

Статья поступила в редакцию 11.03.2017 г.

Есенева Ф.М., Шалаев О.Н., Оразмурадов А.А.,
Радзинский В.Е., Куулар А.А., Киселев В.И., Салимова Л.Я.
Российский университет дружбы народов,
Городская клиническая больница им. В.М. Буянова,
г. Москва

WNT-СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ ПРИ МИОМЕ МАТКИ

В статье представлены результаты исследования ДНК-метилирования гена WIF1, произведена попытка оценить роль WNT-ингибирующего фактора 1 (WIF1) в патогенезе миомы матки. Авторы подчеркивают перспективу изучения эпигенетических механизмов и применения эпигенетической терапии в будущем.

Цель исследования – изучить патогенетическое значение ДНК-метилирования в развитии и прогнозировании миомы матки гена WNT-ингибирующего фактора 1 (WIF1) при миоме матки по сравнению с тканью нормального миометрия.

Методы. Изучены образцы биоптатов миоматозного узла миометрия, полученные в ходе консервативной миомэктомии или экстирпации матки у 30 пациенток в возрасте от 35 до 45 лет (средний возраст 40 лет). В контрольную группу вошли образцы биоптатов нормального миометрия, взятые у тех же самых пациенток. Все образцы прошли этапы выделения ДНК, проведения «тачдаун» ПЦР-амплификации, секвенирования и статистического анализа результатов секвенирования.

Результаты. Выявлено гиперметилирование в области промотора гена фактора WIF1 в биоптатах миоматозного узла по сравнению со здоровым миометрием.

Заключение. Метилирование WIF1, приводящее к активации WNT-сигнального пути, может играть ключевую роль в патогенезе миомы матки и требует дальнейших исследований в этом направлении.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: миома матки; эпигенетика; эпигенетические механизмы; ДНК метилирование; WNT-сигнальный путь, ген WIF1.

Eseneeva F.M., Shalaev O.N., Orazmuradov A.A., Radzinsky V.E., Kuular A.A., Kiselev V.I., Salimova L.Y.
RUDN University,
V.M. Buyanov's City Clinical Hospital, Moscow

WNT-SIGNAL WAY IN MYOMAUTERY

The authors made an attempt to demonstrate the role of DNA-methylation in pathogenesis of myoma utery. The epigenetic aspects based on the personal investigations of DNA-methylation of the gene WNT-ingibitory factor1 have been reviewed. The researches underlined a perspective of investigation of epigenetic mechanisms and perspective of future application of epigenetic therapy.

Study objective. To evaluate the pathogenetic relevance of DNA-methylation of WNT-ingibitory factor1 in development and pathogenesis of myoma utery.

Methods. The study included 30 female patients aged 35-45 year with myoma utery who were candidates for conservative myomectomy or hysterectomy. The samples from the myoma nodules and satellite myometrium from the same patients have passed DNA extraction, «touchdown» PCR-amplification, sequencing and statistic analyses of results.

Study results. Hypermethylation in promotor region of gen of WIF1 have been found.

Conclusion. Investigation of hypermethylation of WIF1 that activate WNT-signal way, can play the key role in myoma initiation and requires further examination.

KEY WORDS: myoma; epigenetics; epigenetic mechanisms; DNA-methylation; WNT signaling pathway; gene WIF1.

Миома матки остается самым частым показателем к гистерэктомии во всем мире. Так, в Китае за год производится примерно 1 мил-

лион гистерэктомий, в Канаде каждая четвертая женщина после 45 лет сталкивается с гистерэктомией [1], в Великобритании — каждая пятая, в США — каж-

дая третья (> 80 % женщин до 49 лет и половина из них – до 40 лет) [2], количество гистерэктомий в России среди всех гинекологических вмешательств достигает 25-38 % [3]. При этом, миома матки служит причиной гистерэктомии в нашей стране в 50-70 % случаев от общего числа заболеваний матки. В Европе ежегодно проводится более 300 тыс. оперативных вмешательств, связанных с миомой матки [4]. К органонусящим операциям прибегают не только в случае гигантских форм миомы, но и в случае множественной локализации небольших узлов. Ежегодные затраты в США на диагностику и лечение миомы матки составляют \$35 миллиардов [1]. Soliman A.M. с соавторами посчитали расходы на пациентку с миомой матки в исследованиях в разных странах и пришли к выводу, что эти цифры достигают 25000 долларов на одну пациентку в год [5].

