicy. Autorzy ci wykazali, że zarówno estrogeny, jak i progestageny indukowały ekspresję mRNA naczyniowego czynnika wzrostu śródbłonnków (VEGF) w macicach gryzoni [42]. Dixon i wsp. również stwierdzili, iż potencjał proliferacyjny mięśniaków macicy zależy nie tylko od VEGF, lecz indukowany jest także przez wiele innych czynników wzrostu: insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF), płytkowy czynnik wzrostu (PDGF), naskórkowy czynnik wzrostu (EGF) w macicy [29].

W opinii licznych grup badawczych insulinopodobne czynniki wzrostu (IGF-1, IGF-2) stanowią jedne z najważniejszych szlaków sygnałowych odpowiedzialnych za rozwój mięśniaków macicy [11,25,80,97]. Badania Ivanga i wsp., prowadzone zarówno *in vitro* jak i *in vivo* wykazały mitogeniczny wpływ IGF-1 w rozwoju tego schorzenia. Autorzy ci stwierdzili, że ekspresja IGF-1 obserwowana w mięśniakach jest ponad 3-krotnie większa, niż określana w zdrowej tkance mięśniowej macicy [44]. Podobna analiza przeprowadzona u szczurów typu „Eker” wykazała 7-krotny wzrost ekspresji białka IGF-1 w tkance nieprawidłowej. Na podstawie przeprowadzonych badań Ivanga i wsp. postawili hipotezę, że autokryna stymulacja receptorów IGF-1 odgrywa istotną rolę w utrzymaniu prawidłowego wzrostu miometrium, natomiast zaburzenia sygnałowego szlaku IGF-1 stanowią element indukujący wzrost mięśniaków macicy [44]. Podobne wnioski przedstawili Peng i wsp., którzy analizowali ekspresję IGF-1 w aspekcie oceny procesu transkrypcji informacji genetycznej oraz następującej translacji stwierdzając, że obserwowana różnorodna ekspresja dotyczyła tylko białka IGF-1, nie była natomiast obserwowana na poziomie mRNA IGF-1. Na podstawie uzyskanych danych Peng i wsp. zasugerowali możliwość istnienia potranslacyjnych mechanizmów regulujących ekspresję białka IGF-1 w mięśniakach macicy związaną prawdopodobnie z mikroRNA (miRNA). Stwierdzono, iż liczba receptorów miR-29b (miRNA) była znamienne mniejsza w mięśniakach macicy niż w prawidłowym miometrium, stanowiąc prawdopodobnie element hamujący procesy translacji IGF-1 [80].

Badania Penga i wsp. przeprowadzone w grupie 230 pacjentek z mięśniakami macicy wykazały, że nadekspresja mRNA IGF-2 obserwowana była aż w 77% analizowanych przypadków. Stwierdzono także, że w ocenianej zbiorowości istniała grupa pacjentek (22%), u których ekspresja mRNA IGF-2 była bardzo niska. W 1% analizowanych przypadków nie zarejestrowano jej wcale. Zaproponowana przez Penga i wsp. rola IGF-2 w patogenezie rozrostów mięśniówki macicy nie została potwierdzona przez innych badaczy [16].

Kolejnym elementem biorącym prawdopodobnie udział w etiopatogenezie mięśniaków macicy jest czynnik wzrostu

fibroblastów (FGF-2). Opisujący w literaturze mechanizm jego działania polega na indukcji procesów proliferacji, migracji i różnicowaniu komórek śródbłonna, komórek mięśni gładkich oraz fibroblastów [37]. We wszystkich tych lokalizacjach komórkowych obserwowano zwiększoną ekspresję receptorów FGF (FGF-R) [70,106]. Moore i wsp. wykazali, że FGF-2 oddziałuje synergistycznie z VEGF i stymuluje jego syntezę w wielu nowotworowych liniach komórkowych [70]. Podobne wnioski wyciągnięto na podstawie badania Di Lieto i wsp. [27]. Jednocześnie badanie to wykazało, że istnieje zwiększona transkrypcja FGF-2 mRNA w mięśniakach macicy, zwłaszcza w macierzy pozakomórkowej (ECM – extracellular matrix), a także obserwowano wzrost immunoreaktywności FGF-R w prawidłowej mięśniówce macicy. Czynnik FGF wykazywał również cechy silnego mitogenu w hodowli komórek mięśniaków *in vitro*, natomiast nie miał tej aktywności w prawidłowej mięśniówce macicy. Wspomniani autorzy stwierdzili, że wzrost immunoreaktywności FGF, powiązany synergistycznie z VEGF, szczególnie w komórkach śródbłonnków naczyń, stanowi swoisty rezerwuar tych czynników, będący induktorem procesu proliferacji tkanki mięśniaków macicy [27,28]. Di Lieto i wsp. udowodnili także, iż wspomniane czynniki wzrostu aktywnie uczestniczą we wtórnym przyroście masy guza mięśniaków po zaprzestaniu leczenia farmakologicznego, w którym początkowo uzyskano zmniejszenie jego objętości [26].

Jednym z silniejszych miogenów indukujących mitozę komórek mięśni gładkich oraz fibroblastów są również płytkowy czynnik wzrostu (PDGF) oraz naskórkowy czynnik wzrostu (EGF) [20,96]. PDGF jest także silnym czynnikiem angiogenetycznym indukującym perycyty oraz komórki mięśniówki gładkiej, które stabilizują ścianę naczyń krwionośnych. Rodzina genów PDGF składa się z czterech grup: PDGF-A, -B, -C, -D [67,107]. Hwu i wsp. analizując cztery opisane grupy genów oraz ich produkty stwierdzili, iż ekspresja PDGF-C jest znamienne statystycznie wyższa (2,4-krotnie;  $p < 0,05$ ) w mięśniakach macicy niż w prawidłowym miometrium. Autorzy ci nie stwierdzili znamienych statystycznie różnic między ekspresją PDGF-A, -B, -D oraz układów receptorowych PDGFR- $\alpha$  i PDGFR- $\beta$  w obu rodzajach tkanek mięśniowych. PDGF pobudza wzrost mięśniaków macicy przez syntezę DNA i proliferację komórek w sposób zależny od estrogenów. Wydaje się, że związek ten jest niewątpliwym [41]. Badania grupy Di Lieto wykazały, że istnieje ścisła korelacja między zastosowaniem agonistów GnRH – leków z grupy silnych antiestrogenów, a zmniejszeniem ekspresji PDGF oraz zmniejszeniem objętości leczonych w ten sposób mięśniaków macicy [26]. EGF będący polipeptydem, podobnie jak PDGF wywołuje liczne efekty mitogenne w miometrium. Flake i wsp. wykazali, że patologiczna proliferacja mięśni gładkich w mięśniakach macicy, indukowana przez receptory EGF, zależy od progesteronu i również jest najbardziej nasiloną w fazie lutealnej [31]. Autorzy ci stwierdzili, że estrogeny są w tym przypadku czynnikiem zwiększającym ekspresję receptorów EGF (EGF-R). Podobne wyniki w swych badaniach przedstawił Zaitseva i wsp [112]. Dodatkowo wykazano porównywalną liczbę EGF-R zarówno w komórkach prawidłowego i nieprawidłowego miometrium, stwierdzając jednak ich większą czułość w porównaniu z indukcyjnym działaniem estrogenów i progesteronu w mięśniakach macicy [112]. Badania z zastosowaniem

selektywnego inhibitora receptorów EGF – AG1478, potwierdziły, iż możliwym stało się całkowite zablokowanie tych receptorów, uzyskując zahamowanie procesów proliferacji komórek mięśni gładkich macicy [90].

