

Uniwersytet Jagielloński - Collegium Medicum

w Krakowie

Jerzy Walocha

Unaczynienie mięśniaków macicy

Praca doktorska

Promotor: prof. dr hab. med. Adam J. Miodoński

Bibl. Medyczna CM UJ



1816019265

Katedra i Zakład Anatomii

Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego

w Krakowie

Kierownik: prof. dr hab. med. Andrzej Skawina

Kraków 2001

Promotorowi, Panu prof. dr. hab. Adamowi J. Miodońskiemu, składam serdeczne podziękowania za życzliwość i ogromną pomoc okazawaną podczas przygotowywania niniejszej pracy oraz za umożliwienie przeprowadzenia badań w Pracowni Mikroskopii Skaningowej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Bardzo dziękuję Panu prof. dr. hab. Jerzemu Stachurze za umożliwienie przygotowania części histopatologicznej niniejszej pracy.

Serdecznie dziękuję Panu dr. Janowi Kołodziejowi za okazaną pomoc w gromadzeniu materiału do niniejszej pracy.

Bardzo dziękuję Panu dr. Januszowi Gorczycy za pomoc okazaną w czasie przeprowadzanych badań.

Bardzo dziękuję Panu dr. Wojciechowi Szczepańskiemu za pomoc w przygotowaniu opracowania części histopatologicznej niniejszej pracy.

Bardzo dziękuję Panu Jacentemu Urbaniakowi za fachową i pełną zaangażowania pomoc w wykonaniu szaty graficznej niniejszej pracy.

Mojej żonie Ewie i moim Rodzicom poświęcam

Spis treści

	Str.
1. Wprowadzenie	1
1.1. Dotychczasowe poglądy na temat unaczynienia narządu rodnego żeńskiego oraz mięśniaków macicy	2
2. Cel pracy	15
3. Materiał i metody badań własnych	16
3.1. Materiał	16
3.2. Przygotowanie materiału	16
3.2.1. Przygotowanie materiału do badań w mikroskopie optycznym stereoskopo- wym	16
3.2.2. Przygotowanie materiału do badań w SEM	23
4. Wyniki badań własnych	29
4.1. Obserwacje w mikroskopie optycznym stereoskopowym	29
4.2. Obserwacje w mikroskopie skaningowym (SEM)	34
4.3. Obserwacje w preparatach histopatologicznych	47
5. Dyskusja	50
6. Wnioski	59
7. Streszczenie	60
8. Piśmiennictwo	64

Spis rycin

	Str.
Rycina 1	7
Rycina 2	8
Rycina 3	9
Rycina 4	10
Rycina 5	11
Rycina 6	12
Rycina 7	13
Rycina 8	16
Rycina 9	17
Rycina 10	19
Rycina 11	20
Rycina 12	20
Rycina 13	21
Rycina 14	22
Rycina 15	22
Rycina 16	24
Rycina 17	24
Rycina 18	25
Rycina 19	25
Rycina 20	26
Rycina 21A	27
Rycina 21B	28
Rycina 22	28
Rycina 23	30
Rycina 24	31
Rycina 25	32
Rycina 26	33
Rycina 27	33
Rycina 28	35
Rycina 29A	35
Rycina 29B	36
Rycina 30A	36

Spis rycin - c. d.

	Str.
Rycina 30B	37
Rycina 31A	37
Rycina 31B	38
Rycina 32	38
Rycina 33	38
Rycina 34A	39
Rycina 34B	39
Rycina 35	40
Rycina 36	40
Rycina 37	41
Rycina 38	42
Rycina 39A	43
Rycina 39B	43
Rycina 39C	44
Rycina 40A	44
Rycina 40B	45
Rycina 40C	45
Rycina 40D	46
Rycina 41	47
Rycina 42	48
Rycina 43	48
Rycina 44	49
Rycina 45	49

1. WPROWADZENIE

Badania naczyń krwionośnych narządu rodnego żeńskiego wewnętrznego prowadzono za pomocą metod iniekcyjnych przy użyciu różnych mas wypełniających. Badacze z przełomu XIX i XX wieku stosowali proste pod względem chemicznym i recepturowym substancje wypełniające, na przykład pokost lniany zabarwiony karminem, czy kit barowy, które mimo to pozwalały im uzyskiwać zadziwiająco dobre rezultaty (Cole F. J., 1921). Warto zaznaczyć, że za pioniera technik iniekcyjnych w anatomii naukowej uważa się Jacobusa Sylviusa (właśc. Jaques Dubois; 1478-1555). W Polsce prekursorem i popularyzatorem oraz wynalazcą nowych technik iniekcyjnych a także substancji używanych do nastrzykiwań był długoletni kierownik Katedry Anatomii C.M.U.J. prof. Ludwik Karol Teichmann. Jego tradycje są w Katedrze nadal kontynuowane (Kuś J., 1969; Miodoński A. J., Kuś J., 1978).

W XX wieku do nastrzykiwania naczyń krwionośnych używano tuszu z dodatkiem podłoża - lepiszcza - np. żelatyny lub surowicy zwierzęcej, błękitu berlińskiego, Latexu, Microfilu, a także środków kontrastujących Micropaque lub Chloropaque. Jednakże stosowanie wyżej wymienionych mas iniekcyjnych, które obecnie można uważać za klasyczne, jest ograniczone, ponieważ nie zawsze pozwalają odróżnić naczynia tętnicze od żylnych. Masy te z uwagi na wielkość ich cząsteczek, a także znaczną lepkość, nie wypełniają w wystarczającym stopniu obszaru mikrokrażenia. Ponadto wymagają zastosowania co najmniej dwóch różnych barwników aby uwidocznić łożysko tętnicze i żylnie, niezależnie od siebie.

Wypełnianie łożyska żylnego napotyka na ogół na znaczne trudności, które są spowodowane obecnością w świetle naczyń żylnych zastawek. Także w przypadku żeńskiego układu rozrodczego ta okoliczność ma miejsce (Czerkwiński J., 1980; Aleksandrowicz R., Czerkwiński J., 1981), choć wcześniejsze doniesienia sugerują raczej brak zastawek w żyłach macicy (Sampson J. A., 1913; Farrer-Brown G. i wsp., 1970).

Wprowadzenie w drugiej połowie XX wieku nowych mas iniekcyjnych, jakimi są syntetyczne żywice o niskiej lepkości i małych rozmiarach cząsteczek, na przykład Mercox, czy masa Batsona, pozwoliło wypełnić praktycznie wszystkie naczynia krwionośne i uzyskać po ich zestaleniu się preparaty mikrokorozyjne, które są odlewami (replikami) systemu naczyniowego badanego narządu lub tkanki, łącznie z siecią włóśniczek.

Jednak prawdziwym przełomem w metodologii angiologicznej było zastosowanie w 1970 r. do badania mikrodolewów naczyniowych skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) (Nowell J. A. i wsp., 1970; Murakami T., 1971; Lametschwandtner A., i wsp., 1976; Miodoński A. J., i wsp. 1976, 1981; Hodde K. C., Nowell J. A., 1980; Lametschwandtner A. i wsp., 1980; Burger P. C. i wsp., 1984; Lametschwandtner A., Lametschwandtner U. i wsp. 1984,

1990; Aharinejad S. H., Lametschwandtner A., 1992). Dzięki dużej zdolności rozdzielczej i znacznej głębi ostrości, jaką dysponuje ten mikroskop, otwarły się nowe możliwości badania łożyska naczyniowego, szczególnie na poziomie mikrokrażenia. Dalszy postęp umożliwiło przedstawienie kryteriów morfologicznych (Miodoński A. J. i wsp., 1976), które pozwoliły na rozróżnienie rodzaju naczynia krwionośnego w oparciu o obraz wycisków pozostawionych przez komórki śródbłónka oraz ich jądra na powierzchniach odlewów naczyniowych. Dzięki metodzie replikacji łożyska naczyniowego analizowanego w SEM uzyskano w badaniach nad angioarchitektoniką różnych narządów lub tkanek szereg nowych informacji. Zastosowanie tej techniki pozwoliło na bardziej szczegółową analizę systemu naczyniowego układu rodno-żeńskiego, choć nieliczne jak dotąd badania prowadzono głównie na materiale zwierzęcym.

W dostępnej literaturze nie napotkano publikacji dotyczących badań ukrwienia mięśniaków macicy wykonanych techniką analizy mikroodlewów łożyska naczyniowego w mikroskopie elektronowym skaningowym. Powyższe względy, jak również ograniczenia wynikające ze stosowania metod tradycyjnych, skłoniły mnie do podjęcia badań. Niniejsza praca jest także próbą uporządkowania mianownictwa używanego w stosunku do naczyń zaopatrujących narząd rodny żeński wewnętrzny, w tym także na poziomie drobnych tętnic i żył oraz mikrokrażenia.

1.1. Dotychczasowe poglądy na temat unaczynienia narządów rodnych żeńskich wewnętrznych oraz mięśniaków macicy

Mięśniaki macicy są najczęstszymi nowotworami łagodnymi wywodzącymi się z narządu rodno-żeńskiego wewnętrznego, zbudowanymi z mięśni gładkich (*leiomyoma*) i częściowo z mniej lub bardziej rozwiniętej tkanki łącznej [stąd ich dawna nazwa – włókniaki (*fibroma*)]. Mięśniaki trzonu macicy stanowią około 95% wszystkich łagodnych guzów narządów płciowych kobiety, zatem są najczęstszymi nowotworami narządu rodno-żeńskiego wewnętrznego w okresie premenopauzalnym (Cramer S., Patel B., 1990). Mniej więcej 80% wszystkich mięśniaków stwierdza się między 35 a 55 rokiem życia. Kobiety z mięśniakami wymagającymi leczenia operacyjnego stanowią 10% ogółu pacjentek ginekologicznych. U 20 – 30% kobiet po 30. roku życia, tzn. u co 4-5 kobiety, stwierdza się mięśniaki macicy, o ile uwzględnimy także małe guzy (Vollenhoven B. J. i wsp., 1990), przy czym wg niektórych statystyk ich częstość może sięgać nawet 77% populacji (Cramer S., Patel B., 1990). Większość pacjentek cierpi z powodu mnogich guzów, spośród których każdy wydaje się być „klonem” powstającym niezależnie od innych z pojedynczej komórki mięśnia gładkiego (But-

tram V. C. i Reiter R. C., 1981). Dla zobrazowania problemu należy zacytować słowa J. A. Sampsona, który w swojej pracy z 1913 roku (Sampson J. A., 1913) wspomina o mięśniakach zaobserwowanych w 47% przypadków operacji ginekologicznych podejmowanych z innych wskazań niż mięśniaki macicy. Z powodu powszechności ich występowania są wiodącą przyczyną histerektomii przeprowadzanych w Stanach Zjednoczonych i stanowią poważny problem zdrowotny kobiet w tym kraju (Cramer D., 1992).

Między innymi także i z tego względu unaczynienie narządu rodnej kobiety budziło zainteresowanie licznych autorów badających ukrwienie nie tylko macicy, ale także samych mięśniaków „per se” oraz ich wpływu na przepływ krwi w tym narządzie.

Chociaż przyczyny powstawania mięśniaków nie są jeszcze precyzyjnie określone, istnieje niewątpliwy związek pomiędzy samym wzrostem guza (w tym prawdopodobnie także rozwojem jego sieci naczyniowej) a steroidami jajnikowymi (Rein M. S. i Nowak R. A., 1992; Burroughs K. D. i wsp., 1997; Matsuo H. i wsp., 1997; Burroughs K. D. i wsp., 2000; Hyder S. i wsp., 2000; Maruo T. i wsp., 2000). Choroba ta dotyczy przede wszystkim kobiet w okresie płodności, natomiast prawie nie występuje w okresie okołomenopauzalnym. Co więcej, obserwuje się nierzadko dość znaczny rozwój masy guzowej w czasie ciąży, lecz także często zmniejszenie masy mięśniaków po porodzie (Muran D. i wsp., 1980; Winer-Muram H. T. i wsp., 1983; Rein M. S. i Nowak R. A., 1992).

Wykazano także skuteczność leczenia mięśniaków macicy analogami GnRH, które obniżają stężenie jajnikowych hormonów steroidowych, prowadząc do redukcji rozmiarów mięśniaków, podczas gdy zaprzestanie leczenia wyżej wymienionymi analogami prowadziło do ponownego wzrostu objętości tych guzów (West C. P. i wsp., 1987; Verkauf B., 1993), co stanowiło także pośredni dowód o kluczowej roli hormonów jajnikowych w rozwoju mięśniaków w macicy.

W dotychczasowych doniesieniach podkreśla się także rolę kilku czynników angiogennych podległych wpływom steroidów jajnikowych (EGF, IGF-I, PDGF, VEGF i FGF), sugerując ich związek z rozwojem mięśniaków macicy i wytworzeniem sieci naczyń krwionośnych w tych guzach (Huet-Hudson Y. M. i wsp., 1987; Murphy L. J. i Ghahary A., 1990; Nelson K. G. i wsp., 1992; Maruo T. i wsp., 2000; Hyder S. M. i wsp., 2000; Barbarisi A. i wsp., 2001). Szczególnie interesującą wydaje się być rola VEGF-A (czynnika wzrostowego śródbłonna naczyń), cytokiny, która pierwotnie została zidentyfikowana jako białko produkowane przez komórki nowotworowe, zwiększające przepuszczalność naczyń włosowatych dla protein (Dvorak H. F. i wsp., 1995), a następnie ponownie opisana jako mitogen dla komórek endotelium i czynnik stymulujący angiogenezę (Klagsbrun M., D'Amore P. A., 1996;

Ferrara N. i Davis-Smyth T., 1997; Ferrara N., 1999). Chociaż poznano wiele czynników regulujących angiogenezę, VEGF-A (określany w literaturze także jako waskulotropina) pozostaje najbardziej selektywnym czynnikiem angiogennym odkrytym do tej pory i to właśnie on wydaje się regulować procesy powstawania nowych naczyń w tkankach prawidłowych i nowotworowych. Do chwili obecnej zidentyfikowano dwa receptory kinazy tyrozynowej (Terman B. I., Dougher Vermazen M., 1996) wiążące VEGF-A: VEGF-receptor 1 (VEGFR-1 lub FLT1) (De Vries C. i wsp., 1992; Park J. E. i wsp., 1994) oraz VEGF-receptor 2 (VEGFR-2 lub FLK1) (Quinn T. P. i wsp., 1993). Ekspresja VEGF-A zachodzi zarówno w komórkach nabłonkowych jak i mezenchymalnych różnorodnych tkanek ustroju, a także w guzach nowotworowych (Ferrara N., 1999; Ferrer F. A. i wsp., 1997; Goldberg I. D. i Rosen E. M., 1997; Neufeld G. i wsp., 1999, Stacker S. A. i Achen M. G., 1999). VEGF-A stymuluje proliferację komórek śródbłonka naczyń (Dvorak H. F. i wsp., 1995; Ferrara N. i Davis-Smyth T., 1997), a także działa jako czynnik pozwalający na przetrwanie nowo wytworzonych sieci naczyń (Alon T. i wsp., 1995). Może on także stymulować migrację komórek endotelium poprzez wpływ na ruchomość, proteolizę, przyleganie i łączenie się komórek, a także przepuszczalność ścian naczyń krwionośnych. Podwyższa także stopień uwalniania metaloproteinazy macierzy (MMPs) i aktywatorów plazminogenu (PAs) (Mignatti P. i Rifkin D. B., 1996). Aktywna proteolitycznie metaloproteinaza macierzy MMP2 wiąże $\alpha_v\beta_3$ integrinę, łącząc w ten sposób przyleganie macierzy z regulacją aktywności proteiny (Brooks P. C. i wsp., 1996). Ludzki gen kodujący VEGF zawiera osiem egzonów i siedem intronów (Ferrara N., 1999), a różne łączenie egzonów pozwala na powstanie czterech podstawowych form czynnika wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF-A), zawierających odpowiednio 121, 165, 189 lub 206 aminokwasów (Neufeld G. i wsp., 1996; Halder J. B. i wsp., 2000). Spośród wyżej wymienionych najczęściej dochodzi do ekspresji VEGF-A₁₂₁ i VEGF-A₁₆₅. Główną różnicą między formami VEGF-A jest ich zdolność do wiązania heparyny. VEGF-A₁₂₁ łatwo się rozpuszcza, ale pozostałe formy zawierają obszary wiążące heparynę, które mogą pośredniczyć w wytwarzaniu połączeń z powierzchniami komórek i macierzy międzykomórkowej, a przez to stanowić potencjalny rezerwuuar uwalniany miejscowo przez heparynazy lub plazminy (Ferrara N., Davis-Smyth T., 1997). Takie, a nie inne zachowanie niektórych form VEGF-A jest niezwykle istotne, ponieważ mięśniaki macicy są zbudowane z dużych ilości włókien kolagenowych oraz macierzy międzykomórkowej i w związku z tym mogą służyć jako „zbiorniki” VEGF-A lub innych czynników wzrostowych wiążących heparynę (Wolańska M. i wsp., 2001).