Несмотря на широкую распространенность, огромное медико-социальное значение, потребность в значительных экономических затратах, точные патофизиологические механизмы, способствующие развитию и росту миомы матки, полностью не ясны. Принято считать, что хромосомные aberrации и мутации в определенных генах являются первопричиной миомы матки, при этом ключевую роль в формировании и росте узла играют гормональные и цитогенетические нарушения, процессы неоплазии [6-9]. Однако клеточные механизмы, инициирующие начало роста миомы матки на этом этапе, остаются неизвестными до сих пор [10-14].

Исследования последних лет демонстрируют, что опухолевые заболевания лишь частично генетически обусловленные заболевания, также в их развитии играют роль эпигенетические процессы. Эпигенетика исследует наследственные и ненаследственные изменения в экспрессии генов без каких-либо соответствующих структурных изменений в его нуклеотидной последовательности, которые не могут быть объяснены классическими мутациями или структурными нарушениями. К одному из эпигенетических механизмов относится ДНК-метилирование. Известно, что нарушения в метилировании различных генов – характерная особенность многих онкологических заболеваний. Причем в этом случае онкогены оказываются гипометилированными, в то время как гены-супрессоры роста опухоли оказываются гиперметилированными, что приводит к их эпигенетическому «умолчанию» и подавлению экспрессии [15-17]. Также известно, что эпигенетические трансформации способны нарушать сложные процессы передачи сигнала в клетке.

Wnt-путь – один из важнейших молекулярных сигнальных путей, который регулирует эмбриональное развитие и дифференцировку клеток. Ген *wnt-1*

впервые был открыт как протоонкоген в опухоли молочной железы, данный ген активизируется после внедрения вируса MMTV в геном клетки. Позже был обнаружен ортолог *wnt-1* (*wingless*), формирующий сегментарную полярность *Drosophila melanogaster*. Белки семейства Wnt участвуют в координации поведения клеток в организме. Эти пептиды, открытые еще в начале 1980-х в качестве маркеров многих видов раковых заболеваний, оказались ключевыми регуляторами эмбрионального развития, процессов регенерации, роста костей, дифференцировки стволовых клеток и других процессов, связанных с морфогенезом и определением клеточной судьбы [18-22].

Для передачи сигнала внутрь клетки белки семейства Wnt должны связать соответствующий рецептор или группу рецепторов на поверхности клетки [23]. WNT активируется при взаимодействии лигандов с рецептором Frizzled и корецептором LRP-5, 6, что приводит к подавлению активности киназы GSK3 β (процесс подавления происходит с участием белка Dishevelled). Выключение из цепи GSK3 β приводит к тому, что β -катенин перемещается в ядро. Собственно он и является главным участником пути WNT, его функция зависит от того, с каким белком он свяжется. Первый вариант развития: β -катенин связывается с кадгеринами, в частности, с E-кадгерином: происходит образование межклеточных контактов, усиление адгезии [24]. Второй вариант: β -катенин транслицируется в ядро и, связываясь с семейством факторов транскрипции LEF/TCF (lymphocyte enhancer factor (LEF), T-cell factor), индуцирует транскрипцию позитивных регуляторов клеточного цикла *c-myc*, *WISP1*, циклин D1 [25-29]. Учитывая, что данные три регулятора вовлечены в процессы пролиферации, можно предположить, что β -катенин и сам WNT-каскад могут играть особую роль в развитии неоплазии с преобладанием пролиферативного компонента.

Эти предположения усиливаются полученными результатами исследований – при отсутствии β -катенина и его связи с факторами LEF/TCF происходит взаимодействие свободных факторов LEF/TCF с корепрессором транскрипции Groucho, что, естественно, приводит к подавлению транскрипции [30-33].