Kolejnym elementem biorącym udział w etiopatogenezie mięśniaków macicy są czynniki wzrostu guza  $\alpha$  i  $\beta$  (TGF – tumor growth factor  $\alpha$ ,  $\beta$ ) [52]. Badania immunohistochemiczne wykazały, iż TGF- $\alpha$  ma identyczne umiejscowienie komórkowe w strukturach prawidłowego miometrium i mięśniakach gładkokomórkowych. Norian i wsp. stwierdzili, że zarówno TGF- $\alpha$  jak i  $\beta$ , zwłaszcza TGF- $\beta$ 3 aktywnie uczestniczą w transformacji prawidłowej komórki mięśnia macicy do jej nowotworowego fenotypu. Ponadto nadekspresja TGF- $\beta$ 3 obserwowana w nieprawidłowej strukturze mięśnia odgrywa ważną rolę w formowaniu macierzy pozakomórkowej (ECM) charakterystycznej dla mięśniaków macicy [35,74]. Wykazano, że zaburzenia drogi sygnałów TGF- $\beta$  skorelowane ze zmianami w strukturze genów TGF, powiązane są z nieprawidłową kumulacją ECM w komórce [53]. Wydaje się to istotne w etiopatogenezie mięśniaków macicy, gdyż związane jest nie tylko ze zwiększeniem gromadzonego ECM, lecz także ze zmianami strukturalnymi, długością oraz nieprawidłowym przebiegiem fibrylli wchodzących w skład macierzy zewnątrzkomórkowej. Formowanie się nieprawidłowo przebiegających fibrylli związane jest częściowo z upośledzoną regulacją genów kodujących syntezę i wydzielanie kolagenu. Ma to znamienne znaczenie, gdyż nieprawidłowa struktura ECM nie podlega procesom degradacyjnym jak podobne, przebiegające w prawidłowej macierzy zewnątrzkomórkowej. Według badań Lepperta i wsp., elementem uczestniczącym w formowaniu nieprawidłowej architektury włókien kolagenowych w mięśniakach macicy jest dermatopontyna. Jest ona także białkiem wchodzącym w skład macierzy zewnątrzkomórkowej, mającym zdolność przyłączania TGF- $\beta$  oraz dekoryny – białka wchodzącego w interakcję z kolagenem poprzez jego rdzeń białkowy i wpływającego na fibrylogenezę kolagenu, regulując jego agregację. Autorzy ci wykazali, że przyłączenie dekoryny do dermatopontyny w ECM potencjalizuje funkcję TGF- $\beta$  z wszelkimi następstwami tego procesu wymienionymi wyżej [58].

Jednym z najlepiej udokumentowanych czynników wzrostu biorącym udział w transformacji prawidłowego mięśnia macicy do mięśniaków jest naczyniowy śródnabłonkowy czynnik wzrostu A (VEGF – vascular endothelial growth factor A) [17]. VEGF jest glikoproteiną wiążącą heparynę pierwotnie zidentyfikowaną jako białko wytwarzane przez komórki nowotworowe. Liczne późniejsze badania wykazały, że jest ono silnym mitogenem dla komórek śródnabłonka naczyniowego stymulującego angiogenezę [59]. Proces unaczynienia guza jest jednym z podstawowych składowych uczestniczących w nabywaniu dalszego potencjału proliferacyjnego zmiany po osiągnięciu liczby komórek  $10^6$ , a także jego inwazyjności. Dotąd poznano wiele czynników regulujących angiogenezę, jednak VEGF pozostaje najbardziej selektywnym elementem indukującym i regulującym ten proces w tkankach prawidłowych oraz nowotworach [72,99]. Zidentyfikowano siedem jego podtypów: VEGF-A, -B, -C, -D, -E, -F oraz łożyskowy czynnik wzrostu (PGF – placenta growth factor). W opinii Di Lieto i wsp. oraz Okada i wsp. VEGF, szczególnie

VEGF-A jest najprawdopodobniej najsilniejszym czynnikiem wzrostu jaki zidentyfikowano do tej pory w mięśniakach. Odnotowywano to w różnych gatunkowo tkankach mięśnia macicy, w których ekspresja VEGF-A była znamienne wyższa w mięśniakach niż w przyległym miometrium. Analizując biologiczne działania VEGF-A stwierdzono, że czynnik ten indukuje wspomnianą proliferację i migrację komórek śródnabłonka, a także działania wazodylatacyjne naczyń przez wpływ na uwalnianie śródnabłonkowych substancji wazoaktywnych, takich jak tlenek azotu i prostacykliny. Powoduje także uruchomienie kaskady procesów krzepnięcia i fibrylizacji zakrzepów w tętnicach spiralnych. VEGF stymuluje komórki śródnabłonka do syntezy tkankowego aktywatora plazminogenu i zwiększenia przepuszczalności naczyń, powodując tym samym aktywację pozanaczyniowej kaskady krzepnięcia w procesie zużyciu fibryny. Wysokie stężenia tkankowego aktywatora plazminogenu w endometrium kobiet oraz lokalnych układach naczyniowych, wyjaśniają m.in. bardzo obfite krwawienia miesięczne u kobiet z mięśniakami macicy [26,27].

Prymat VEGF w procesie neowaskularyzacji guzów nowotworowych jak i nienowotworowych stanowi podstawę ich dalszego rozwoju. Stopniowy wzrost guzów litych, takich jak mięśniaki macicy, jest zatem uzależniony od ich zdolności do stymulacji powstawania nowych naczyń krwionośnych, które dostarczają proliferującym komórkom zarówno tlenu jak i niezbędnych składników odżywczych. Możliwość blokowania angiogenezy (czynników angiogenetycznych) w tkankach nowotworowych stanowi więc podstawę ograniczania wzrastania guzów poprzez zahamowanie ich potencjału proliferacyjnego [39,59,77].