Trudno dzisiaj ustalić z pewnością, kto pierwszy sporządził opis anatomiczny macicy ludzkiej. Wiemy jedynie, że Giulio Cesare Arnazi (1530-1589) opisał po raz pierwszy macicę w czasie ciąży, natomiast Hieronymus Fabricius Aquapendente (1537-1619) opublikował miedzioryty z ilustracjami ciężarnej macicy i łożyska. Jedną z pierwszych notatek na temat istnienia w ciężarnej macicy tętnic o spiralnym przebiegu sporządził w 1774 roku William Hunter w dziele pt. „Anatomia uteri humani gravidi tabulis illustrata”. Wydaje się, że przez następne 85 lat nie publikowano nic na temat naczyń w narządzie rodym żeńskim wewnętrznym, dopóki w 1859 roku Farre nie podał szczegółowego opisu sieci naczyniowej endometrium w dziele „The cyclopedia of anatomy and physiology”. Twierdził między innymi, że naczynia tętnicze macicy mają korkociagowaty przebieg w zewnętrznej połowie myometrium, po czym stają się proste i biegną równolegle do siebie. Nie wspominał o istnieniu tętnic spiralnych w śluzówce narządu, ale podkreślał, że obecne w niej kapilary wykazują szczególny układ, tj. układają się wokół gruczołów. W 1863 roku Luschka w swoim podręczniku anatomii twierdził, że gruczoły znajdujące się w błonie śluzowej macicy są pooddzielane bardzo nieregularną siecią kapilar, która przedłuża się w żyłki znacznie szersze niż w innych narządach. W 1874 Leopold stosując do nastrzykiwania macicy klej karminowy, opisał tętnice o mniej lub bardziej krętym przebiegu, które penetrując błonę śluzową od strony myometrium, oddają liczne gałązki w obrębie śluzówki. Tętnice te miały otaczać gruczoły błony śluzowej macicy, a biegnąc dalej ku powierzchni endometrium, tworzyć sieć naczyń włosowatych, z której odchodzą żyłki. Żyłki miały przebiegać w pobliżu tętnic. W 1899 Clark stosując iniekcję naczyń macicznych 10% roztworem żelatyny z dodatkiem czerwieni karminowej opisał przebieg naczyń w warstwie zewnętrznej myometrium. Wreszcie w 1904 Freund zaprezentował zdjęcia kilku nastrzykniętych macic, w których uwidocznione zostały tętniczki spiralne penetrujące endometrium. Między innymi potwierdził on obserwacje Farre, który twierdził, że tętnice w śluzówce są zgrupowane głównie wokół gruczołów.

Znane są także, klasyczne już dzisiaj prace na temat unaczynienia narządu rodym żeńskiego wewnętrznego publikowane zarówno pod koniec XIX, jak i do połowy XX wieku. (Tafari A., 1886; Fredet P., 1899; Essen-Möller E., 1901; Sampson J. A., 1913, 1914; Ahlström E., 1917; Bardon G., 1921; Bartelmez G. W., 1931; Fagin J. i Reynolds S. R. M., 1936; Holmgren B., 1938; Faulkner R. L., 1944, 1945; Dalgaard J. B., 1946; Schlegel J. U., 1946). Używane przez wymienionych autorów masy wypełniające łożysko naczyniowe, jak to już zaznaczono wcześniej, mają dzisiaj w większości wypadków znaczenie historyczne. Np. Sampson badał wpływ mięśniaków i ciąży pozamacicznej na unaczynienie macicy używając 15% roztworu żelatyny zmieszanej z barwnikiem nie przepuszczalnym dla promieni rentge-

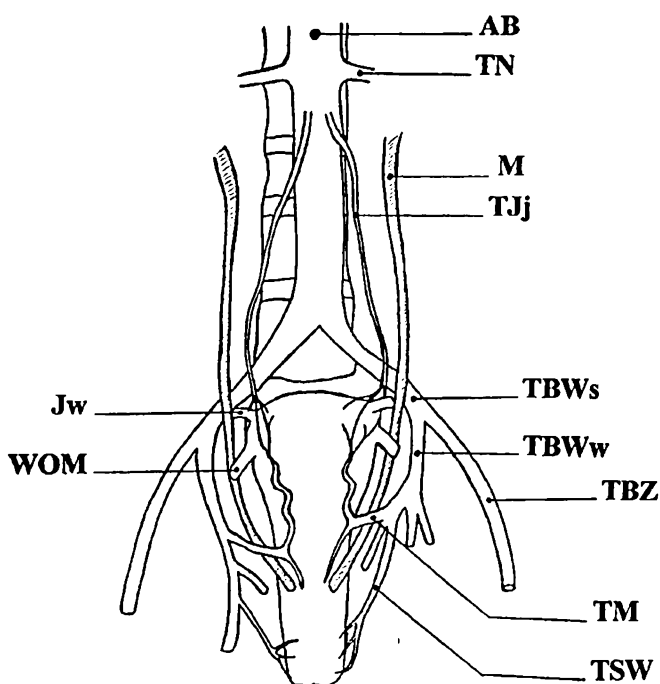
nowskich; Holmgren do badania macic prawidłowych i mięśniakowatych stosował mieszaninę żelatyny i siarczanu baru; wreszcie Faulkner nastrzykiwał preparaty lateksem (preparat Neoprene) i po ich uprzednim prześwietleniu, badał je w mikroskopie optycznym, względnie wykonywał preparaty korozyjne.

W okresie współczesnym zagadnienie unaczynienia narządu rodno-żeńskiego wewnętrznego i mięśniaków także było przedmiotem wielu doniesień i publikacji (Faulkner R. L., 1951; Nieminen U., 1962; Harris J. W. S., Ramsey E. M., 1966; Farrer-Brown i wsp., 1970a, 1970b; 1971; Greiss F., Anderson S., 1970; Finn C. A., Porter D. G., 1975; Lindenbaum E. i wsp., 1978; Czerkwiński J., 1980; Aleksandrowicz R., Czerkwiński J., 1981; Awataguchi K., 1982; Bendz A. i wsp., 1982; Winer-Muram H. T. i wsp., 1983; Hickey M. i Fraser I. S., 2000). Zastosowane metody na ogół potwierdzały wyniki uzyskane przez badaczy z pierwszej połowy XX wieku, niemniej jednak zmienił się zasadniczo badany materiał. Mianowicie, od kilkunastu lat gros materiału badawczego stanowi materiał zwierzęcy, maleje natomiast częstość wykorzystania materiału ludzkiego, co jest zrozumiałe ze względów kliniczno-histopatologicznych, zgodnie z zasadą, że cały materiał operacyjny musi być przebadany przez histopatologa.

Badania dotyczące unaczynienia macicy u zwierząt prowadzili: Smith J. i wsp., 1968; Janson P. O. i Svendsen P., 1975; Verco C. J. i wsp., 1982, 1983, 1984 - na królikach; Knisley M. H., 1934; Tachi S. i Tachi C., 1979 - na myszach; Hartman C. G., 1923 - na oposach; Anderson B. G., Anderson W. D., 1978 - na psach, koniach i krowach; Williams M. F., 1948; Young A., 1951; 1956; Kardon R. H. i wsp., 1972; Lundkvist Ö., Ljungkvist I., 1977; Tachi S. i Tachi C., 1979; Lundkvist Ö. i wsp., 1979; Rogers P. A. i wsp., 1981, 1982, 1983; Abrahamsohn P. i wsp., 1983; Takemori K. i wsp., 1982, 1984, 1985; Cornilie F. J., Lauweryns J. M., 1986; Parr M. B. i wsp., 1986; Christofferson R. H., Nilsson B. O., 1988 - na szczurach; Corner G. W., 1921; Lange H., 1959; MacDonald A. A., 1975 - na świnich; Markee J. E., 1929; Markee J. E., 1932; Bacsich P., Wyburn G. M., 1940 - na świnkach morskich; Daron G. H., 1936, 1937; Okkels H. i Engle E. T., 1938; Markee J. E., 1940, 1946; Kaiser I. H., 1947; Ramsey E. M., 1949; Bartelmez G. W. i wsp., 1947, 1951, 1956, 1957; Psychoyos A., 1960; Ginther O. J. i wsp., 1973; Ginther O. J., 1976; Kaiserman-Abramof I. R., Padykula H. A., 1989 - na małpach; Boye H., 1956 na świnich i dzikach; del Campo C. H., Ginther O. J., 1972 - na szczurach, świnkach morskich, chomikach i królikach; Lee C. S., O'Shea J. D., 1974 - na owcach; Orsini M. W., 1957; Spanel-Borowski K. i wsp., 1987; Spanel-Borowski K., 1999 - na chomikach. Pojawiły się także prace dotyczące angiogenezy na obszarze narządu rodno-żeńskiego wewnętrznego (Hudlicka O, Tyler K. R., 1986; Christofferson R. H.,

1988; Reynolds L. P. i wsp., 1992; Iruela-Arispe M. L. i wsp. 1999; Langer N. i wsp., 1999; Spanel-Borowski K., 1999; Osteen K. G. i wsp., 1999). Wreszcie w 1995 roku Everitt i wsp. (Everitt J. I. i wsp., 1995) opracowali model zwierzęcy – szczury rasy Eker - pozwalający prześledzić stadia rozwoju mięśniaków macicy. U heterozygotycznych samic tych gryzoni występuje spontaniczny rozwój mięśniaków (wrażliwych na hormony jajnikowe, podobnie jak u ludzi) wywołany mutacją genu supresorowego stwardnienia guzkowego (Tsc-2).

Głównym źródłem unaczynienia macicy jest parzysta tętnica maciczna (Ryc. 1), będąca trzewną gałęzią odchodzącą najczęściej samodzielnie od przedniego pnia tętnicy biodrowej wewnętrznej (Roberts W. H. i Krishinger G. L., 1967), rzadziej wspólnie z jedną z gałęzi trzewnych tego pnia lub wyjątkowo od niezarośniętego odcinka tętnicy pępkowej (Łasiński W., 1991).



Ryc. 1. Naczynia tętnicze narządów płciowych żeńskich wewnętrznych (widok od przodu).

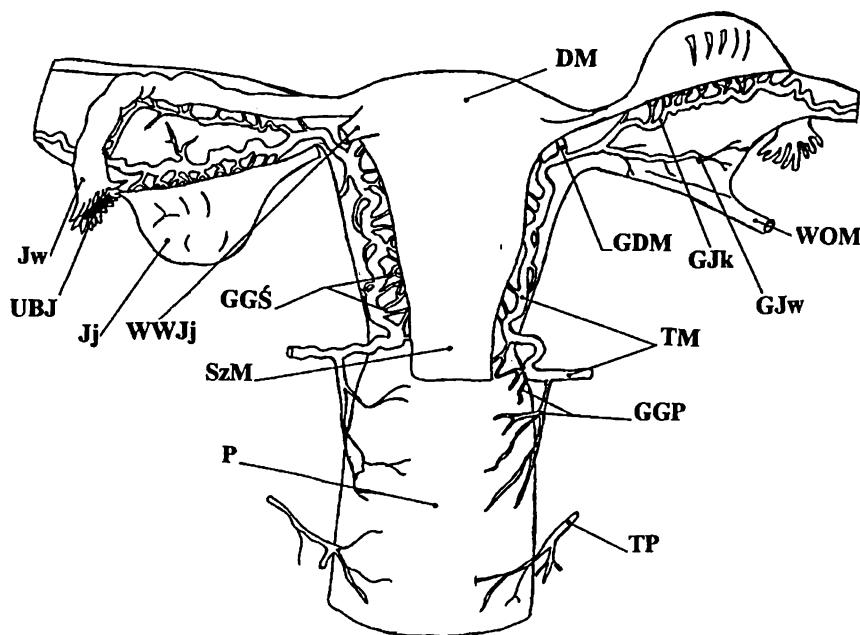
AB – aorta brzuszna; TN – tętnica nerkowa; M – moczowód; TJj – tętnica jajnikowa;
TBWs – tętnica biodrowa wspólna; TBWw – tętnica biodrowa wewnętrzna;
TBZ – tętnica biodrowa zewnętrzna; TM – tętnica maciczna; TSW – tętnica sromowa wewnętrzna;
Jw – jajowód; WOM – więzadło obłe macicy; M – moczowód.

W jej przebiegu da się wyróżnić trzy odcinki: a). zstępujący, b). poprzeczny i c). wstępujący.

Odcinek zstępujący tętnicy macicznej biegnie od punktu jej odejścia od tętnicy biodrowej wewnętrznej po powięzi zasłonowej, sięgając aż do podstawy więzadła szerokiego macicy. Następnie łagodnym łukiem, wypukłością skierowaną ku dołowi, przechodzi w odcinek poprzeczny.

W odcinku o przebiegu poprzecznym tętnica maciczna biegnie przyśrodkowo wzdłuż podstawy więzadła szerokiego macicy, krzyżując moczowód w odległości około 2 cm od szyjki macicy i 1-2 cm do boku od sklepienia bocznego pochwy. Pętla moczowodu przebiega ku tyłowi i ku dołowi (doogonowo) od tętnicy macicznej (Lippert H., 1998).

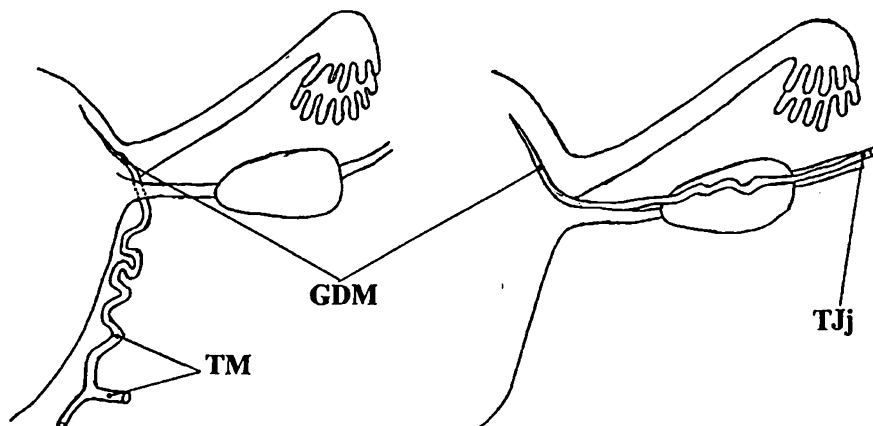
Część wstępująca biegnie w formie węzowatych splotów wzdłuż brzegu bocznego macicy w odległości około 0,5 cm od brzegu bocznego narządu, pomiędzy dwiema blaszkami fałdu szerokiego (*plica lata*). Docierając do wysokości przyczepu więzadła właściwego jajnika (*ligamentum ovarii proprium*) dzieli się na gałęzie do jajnika i jajowodu (czasem 3-4), które zespalać się ze sobą tworzą arkady podobne do tych, które występują w krezce jelita. Następnie wymienione gałęzie zespalać się z jednoimiennymi gałęziami tętnicy jajnikowej po tej samej stronie. W niektórych opracowaniach uważa się, że nazwa „tętnica jajnikowa” jest nieadekwatna, ze względu na częściowe zaopatrywanie jajnika przez tętnicę maciczną, podczas gdy sama wymieniona tętnica, tj. tętnica jajnikowa, oprócz macicy zaopatruje także 2/3 przyśrodkowe jajowodu oraz fragmentarycznie jajnik. Stąd też tętnicy jajnikowej próbowano nadać miano *arteria spermatica* (Holmgren B., 1937). Dodatkowe trudności sprawia fakt, że nie jest łatwo określić strefę rozgraniczenia pomiędzy zakresem zaopatrzenia obu wymienionych głównych tętnic, tj. tętnicy macicznej i tętnicy jajnikowej.



