

## **Streszczenie pracy doktorskiej lek. Veroniki Aleksandrovych pt.: „THE ROLE OF INTERSTITIAL CAJAL-LIKE CELLS (TELOCYTES) IN THE PATHOGENESIS OF UTERINE FIBROIDS”**

### **Streszczenie.**

Pierwsze wzmianki o mięśniakach macicy sięgają czasów Hipokratesa. Pomimo to do tej pory nie udało się wyjaśnić wyczerpująco patogenezy tej najstarszej patologii macicy, która dotyka ponad 50% kobiet na całym świecie.

W ostatnich latach opisano nowy typ komórek śródmiąższowych nazwanych telocytami. Unikalne cechy telocytów w połączeniu z doniesieniami na temat ich lokalizacji i roli w patologii różnych narządów pozwoliły nam na postawienie hipotezy, że komórki te mogą być elementem złożonej patogenezy mięśniaków macicy. Ponieważ, wg ostatnich doniesień, telocyty rozmieszczone są w bezpośrednim sąsiedztwie różnych struktur histologicznych, z którymi tworzą liczne połączenia, a ponadto są komórkami tzw. pierwszej linii, które bardzo wcześnie reagują na niedotlenienie, postanowiliśmy zbadać ich rozmieszczenie, interakcje międzykomórkowe i możliwą rolę w mięśniakowości macicy.

Celem badania było zidentyfikowanie telocytów macicy w ogniskach mięśniaków i wyjaśnienie ich roli w rozwoju procesów włóknienia, miejscowej angiogenezy oraz wzajemnych oddziaływań z nerwami autonomicznymi macicy.

W pierwszym etapie przeprowadziliśmy identyfikację telocytów za pomocą znakowania immunofluorescencyjnego ze specyficznymi dla nich markerami: c-kit, CD34, PDGFR $\alpha$  oraz tryptazy mastocytarnej w wycinkach z szyjki i trzonu macicy oraz tkanki zmienionej mięśniakowato. Zastosowanie barwienia przeciwko tryptazie mastocytarnej umożliwiło odróżnienie komórek tucznych od dodatnich również względem c-kit telocytów - za telocyty uznano komórki, które były c-kit pozytywne i tryptazo-ujemne oraz równocześnie miały charakterystyczne dla telocytów cechy morfologiczne. Równolegle, przeprowadziliśmy identyfikację telocytów w oparciu o inny zestaw markerów - komórki podwójnie dodatnie dla CD34 i PDGFR $\alpha$  o charakterystycznej morfologii i lokalizacji również zostały uznane za telocyty. Ponadto oceniono strukturę tkanki zmienionej mięśniakowato - oprócz rutynowej analizy histologicznej porównano zawartość kolagenu i składników mięśniowych w ogniskach mięśniaków, jak również w niezmienionej mięśniówce macicy, stosując barwienie hematoksyliną i eozyną oraz metodą Trichrome wg Massona. Przeprowadzone badania wykazały obecność telocytów we wszystkich obserwowanych tkankach macicy (mięśniaków, niezmienionego mięśniówki macicy z trzonu macicy i szyjki macicy) zlokalizowanych głównie w pobliżu naczyń krwionośnych oraz także pomiędzy włóknami mięśniowymi. Jednocześnie zaobserwowaliśmy spadek gęstości telocytów w tkankach zmienionych mięśniakowato w stosunku do tkanek macicy niezmienionych patologicznie.

Nasze następne badania skupiły się na interakcji pomiędzy telocytami macicy a strukturami unerwienia autonomicznego macicy. Struktury neuronalne zidentyfikowano przez znakowanie immunologiczne markerów neuronowych dla: produktu genu białkowego PGP 9,5, indukowalnej syntazy tlenku azotu (iNOS), acetylotransferazy cholinowej (ChAT) i hydroksylazy tyrozynowej (TH). W celu identyfikacji telocytów przeprowadziliśmy barwienie immunologiczne opracowane we wcześniejszym etapie badań. Autonomiczne unerwienie w ogniskach mięśniaków charakteryzowało się głównie wzrostem liczby neuronów immunopozytywnych dla iNOS i ChAT. Zaobserwowaliśmy, że telocyty w macicy są również zlokalizowane w pobliżu włókien nerwowych, co podkreśla ich sugerowane

wzajemne oddziaływanie z elementami neuronalnymi. Chociaż zaobserwowane przez nas bliskie sąsiedztwo telocytów z zakończeniami nerwowymi wskazuje na potencjalne zaangażowanie tych komórek w zjawiska regulacji czynności neuronów autonomicznych lub chociażby przekazywanie sygnałów w macicy, to rola tej interakcji z włóknami nerwowymi wymaga jednak dalszych badań.

Kolejnym zagadnieniem, które zbadaliśmy w kontekście patogenezy mięśniaków macicy, było powiązanie między telocytami a procesami angiogenezy. Na podstawie danych literaturowych telocyty charakteryzują się wysoką wrażliwością na niedotlenienie (bardziej wrażliwe niż fibroblasty). Dlatego wybraliśmy dwa dodatkowe markery, specyficzne dla tworzenia nowych naczyń (CD31 i sFlt-1 (czynnik antyangiogeny)) i połączyliśmy je barwieniem immunologicznym specyficznym dla telocytów, w celu ujawnienia korelacji telocytów z ekspresją markerów angiogeny. Zmniejszonej liczbie komórek CD34+/PDGFR $\alpha$ + (telocytów) w mięśniakach towarzyszyło występowanie większej ilości złogów kolagenu, słabe unaczynienie oraz wysoka immunopozytywność mięśniówki macicy dla sFlt-1 (czynnik antyangiogeny). Stwierdziliśmy, że gęstość telocytów w macicy, ponieważ są to komórki wrażliwe na czynniki angiogenne (PDGF i VEGF) i niedokrwienie, obniża się w mięśniakowości, a nawet częściowo komórki te zanikają podczas tworzącego się włóknienia i lokalizują się wtedy głównie w pobliżu naczyń krwionośnych. Mogą one prawdopodobnie odgrywać jakąś rolę w angiogennej odpowiedzi na miejscową hipoksję, co jednak wymaga dalszych badań.

Telocyty macicy są obecne we wszystkich częściach ludzkiej macicy, w pobliżu naczyń krwionośnych, nerwów, między komórkami mięśni gładkich, a także w torebce mięśniaka. Różnorodność heterokomórkowych kontaktów między telocytami i otaczającymi komórkami/strukturami anatomicznymi mięśniaków macicy sugeruje ich ważną rolę w rozwoju tego procesu patologicznego. Każdemu mięśniakowi towarzyszy proces niedotlenienia, nasilona produkcja macierzy zewnątrzkomórkowej i tworzenie „torebki naczyńowej”. Miejscowe zmniejszenie liczby telocytów w mięśniakach odzwierciedla również jego wrażliwość na niedotlenienie i pośredni udział w podstawowych procesach prowadzących do zwłóknienia. Ponadto zmniejszona gęstość telocytów macicy koreluje ze zwiększoną liczbą neuronów iNOS dodatnich. Uzyskane wyniki badań wskazują na znaczącą rolę telocytów w procesach patogenetycznych prowadzących do rozwoju mięśniaków macicy.

**Słowa kluczowe:** mięśniakowość macicy; macierz pozakomórkowa; telocyty; CD34; angiogeneza; unerwienie autonomiczne.