### Rola apoptozy

Prawidłowe funkcjonowanie poszczególnych tkanek i narządów zależy w znacznym stopniu od zachowania równowagi między proliferacją, a śmiercią tworzących je komórek. Proces apoptozy, genetyczny proces programowanej śmierci komórki jest więc jednym z podstawowych mechanizmów regulujących swoistą homeostazę tkankowa. Jest drugim oprócz martwicy sposobem eliminacji komórek z ustroju. Induktorem procesu apoptozy jest uszkodzenie DNA, aktywacja onkogenów, stymulacja swoistych receptorów błonowych i wewnątrzkomórkowych, obecność wolnych rodników lub promieniowanie jonizujące [110]. Sygnały pobudzające komórkę do apoptozy związane są z indukcją białka p53 – produktu genu *p53*, a także rodziny białek Bcl-2/Bax oraz interakcją receptora błonowego Fas-Fas ligand. Aktywacja wewnątrzkomórkowych enzymów proteolitycznych – aktywacji kaskady kaspaz – odpowiedzialnych za destrukcję komórki następuje wskutek sygnałów pochodzących z powierzchni komórki za pośrednictwem receptorów błonowych z rodziny TNF: TNF- $\alpha$  i Fas (CD95) (tumor necrosis factor) [116]. Brak możliwości naprawy uszkodzonego DNA indukuje proces programowanej śmierci komórki poprzez białko p53: nasila ekspresję proapoptotycznego białka Bax na błonie mitochondrialnej, jednocześnie blokując gen *Bcl-2*, a także stymuluje ekspresję receptora Fas na błonie komórkowej [89].

Nie udało się jeszcze dokładnie ustalić roli procesu apoptozy w etiopatogenezie mięśniaków macicy. Mimo że niektórzy autorzy wskazują na brak różnic między ekspresją



genu *Bcl-2* w komórkach mięśniaków macicy oraz prawidłowego miometrium, wydaje się iż obecnie dominuje pogląd o zwiększonej ekspresji tego genu w nieprawidłowej mięśniówce [82,116]. Badania Bodnera i wsp. wykazały znamienny wzrost ekspresji genu *Bcl-2* w nieprawidłowym miometrium, wskazując jednocześnie na promujący charakter białka antyapoptotycznego Bcl-2 w procesie tworzenia się mięśniaków macicy. Zauważono także, iż wzrost ekspresji genu *Bcl-2* pozostaje w ścisłej korelacji z indukcją receptorów progesteronowych [14]. Zapoczątkowało to serię badań nad możliwością selektywnego blokowania receptora progesteronowego, a przez to proapoptotycznego działania w tkankach mięśniaków macicy. Luo i wsp. wykazali, że zablokowanie receptora progesteronowego poprzez selektywny modulator tego receptora – CDB4124 (Proellex; Reppros Therapeutics, Woodlands, Texas) znacznie obniżało liczbę markerów proliferacji komórkowej, a także stężenie białka Bcl-2. Autorzy ci udowodnili także, iż CDB4124 selektywnie blokował tylko receptory progesteronowe w mięśniakach gładkokomórkowych, natomiast nie obserwowano tego w prawidłowych tkankach mięśniówki macicy. Luo i wsp. wykazali, że inhibitory selektywnych modulatorów receptora progesteronowego blokowały proliferację komórkową w mięśniakach macicy oraz indukowały proces programowanej śmierci komórek tych tkanek [61,62,73].

Jednym z głównych elementów kontroli procesów proliferacji i różnicowania komórkowego jest gen *p53*. Mutacje w tym genie stanowią podstawę etiopatogenezy licznych chorób rozrostowych. Badania prowadzone przez Gao i wsp. wykazały, że ekspresja genu *p53* jest podobna w mięśniakach macicy oraz prawidłowej mięśniówce. Ciekawym spostrzeżeniem tego badania było to, iż zastosowanie analogów GnRH w leczeniu mięśniaków macicy korelowało ze wzrostem ekspresji genu *p53*. Autorzy ci postawili tezę, iż w swoistych warunkach hipostrogenizmu promowany jest szlak sygnałowy związany z genem *p53*, indukującym apoptozę komórek mięśniaków macicy [33,34]. Spostrzeżenie to

potwierdziły wnioski z badań Mauro i wsp. oraz Ishikawy omówione wyżej [43,65]. W modelu doświadczalnym stosując linię komórkową mięśniaków macicy Gao i wsp. wykazali także, iż stosowane estrogeny zmniejszały ekspresję białka p53, natomiast same progestageny czy połączenie estrogenów z progestagenami nie miały wpływu na analizowany poziom białka p53. W końcowych wnioskach autorzy tego badania zasugerowali, że proces apoptozy, przy znanym indukującym proliferację komórkową w mięśniakach macicy potencjale gestagenów, jest równoważony lub hamowany przez inne niezbędne czynniki. Stwierdzili także, iż obserwowane zaburzenia w regulacji rodziny cyklin G1, zaangażowanych w regulację fazy G<sub>1</sub>-S cyklu komórkowego, może odgrywać niezależną rolę w procesie proliferacji i wzrostu mięśniaków macicy (obserwowana nadekspresja tych białek w mięśniakach macicy w porównaniu z prawidłowym miometrium) również w przypadku braku mutacji genu *p53* [33,34].