Регуляция активности Wnt-каскада происходит с участием как агонистов, так и антагонистов. Процессы регуляции происходят как внутриклеточно непосредственно в цитоплазме, так и внеклеточно в системе лиганд-рецептор. Регуляторы Wnt-пути вовлечены в самые важные функции Wnt-сигнализации (сомитогенез, органогенез, канцерогенез) [34, 35].

На данный момент известно шесть семейств антагонистов Wnt-каскада – белки Wnt inhibitory factor 1 (WIF-1), Dickkopf (Dkks), secreted Frizzled-related proteins (sFRPs), Wise/SOST, Cerberus, insulin-like growth-factorbindingprotein 4 (IGFBP-4), из агонистов изучены 4 семейства: Shisa, Wnt-activated inhibitory factor 1 (Waif1/5T4), adenomatosispolyposisolidown-regulated 1 (APCDD1) и Tiki1 [36].

WIF-1 (Wnt-inhibitoryfactor 1) был обнаружен у рыб, амфибий и млекопитающих и изначально оп-

Корреспонденцию адресовать:

ЕСЕНЕЕВА Фарида Мухарбиевна,
117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6,
ФГАОУ ВО РУДН.
Тел.: +7-905-764-90-87.
E-mail: eseneeva85@bk.ru

ределен как маркер экспрессируемой последовательности из сетчатки человека. Wif-1 экспрессируется во многих типах тканей (в мозге, сетчатке, хрящах, легком [37–40]) и представляет собой белок длиной 379 а.о. с уникальным высококонсервативным WIF-доменом, пятью EGF-подобными повторами и гидрофильным хвостом.

Известно, что при чрезмерной экспрессии WIF-1 у зародышей лягушки происходит индукция вторичной оси и нарушается сомитогенез [37]. WIF-1 связывается с лигандами XWnt8 и Wingless и подавляет связь лиганда XWnt8 с рецептором Fz2 у *Drosophila*, влияя таким образом на активность как канонической, так и неканонической ветвей Wnt-сигнального пути.

Недавно было показано, что WIF-1 связывается с лигандами Wnt обоих типов, включая Wnt3a, Wnt4, Wnt5a, Wnt7a, Wnt9a и Wnt11 и регулирует Wnt-активность в процессе развития хрящей [40].

Механизм регуляции Wnt-сигналинга белком WIF-1 остается не вполне понятным, однако наблюдаемое выключение WIF-1 в разных опухолях указывает на то, что wnt-ингибирующий фактор-1 несомненно выполняет важную роль при канцерогенезе и других важнейших биологических процессах с участием Wnt-пути [17, 41].

Дисрегуляция в системе компонентов WNT-сигнального пути приводит к различным онкологическим и дегенеративным заболеваниям. Так, например, подавление экспрессии β -катенина ингибирует образование опухоленцизирующих клеток в модели хронического миелолейкоза, острой миелоцитарной лейкемии и опухолях молочной железы [42]. Мутации других компонентов WNT-сигнального пути распространены при опухолях толстой кишки, желудка, поджелудочной железы, опухоли печени, мягких тканей, эндометрия [43, 44].

На данный момент на сайте ClinicalTrials.gov имеются ссылки на 48 клинических исследований, целью которых является изучение компонентов WNT каскада в патогенезе различных заболеваний, что демонстрирует растущий интерес к изучению клеточных сигнальных путей.

Что касается изучения связи миомы матки и компонентов WNT-пути, то таких исследований не так много. Silvia Mangioni с соавторами в своей работе

обнаружила экспрессию генов членов WNT-каскада, Wnt5b и sFRP1 (секретируемого белка Фриззлед) в секреторную фазу в клетках миомы матки по сравнению с миометрием [45], и предположила, что один из белков семейства WNT с большой долей вероятности играет ключевую роль в иницировании миомы матки.