Ryc. 2. Schemat unaczynienia tętniczego macicy (widok od strony grzbietowej).

TM – tętnica maciczna, TP – tętnica pochwowa, GGP – gałęzie pochwowe,
GGŚ – gałęzie ślimakowe, GJk – gałąź jajnikowa, GJw – gałąź jajowodowa,
GDM – gałąź dna macicy, DM – dno macicy, SzM – szyjka macicy, P – pochwa; Jj – jajnik,
Jw – jajowód, WOM – więzadło obłe macicy, UBJ – ujście brzuszne jajowodu,
WWJj – więzadło wieszadłowe jajnika.

Z odcinków poprzecznego i wstępującego (b. i c.) tętnicy macicznej odchodzą gałęzie boczne [vel gałęzie maciczne (*rami uterini*) w liczbie 9-14, lub wg obowiązującego mianownictwa anatomicznego zwane gałęziami ślimakowymi (*rami helicini*) (Aleksandrowicz R., Gołąb B., Narkiewicz O., 1989; Whitmore I., 1998)], które dalej dzielą się na tzw. tętnice łukowate przednie i tylne (Fredet P., 1899), położone w warstwie naczyniowej błony mięśniowej. Przeszywają one tkankę macicy, zaopatrując przednią lub tylną ścianę narządu, względnie nie ulegając podziałowi zaopatrują obie ściany jednocześnie. Na poziomie ujścia wewnętrznego szyjki przebieg gałęzi bocznych tętnicy macicznej w tkance narządu jest prostopadły do jego osi długiej; poniżej tego poziomu ich przebieg jest nachylony ku dołowi (ventro-medialnie), podczas gdy powyżej - gałęzie te biegną skośnie ku górze (dorso-medialnie), a tętnice mają odpowiednio większą średnicę. Bardzo często jedna z tętnic ma znacznie większą średnicę od pozostałych, tak, iż wydaje się być końcową gałęzią głównego pnia tętnicy macicznej. Tętnica ta jest opisywana jako gałąź dna macicy lub „tętnica dna macicy” (Sampson J. A., 1913). Pomimo to warto zauważyć, że wymieniona tętnica nie zawsze stanowi bezpośrednie przedłużenie tętnicy macicznej (Faulkner R. L., 1945), gdyż w około 10% populacji jest ona przedłużeniem tętnicy jajnikowej (Ryc. 3). Tętnica maciczna oddaje również obustronnie liczne gałęzie do szyjki macicy.



Ryc. 3. Zmienność zaopatrzenia tętniczego dna macicy (widok od strony grzbietowej).

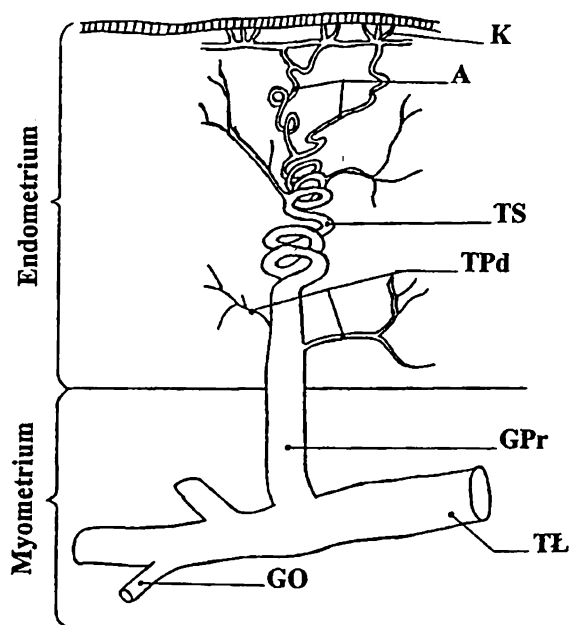
TM – tętnica maciczna, GDM – gałąź dna macicy, TJj – tętnica jajnikowa.

Pochodzące od gałęzi ślimakowych tętnice łukowate, biegną pomiędzy zewnętrzną i środkową 1/3 ściany macicy. Każda z nich zaopatruje odcinek macicy powstający z przedniej i tylnej ściany przewodu Müllera tej samej strony. Na całej długości tętnicy łukowatej (Ryc. 4) odchodzą od niej gałęzie promieniste (centripetalne) i obwodowe (peryferyczne = centrifugalne). Z odcinka końcowego tętnicy łukowatej odchodzą również gałęzie obwodowe i promieniste (dośrodkowe = centripetalne) o krętym przebiegu, które kierują się w stronę jamy macicy (błony śluzowej). Liczniejsze i o większej średnicy gałęzie promieniste, unaczyniają

obszar mięśniówki leżący przyśrodkowo w stosunku do przebiegu tętnicy łukowatej, z której one pochodzą. Od gałęzi promienistych na granicy myometrium i endometrium odchodzą tętnice proste (podstawne) i tętnice spiralne. Te ostatnie kończą się w endometrium. Tętnice proste, niewrażliwe na zmiany poziomu gonadotropin, zaopatrują w krew warstwę podstawną błony śluzowej. Natomiast tętnice spiralne, które podlegają wpływom gry hormonalnej, a zatem są zależne od zmian poziomu estrogenów i progesteronu, ulegają destrukcji w fazie zluszczenia cyklu menstruacyjnego.

Zarówno od tętnic spiralnych, jak i od tętnic prostych odchodzą tętniczki, które ostatecznie rozpadają się na naczynia włosowate, szczególnie liczne w powierzchniowych warstwach błony śluzowej.

Gałęzie obwodowe zaopatrują dystalnie położone warstwy myometrium, docierając ostatecznie aż do surowicówki. Niektóre spośród gałęzi obwodowych, odchodzących od tętnic łukowatych jednej strony narządu zespalają się z podobnymi gałęziami strony przeciwległej, co umożliwia swobodny przepływ krwi pomiędzy obydwoma tętnicami macicznymi. Ponadto obserwuje się także obecność anastomoz pomiędzy tętniczkami odchodzącymi od gałęzi obwodowych sąsiadujących ze sobą tętnic łukowatych tej samej strony (Lindenbaum E. i wsp., 1978), a także pomiędzy tętniczkami odchodzącymi z gałęzi promienistych w pobliżu ich odejścia z tętnic łukowatych, pomimo że końcowe odcinki gałęzi promienistych są uznawane za tętnice końcowe.

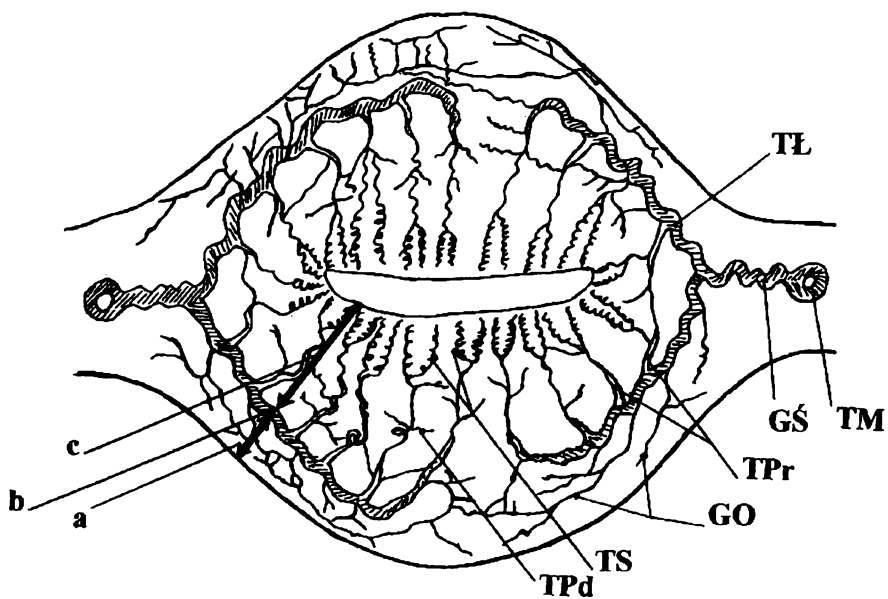


Ryc. 4. Schemat naczyń tętniczych macicy na granicy myometrium i endometrium.

TŁ – tętnica łukowata, GPr – gałąź promienista, GO – gałąź obwodowa, TPd – tętnice podstawne (proste), TS – tętnice spiralne, A – arteriole, K – kapilary.

Układ naczyń tętniczych w macicy pozwala na wydzielenie w ścianie narządu trzech stref (Ryc. 5):

- obwodowej - zewnętrzna 1/3 grubości ściany narządu odżywiana przez gałęzie obwodowe;
- łukowatej - tworząca wąską strefę w której leżą i przebiegają naczynia łukowate;
- promienistej - 2/3 wewnętrzne grubości ściany macicy, odżywiana przez tętnice promieniste.

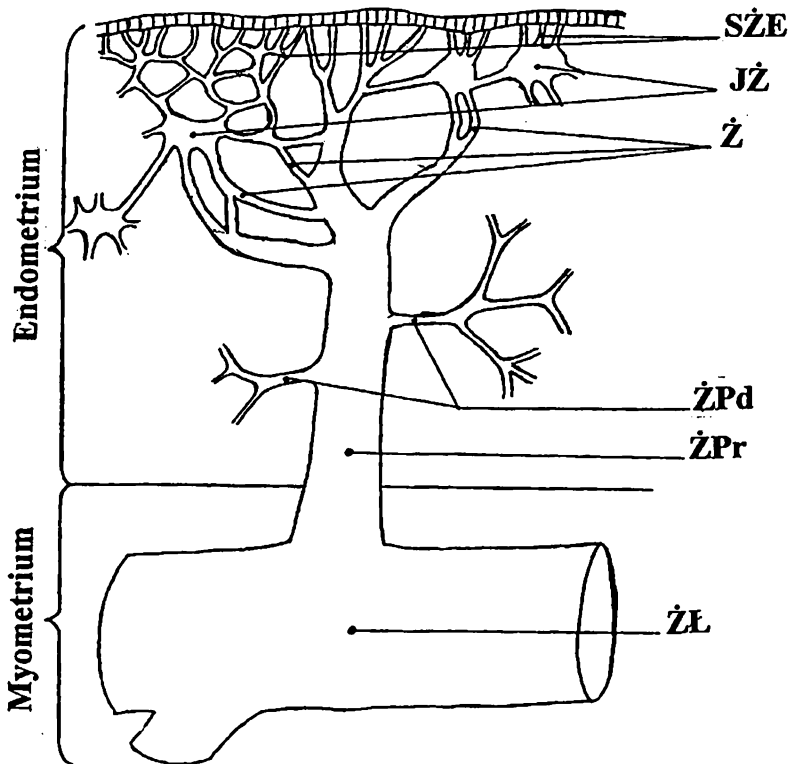


Ryc. 5. Układ naczyń tętniczych w ścianie macicy na przekroju poprzecznym:

a – strefa obwodowa; **b** – strefa łukowata; **c** – strefa promienista;
TŁ – tętnica łukowata; **TM** – tętnica maciczna; **GŚ** – gałąź ślimakowa; **TPr** – tętnice promieniste,
GO – gałęzie obwodowe; **TS** – tętnice spiralne; **TPd** – tętnice podstawne (proste).

Układ naczyń żylnych jest nieco odmienny (Ryc. 6). Odpływ krwi żylnej rozpoczyna się w bogatym splocie żylnym endometrium, do którego krew jest dostarczana przez końcowe odcinki gałęzi promienistych. Podobny, lecz bogatszy splot żylny formuje się w warstwie naczyniowej myometrium. Komunikuje on ze splotem endometrialnym poprzez drobne kanały żyłne. Odpływ żylny rozpoczyna się również jako poszerzenia określane mianem jeziorzek żylnych (*laci venosi*), do których otwierają się naczynia włosowate. Podejrzewa się, że wspomniane jeziorzka żyłne są poszerzeniami żyłek (Schlegel J. U., 1946). Jeziorzka żyłne obserwuje się w całej warstwie czynnościowej endometrium, a tuż przed rozpoczęciem się fazy zluszczającej cyklu menstruacyjnego są one widoczne tuż pod nabłonkiem powierzchniowym i mogą wtedy osiągać nieraz znaczne rozmiary (do 100 μ m średnicy – Schlegel J. U., 1946).

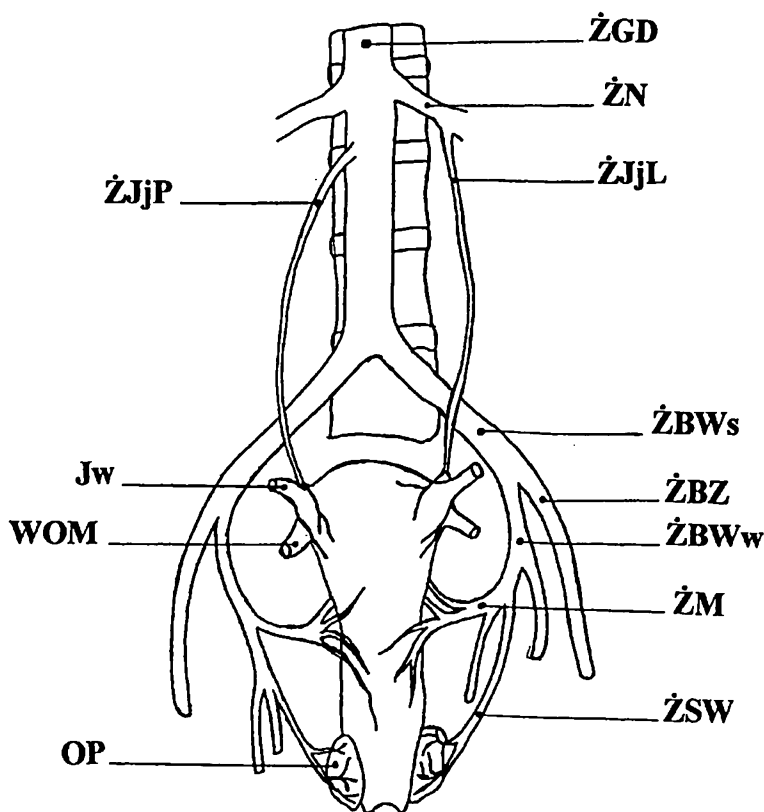
Żyłki, które drenują wspomniane jeziora biegną odśrodkowo (centrifugalnie) od jamy macicy, tworzą pomiędzy sobą liczne anastomozy. Często obserwowano wąską strefę myometrium położoną w pobliżu warstwy podstawnej endometrium, która w warunkach fizjologicznych jest uboga w naczynia krwionośne, a poprzez którą wędrują naczynia żylne (wspomniane kanały) zespalające oba sploty.



Ryc. 6. Schemat naczyń żylnych na granicy myometrium i endometrium.

SZE – splot żylny endometrialny, JŻ – „jeziorka żylne”, Ż – żyłki, ŻPr – żyła promienista, ŻPd – żyły podstawne, ŻŁ – żyła łukowata.

W warstwie zewnętrznej myometrium, szczególnie po bokach narządu, a czasem w towarzystwie tętnic łukowatych występują żyły zbiorcze (żyły łukowate), które gromadząc krew żylną z macicy odprowadzają ją do żył macicznych usytuowanych pomiędzy dwiema warstwami więzadła szerokiego macicy. Dość często tętnicy macicznej, zamiast jednej lub dwóch żył, towarzyszy niejednorodny splot żylny. Łączy się on zazwyczaj z naczyniami drenującymi pochwę i jako splot żylny maciczno-pochwowy uchodzi do żyły biodrowej wewnętrznej (Ryc. 7). Warto zauważyć, że układ żylny macicy daje się łatwo nastrzykiwać poprzez żyły maciczne lub jajnikowe mimo udowodnionej obecności zastawek w naczyniach żylnych (Czerkwiński J., 1980; Aleksandrowicz R., Czerkwiński J., 1981).



Ryc. 7. Odpływ krwi żylnej z macicy (widok z przodu):

ŻGD – żyła główna dolna; **ŻN** – żyła nerkowa; **ŻJjP** – żyła jajnikowa prawa;
ŻJjL – żyła jajnikowa lewa; **ŻBW_s** – żyła biodrowa wspólna; **ŻBZ** – żyła biodrowa zewnętrzna;
ŻBW_w – żyła biodrowa wewnętrzna; **ŻM** – żyła maciczna; **ŻSW** – żyła sromowa wewnętrzna;
Jw – jajowód; **WOM** – więzadło obłe macicy; **OP** – opuszka przedsionka.