Mięśniaki macicy są najczęstszym nowotworem niezłośliwym u kobiet, jednak poziom wiedzy o epidemiologii, etiologii i biologii tego nowotworu jest wciąż niedostateczny. Istnieje coraz więcej dowodów, że zmiany genomu odgrywają prawdopodobną rolę w inicjacji rozrostu tkanki mięśniowej, natomiast mechanizmy molekularne i komórkowe sprawują ważną funkcję w późniejszym wzroście oraz kontroli zachodzących procesów proliferacyjnych. Nie bez znaczenia jest również wpływ hormonów płciowych w etiopatogenezie tego schorzenia. Wydaje się, że jednym z głównych elementów mogących uzupełnić dane dotyczące genetyki mięśniaków macicy, jest ocena ich statusu metabolicznego. Stan ten jest niewątpliwie nieznaną składową w obserwowanej transformacji prawidłowego miometrium do mięśniaków macicy. Brak dokładnych danych etiopatogenetycznych, nieuporządkowana dystrybucja tkankowa, niejednorodna symptomatologia i przebieg schorzenia sprawiają, że mięśniaki macicy nie powinny być analizowane jako izolowana jednostka chorobowa. Wniosek ten powinien być uwzględniony w przyszłych programach i metodach badawczych.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Alam N.A., Barclay E., Rowan A.J., Tyrer J.P., Calonje E., Manek S., Kelsell D., Leigh I., Olpin S., Tomlinson I.P.: Clinical features of multiple cutaneous and uterine leiomyomatosis: an underdiagnosed tumor syndrome. *Arch. Dermatol.*, 2005; 141: 199–206
- [2] Alam N.A., Bevan S., Churchman M., Barclay E., Barker K., Jaeger E.E., Nelson H.M., Healy E., Pembroke A.C., Friedmann P.S., Dalziel K., Calonje E., Anderson J., August P.J., Davies M.G., Felix R., Munro C.S., Murdoch M., Rendall J., Kennedy S., Leigh I.M., Kelsell D.P., Tomlinson I.P., Houlston R.S.: Localization of a gene (MCUL1) for multiple cutaneous leiomyomata and uterine fibroids to chromosome 1q42.3-q43. *Am. J. Hum. Genet.*, 2001; 68: 1264–1269
- [3] Alam N.A., Olpin S., Leigh I.M.: Fumarate hydratase mutations and predisposition to cutaneous leiomyomas, uterine leiomyomas and renal cancer. *Br. J. Dermatol.*, 2005; 153: 11–17
- [4] Alam N.A., Rowan A.J., Wortham N.C., Pollard P.J., Mitchell M., Tyrer J.P., Barclay E., Calonje E., Manek S., Adams S.J., Bowers P.W., Burrows N.P., Charles-Holmes R., Cook L.J., Daly B.M., Ford G.P., Fuller L.C., Hadfield-Jones S.E., Hardwick N., Highet A.S., Keefe M., MacDonald-Hull S.P., Potts E.D., Crone M., Wilkinson S., Camacho-Martinez F., Jablonska S., Ratnavel R., MacDonald A., Mann R.J., Grice K., Guillet G., Lewis-Jones M.S., McGrath H., Seukeran D.C., Morrison P.J., Fleming S., Rahman S., Kelsell D., Leigh I., Olpin S., Tomlinson I.P.: Genetic and functional analyses of FH mutations in multiple cutaneous and uterine leiomyomatosis, hereditary leiomyomatosis and renal cancer, and fumarate hydratase deficiency. *Hum. Mol. Genet.*, 2003; 12: 1241–1252
- [5] Alrashdi I., Levine S., Paterson J., Saxena R., Patel S.R., Depani S., Hargrave D.R., Pritchard-Jones K., Hodgson S.V.: Hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma: very early diagnosis of renal cancer in a paediatric patient. *Fam. Cancer*, 2010; 9: 239–243
- [6] Andersen J.: Comparing regulation of the connexin43 gene by estrogen in uterine leiomyoma and pregnancy myometrium. *Environ. Health Perspect.*, 2000; 108(Suppl. 5): 811–815
- [7] Atkins K.A., Arronte N., Darus C.J., Rice L.W.: The use of p16 in enhancing the histologic classification of uterine smooth muscle tumors. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2008; 32: 98–102
- [8] Badeloe S., Bladergroen R.S., Jonkman M.F., Burrows N.P., Steijlen P.M., Poblete-Gutierrez P., van Steensel M.A., van Geel M., Frank J.: Hereditary multiple cutaneous leiomyoma resulting from novel mutations in the fumarate hydratase gene. *J. Dermatol. Sci.*, 2008; 51: 139–143
- [9] Baird D.D., Dunson D.B.: Why is parity protective for uterine fibroids? *Epidemiology*, 2003; 14: 247–250
- [10] Baird D.D., Garrett T.A., Laughlin S.K., Davis B., Semelka R.C., Peddada S.D.: Short-term change in growth of uterine leiomyoma: tumor growth spurts. *Fertil. Steril.*, 2011; 95: 242–246
- [11] Baird D.D., Travlos G., Wilson R., Dunson D.B., Hill M.C., D'Aloisio A.A., London S.J., Schectman J.M.: Uterine leiomyomata in relation to insulin-like growth factor-I, insulin, and diabetes. *Epidemiology*, 2009; 20: 604–610