Другая группа ученых исследовала различия в экспрессии группы генов до лечения миомы матки гозерелином и после терапии [46]. Borsari с соавторами обнаружили различия в экспрессии в 174 генах, среди них и ген, кодирующий WIF1. Вступая во взаимодействие с Wnt-лигандами, как было описано, WIF1 блокирует их взаимодействие с рецепторами и дальнейшую активацию WNT-каскада. Группа Borsari обнаружила, что под действием гозерелина экспрессия WIF1 в группе женщин с миомой матки после лечения гозерелином снижается по сравнению с группой пациенток, не получавших гозерелин [46]. Авторы понимают неожиданность своих результатов, объясняя их различными условиями проведения исследования и критериев включения в группу по сравнению с другими авторами.

Учитывая данные зарубежных исследований о роли WNT-каскада в опухолеобразовании в целом, и данные S. Mangioni о предполагаемой роли компонентов WNT-сигнального пути в патофизиологических механизмах при миоме матки, мы предположили, что WNT-ингибирующий фактор 1, как главный негативный регулятор WNT-сигнального пути, может сыграть ключевую роль в патогенезе миомы матки.

Цель настоящего исследования состояла в изучении особенностей ДНК метилирования гена WNT-ингибирующего фактора 1 (WIF1) при миоме матки по сравнению с тканью нормального миометрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Образцы ткани. Пациенты. В проспективном исследовании изучались образцы биоптатов миоматозного узла миометрия, полученные в ходе консервативной миомэктомии или экстирпация матки у 30 пациенток в возрасте от 35 до 45 лет (средний возраст 40 лет). В контрольную группу вошли образцы биоптатов нормального миометрия, взятые у тех же са-

Сведения об авторах:

ЕСЕНЕЕВА Фарида Мухарбиевна, аспирант, кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии, Медицинский институт, ФГАОУ ВО РУДН, г. Москва, Россия. E-mail:

ШАЛАЕВ Олег Николаевич, доктор мед. наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии, Медицинский институт, ФГАОУ ВО РУДН, г. Москва, Россия. E-mail: shongyn@mail.ru

ОРАЗМУРАДОВ Агамурад Акмамедович, доктор мед. наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии, Медицинский институт, ФГАОУ ВО РУДН, г. Москва, Россия. E-mail: leily_oraz@mail.ru

РАДЗИНСКИЙ Виктор Евсеевич, доктор мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, зав. кафедрой акушерства и гинекологии с курсом перинатологии, Медицинский институт, ФГАОУ ВО РУДН, г. Москва, Россия. E-mail: radzinsky@mail.ru

КИСЕЛЕВ Всеволод Иванович, доктор биол. наук, профессор, член-корреспондент РАН, зам. директора Института медико-биологических проблем, ФГАОУ ВО РУДН, г. Москва, Россия. E-mail: vkis10@mail.ru

САЛИМОВА Лейла Яшаровна, доктор мед. наук, врач акушер-гинеколог, гинекологическое отделение, ГБУЗ «ГКБ им. В.М. Буянова ДЗМ», г. Москва, Россия. E-mail: leilasal@mail.ru

КУУЛАР Аида Алексеевна, аспирант, кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии, Медицинский институт, ФГАОУ ВО РУДН, г. Москва, Россия. E-mail: kuular@mail.ru

мых пациенток. Размеры миоматозных узлов составляли от 2 см до 16 см (среднее значение 6,7 см).

Критерии включения для группы женщин с миомой: подтвержденное клинико-лабораторными данными наличие одного или нескольких миоматозных узлов, требующее оперативного вмешательства; отсутствие в анамнезе эндометриоза, предраковых заболеваний шейки матки, онкологических заболеваний, подтвержденное клинико-лабораторными данными; отсутствие в анамнезе приема гормональной терапии для лечения миомы матки.

Критерии исключения для группы женщин с миомой: сопутствующие экстрагенитальные заболевания; наличие специфических инфекций и нейроинфекций; черепно-мозговые травмы в анамнезе; нейродегенеративные заболевания, опухоли головного мозга; вредные привычки женщины (курение, злоупотребление алкоголем, наркотиками).