Unaczynienie mięśniaków macicy było także przedmiotem licznych badań (Essen-Möller E., 1901; Sampson J. A., 1913; Ahlström E., 1917; Bardon G., 1921; Holmgren B., 1938; Faulkner R. L., 1944; Farrer-Brown G. i wsp., 1970, 1971; Awataguchi K., 1982 i inni).

Jest faktem, że w obrębie tkanek większości mięśniaków znajduje się relatywnie liczniejsze naczynia tętnicze, przy jednocześnie nielicznych naczyniach żylnych, które najczęściej są zepchnięte przez rozrastające się masy nowotworowe na jego obwód. Zazwyczaj istnieje więcej niż jedna tętnica zaopatrująca guz. Bardzo niewiele wiemy na temat organizacji sieci naczyń włosowatych w tkance guza, a pośrednim dowodem na jej istnienie stanowiły jedynie zaobserwowane przez Faulknera kępki arterioli (Faulkner R. L., 1944), wskazujących na „opróżnianie się” guza z krwi w kierunku obwodowym. Nie przedstawiono dowodu, który potwierdzałby przepływ krwi przez tkankę guza jedynie za pośrednictwem tętnic. Natomiast wątpliwą jest obecność w obrębie utkania mięśniaków anastomoz tętniczo-żylnych (Schlegel J. U., 1946), które jak się wydaje, są artefaktami spowodowanymi przez mechaniczne uszkodzenia guzów w trakcie operacji lub powstałymi w czasie ich ekstrakcji.

Awataguchi badając angioarchitekturę mięśniaków stwierdził z kolei, że ilość naczyń penetrujących utkanie guza była wprost proporcjonalna do jego rozmiarów, to znaczy, że większe mięśniaki posiadały większą liczbę naczyń wnikaających do ich tkanki. Poza tym stwierdził, że średnica naczyń zaopatrujących mięśniak niezależnie od wielkości zmiany nowotworowej, nie przekraczała 1 mm (Awataguchi K., 1982).

2. CEL PRACY

Pomimo że makrounaczynienie mięśniaków jest poznane dość dobrze, celem niniejszej pracy było przebadanie organizacji mikrokrażenia tych łagodnych nowotworów. W dostępnej literaturze brak jest doniesień na temat organizacji sieci naczyń włosowatych na terenie mięśniaków. Zastosowanie techniki mikroskopii skaningowej odlewów mikrokorozyjnych naczyń krwionośnych umożliwiło na porównawcze zanalizowanie różnic układu naczyniowego prawidłowego łożyska naczyniowego macicy i naczyń mięśniaków, co do tej pory nie miało miejsca.

Ponadto podjęto także próbę unifikacji stosowanej nomenklatury, która dotyczy naczyń zaopatrujących macicę.

3. MATERIAŁ I METODY BADAŃ WŁASNYCH

3.1. Materiał

Tabela 1. Zestawienie materiału sekcyjnego oraz sposób przygotowania preparatów.

Rodzaj metody iniekcyjnej	Liczba preparatów uzyskanych daną metodą	
	Od strony tętnic	Od strony żył
Macice nastrzyknięte emulsjami akrylowymi	24	4
Macice nastrzyknięte Mercoxem CL-2R	22	

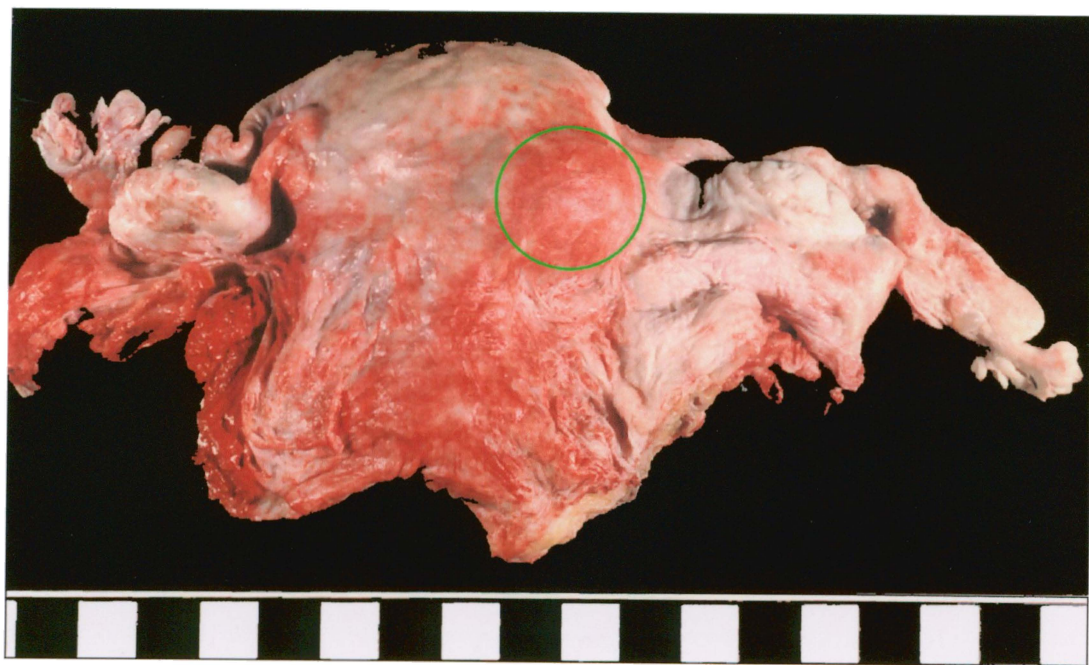
3.2. Przygotowanie materiału

3.2.1. Przygotowanie materiału do badań w mikroskopie optycznym stereoskopowym

Do badań użyto 28 macic, które w całości wraz z przydatkami i zachowanym mankietem pochwy nastrzykiwano emulsjami akrylowymi w roztworze wodnym (Liquitex R, Binney and Smith, USA). Materiał pobierano ze zwłok sekcjonowanych w Zakładzie Medycyny Sądowej CM UJ (Kierownik: dr hab. med. Franciszek Trela - profesor w CM UJ).



Ryc. 8. Macica (nr 1) 46-letniej kobiety (uzyskana w Katedrze Medycyny Sądowej CM UJ) zawierająca 28 podsurowicówkowych guzów o średnicy od 15-50 mm, bezpośrednio po nastrzyknięciu roztworem wodnym farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA). Preparat nastrzyknięty **przez tętnice maciczne**. Wymiary: wys. – 87 mm; szerokość – 123 mm; grubość – 81 mm.



Ryc. 9. Macica (nr 3) 44-letniej kobiety (uzyskana w Katedrze Medycyny Sądowej CM UJ) z pojedynczym mięśniakiem podsurowicówkowym (o średnicy 45mm) na ścianie tylnej z prawej strony. Preparat nastrzyknięty **przez tętnice maciczne** wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA). Wymiary: wysokość – 72 mm; szerokość – 88 mm; grubość – 52 mm.

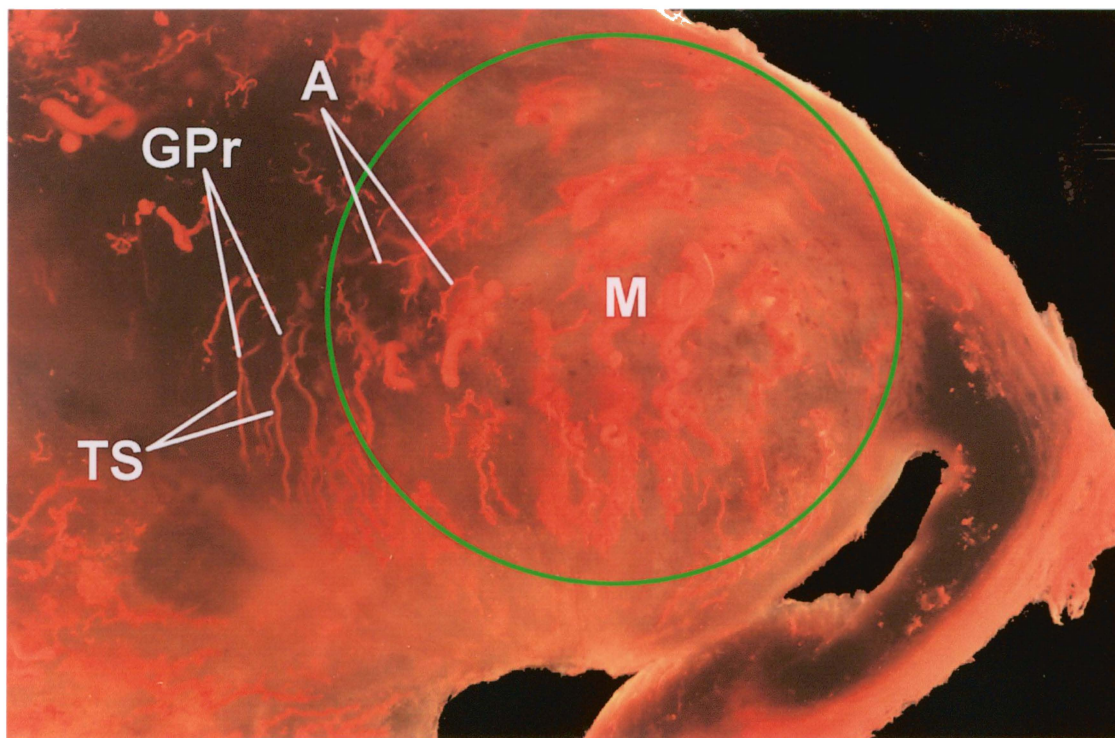
Podstawowym warunkiem uzyskania dobrych wyników za pomocą metod iniekcyjnych jest staranne przepłukanie łożyska naczyniowego celem usunięcia krwi, a następnie dokładnego jego wypełnienia masą iniekcyjną. Czynności te są stosunkowo proste w przypadku badań na zwierzętach, ponieważ wykonuje się je bezpośrednio po ich letalnym uśpieniu, zatem na dopiero co wyłączonym krążeniu (Markee J. E., 1929; Kniseley M. H., 1934; Daron G. H., 1936, 1937; Williams M. F., 1948; Young A., 1951, 1956; Smith J., 1968; Ginther O. J. i wsp., 1973; Ginther O. J., 1976; Anderson B. G., Anderson W. D., 1978; Takemori K. i wsp., 1982, 1984, 1985; Spanel-Borowski K. i wsp., 1987, Spanel-Borowski K., 1999; Christofferson R. H. i Nilsson B. O., 1988, Christofferson R. H. i wsp., 1994, 1997 oraz inni). Natomiast przy nastrzykiwaniu zwłok płodów ludzkich lub izolowanych narządów ludzi dorosłych często można napotkać przeszkody podyktowane zwłoką czasową, jaka musi nastąpić pomiędzy chwilą zgonu a momentem podjęcia procedury przygotowującej materiał do badań. W związku z tym należy się liczyć, iż w obrębie systemu naczyniowego mogą powstawać skrzepy wewnątrznaczyniowe trudne do usunięcia, jak również ściany naczyń mogą stać się bardziej przepuszczalne (ewentualna liza). Czynniki te można zaliczyć do zasadniczych przyczyn niewypełnienia się części sieci naczyniowej, a także powstawania artefaktów, z których najczęściej występującymi są np. wybroczyny (Christofferson R. H., Nilsson B. O., 1988; Aharinejad S. H, Lametschwandtner A., 1992; Gassner J. i wsp., 1994). Dlatego podejmując badania

na materiale sekcyjnym, pewna część materiału już na etapie wstępnym z konieczności podlega eliminacji. Badania takie należy jednak niewątpliwie podejmować ze względu na szereg cennych prac opublikowanych na podstawie obserwacji wykonanych na nastrzykniętych łożyskach naczyniowych płodów ludzkich, jak również na materiale sekcyjnym innych niż macica narządów pobranych od osobników dorosłych (Miodoński i wsp., 1993; Stręk P. i wsp., 1993; Gorczyca J. i wsp., 1994; Pityński K. i wsp., 1994; Skawina A. i wsp., 1994b; Stręk P. i wsp., 1994; Składzień J. i wsp., 1995a, Składzień J. i wsp., 1995b; Stręk P. i wsp., 1995; Pityński K. i wsp., 1996; Gorczyca J. i wsp., 1998). Co więcej, w ostatnim okresie pojawiły się także doniesienia dotyczące jakości otrzymanych preparatów mikrokorozyjnych łożysk naczyniowych zwierząt nastrzykiwanych Mercoxem CL-2R lub masą Batsona w zależności od zastosowanej procedury w celu ich uzyskania, a zwłaszcza czasu, który upłynął od momentu śmierci, które potwierdzają celowość podejmowania podobnych badań (Martín-Orti R. i wsp., 1999).

Po otwarciu jamy brzusznej i odsunięciu pętli jelitowych wycinano macice wraz z przydatkami i mankietem pochwy o długości ok. 1 cm, starając się uniknąć uszkodzenia pobieranego materiału sekcyjnego. Materiał pobierano na tyle szeroko, aby zachować możliwie długie odcinki naczyń macicznych i jajnikowych (zarówno tętnic, jak i żył). Tak pobrane macice przepłukiwano heparynizowanym roztworem soli fizjologicznej (12,5 IU/ml) o temp. 37° C, zawierającej 3% dekstranu o masie cząsteczkowej 70 000 i 0,025% lidokainy, poprzez igły kulkowe zamocowane obustronnie w naczyniach (tętnicach albo żyłach) macicznych lub jajnikowych, celem usunięcia z łożyska naczyniowego krwi oraz ewentualnie skrzepów.

Płukanie łożyska naczyniowego macicy kontynuowano aż do momentu, kiedy wypływający płyn był wodojasny, przejrzysty. Bezpośrednio po zakończeniu przepłukiwania łożyska naczyniowego roztworem heparynizowanej soli fizjologicznej przystępowano do jego wypełniania masą iniekcyjną (roztwór wodny farb akrylowych - Liquitex R, Binney and Smith, USA), używając strzykawki 20 ml. W momencie, kiedy masa iniekcyjna zaczęła wypływać przez otwarte naczynia jajnikowe oraz gałęzie pochwowe naczyń macicznych, zamykano je kleszczykami hemostatycznymi, a czynność nastrzykiwania prowadzono do momentu wypełnienia kolorową masą najdrobniejszych naczyń omacicza widocznych gołym okiem. Po podwiązaniu naczyń macicznych z jednoczesnym usunięciem igieł, nastrzykiwane macice utrwalano w 10% roztworze formaliny przez okres 2 tygodni. Następnie widoczne makroskopowo mięśniaki cięto w płaszczyznach strzałkowej, czołowej oraz poprzecznej na skrawki o grubości ok. 6 mm. Tak przygotowany materiał odwadniano we wzrastającym gradiencie alkoholu etylowego począwszy od 50%. Po zakończeniu odwadniania preparaty umieszczano w mie-

szaninach alkoholu absolutnego i salicylanu metylu, w stosunku 3:1, 1:1, 1:3 po czym przenoszono je do czystego salicylanu metylu, celem ich całkowitego przeświecenia. Podobnie postępowano z preparatami nastrzykiwanymi farbami akrylowymi, co do których podejrzewano istnienie mięśniaków położonych głębiej, w mięśniówce lub pod błoną śluzową. Po wykonaniu przekrojów strzałkowych, czołowych i poprzecznych uwidaczniano głęboko położone struktury mięśniaków. Preparaty w całości analizowano za pomocą mikroskopu świetlnego stereoskopowego (PZO typ Mst-130), z podziałką mikrometryczną (wyskalowany okular mikroskopu stereoskopowego). Materiał oglądano stosując powiększenia od 5 do 80 x. Przy powiększeniu 25 x jedna podziałka skali odpowiadała w rzeczywistości wartości 14,5 μm . Pomiarów średnic naczyń zaopatrujących wykonywano w stałych punktach topograficznych np. w miejscu wejścia tętnicy odżywiającej mięśniak do tkanki guza. Wyniki dokumentowano zdjęciami fotograficznymi i wykonywanymi na ich podstawie schematami.