- [12] Barao M.A., Oliveira E., Gomes M.T., da Silva I.D., Sartori M.G., Girao M.J., Castro Rde A.: The role of MSP I CYP1A1 gene polymorphism in the development of uterine fibroids. *Fertil. Steril.*, 2010; 94: 2783–2785
- [13] Barbarisi A., Pettillo O., Di Lieto A., Melone M.A., Margarucci S., Cannas M., Peluso G.: 17-beta estradiol elicits an autocrine leiomyoma cell proliferation: evidence for a stimulation of protein kinase-dependent pathway. *J. Cell. Physiol.*, 2001; 186: 414–424
- [14] Bodner K., Bodner-Adler B., Kimberger O., Czerwenka K., Mayerhofer K.: Bcl-2 receptor expression in patients with uterine smooth muscle tumors: an immunohistochemical analysis comparing leiomyoma, uterine smooth muscle tumor of uncertain malignant potential, and leiomyosarcoma. *J. Soc. Gynecol. Investig.*, 2004; 11: 187–191
- [15] Bodner-Adler B., Bodner K., Czerwenka K., Kimberger O., Leodolter S., Mayerhofer K.: Expression of p16 protein in patients with uterine smooth muscle tumors: an immunohistochemical analysis. *Gynecol. Oncol.*, 2005; 96: 62–66
- [16] Boehm K.D., Daimon M., Gorodeski I.G., Sheean L.A., Utian W.H., Ilan J.: Expression of the insulin-like and platelet-derived growth factor genes in human uterine tissues. *Mol. Reprod. Dev.*, 1990; 27: 93–101
- [17] Chang C.C., Hsieh Y.Y., Lin W.H., Lin C.S.: Leiomyoma and vascular endothelial growth factor gene polymorphisms: a systematic review. *Taiwan J. Obstet. Gynecol.*, 2010; 49: 247–253
- [18] Chen H.W., Liu J.C., Chen J.J., Lee Y.M., Hwang J.L., Tzeng C.R.: Combined differential gene expression profile and pathway enrichment analyses to elucidate the molecular mechanisms of uterine leiomyoma after gonadotropin-releasing hormone treatment. *Fertil. Steril.*, 2008; 90: 1219–1225
- [19] Chen L., Yang B.: Immunohistochemical analysis of p16, p53, and Ki-67 expression in uterine smooth muscle tumors. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 2008; 27: 326–332
- [20] Ciarmela P., Islam M.S., Reis F.M., Gray P.C., Bloise E., Petraglia F., Vale W., Castellucci M.: Growth factors and myometrium: biological effects in uterine fibroid and possible clinical implications. *Hum. Reprod. Update.*, 2011; 17: 772–790
- [21] Cook J.D., Walker C.L.: The Eker rat: establishing a genetic paradigm linking renal cell carcinoma and uterine leiomyoma. *Curr. Mol. Med.*, 2004; 4: 813–824
- [22] Csatos E., Rigo J.Jr., Szabo I., Nagy Z., Joo J.G.: Uterine leiomyoma. *Orv. Hetil.*, 2010; 151: 1734–1741
- [23] Darling T.N., Pacheco-Rodríguez G., Gorio A., Lesma E., Walker C., Moss J.: Lymphangioliomyomatosis and TSC2-/- cells. *Lymphat. Res. Biol.*, 2010; 8: 59–69
- [24] de Vos S., Wilczynski S.P., Fleischhacker M., Koefler P.: p53 alterations in uterine leiomyosarcomas versus leiomyomas. *Gynecol. Oncol.*, 1994; 54: 205–208
- [25] Di X., Yu L., Moore A.B., Castro L., Zheng X., Hermon T., Dixon D.: A low concentration of genistein induces estrogen receptor-alpha and insulin-like growth factor-I receptor interactions and proliferation in uterine leiomyoma cells. *Hum. Reprod.*, 2008; 23: 1873–1883
- [26] Di Lieto A., De Falco M., Mansueto G., De Rosa G., Pollio F., Staibano S.: Preoperative administration of GnRH-a plus tibolone to premenopausal women with uterine fibroids: evaluation of the clinical response, the immunohistochemical expression of PDGF, bFGF and VEGF and the vascular pattern. *Steroids*, 2005; 70: 95–102
- [27] Di Lieto A., De Falco M., Pollio F., Mansueto G., Salvatore G., Somma P., Ciociola F., De Rosa G., Staibano S.: Clinical response, vascular change, and angiogenesis in gonadotropin-releasing hormone analogue-treated women with uterine myomas. *J. Soc. Gynecol. Investig.*, 2005; 12: 123–128
- [28] Di Lieto A., Iannotti F., De Falco M., Staibano S., Pollio F., Ciociola F., De Rosa G.: Immunohistochemical detection of insulin-like growth factor type I receptor and uterine volume changes in gonadotropin-releasing hormone analogue-treated uterine leiomyomas. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2003; 188: 702–706
- [29] Dixon D., He H., Haseman J.K.: Immunohistochemical localization of growth factors and their receptors in uterine leiomyomas and matched myometrium. *Environ. Health Perspect.*, 2000; 108, Suppl. 5: 795–802
- [30] El-Shennawy G.A., Elbially A.A., Isamil A.E., El Behery M.M.: Is genetic polymorphism of ER- $\alpha$ , CYP1A1, and CYP1B1 a risk factor for uterine leiomyoma? *Arch. Gynecol. Obstet.*, 2011; 283: 1313–1318
- [31] Flake G.P., Andersen J., Dixon D.: Etiology and pathogenesis of uterine leiomyomas: a review. *Environ. Health Perspect.*, 2003; 111: 1037–1054