Эксперименты соответствовали этическим стандартам биоэтического комитета НИИ молекулярной биологии и биофизики СО РАМН, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в РФ», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все лица, участвующие в исследовании, дали письменное информированное согласие на участие в нем.

Выделение ДНК. Полученные образцы тканей были измельчены на кусочки по 2 мкг, которые затем подвергались лизису с целью выделения ДНК и переводу неметилированных остатков цитозина в тимин при сохранении неизменными метилированных остатков цитозина (бисульфитной конверсии). Для достижения данной цели был использован набор *in-pu* CONVERTBisulfiteAll-In-OneKit. Все действия выполнялись согласно протоколу.

Проведение ПЦР. 50 нг бисульфит-конвертированной ДНК отбирали для последующей «тачдаун» ПЦР-амплификации с использованием полимеразной смеси *GoTaq®HotStartGreenMasterMix* и праймеров для амплификации участков промоторов гена *WIF1* от -554 до -140 нуклеотидов до старт-кодона. Праймеры были синтезированы в компании «Евроген».

WIF1-M13F

5'-gttttcccagtcacgacGAGTGATGTTTTAGGGGTTT-3'

WIF1-M13R

5'-ggaacagctatgaccatgCCTAAATACCAAAAAACCTAC-3'.

Секвенирование проводилось в центре коллективного пользования «ГЕНОМ» на базе Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН по стандартному протоколу с использованием прямых праймеров и набора реактивов *ABI PRISM®Big-Dye™ Terminator v. 3.1*.

Статистический анализ результатов секвенирования проводили с использованием программного обеспечения *DNA Sequencing Analysis Software* версии 5.1 и ресурса *QUMA*. Уровень ДНК-метилирования оценивали качественно (наличие/отсутствие). Полученные в исследовании данные обработаны с использованием пакета статистических программ «*Statistica 8.0*» (порог статистической достоверности $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В 22 биоптатах миоматозного узла выявлено метилирование гена *WIF1*, в 8 биоптатах – отсутствие метилирования гена *WIF1* (73,33 % vs 26,67 %; $p = 0,032$). В группе контроля (здоровый миометрий) у всех пациенток выявлено отсутствие метилирования гена *WIF1* (100 %; $p = 0,0034$).

В ходе нашего исследования мы выявили гиперметилирование гена *WIF1* при миоме матки. Полученные нами результаты гиперметилирования гена *WIF1* при миоме матки схожи с данными литературы, описывающими процесс метилирования гена *WIF1* при других заболеваниях. В них прослеживаются четкие различия статуса метилирования данного гена в здоровой ткани, где данный ген не метилирован и, следовательно, функционально активен, и в опухолевой ткани, где ген *WIF1* метилирован и, как следствие, его экспрессия подавлена [47, 48].

Согласно результатам нашего исследования, в подавляющем большинстве тканевых образцов миоматозного узла отмечалось от 5 до 11 сайтов метилирования промоторной области гена *WIF1*.

Метилированный ген *WIF1* эпигенетически молчит, т.е. не экспрессируется, и, следовательно, не спо-

Information about authors:

ESENEVA Farida Mukharbievna, postgraduate student, department of obstetrics and gynecology with course of perinatology, Institute of Medicine, RUDN University, Moscow, Russia. E-mail: eseneeva85@bk.ru

SHALAEV Oleg Nikolaevich, doctor of medical sciences, professor, department of obstetrics and gynecology with course of perinatology, Institute of Medicine, RUDN University, Moscow, Russia. E-mail: shongyn@mail.ru

ORAZMURADOV Agamurad Akmamedovich, doctor of medical sciences, professor, department of obstetrics and gynecology with course of perinatology, Institute of Medicine, RUDN University, Moscow, Russia. E-mail: leily_ozaz@mail.ru

RADZINSKY Victor Evseevich, doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAS, head of the department of obstetrics and gynecology with course of perinatology, Institute of Medicine, RUDN University, Moscow, Russia. E-mail: radzinsky@mail.ru

KISELEV Vsevolod Ivanovich, doctor of biological sciences, professor, corresponding member of RAS, Deputy Director of the Institute of Biomedical Problems, RUDN University, Moscow, Russia. E-mail: vkis10@mail.ru