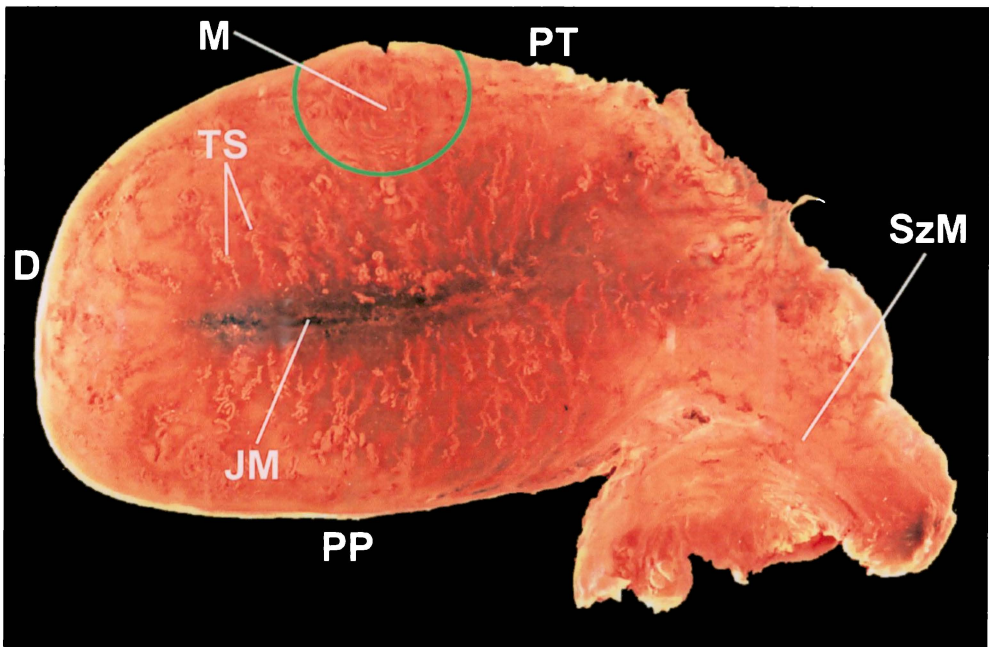


Ryc. 10. Macica (nr 21) 50-letniej kobiety z mięśniakiem podsurowicówkowym o średnicy 12 mm.

Przekrój poprzeczny, lewa połowa, widok od góry.

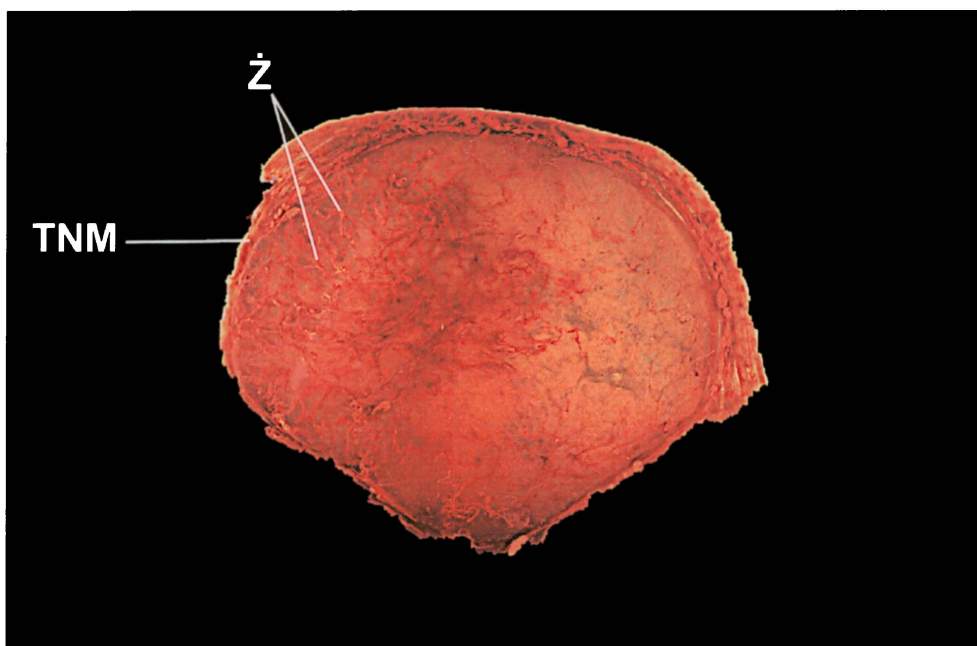
Preparat nastrzyknięty wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA) **przez tętnice maciczne**, następnie prześwietlony w salicylanie metylu.

GPr – gałęzie promieniste; **TS** – tętnice spiralne; **A** – arteriole; **M** – mięśniak; Pow. 7x.



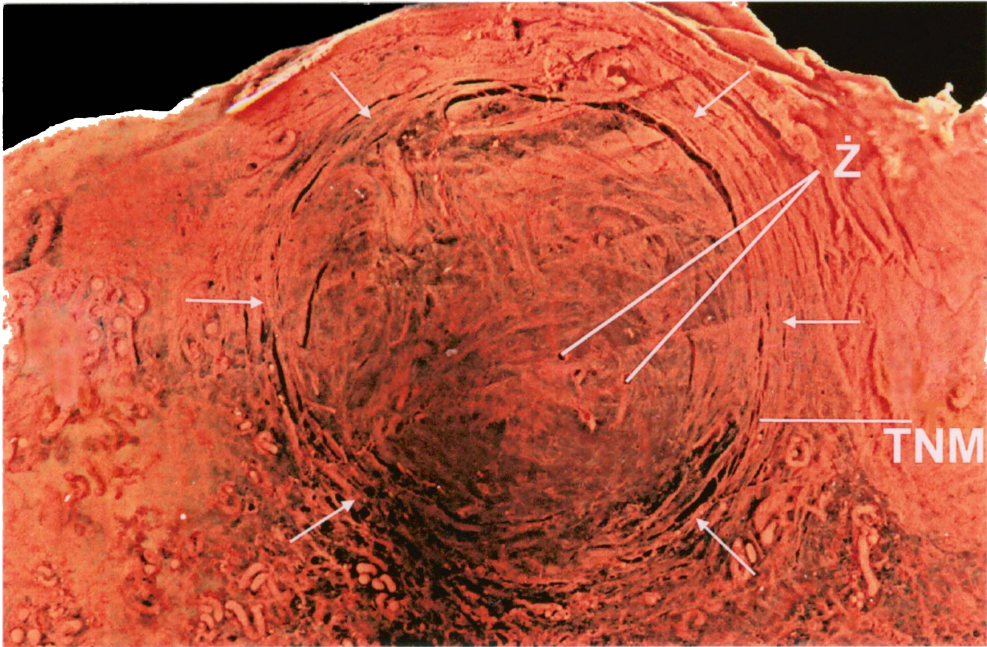
Ryc. 11. Macica (nr 19) 41-letniej kobiety.

Preparat nastrzyknięty **przez tętnice maciczne** wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA). Prawa połowa macicy. Przekrój strzałkowy – preparat prześwietlony w salicylanie metylu. Centralnie widoczna ciemniejsza szczelina - jama macicy (**JM**). W ścianie tylnej widoczny mięśniak (**M**) o średnicy ok. 8 mm. **D** – dno macicy; **PP** – powierzchnia przednia; **PT** – powierzchnia tylna; **SzM** – szyjka macicy; **TS** – tętnice spiralne. Pow. 2,5 x.



Ryc. 12. Macica (nr 4) 71-letniej kobiety.

Preparat nastrzyknięty **przez żyły maciczne** wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA). Przekrój poziomy przez mięśniak o średnicy ok. 70 mm (dolna część) – preparat prześwietlony w salicylanie metylu. **T** – torebka naczyniowa mięśniaka; **Ż** – naczynia żyłne mięśniaka. Pow. 1,5 x.



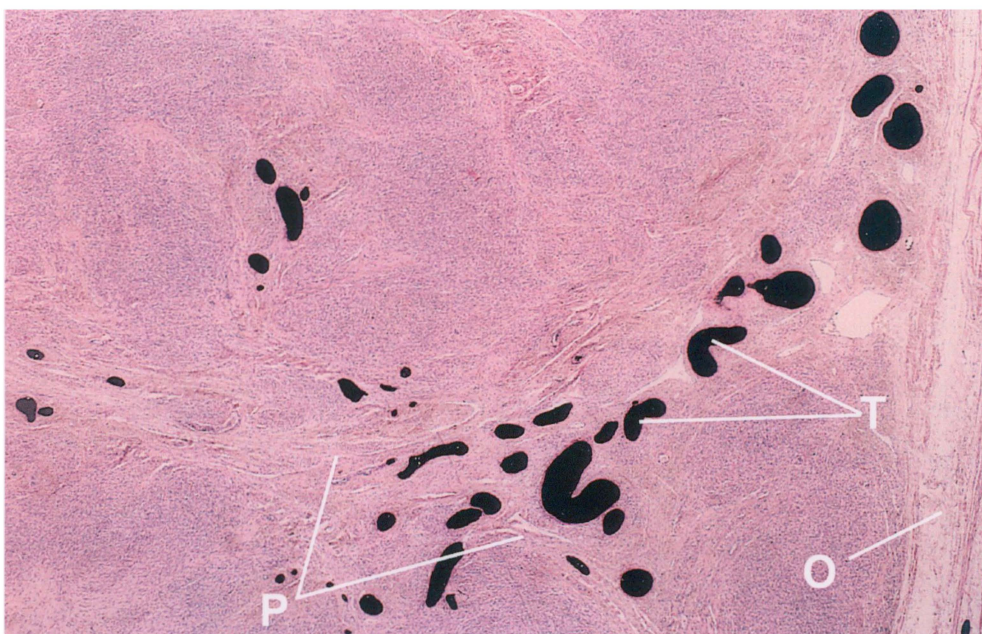
Ryc. 13. Macica (nr 17) 55-letniej kobiety.

Preparat nastrzyknięty **przez żyły maciczne** wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA). Przekrój strzałkowy przez mięśniak podsurowiczkowy (↑) o średnicy ok. 10 mm.

T – torebka naczyniowa mięśniaka; Ż – naczynia żyłne mięśniaka. Pow. 8 x.

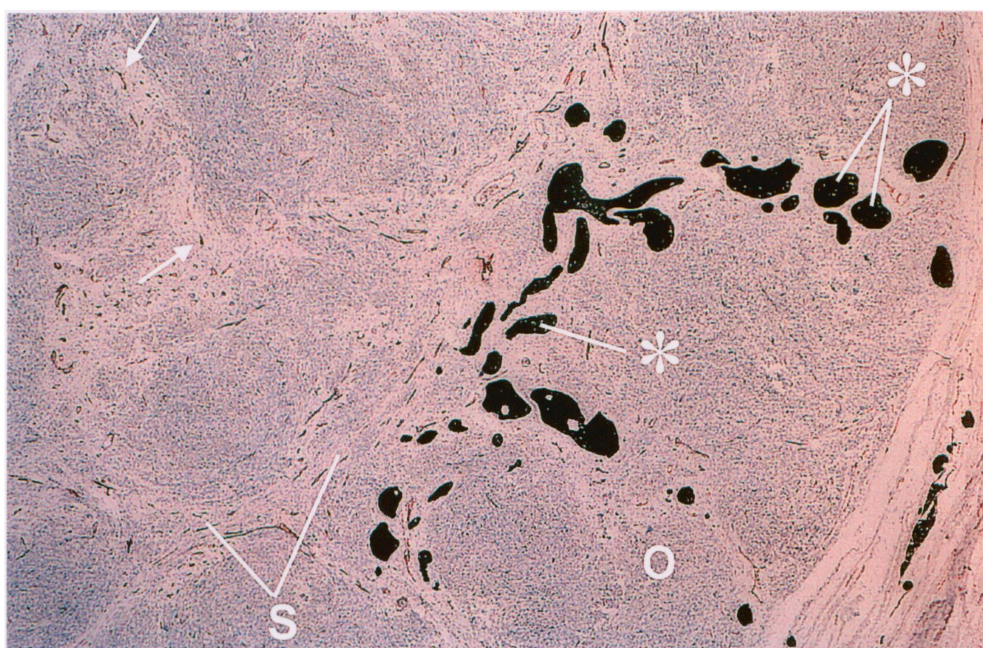
Dodatkowo w Zakładzie Patomorfologii CMUJ (Kierownik: prof. dr hab. Jerzy Stachura) wykonano seryjne skrawki preparatów macic mięśniakowatych, nastrzykiwanych farbami akrylowymi. Z przygotowanego materiału pobierano wycinki, które po odwodnieniu w gradiencie wstępującym alkoholu etylowego oraz przepojeniu preparatów w benzoesanie metylu oraz benzenie, zatapiano w parafinie, a następnie cięto na skrawki o grubości 4 μm . Preparaty barwiono hematoksyliną i eozyną. Materiał oglądano pod mikroskopem stosując powiększenia od 5 do 40 x. Wyniki udokumentowano zdjęciami fotograficznymi i przeźrocami.

Niektóre z wykonanych skrawków odparafinowano i uwodniono, przygotowując je do wykonania odczynu immunohistochemicznego na czynnik von Willebrandta. Po uprzednim odmaskowaniu antygenu (komórki endotelium naczyń), przy użyciu buforu cytrynianowego o pH 6,0 w kuchence mikrofalowej o mocy 750 W, użyto do reakcji immunohistochemicznej przeciwciała pierwotnego anti Human von Willebrandt factor (firma Dako) w rozcieńczeniu 1:50 oraz zestawu EnVision + HRP/MO. W reakcji barwnej wykorzystano karbazol. Materiał oglądano pod mikroskopem stosując powiększenia od 20 do 330 x. Wyniki także dokumentowano zdjęciami fotograficznymi i przeźrocami.



Ryc. 14. Macica mięśniakowata (nr 1) 46-letniej kobiety.

Preparat nastrzyknięty **przez tętnice** wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA). Obraz histologiczny. Na prawo i u dołu widoczne obrzeża (O) mięśniaka gładkokomórkowego z tętnicami (T) wypełnionymi farbą akrylową. P – przegrody łącznotkankowe w obrębie miększu guza. HE. Pow. 20 x.



Ryc. 15. Macica mięśniakowata (nr 1) 46-letniej kobiety.

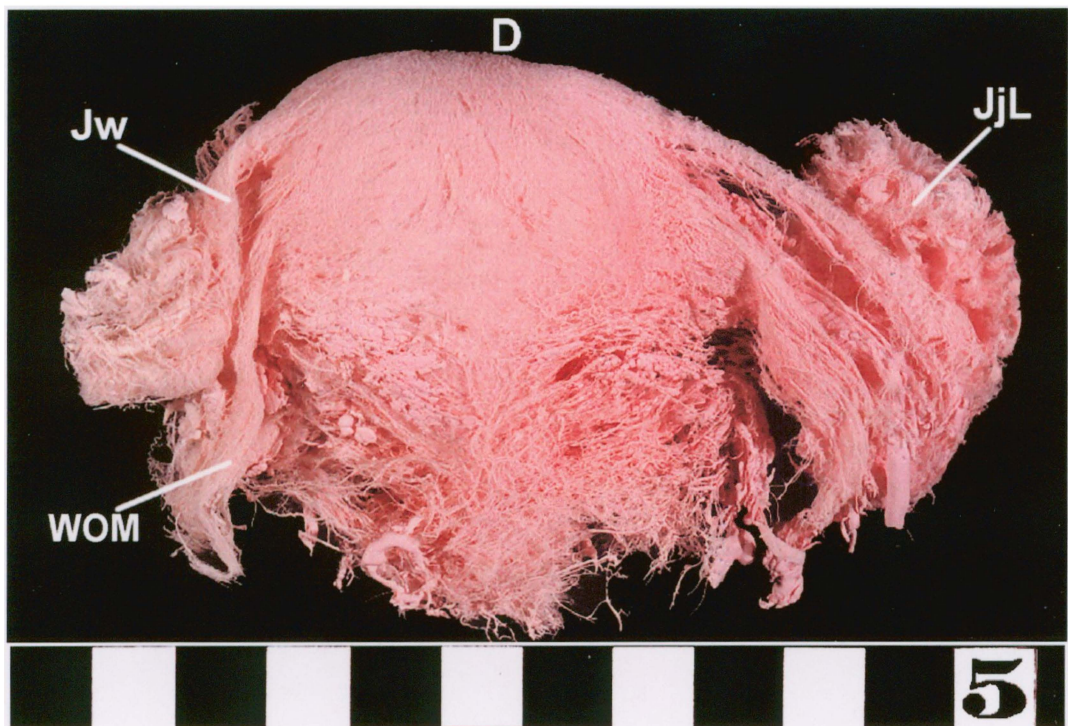
Prawy dolny brzeg mięśniaka gładkokomórkowego macicy. W kierunku centrum mięśniaka widoczne większe tętnice (*) wypełnione farbą akrylową **przez tętnice** (Liquitex R, Binney and Smith, USA). W obrębie części centralnej guza drobne niewypełnione naczynia (↑) (tętniczki przedwłosowate i kapilary). O – obrzeża zmiany. S – septa (przegrody łącznotkankowe z naczyniami). Odczyn immunohistochemiczny na czynnik von Willebrandta. Pow. 20 x.