- [32] Fotsis T., Pepper M., Adlercreutz H., Hase T., Montesano R., Schweigerer L.: Genistein, a dietary ingested isoflavonoid, inhibits cell proliferation and *in vitro* angiogenesis. *J. Nutr.*, 1995; 125: 790S–797S
- [33] Gao X., Yu L., Castro L., Moore A.B., Hermon T., Bortner C., Sifre M., Dixon D.: An endocrine-disrupting chemical, fenvalerate, induces cell cycle progression and collagen type I expression in human uterine leiomyoma and myometrial cells. *Toxicol. Lett.*, 2010; 196: 133–141
- [34] Gao Z., Matsuo H., Wang Y., Nakago S., Maruo T.: Up-regulation by IGF-I of proliferating cell nuclear antigen and Bcl-2 protein expression in human uterine leiomyoma cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001; 86: 5593–5599
- [35] Halder S.K., Goodwin J.S., Al-Hendy A.: 1,25-Dihydroxyvitamin D3 reduces TGF- $\beta$ 3-induced fibrosis-related gene expression in human uterine leiomyoma cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2011; 96: E754–E762
- [36] Hashimoto K., Azuma C., Kamiura S., Kimura T., Nobunaga T., Kanai T., Sawada M., Noguchi S., Saji F.: Clonal determination of uterine leiomyomas by analyzing differential inactivation of the X-chromosome-linked phosphoglycerokinase gene. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 1995; 40: 204–208
- [37] Helmke B.M., Markowski D.N., Muller M.H., Sommer A., Muller J., Moller C., Bullerdiek J.: HMGA proteins regulate the expression of FGF2 in uterine fibroids. *Mol. Hum. Reprod.*, 2011; 17: 135–142
- [38] Hodges L.C., Houston K.D., Hunter D.S., Fuchs-Young R., Zhang Z., Wineker R.C., Walker C.L.: Transdominant suppression of estrogen receptor signaling by progesterone receptor ligands in uterine leiomyoma cells. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2002; 196: 11–20
- [39] Hsieh Y.Y., Chang C.C., Tsai F.J., Lin C.C., Tsai C.H.: T allele for VEGF-460 gene polymorphism at 5'-untranslated region is associated with higher susceptibility of leiomyoma. *Biochem. Genet.*, 2008; 46: 356–361
- [40] Hunter D.S., Hodges L.C., Eagon P.K., Vonier P.M., Fuchs-Young R., Bergerson J.S., Walker C.L.: Influence of exogenous estrogen receptor ligands on uterine leiomyoma: evidence from an *in vitro/in vivo* animal model for uterine fibroids. *Environ. Health Perspect.*, 2000; 108(Suppl. 5): 829–834
- [41] Hwu Y.M., Li S.H., Lee R.K., Tsai Y.H., Yeh T.S., Lin S.Y.: Increased expression of platelet-derived growth factor C messenger ribonucleic acid in uterine leiomyoma. *Fertil. Steril.*, 2008; 89: 468–471
- [42] Hyder S.M., Huang J.C., Nawaz Z., Boettger-Tong H., Makela S., Chiappetta C., Stancel G.M.: Regulation of vascular endothelial growth factor expression by estrogens and progestins. *Environ. Health Perspect.*, 2000; 108(Suppl. 5): 785–790
- [43] Ishikawa H., Ishi K., Serna V.A., Kakazu R., Bulun S.E., Kurita T.: Progesterone is essential for maintenance and growth of uterine leiomyoma. *Endocrinology*, 2010; 151: 2433–2442
- [44] Ivanga M., Labrie Y., Calvo E., Belleau P., Martel C., Luu-The V., Morissette J., Labrie F., Durocher F.: Temporal analysis of E2 transcriptional induction of PTP and MKP and downregulation of IGF-I pathway key components in the mouse uterus. *Physiol. Genomics*, 2007; 29: 13–23
- [45] Kato K., Antoku S., Kodama K., Kawamura S., Fujita Y., Komatsu K., Awa A.A.: Organ doses from radiation therapy in atomic bomb survivors. *Radiat. Res.*, 2001; 155: 785–795
- [46] Kawamura S., Kasagi F., Kodama K., Fujiwara S., Yamada M., Ohama K., Oto K.: Prevalence of uterine myoma detected by ultrasound examination in the atomic bomb survivors. *Radiat. Res.*, 1997; 147: 753–758
- [47] Khan K.N., Kitajima M., Hiraki K., Fujishita A., Nakashima M., Ishimaru T., Masuzaki H.: Cell proliferation effect of GnRH agonist on pathological lesions of women with endometriosis, adenomyosis and uterine myoma. *Hum. Reprod.*, 2010; 25: 2878–2890
- [48] Khan K.N., Kitajima M., Hiraki K., Fujishita A., Sekine I., Ishimaru T., Masuzaki H.: Changes in tissue inflammation, angiogenesis and apoptosis in endometriosis, adenomyosis and uterine myoma after GnRH agonist therapy. *Hum. Reprod.*, 2010; 25: 642–653
- [49] Kim J.G., Kim M.H., Kim I.S., Moon S.Y., Kang S.B., Lee H.P., Lee J.Y.: Decreased expression of mac25 mRNA in uterine leiomyoma compared with adjacent myometrium. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2000; 43: 53–57
- [50] Kodama K., Fujiwara S., Yamada M., Kasagi F., Shimizu Y., Shigematsu I.: Profiles of non-cancer diseases in atomic bomb survivors. *World. Health Stat. Q.*, 1996; 49: 7–16
- [51] Kodama K., Mabuchi K., Shigematsu I.: A long-term cohort study of the atomic-bomb survivors. *J. Epidemiol.*, 1996; 6(3 Suppl.): 95–105