SALIMOVA Leyla YasharKyzy, doctor of medical sciences, gynecologist, the gynecological department, V.M. Buyanov's City Clinical Hospital, Moscow, Russia. E-mail: leilasal@mail.ru

KUULAR Aida Alekseevna, postgraduate student, department of obstetrics and gynecology with course of perinatology, Institute of Medicine, RUDN University, Moscow, Russia. E-mail: kuular@mail.ru

собен кодировать функционально активный белок WIF1 — ингибитор канонического WNT-сигнального каскада. Как уже в упоминалось ранее, WNT-сигнальный путь функционирует на важных этапах эмбриогенеза (формировании передне-задней оси эмбриона, гаструляции), WNT участвует в клеточной дифференцировке и пролиферации клеток-предшественников эпителиальных клеток и стволовых клеток крови. Нарушение баланса регулирования WNT-сигнального каскада является ключевым моментом в процессе канцерогенеза [49]. Конечным продуктом WNT-сигнального каскада является β -катенин, в результате WNT-сигнальный путь становится активным и, таким образом, предположительно, может запускаться механизм формирования миоматозной опухоли.

В настоящее время доказана ключевая роль аномально протекающего Wnt-сигнального каскада в развитии онкологических заболеваний. Нам представляется, что полученные данные можно рассматривать как еще один шаг к пониманию формирования аномальных клеточных и субклеточных механизмов патогенеза миомы матки.

Эпигенетика регулирует экспрессию генов, нарушения эпигенетических механизмов приводят к «позитивным» или «негативным» последствиям. Выявление эпигенетических закономерностей позволит выявить патогенетические аспекты инициации миомы матки, а значит, предугадать ответ организма пациента на терапию; определить возможные ранние биомаркеры данного заболевания и исследовать возможности эпигенетической терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