3.2.2. Przygotowanie materiału do badań w SEM

Materiał do badań w skaningowym mikroskopie elektronowym obejmował 22 macice. Badania przeprowadzono w Pracowni Mikroskopii Skaningowej Kliniki Otolaryngologii CM UJ (Kierownik: prof. dr hab. A. J. Miodoński). Czynności przygotowawcze oraz wstępne płukanie łożyska naczyniowego były takie jak w protokole obowiązującym przy przygotowywaniu preparatów nastrzykiwanych emulsjami akrylowymi. Po wstępnym przepłukaniu heparynizowanym roztworem soli fizjologicznej (przez około 3-5 min.), łożysko naczyniowe perfundowano roztworem o składzie: 0,66% paraformaldehydu i 0,08% aldehydu glutarowego przygotowanego na 0,2 n buforze kakodylowym o pH 7,4 (Paine C. J., Low F. N., 1975) o temperaturze 37°C z dodatkiem 2% lignocainy (10 ml 2% lignocainy na każde 100 ml roztworu).

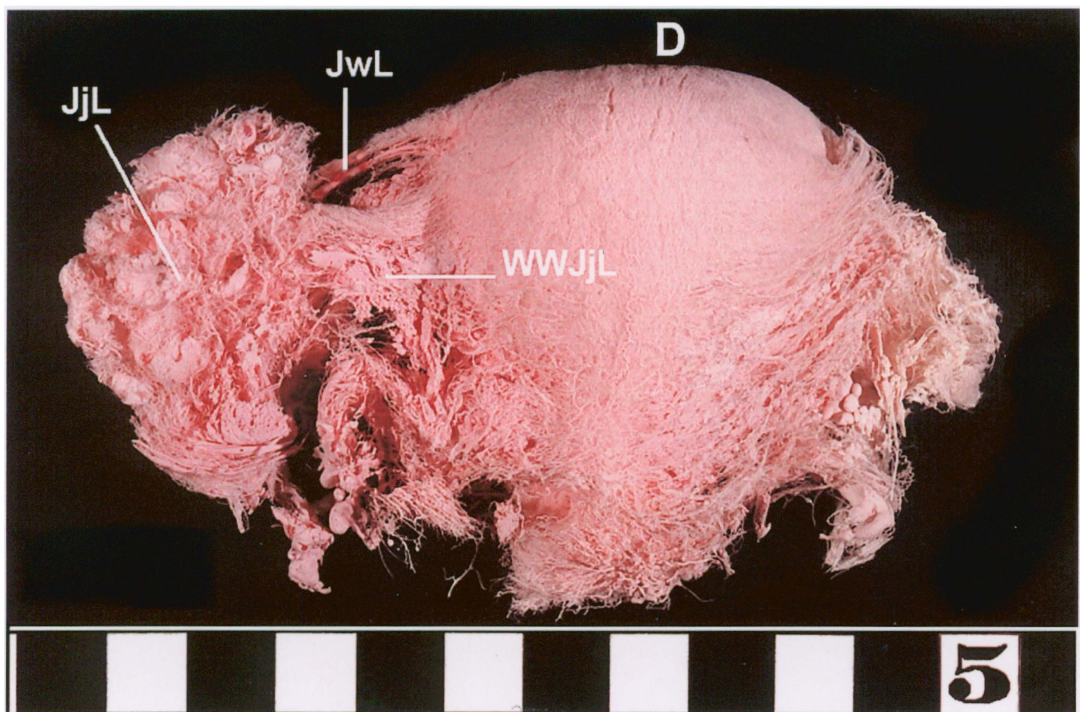
W następnym etapie łożysko naczyniowe wypełniano ok. 60 ml żywicy syntetycznej o nazwie firmowej Mercox CL-2R (Japan, Villene Comp. Ltd., Tokyo), zmieszanej z odpowiednią ilością akceleratora zalecaną przez producenta. Po zakończeniu nastrzykiwania, wykonywanego ręcznie za pomocą 20 ml strzykawki, macice pozostawiano przez 12 godzin w łaźni wodnej o temperaturze 55°-60°C celem polimeryzacji masy iniekcyjnej oraz nadania jej plastyczności (Miodoński A. J. i wsp., 1981).

Tak przygotowane preparaty płukano w całości kilkakrotnie w wodzie destylowanej, po czym umieszczano w 10-15% roztworach KOH celem maceracji tkanek. Proces maceracji prowadzono przez okres 30 dni, zmieniając codziennie roztwór KOH na świeży po uprzednim delikatnym przepłukiwaniu preparatu w dużych objętościach wody destylowanej. Preparaty mikrokorozyjne oczyszczano z ewentualnych pozostałości tkanek miękkich w wodnym roztworze 5% kwasu trójchlorooctowego i nadal płukano w wodzie destylowanej przez kilka dni. Po zamrożeniu w wodzie destylowanej, suszono je w liofilizatorze (Liovag G2 Aqua Fina, Niemcy). Wysuszone preparaty umieszczano w eksykatorach w obecności pięciotlenku fosforu w celu usunięcia resztek wody kondensacyjnej.



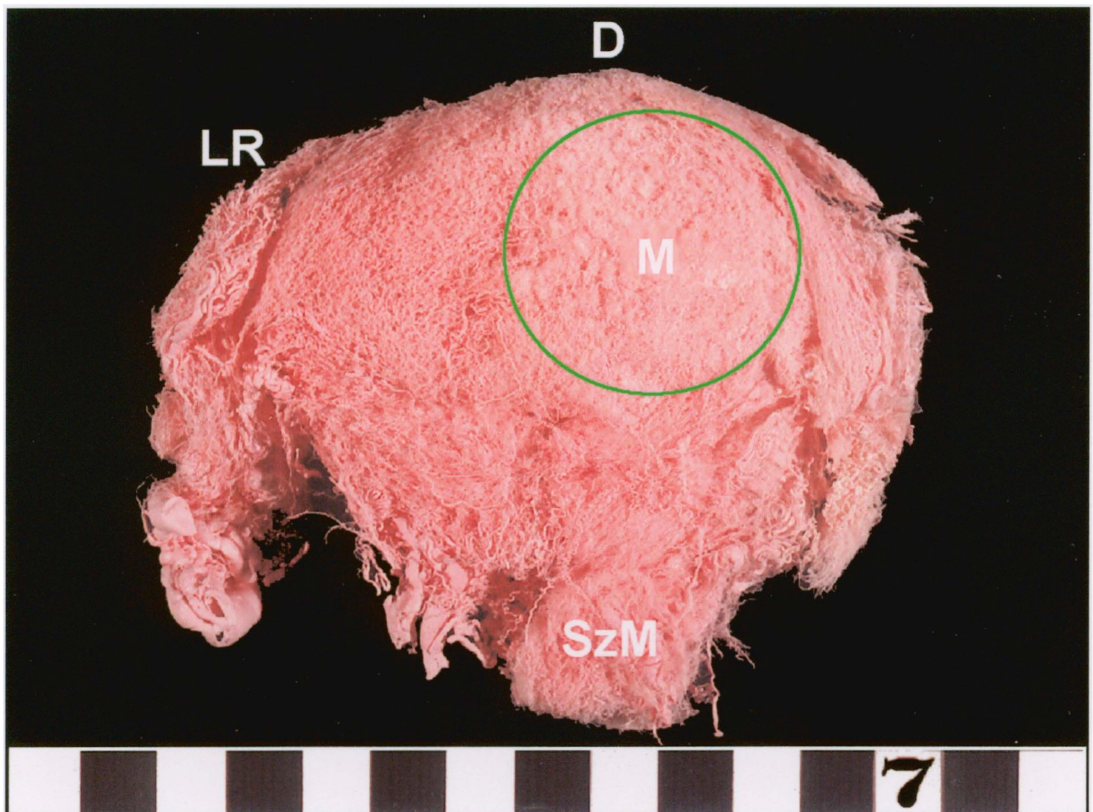
Ryc. 16. Wyszuszony, liofolizowany preparat mikrokorozyjny prawidłowej macicy 22-letniej kobiety (materiał nastrzyknięty Mercoxem CL – 2R, Vilene, Japan) – **powierzchnia przednia**.

D – dno macicy; **Jw** – jajowód; **WOM** – więzadło obłe macicy; **JjL** – jajnik lewy.



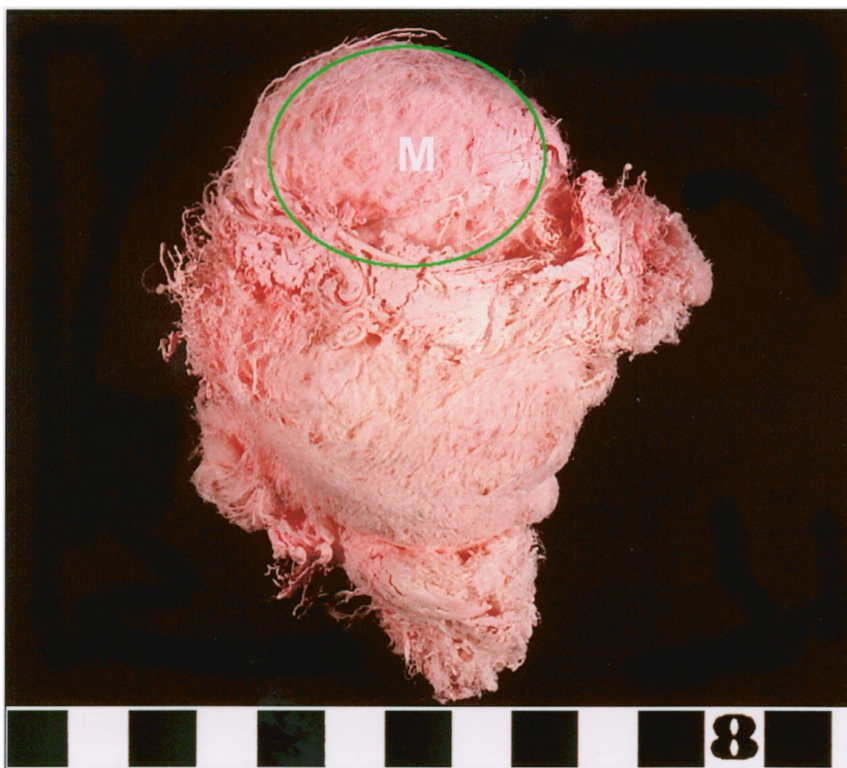
Ryc. 17. Wyszuszony, liofolizowany preparat mikrokorozyjny prawidłowej macicy 22-letniej kobiety (materiał nastrzyknięty Mercoxem CL – 2R, Vilene, Japan) – **powierzchnia tylna**.

D – dno macicy; **JwL** – jajowód lewy; **JjL** – jajnik lewy; **WWJjL** – lewe więzadło własne jajnika.



Ryc. 18. Macica (nr 7) 47-letniej kobiety z mięśniakiem (M) o średnicy ok. 30 mm w okolicy dna i lewego rogu (materiał nastrzyknięty Mercoxem CL – 2R, Vilene, Japan) – powierzchnia tylna.

D – dno macicy; **SzM** – szyjka macicy; **LR** – lewy róg macicy.



Ryc. 19. Macica (nr 8) 60-letniej kobiety (materiał nastrzyknięty Mercoxem CL – 2R, Vilene, Japan) z dużym mięśniakiem (M) o średnicy ok. 40 mm – powierzchnia przednia.

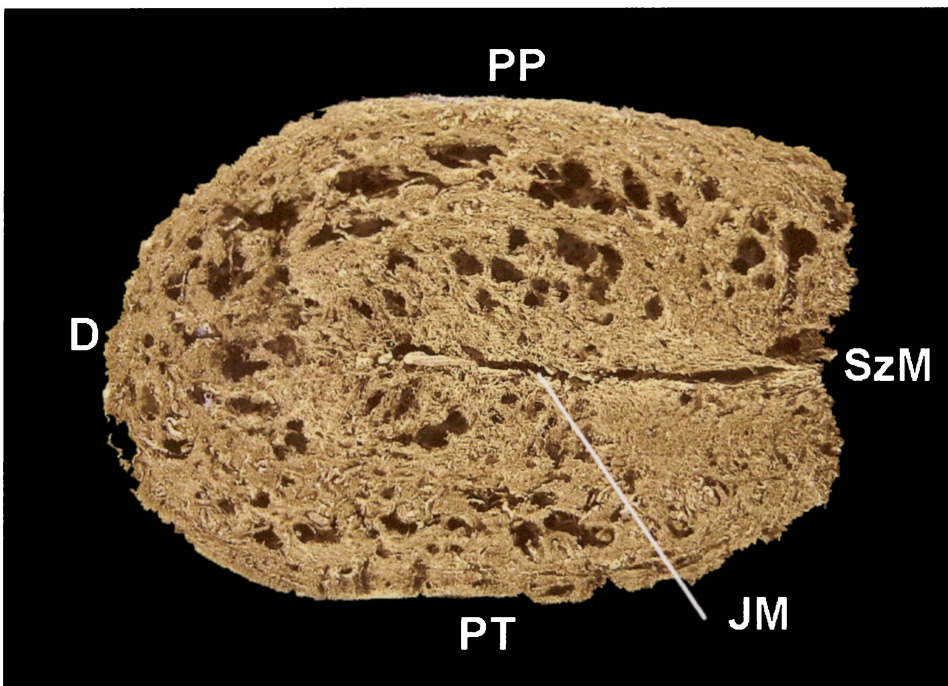
Następnie preparaty przecinano celem odsłonięcia interesujących części, w których makroskopowo stwierdzono obecność mięśniaków. Po umocowaniu na stabilizatorach za pomocą kleju srebrnego i mostków kontaktowych (Lametschwandtner A. i wsp., 1980), preparaty kilkakrotnie napyłano złotem drogą naparowania w napyłarce JEE-4X (Jeol) lub/i w sputterze typu JFC-1110 (Jeol).



Ryc. 20. Macica (nr 2) 44-letniej kobiety.
Preparat mikrokorozyjny - przekrój poziomy przez macicę z widocznym makroskopowo mięśniakiem (↑) po napyleniu złotem. Pow. 4 x.