- [52] Kurachi O., Matsuo H., Samoto T., Maruo T.: Tumor necrosis factor- $\alpha$  expression in human uterine leiomyoma and its down-regulation by progesterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001; 86: 2275–2280
- [53] Laping N.J., Everitt J.I., Frazier K.S., Burgert M., Portis M.J., Cadacio C., Gold L.I., Walker C.L.: Tumor-specific efficacy of transforming growth factor-beta RI inhibition in Eker rats. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 3087–3099
- [54] Laser J., Lee P., Wei J.J.: Cellular senescence in usual type uterine leiomyoma. *Fertil. Steril.*, 2010; 93: 2020–2026
- [55] Laughlin S.K., Schroeder J.C., Baird D.D.: New directions in the epidemiology of uterine fibroids. *Semin. Reprod. Med.*, 2010; 28: 204–217
- [56] Lee C.H., Turbin D.A., Sung Y.C., Espinosa I., Montgomery K., van de Rijn M., Gilks C.B.: A panel of antibodies to determine site of origin and malignancy in smooth muscle tumors. *Mod. Pathol.*, 2009; 22: 1519–1531
- [57] Lee J.H., Ryu T.Y., Cho C.H., Kim D.K.: Different characteristics of mitochondrial microsatellite instability between uterine leiomyomas and leiomyosarcomas. *Pathol. Oncol. Res.*, 2011; 17: 201–205
- [58] Leppert P.C., Baginski T., Prupas C., Catherino W.H., Pletcher S., Segars J.H.: Comparative ultrastructure of collagen fibrils in uterine leiomyomas and normal myometrium. *Fertil. Steril.*, 2004; 82(Suppl. 3): 1182–1187
- [59] Lewicka A., Osuch B., Cendrowski K., Zegarska J., Stelmachow J.: Expression of vascular endothelial growth factor mRNA in human leiomyomas. *Gynecol. Endocrinol.*, 2010; 26: 451–455
- [60] Longano A.B., Beech P.A., Nelva P.: p16 staining of subcutaneous smooth muscle tumours. *Pathology*, 2010; 42: 173–174
- [61] Luo X., Chegini N.: The expression and potential regulatory function of microRNAs in the pathogenesis of leiomyoma. *Semin. Reprod. Med.*, 2008; 26: 500–514
- [62] Luo X., Pan Q., Liu L., Chegini N.: Genomic and proteomic profiling II: comparative assessment of gene expression profiles in leiomyomas, keloids, and surgically-induced scars. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2007; 5: 35
- [63] Markowski D.N., Helmke B.M., Belge G., Nimzyk R., Bartnitzke S., Deichert U., Bullerdiek J.: HMGA2 and p14Arf: major roles in cellular senescence of fibroids and therapeutic implications. *Anticancer Res.*, 2011; 31: 753–761
- [64] Markowski D.N., von Ahsen I., Nezhad M.H., Wosniok W., Helmke B.M., Bullerdiek J.: HMGA2 and the p19Arf-TP53-CDKN1A axis: a delicate balance in the growth of uterine leiomyomas. *Genes Chromosomes Cancer*, 2010; 49: 661–668
- [65] Maruo T., Ohara N., Yoshida S., Nakabayashi K., Sasaki H., Xu Q., Chen W., Yamada H.: Translational research with progesterone receptor modulator motivated by the use of levonorgestrel-releasing intrauterine system. *Contraception*, 2010; 82: 435–441
- [66] McCarthy-Keith D.M., Malik M., Britten J., Segars J., Catherino W.H.: Gonadotropin-releasing hormone agonist increases expression of osmotic response genes in leiomyoma cells. *Fertil. Steril.*, 2011; 95: 2383–2387
- [67] Mesquita F.S., Dyer S.N., Heinrich D.A., Bulun S.E., Marsh E.E., Nowak R.A.: Reactive oxygen species mediate mitogenic growth factor signaling pathways in human leiomyoma smooth muscle cells. *Biol. Reprod.*, 2010; 82: 341–351
- [68] Mittal K.R., Chen F., Wei J.J., Rijhvan K., Kurvathi R., Streck D., Dermody J., Toruner G.A.: Molecular and immunohistochemical evidence for the origin of uterine leiomyosarcomas from associated leiomyoma and symplastic leiomyoma-like areas. *Mod. Pathol.*, 2009; 22: 1303–1311
- [69] Moon Y.S., Park S.K., Kim H.T., Lee T.S., Kim J.H., Choi Y.S.: Imprinting and expression status of isoforms 1 and 2 of PEG1/MEST gene in uterine leiomyoma. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 2010; 70: 120–125
- [70] Moore A.B., Yu L., Swartz C.D., Zheng X., Wang L., Castro L., Kissling G.E., Walmer D.K., Robboy S.J., Dixon D.: Human uterine leiomyoma-derived fibroblasts stimulate uterine leiomyoma cell proliferation and collagen type I production, and activate RTKs and TGF beta receptor signaling in coculture. *Cell Commun. Signal.*, 2010; 8: 10
- [71] Muzii L., Boni T., Bellati F., Marana R., Ruggiero A., Zullo M.A., Angioli R., Panici P.B.: GnRH analogue treatment before hysteroscopic resection of submucous myomas: a prospective, randomized, multicenter study. *Fertil. Steril.*, 2010; 94: 1496–1499
- [72] Nakayama T., Cho Y.C., Mine Y., Yoshizaki A., Naito S., Wen C.Y., Sekine I.: Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors VEGFR-1 and 2 in gastrointestinal stromal tumors, leiomyomas and schwannomas. *World J. Gastroenterol.*, 2006; 12: 6182–6187
- [73] Nieman L.K., Blocker W., Nansel T., Mahoney S., Reynolds J., Blithe D., Wesley R., Armstrong A.: Efficacy and tolerability of CDB-2914 treatment for symptomatic uterine fibroids: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase IIb study. *Fertil. Steril.*, 2011; 95: 767–772
- [74] Norian J.M., Malik M., Parker C.Y., Joseph D., Leppert P.C., Segars J.H., Catherino W.H.: Transforming growth factor beta3 regulates the versican variants in the extracellular matrix-rich uterine leiomyomas. *Reprod. Sci.*, 2009; 16: 1153–1164
- [75] O'Neill C.J., McBride H.A., Connolly L.E., McCluggage W.G.: Uterine leiomyosarcomas are characterized by high p16, p53 and MIB1 expression in comparison with usual leiomyomas, leiomyoma variants and smooth muscle tumours of uncertain malignant potential. *Histopathology*, 2007; 50: 851–858
- [76] Okolo S.: Incidence, aetiology and epidemiology of uterine fibroids. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2008; 22: 571–588
- [77] Okolo S.O., Gentry C.C., Perrett C.W., Maclean A.B.: Familial prevalence of uterine fibroids is associated with distinct clinical and molecular features. *Hum. Reprod.*, 2005; 20: 2321–2324
- [78] Orisaka M., Kurokawa T., Shukunami K., Orisaka S., Fukuda M.T., Shinagawa A., Fukuda S., Ihara N., Yamada H., Itoh H., Kotsuji F.: A comparison of uterine peristalsis in women with normal uteri and uterine leiomyoma by cine magnetic resonance imaging. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2007; 135: 111–115
- [79] Parker W.H.: Etiology, symptomatology, and diagnosis of uterine myomas. *Fertil. Steril.*, 2007; 87: 725–736
- [80] Peng L., Wen Y., Han Y., Wei A., Shi G., Mizuguchi M., Lee P., Hernando E., Mittal K., Wei J.J.: Expression of insulin-like growth factors (IGFs) and IGF signaling: molecular complexity in uterine leiomyomas. *Fertil. Steril.*, 2009; 91: 2664–2675
- [81] Peng Y., Laser J., Shi G., Mittal K., Melamed J., Lee P., Wei J.J.: Antiproliferative effects by Let-7 repression of high-mobility group A2 in uterine leiomyoma. *Mol. Cancer Res.*, 2008; 6: 663–673
- [82] Petrovic D., Babic D., Forko J.I., Martinac I.: Expression of Ki-67, P53 and progesterone receptors in uterine smooth muscle tumors. Diagnostic value. *Coll. Antropol.*, 2010; 34: 93–97
- [83] Rodriguez M.I., Warden M., Darney P.D.: Intrauterine progestins, progesterone antagonists, and receptor modulators: a review of gynecologic applications. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2010; 202: 420–428
- [84] Rubel C.A., Jeong J.W., Tsai S.Y., Lydon J.P., Demayo F.J.: Epithelial-stromal interaction and progesterone receptors in the mouse uterus. *Semin. Reprod. Med.*, 2010; 28: 27–35
- [85] Sakai Y., Yamada T., Fukuda H., Ichiyanagi N., Kamata S., Nagahama K., Tanizawa A., Watanabe T., Saitoh H., Itoyama S.: A case of epithelioid leiomyoma (leiomyoblastoma) of the urethra. *Hinyokika Kyo*, 2000; 46: 41–43
- [86] Sakashita N., Yamada M., Nakagawa T., Yamasaki H., Takeya M.: A leiomyomatoid angiomatous neuroendocrine tumor of the myometrium: case study with ultrastructural analysis. *Hum. Pathol.*, 2008; 39: 788–792
- [87] Salama S.A., Nasr A.B., Dubey R.K., Al-Hendy A.: Estrogen metabolite 2-methoxyestradiol induces apoptosis and inhibits cell proliferation and collagen production in rat and human leiomyoma cells: a potential medicinal treatment for uterine fibroids. *J. Soc. Gynecol. Investig.*, 2006; 13: 542–550
- [88] Sanci M., Dikis C., Inan S., Turkoz E., Dicle N., Ispahi C.: Immunolocalization of VEGF, VEGF receptors, EGF-R and Ki-67 in leiomyoma, cellular leiomyoma and leiomyosarcoma. *Acta Histochem.*, 2011; 113: 317–325
- [89] Sharan C., Halder S.K., Thota C., Jaleel T., Nair S., Al-Hendy A.: Vitamin D inhibits proliferation of human uterine leiomyoma cells via catechol-O-methyltransferase. *Fertil. Steril.*, 2011; 95: 247–253
- [90] Shushan A., Rojansky N., Laufer N., Klein B.Y., Shlomai Z., Levitzki R., Hartzstark Z., Ben-Bassat H.: The AG1478 tyrosine kinase inhibitor is an effective suppressor of leiomyoma cell growth. *Hum. Reprod.*, 2004; 19: 1957–1967
- [91] Smit D.L., Mensenkamp A.R., Badeloe S., Breuning M.H., Simon M.E., van Spaendonck K.Y., Aalfs C.M., Post J.G., Shanley S., Krapels I.P., Hoefsloot L.H., van Moorselaar R.J., Starink T.M., Bayley J.P., Frank J., van Steensel M.A., Menko F.H.: Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer in families referred for fumarate hydratase germline mutation analysis. *Clin. Genet.*, 2011; 79: 49–59
- [92] Sozen I., Arici A.: Interactions of cytokines, growth factors, and the extracellular matrix in the cellular biology of uterine leiomyomata. *Fertil. Steril.*, 2002; 78: 1–12