- Cardozo ER, Clark AD, Banks NK, Henne MB, Stegmann BJ, Segars JH. The estimated annual cost of uterine leiomyomata in the United States. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2012; 206(3): 211. e1-e9.
- Wu JM, Wechter ME, Geller EJ, Nguyen TV, Visco AG. Hysterectomy rates in the United States. *Obstet. Gynecol.* 2007; 110: 1091-1095.
- Tikhomirov AL. Rational use of modern possibilities in the treatment of uterine myoma. М., 2007. 46 p. Russian (Тихомиров А.Л. Рациональное использование современных возможностей в лечении миомы матки. М., 2007. 46 с.)
- Hu Y, Li S. Survival regulation of leukemia stem cells. *Cell Mol. Life Sci.* 2016; 73(5): 1039-1502.
- Smirnova TA, Pavshuk LI. Modern approaches to the treatment of uterine myoma in young women in order to preserve the reproductive function. *Medicinskij zhurnal.* 2007; 20(2): 105-107. Russian. (Смирнова Т.А., Павшук Л.И. Современные подходы к лечению миомы матки у молодых женщин с целью сохранения репродуктивной функции. Медицинский журнал. 2007. Т. 20, № 2. С. 105-107.)
- Bulun SE. Uterine fibroids. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369: 1344-1355.
- Mgeliashvili MV, Buyanova SN, Petrakova SA, Puchkova NV. Indications for myomectomy when planning pregnancy and its influence on the women's reproductive health. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa.* 2010; 5: 60-64. Russian. (Мгелиашвили М.В., Буянова С.Н., Петракова С.А., Пучкова Н.В. Показания к миомэктоми при планировании беременности и ее влияние на репродуктивное здоровье женщин // Российский вестник акушера-гинеколога. 2010. № 5. С. 60-64.)
- Radzinsky VE, Totchiev GF. Myoma: course on organsaving treatment. *Informational bulletin. Status Praesens.* 2014. 24 p.
- Shen Q, Hua Y, Jiang W, Zhang W, Chen M, Zhu X. Effects of mifepristone on uterine leiomyoma in premenopausal women: a meta-analysis. *Fertil. Steril.* 2013; 100(6): 1722-1726.
- Duhan N. Current and emerging treatments for uterine myoma — an update. *Int. J. Women's Health.* 2011; 3: 231-241.
- Iashvili TI, Kherodinashvili SS, Dzhorbenadze TG, Shermadini TI. Clinico-morpho-ultrasonographical characteristics of large uterine leiomyoma in females during late reproductive and premenopausal period. *Georgian. Med. News.* 2006; 139: 40-43.
- Kondratovitch LM. The modern view on etiology, pathogenesis and modes of treatment of hystero-myoma. *Rossiiskii Meditsinskiy Zhurnal.* 2014; 5: 36-40. Russian. (Кондратович Л.М. Современный взгляд на этиологию, патогенез и способы лечения миомы матки // Рос. мед. журнал. 2014. № 5. С. 36-40.)
- Sidorova IS. Uterine myoma (modern aspects of the etiology, pathogenesis, classification, and prevention). *Uterine Myoma /Ed. Sidorova IS. M.: MIA, 2003: 5-66.*
- Soliman NF, Hillard TC. Hormone replacement therapy in women with past history of endometriosis. *Climacteric.* 2006; 9: 325-335.
- Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell.* 2006; 127(3): 469-480.
- Levanon D, Goldstein RE, Bernstein Y, Tang H, Goldenberg D, Stifani S, Paroush Z, Groner Y. Transcriptional repression by AML1 and LEF-1 is mediated by the TLE/Groucho co-repressors. *PNAS.* 1998; 95: 11590-11595.
- Kazanets A et al. Epigenetic silencing of tumor suppressor genes: Paradigms, puzzles, and potential. *Biochim. Biophys. Acta — Rev. Cancer. The Authors.* 2016; 1865(2): 275-288.
- Connolly R, Stearns V. Epigenetics as a therapeutic target in breast cancer. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* 2012; 17(3-4): 191-204.
- Chien AJ, Conrad WH, Moon RT. A Wnt Survival Guide: From Flies to Human Disease. *J. of Investig. Dermatol.* 2009; 129(7): 1614-1627.
- Elston MS, Clifton-Bligh RJ. Identification of Wnt family inhibitors: A pituitary tumor directed whole genome approach. *Mol. and Cell. Endocrinol.* 2010; 326(1-2): 48-54.
- Holliday R. Mechanisms for the control of gene activity during development. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 1990; 65(4): 431-471.
- Xie J et al. Norcantharidin inhibits Wnt signal pathway via promoter demethylation of WIF-1 in human non-small cell lung cancer. *Med. Oncol.* 2015; 32(5): 145.
- Weeraratna AT. A Wnt-er wonderland — the complexity of Wnt signaling in melanoma. *Cancer Metastasis Rev.* 2005; 24(2): 237-250.
- Choy M-K et al. Genome-wide conserved consensus transcription factor binding motifs are hyper-methylated. *BMC Genomics.* 2010; 11: 519.
- Gross KL, Morton CC. Genetics and the development of fibroids. *Clin. Obstet. and Gynecol.* 2001; 44: 335-349.
- He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa L, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science.* 1998; 281: 1509-1512.
- Moumen M, Chiche A, Decraene C et al. Myc is required for β -catenin-mediated mammary stem cell amplification and tumorigenesis. *Mol. Cancer.* 2013; 12(1): 132.
- Tamai K et al. LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. *Nature.* 2000; 407(6803): 530-535.
- Tetsu O, McCormick F. β -Catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature.* 1999; 398: 422-426.
- Bienz M. β -Catenin: a pivot between cell adhesion and Wnt signalling. *Curr. Biol.* 2005; 15: 64-67.
- Islam S, Protic O, Stortoni P et al. Complex networks of multiple factors in the pathogenesis of uterine leiomyoma. *Fertil. Steril.* 2013; 100(1): 178-193.
- Kansara M, Tsang M, Kodjabachian L, Sims NA, Trivett MK, Ehrlich M, Dobrovic A, Slavina J, Choong PFM, Simmons PJ, Dawid IB, Thomas D. Wnt inhibitory factor 1 is epigenetically silenced in human osteosarcoma, and targeted disruption accelerates osteosarcomagenesis in mice. *J. of Clin. Invest.* 2009; 119(4): 837-851.
- Roose J, Molenaar M, Peterson J, Hurenkamp J, Brantjes H, Moerer P, van de Wetering M, Destree O, Clevers H. The Xenopus Wnt effector XTcf-3 interacts with Groucho-related transcriptional repressors. *Nature.* 1998; 395: 608-612.
- Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes. Develop.* 2000; 14: 1837-1851.

