STRESZCZENIE

Wstęp

Mięśniaki macicy (MM) są najczęstszymi łagodnymi guzami macicy, a kluczową rolę w ich patogenezie odgrywa progesteron (P4). MM zbudowane są ze zmienionych komórek myometrium (MYO) oraz nieprawidłowej macierzy pozakomórkowej (ECM), której główny element stanowią kolageny. W regulacji procesu produkcji ECM ważną rolę odgrywa szlak sygnałowy czynnika wzrostu guza β (TGF-β). Do niedawna w leczeniu mięśniaków macicy stosowano selektywny modulator receptora progesteronowego – octan ulipristalu (OU), jednak mechanizm jego działania nie został dokładnie wyjaśniony.

Cel

Głównym celem pracy jest ocena wpływu progesteronu i octanu ulipristalu na ekspresję kolagenów macierzy pozakomórkowej oraz zbadanie czy szlak sygnałowy TGF-β pośredniczy w mechanizmie działania progesteronu i ulipristalu regulując produkcję kolagenów w mięśniakach macicy.

Materiał i metody

W badaniach określono ekspresję genów kolagenów i szlaku TGF-β w tkankach myometrium (N=50), mięśniaków macicy od pacjentek nieleczonych OU (N=100) i leczonych OU (N=50). Dodatkowo przeprowadzono eksperymenty polegające na stymulacji P4 i OU hodowli komórkowych oraz eksplantów mięśniaków macicy i myometrium. Poziom ekspresji genów kolagenu: *COL1A1*, *COL1A2*, *COL3A1*, *COL4A4*, *COL4A5*, *COL5A1*, *COL5A2*, *COL5A3*, *COL11A1* oraz genów szlaku TGF-β: *TGF-β1*, *TGF-β2*, *TGF-β3*, *TGF-βR1*, *TGF-βR2*, *SMAD2* i *SMAD3* zbadano przy użyciu metody RT-PCR. Do określenia lokalizacji białka SMAD3 wykorzystano metody immunocytochemiczne i immunohistochemiczne. Metodą ELISA zmierzono stężenie produkowanych białek.

Wyniki

W MM nieleczonych OU wykazano zwiększoną ekspresję genów *COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1*, *TGF-β1*, *TGF-β3*, *SMAD2*, oraz *SMAD3* w porównaniu do zdrowego MYO. W MM leczonych OU wykazano zmniejszoną ekspresję *COL1A1*, *COL5A1*, *TGF-β1*, *TGF-β3*, *TGF-βR2*, *SMAD3* oraz zwiększoną ekspresję *COL3A1* w porównaniu do MM nieleczonych. W hodowlach komórkowych i hodowlach eksplantów MM P4 powodował wzrost ekspresji

COL1A1, *COL3A1*, *COL5A1* oraz wzrost żywotności komórek w porównaniu do grupy kontrolnej, natomiast OU obniżał ekspresję *COL1A1*, *COL4A4*, *COL5A1* oraz obniżał żywotność komórek w porównaniu do kontroli i stymulowanych P4. W badaniach na eksplantach MYO wykazano brak wpływu P4 i OU na ekspresję kolagenów. W hodowlach komórkowych MM stymulowanych OU stwierdzono także zmniejszoną ekspresję *TGF-β1*, *TGF-β3*, *TGF-βR2* oraz *SMAD3*. Zbadano wydzielanie TGF-β1 i TGF-β3 w hodowlach komórkowych MM i MYO. Stwierdzono zwiększone wydzielanie TGF-β1 i TGF-β3 w komórkach MM w porównaniu do komórek MYO. OU powodował obniżenie produkcji TGF-β1, TGF-β3 w komórkach stymulowanych w porównaniu do komórek kontroli. Immunolokalizacja białka SMAD3 wykazała obecność tego białka w cytoplazmie i jądrze komórkowym w MM nieleczonych, a w MM leczonych głównie w cytoplazmie. W badaniach immunocytochemicznych w grupie kontrolnej komórek mięśniaków macicy wykazano obecność białka SMAD3 w jądrze komórkowym, natomiast w grupie komórek stymulowanych octanem ulipristalu jedynie w cytoplazmie. W celu lepszego scharakteryzowania roli szlaku TGF-β przeprowadzono eksperymenty z inhibitorami TGF-βR1/R2 i SMAD3. Wykazano, że obecność inhibitorów hamuje pobudzanie żywotności komórek przez P4. W obecności iTGF-βR1/R2 zwiększa się niekorzystny efekt OU na żywotność komórek stymulowanych OU, iSMAD3 nie wykazuje tego efektu. W hodowlach komórkowych stymulowanych P4 w obecności inhibitora iSMAD3 stwierdzono niższą ekspresję *COL1A1* w porównaniu do komórek stymulowanych P4 bez inhibitora. Nie wykazano różnic w ekspresji *COL1A1* w hodowlach z OU i OU z inhibitorem iSMAD3. Stwierdzono również zmniejszone wydzielanie prokolagenu 1 alfa w komórkach MM stymulowanych OU w porównaniu do grupy kontrolnej i grupy stymulowanej P4.

Wnioski

Progesteron pobudza wzrost mięśniaków macicy zwiększając żywotność komórek mięśniaków i stymulując ekspresję niektórych genów macierzy zewnątrzkomórkowej oraz aktywując szlak TGF-β, a octan ulipristalu hamuje ten szlak zmniejszając odkładanie białek macierzy zewnątrzkomórkowej.