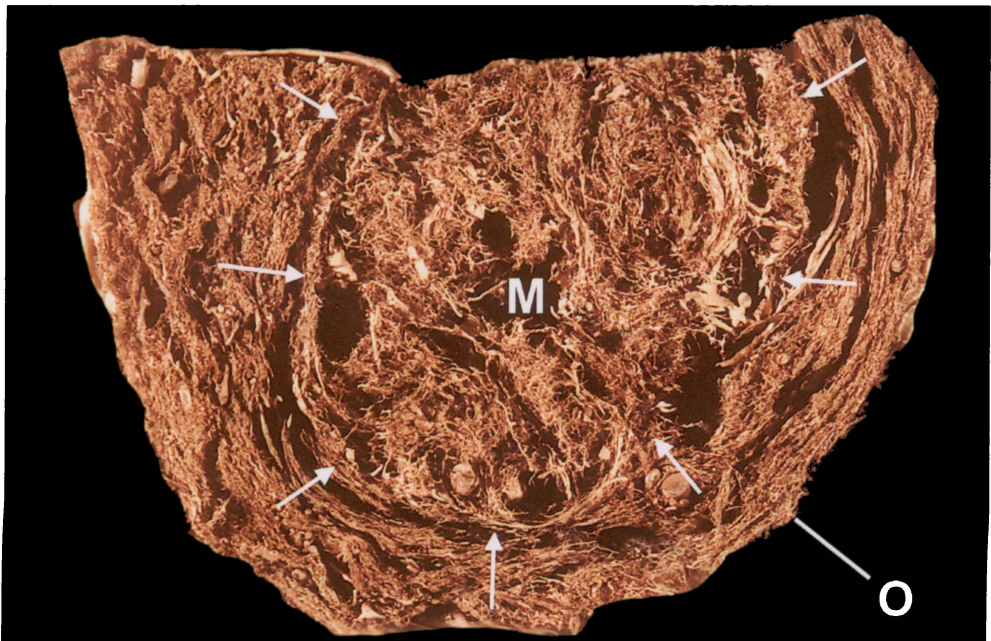
Obserwacje prowadzono w elektronowym mikroskopie skaningowym typu JSM-35-CF (Jeol) przy wartościach napięcia przyspieszającego 20-25kV, wykonując niezbędną dokumentację fotograficzną. Powierzchnię odlewów naczyń krwionośnych – tętnic i żył – analizowano na całej odsłoniętej ich długości, aż do poziomego podziału na naczynia włosowate (wykonując dodatkowe przekroje czołowe i strzałkowe preparatów celem uwidocznienia obszarów głęboko położonych). Pomiary średnic naczyń krwionośnych wykonywano względem wartości podziałki skali odniesienia mikroskopu. Na powierzchni odlewów naczyń tętniczych obserwowano obecność osławkowatych lub elipsoidalnych, wyraźnie konturowanych zagłębień zorientowanych zgodnie z długą osią naczynia będących odbitkami jąder śródbłonka. Otaczały je szczelinki o wrzecionowatym kształcie, odpowiadające granicom samych komórek śródbłonka naczyniowego. Natomiast na powierzchni odlewów naczyń żylnych można było również stwierdzić, aż do poziomego prekapilar, obecność zagłębień będących replikami jąder śródbłonka, które są płytsze, zaokrąglone i rozłożone nieregularnie. Podobnie otaczały je także wąskie szczelinki o romboidalnym kształcie, które odpowiadają granicom komórek śródbłonka (Miodoński A. J. i wsp., 1976).

Ze względu na kruchość naczyń, które penetrują masę guza, niektóre preparaty mikrokorozyjne w całości zatapiano w mieszaninie polietylenglikoli (PEG) o różnej masie cząsteczkowej oraz różnej temperaturze topnienia, rozpuszczalnych w wodzie, przygotowanej w oparciu o doświadczenia własne (Merck-Schuchardt; PEG 2000 : PEG 600 w proporcjach 20 : 1). Preparaty „zatapiano” w uprzednio ogrzanej do temperatury 50-60°C, a zatem w stanie płynnym, mieszaninie PEG w wanience aluminiowej, którą wraz z zatopionym preparatem umieszczano na lodzie. Po zestaleniu się mieszaniny w formie bloczka, zatopiony w niej preparat mikrokorozyjny cięto w ustalonych płaszczyznach przy pomocy delikatnej piłki. Uzyskane przekroje o grubości 0,8-1 cm przenoszono do wanienki wykonanej z pleksiglasu (wymiary 15 x 15 x 3 cm), której dno oraz ścianki odpowiednio posiadały otwory od 0,5-1 cm. Wanienkę z preparatem umieszczano w naczyniu szklanym wypełnionym wodą destylowaną. Dno wanienki wsparte na nóżkach znajdowało się powyżej poziomu dna naczynia wypełnionego wodą destylowaną. Umieszczony pod dnem wanienki magnes był wprowadzony w ruch obrotowy po ustawieniu naczynia z wodą na płycie mieszalnika magnetycznego. Tak wymuszony obieg wypłukiwał z preparatu rozpuszczalną w wodzie, zestaloną mieszaninę PEG. Dzięki temu, powierzchnie uzyskanych przekrojów mogły zachować praktycznie nieznieskształconą sieć odlewów naczyń krwionośnych. Wyniki również dokumentowano fotograficznie.

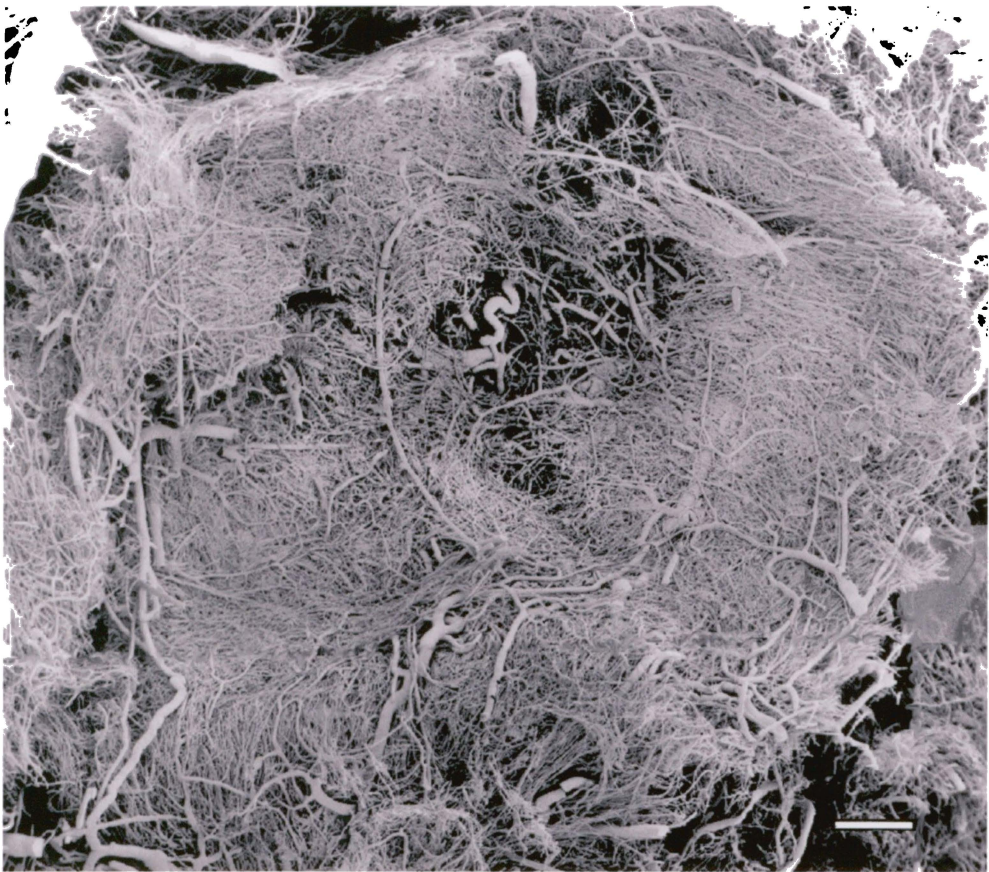


Ryc. 21A. Macica (nr 10) 45-letniej kobiety.

Wysuszony, liofilizowany preparat mikrokorozyjny, przygotowany przy użyciu mieszaniny PEG, napylony złotem. Przekrój strzałkowy przez macicę (połowa lewa) – widok ogólny. **JM** – jama macicy; **D** – dno macicy; **PP** – powierzchnia przednia; **PT** – powierzchnia tylna; **SzM** – szyjka macicy.



Ryc. 21B. Macica (nr 10) 45-letniej kobiety. Wyszuszony, liofilizowany preparat mikrokorozyjny, przygotowany przy użyciu mieszaniny PEG, napyłony złotem (połowa lewa, preparat B; widok od góry) – przekrój poziomy z widocznym makroskopowo (↑) mięśniakiem (M), po napyleniu złotem. O – obrzeże macicy.



Ryc. 22. Macica (nr 8) 60-letniej kobiety.
Ściana wewnętrzna (torebka naczyniowa) mięśniaka – widok ogólny. SEM. Bar = 1000 μm

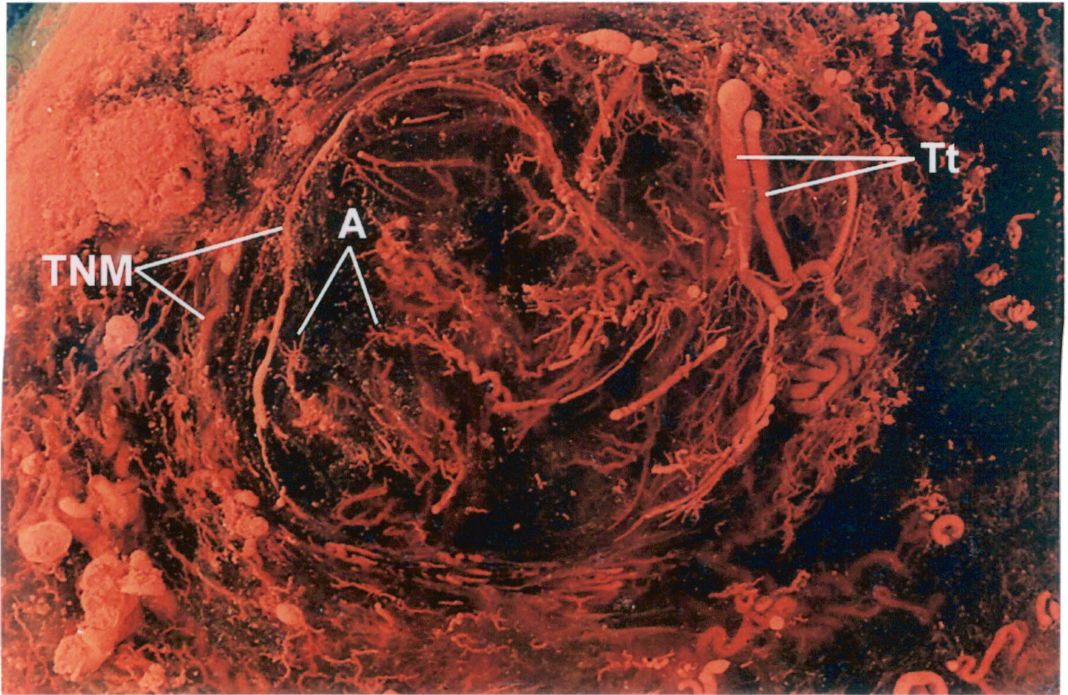
4. WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH

4.1. Obserwacje w mikroskopie optycznym stereoskopowym

Mięśniaki macicy wzrastają najczęściej w obrębie samej mięśniówki względnie na zewnątrz (podsurowicówkowe) lub do wewnątrz (podśluzówkowe) od tej warstwy. W zależności od umiejscowienia guza, w mikroskopii optycznej stereoskopowej dały się zaobserwować, zgodnie z klasyfikacją Falka (Falk P., 1978, 1982), dwa główne układy naczyń zaopatrujących mięśniaki. Podział ten jest oparty na cechach morfologicznych sieci naczyniowej guzów rosnących w sposób egzofityczny (dobrze unaczynionych, zbudowanych z guzków o różnych rozmiarach, wyrastających z podłoża w kierunku na zewnątrz) „do wolnej przestrzeni” tzw. guzów wiotkich, jak np. rak krtani (Miodoński A. J. i wsp., 1992) lub pęcherza moczowego (Miodoński A. J. i wsp., 1997) oraz guzów, które są równie dobrze unaczynione, ale charakteryzują się podwyższonym ciśnieniem śródmiąższowym, jak np. rak nerki (Bugajski A. i wsp., 1989; Miodoński A. J. i wsp., 1992), rozwijających się w obrębie mięszu danego narządu.

W guzach charakteryzujących się podwyższonym ciśnieniem śródmiąższowym („napiętych”), położonych na ogół w obrębie warstwy mięśniowej narządu, były widoczne wiązki naczyń krwionośnych (głównie tętnic) w liczbie od 1 do 3. Zdążyły one w kierunku centrum guza i na swym przebiegu tylko sporadycznie oddawały gałązki boczne. W tego rodzaju guzach uwidaczniał się także układ okalających naczyń powierzchownych, zarówno tętnic jak i żył, zepchniętych na obwód przez rozrastający się guz.

Warto podkreślić jeszcze raz, że naczynia przebiegające przez obszary centralne mięśniaka są nieliczne, natomiast rozrost masy guza zachodzący odśrodkowo wywołuje zagęszczenie sieci naczyń na jego obwodzie w formie „torebki”. Tkanka nowotworowa jest oddzielona od regularnej (choć uciśniętej), prawidłowej tkanki macicznej. Obszary obwodowe guza wykazują większą gęstość naczyń w porównaniu do obszarów położonych centralnie. Centralne obszary guza są słabiej unaczynione przez nieregularnie przebiegające atypowe naczynia o różnym kształcie, średnicy i przebiegu. Śledząc przebieg pojedynczych tętnic w obrębie masy guza obserwuje się mniej lub bardziej liczne odgałęzienia. Niektóre z nich penetrują miąższ mięśniaków głęboko, inne płycej. Widoczne są również gałązki, które łączą się z podobnymi odgałęzieniami naczyń dochodzącymi z innych części guza. Większość tętnic penetrujących masę guza w pobliżu ich dystalnych odcinków, wykazywała obecność kępek drobnych naczyń (Ryc. 23.) podobnych do gałązek odchodzących od tętnic promienistych w endometrium macicy.



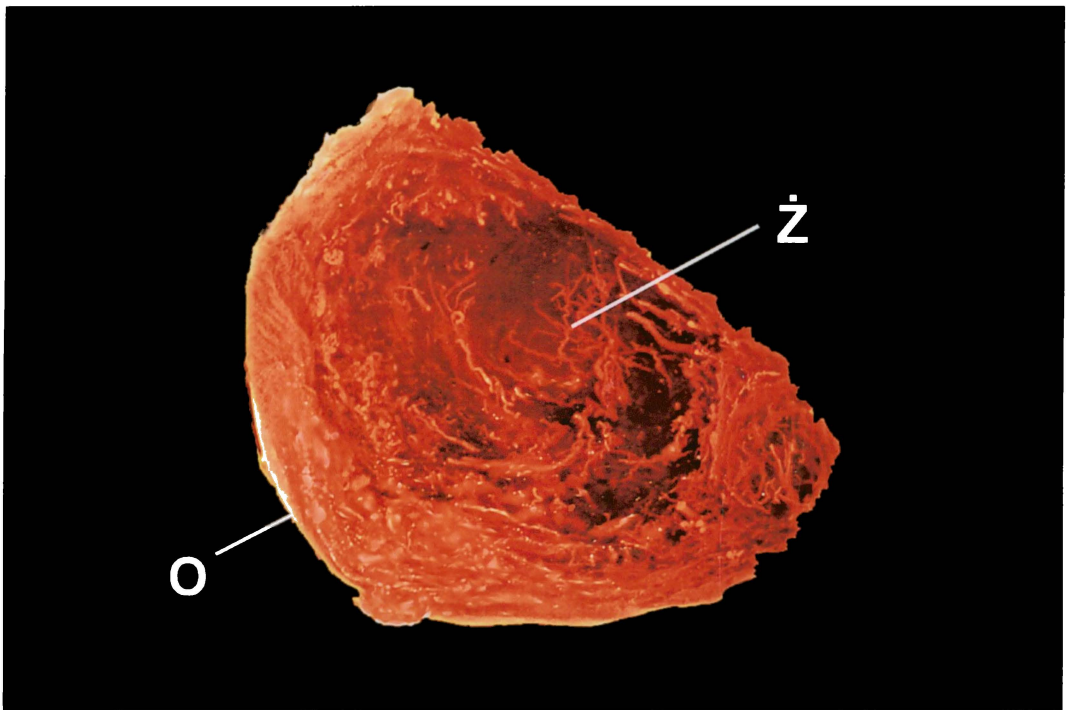
Ryc. 23. Macica (nr 37) 53-letniej kobiety.

Przekrój przez mięśniak macicy (o średnicy 10 mm) wzrastający śródmięśniówkowo. Widoczne dwie tętnice (**Tt**) oddające liczne mniejsze gałęzie do mięszu guza. Na obwodzie zmiany widoczne naczynia o okrężnym przebiegu zgrupowane w formie „pseudotorebki” (**T**). Dość liczne arteriole (**A**) odchodzące od większych tętnic. Preparat nastrzyknięty farbą akrylową (Liquitex R, Binney and Smith, USA) **od strony tętnic**, prześwietlony w salicylanie metylu.

Mikroskop optyczny stereoskopowy PZO typ Mst-130. Pow.10x.