35. Wright J, Herzog T, Tsui J et al. Nationwide trends in the performance of inpatient hysterectomy in the United States. *Obstet. Gynecol.* 2013; 122: 233-241.
36. Chuykin IA, Lianguzova MS, Pospelov VA. Signaling pathways regulating proliferation of murine embryonic stem cells. *Tsitologiya.* 2007; 49(5): 370-384. Russian. (Чуйкин И.А., Лянгузова М.С., Поспелов В.А. Сигнальные пути, определяющие пролиферативную активность эмбриональных стволовых клеток мыши // Цитология. 2007. Т. 49, № 5. С. 370-384.)
37. Hsieh JC, Rattner A, Smallwood PM, Nathans J. Biochemical characterization of Wnt-frizzled interactions using a soluble, biologically active vertebrate Wnt protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999; 96(7): 3546-3551.
38. Hu Y-A, Gu X, Liu J, Yang Y, Yan Y, Zhao C. Expression pattern of Wnt inhibitor factor 1(Wif1) during the development in mouse CNS. *Gene Expression Patterns.* 2008; 8(7-8): 515-552.
39. Hunter DD, Zhang M, Ferguson JW, Koch M, Brunken W. The extracellular matrix component WIF-1 is expressed during, and can modulate, retinal development. *Mol. and Cell. Neurosci.* 2004; 27(4): 477-488.
40. Surmann-Schmitt C, Widmann N, Dietz U, Saeger B, Eitzinger N, Nakamura Y, Rattel M, Latham R, Hartmann C, von der Mark H, Schett G, von der Mark K, Stock M. Wif-1 is expressed at cartilage-mesenchyme interfaces and impedes Wnt3a-mediated inhibition of chondrogenesis. *J. of Cell Science.* 2009; 122(20): 3627-3637.
41. Hecht A, Vlemminckx K, Stemmler MP, Van Roy F, Kemler R. The p3000/CBP acetyltransferases function as transcriptional coactivators of b-catenin in vertebrates. *EMBO J.* 2000; 19: 1839-1850.
42. Ehrlich M et al. Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues of cells. *Nucleic Acids Res.* 1982; 10(8): 2709-2721.
43. Bajekat N, Li T. Fibroids, infertility and pregnancy wastage. *Hum. Reprod. Update.* 2000.; 6(6): 614-620.
44. Khalil H et al. Aging is associated with hypermethylation of autophagy genes in macrophages. *Epigenetics.* 2016; 11(5): 381-388.
45. Mangioni S, Vigan P, Lattuada D, Abbiati A, Vignali M, Di Blasio AM. Over expression of the Wnt5b gene in leiomyoma cells: implications for a role of the Wnt signaling pathway in the uterine benign tumor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90: 5349-5355.
46. Borsari R, Bozzini N, Junqueira CR, Soares JM Jr, Hilbrío SG, Baracat EC. Genic expression of the uterine leiomyoma in reproductive-aged women after treatment with goserelin. *Fertil Steril.* 2010 Aug; 94(3): 1072-1077. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.03.112.
47. Anastas JN, Moon RT. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2013; 13(1): 11-26.
48. Yingzi Yang. Wnt signaling in development and disease. *Cell & Bioscience.* 2012; 2: 14.
49. Alvarez C et al. Silencing of tumor suppressor genes RASSF1A, SLIT2, and WIF1 by promoter hypermethylation in hereditary breast cancer. *Mol. Carcinog.* 2013; 52(6): 475-487.

* * *