- [93] Stein K., Ascher-Walsh C.: A comprehensive approach to the treatment of uterine leiomyomata. *Mt. Sinai. J. Med.*, 2009; 76: 546–556
- [94] Sun X., Mittal K.: MIB-1 (Ki-67), estrogen receptor, progesterone receptor, and p53 expression in atypical cells in uterine symplastic leiomyomas. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 2010; 29: 51–54
- [95] Sung C.O., Ahn G., Song S.Y., Choi Y.L., Bae D.S.: Atypical leiomyomas of the uterus with long-term follow-up after myomectomy with immunohistochemical analysis for p16INK4A, p53, Ki-67, estrogen receptors, and progesterone receptors. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 2009; 28: 529–534
- [96] Suo G., Jiang Y., Cowan B., Wang J.Y.: Platelet-derived growth factor C is upregulated in human uterine fibroids and regulates uterine smooth muscle cell growth. *Biol. Reprod.*, 2009; 81: 749–758
- [97] Swartz C.D., Afshari C.A., Yu L., Hall K.E., Dixon D.: Estrogen-induced changes in IGF-I, Myb family and MAP kinase pathway genes in human uterine leiomyoma and normal uterine smooth muscle cell lines. *Mol. Hum. Reprod.*, 2005; 11: 441–450
- [98] Szajda S.D., Jozwik M., Sulkowska M., Chabielska E., Sulkowski S., Jóźwik M.: Analysis of the relationship between cancer procoagulant activity and PCNA and Ki-67 expression in cases of common and cellular uterine leiomyomas. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 2006; 27: 495–499
- [99] Takeda T., Osuga K., Miyake A., Wakabayashi A., Morishige K., Kimura T.: Elevated level of plasma vascular endothelial growth factor after gonadotropin-releasing hormone agonist treatment for leiomyomata. *Gynecol. Endocrinol.*, 2008; 24: 724–726
- [100] Tomlinson I.P., Alam N.A., Rowan A.J., Barclay E., Jaeger E.E., Kelsell D., Leigh I., Gorman P., Lamlum H., Rahman S., Roylance R.R., Olpin S., Bevan S., Barker K., Hearle N., Houlston R.S., Kiuru M., Lehtonen R., Karhu A., Vilkki S., Laiho P., Eklund C., Vierimaa O., Aittomaki K., Hietala M., Sistonen P., Paetau A., Salovaara R., Herva R., Launonen V., Aaltonen L.A.: Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer. *Nat. Genet.*, 2002; 30: 406–410
- [101] Urizono Y., Ko S., Kanehiro H., Hisanaga M., Aomatsu Y., Nagao M., Ikeda N., Yamada T., Nakajima Y.: Primary leiomyoma of the liver: report of a case. *Surg. Today* 2006; 36: 629–632
- [102] van Rijk A., Sweers M., Huys E., Kersten M., Merckx G., van Kessel A.G., Debiec-Rychter M., Schoenmakers E.F.: Characterization of a recurrent t(1;2)(p36;p24) in human uterine leiomyoma. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 2009; 193: 54–62
- [103] Vanharanta S., Pollard P.J., Lehtonen H.J., Laiho P., Sjoberg J., Leminen A., Aittomaki K., Arola J., Kruhoffer M., Orntoft T.F., Tomlinson I.P., Kiuru M., Arango D., Aaltonen L.A.: Distinct expression profile in fumarate hydratase-deficient uterine fibroids. *Hum. Mol. Genet.*, 2006; 15: 97–103
- [104] Velagaleti G.V., Tonk V.S., Hakim N.M., Wang X., Zhang H., Erickson-Johnson M.R., Medeiros F., Oliveira A.M.: Fusion of HMGA2 to COG5 in uterine leiomyoma. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 2010; 202: 11–16
- [105] Walker C.L., Hunter D., Everitt J.I.: Uterine leiomyoma in the Eker rat: a unique model for important diseases of women. *Genes Chromosomes Cancer*, 2003; 38: 349–356
- [106] Wolanska M., Bankowska-Guszczyn E., Jaworski S.: Fibroblast growth factor gene expression in uterine leiomyomas. *Ginekol. Pol.*, 2008; 79: 555–559
- [107] Wolanska M., Bankowski E.: Transforming growth factor beta and platelet-derived growth factor in human myometrium and in uterine leiomyomas at various stages of tumour growth. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2007; 130: 238–244
- [108] Wortham N.C., Alam N.A., Barclay E., Pollard P.J., Wagner B.E., Manek S., Elia G., Tomlinson I. P.: Aberrant expression of apoptosis proteins and ultrastructural aberrations in uterine leiomyomas from patients with hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma. *Fertil. Steril.*, 2006; 86: 961–971
- [109] Xia X., Zhang S., Yu Y., Zhao N., Liu R., Liu K., Chen X.: Effects of estrogen replacement therapy on estrogen receptor expression and immunoregulatory cytokine secretion in surgically induced menopausal women. *J. Reprod. Immunol.*, 2009; 81: 89–96
- [110] Xu Q., Qiu L., Zhu L., Luo L., Xu C.: Levonorgestrel inhibits proliferation and induces apoptosis in uterine leiomyoma cells. *Contraception*, 2010; 82: 301–308
- [111] Yamada T., Nakago S., Kurachi O., Wang J., Takekida S., Matsuo H., Maruo T.: Progesterone down-regulates insulin-like growth factor-I expression in cultured human uterine leiomyoma cells. *Hum. Reprod.*, 2004; 19: 815–821
- [112] Zaitseva M., Vollenhoven B.J., Rogers P.A.: Retinoids regulate genes involved in retinoic acid synthesis and transport in human myometrial and fibroid smooth muscle cells. *Hum. Reprod.*, 2008; 23: 1076–1086
- [113] Zavadil J., Ye H., Liu Z., Wu J., Lee P., Hernando E., Soteropoulos P., Toruner G.A., Wei J. J.: Profiling and functional analyses of microRNAs and their target gene products in human uterine leiomyomas. *PLoS. One*, 2010; 5: e12362
- [114] Zeng C., Gu M., Huang H.: A clinical control study on the treatment of uterine leiomyoma with gonadotrophin releasing hormone agonist or mifepristone. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 1998; 33: 490–492
- [115] Zeng W.R., Scherer S.W., Koutsilieris M., Huizenga J.J., Filteau F., Tsui L.C., Nepveu A.: Loss of heterozygosity and reduced expression of the CUTL1 gene in uterine leiomyomas. *Oncogene*, 1997; 14: 2355–2365
- [116] Zhu Y., Xie S.W., Zhang J.F., Zhang T.T., Zhou J.Y., Cao Y., Cao L.: Involvement of Bcl-2, Src, and ERalpha in gossypol-mediated growth inhibition and apoptosis in human uterine leiomyoma and myometrial cells. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2010; 31: 1593–1603

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