Są to najprawdopodobniej arteriole. Obecność wspomnianych kępek sugeruje, że w mięśniakach występuje łożysko kapilarne, które musi się opróżniać do żył. Dlatego też w oparciu o obraz preparatów oglądanych w mikroskopie optycznym można wnioskować, że system naczyń włosowatych, obecny w masie guza, pośredniczy w wymianie tętniczo-żylną na terenie mięśniaków. Nie dysponujemy dostatecznymi dowodami na to by twierdzić, że ta sama tętnica niesie krew do mięśniaka, a następnie z niego wychodzi, co sugerowali niektórzy wcześniejsi autorzy.

W preparatach, w których nastrzykiwano żyły maciczne daje się zaobserwować obecność tych naczyń na obwodzie, natomiast wyraźnie zmniejsza się ich liczba w częściach centralnych guza. Chociaż w macicy prawidłowej stwierdza się bogatą sieć naczyń żylnych, to tylko nieliczne z nich penetrują w głąb mięśniaków. Unaczynienie żyłne mięśniaków jest zawsze bardzo skąpe w porównaniu z bogatym i rozległym unaczynieniem żylnym prawidłowego myometrium. Należy podkreślić także fakt, że zwłaszcza w większych guzach, tętnice i żyły mają większy kaliber niż w tkance prawidłowej.

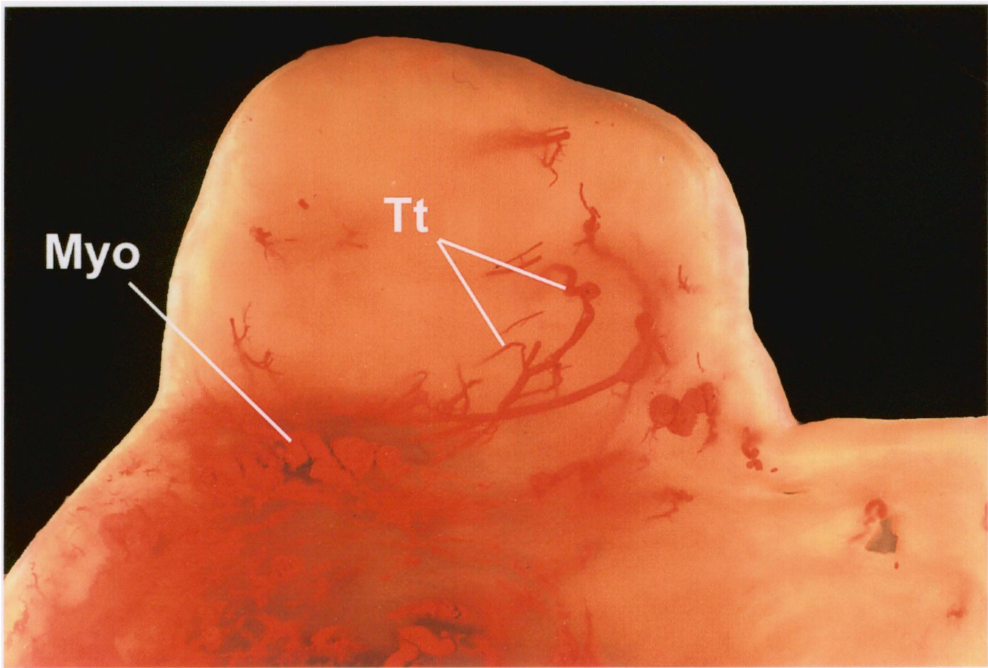


Ryc. 24. Macica (nr 17) 55-letniej kobiety.

Preparat nastrzyknięty **przez żyły maciczne** wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA). Przekrój poprzeczny przez mięśniak o średnicy ok. 7 mm. Zauważalne zmniejszenie gęstości naczyń żylnych (Ż) w centrum zmian. O – obrzeże mięśniaka.

Mikroskop optyczny stereoskopowy PZO typ Mst-130. Pow. 5x.

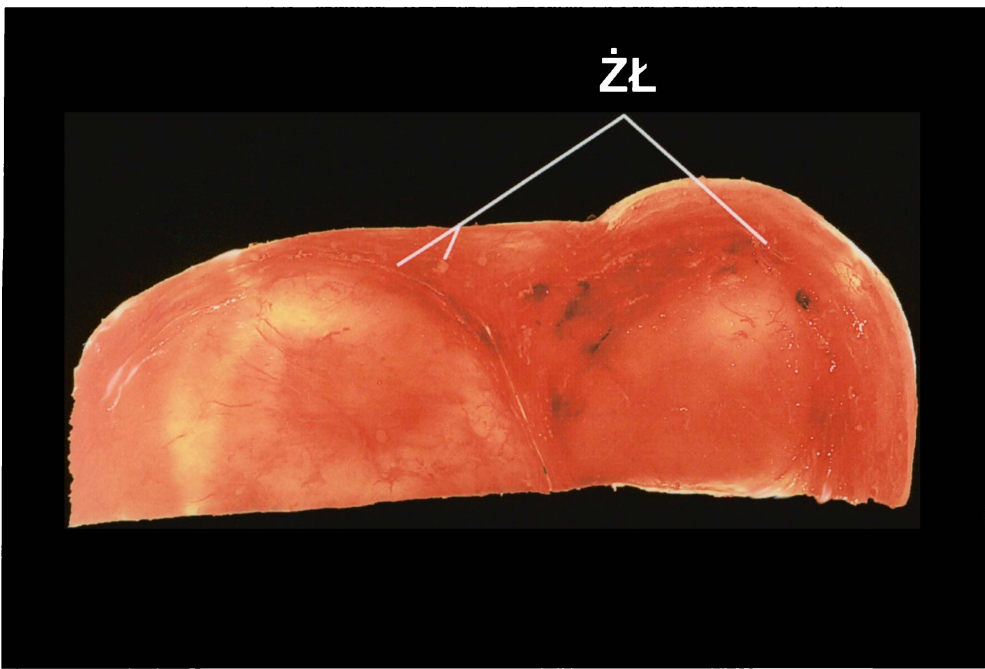
Unaczynienie tętnicze mięśniaków jest najlepiej widoczne w guzach o małych rozmiarach (< 1 cm średnicy), rozwijających się zarówno w mięszu mięśniówki, jak i na zewnątrz od niej. Guzy położone podsurowicówkowo charakteryzowały się obecnością układu naczyń typowych dla guzów egzofitycznych (guzy „wiotkie”, powierzchniowe - nienapięte wg klasyfikacji Falka) w formie „szypuły” naczyniowej złożonej z kilku (1-3) tętnic wyraźnie penetrujących tkankę guza w kierunku najmniejszego oporu tj. zgodnie z odśrodkowym kierunkiem wzrostu mięśniaka. System naczyniowy guzów tego typu jest najprawdopodobniej wynikiem inkorporacji naczyń prawidłowej tkanki macicznej, która znajduje się w bezpośrednim sąsiedztwie mięśniaka. W takich nowotworach obserwuje się brak jakiegoś szczególnego sposobu lub wzoru ułożenia naczyń tętniczych, a ich rozkład sugeruje raczej lokalną ekspansję sieci naczyniowej podsurowicówkowej, niż powstawanie nowej sieci „de novo”. Gęstość sieci tętniczej jest mniejsza niż w otaczającym myometrium, co zostało potwierdzone także obserwacjami histologicznymi.



Ryc. 25. Macica (nr 31) 57-letniej kobiety.

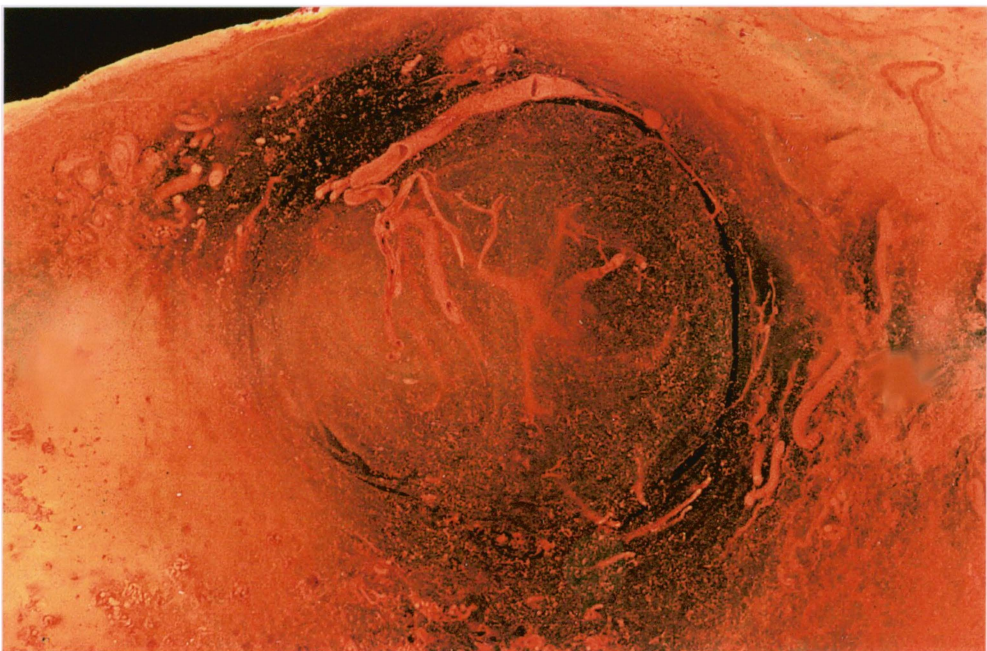
Preparat nastrzyknięty wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA) **od strony tętnic**. Tętnice (**Tt**) małego mięśniaka podsurowicówkowego (o średnicy ok. 8 mm). Na dole fotografii widoczne naczynia prawidłowego myometrium (**Myo**).
Mikroskop optyczny stereoskopowy PZO typ Mst-130. Pow.10 x.

W przypadku dużych mięśniaków podsurowicówkowych zaobserwowano przemieszczenie i zniekształcenie otaczających tętnic łukowatych i promienistych, choć nie stwierdzono ich istotnego poszerzenia. Na ogół nieduża liczba tętnic zaopatrzuje guz, przy czym większość z nich wykazuje przebieg bardziej prosty, w porównaniu z tętnicami w otaczającym myometrium. Tętnice odżywiające mięśniak penetrują jego miąższ w większości przypadków od zewnątrz. Małe naczynia w mięśniaku są na ogół zorientowane zgodnie z przebiegiem włókien mięśniówki gładkiej i dlatego nie wykazują regularnego układu. Podobnie jak w guzach podsurowicówkowych gęstość naczyń tętniczych jest obniżona w porównaniu z otaczającym mięśniak myometrium.



Ryc. 26. Macica (nr 45) 61-letniej kobiety.

Preparat nastrzyknięty wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA) **od strony żył**. Przekrój poprzeczny przez macicę zawierającą dwa mięśniaki (o średnicy 25 i 20 mm). Na obwodzie widoczne „zepchnięte” naczynia (żyły) łukowate (**ŻŁ**).
Mikroskop optyczny stereoskopowy PZO typ Mst-130. Pow. 10 x.



Ryc. 27. Macica (nr 45) 61-letniej kobiety.

Mały mięśniak śródścienny (o średnicy ok. 7 mm). **Naczynia żyłne** nastrzyknięte wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA).
Mikroskop optyczny stereoskopowy PZO typ Mst-130. Pow. 10 x.

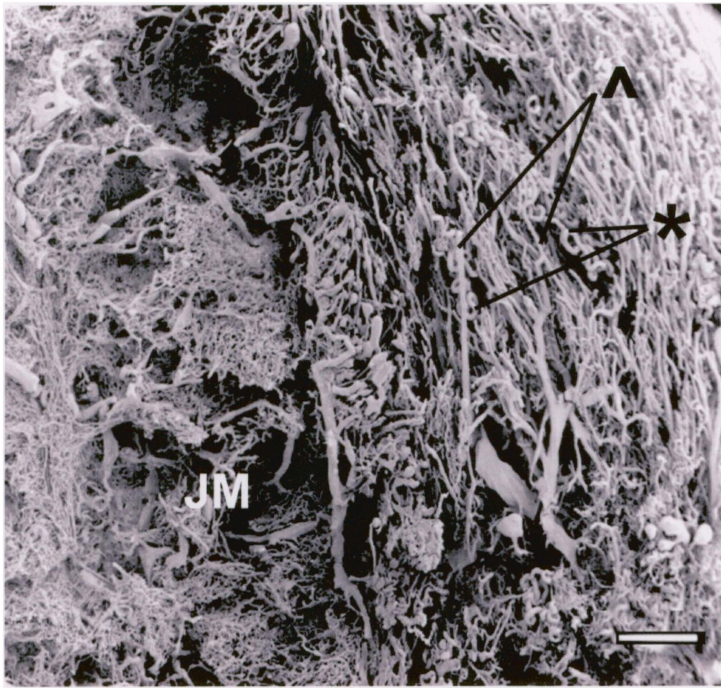
Układ naczyń żylnych w mięśniaku śródściennym rzadko przypomina układ tętnic. W partiach centralnych mięśniaka spotyka się bardzo nieliczne naczynia żyłne o zmiennej średnicy. Może to być wynikiem trudności technicznych, jakie występują przy nastrzykiwaniu żył mięśniaków z uwagi na ich istotnie podwyższone ciśnienie śródmiąższowe w stosunku do otaczającego myometrium (guzy „napięte”). Ucisk, jaki wywiera masa guza na cienkościenne naczynia żyłne w mięśniakach może sprawiać, iż pozostaną nienastrzyknięte.

Mięśniaki śródścienne, zwłaszcza o dużych rozmiarach, powodują znaczące zmiany w układzie naczyń żylnych zarówno endometrium, jak i myometrium. Sploty żyłne, złożone z licznych dopływów żył łukowatych, położone obwodowo w stosunku do mięśniaka podlegają z jednej strony uciśnięciu, co powoduje spłaszczenie średnicy naczyń, a z drugiej wykazują miejscowe poszerzenia (rozdęcia) w sąsiednim jego odcinku. Podobnie poszerzone są żyły drenujące 1/3 wewnętrzną myometrium oraz sploty żyłne w endometrium, które wykazują cechy przekrwienia i wyraźnie powiększają swoją objętość.

4.2. Obserwacje w mikroskopie skaningowym (SEM)

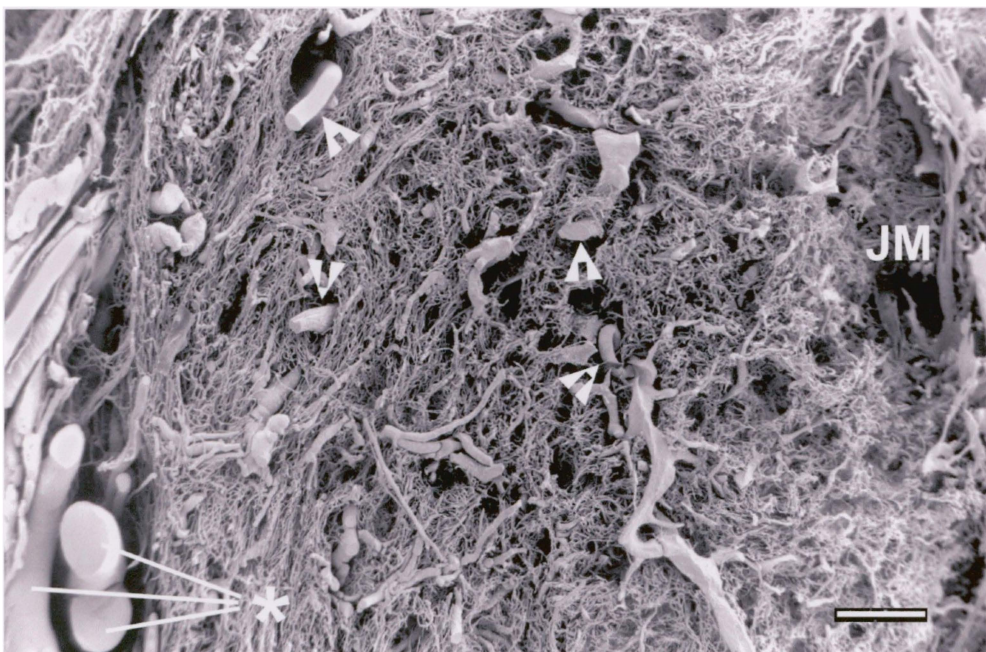
Technika mikrokorozi pozwala obserwować łożysko naczyniowe macicy w sposób trójwymiarowy. W momencie przygotowywania preparatu, tj. nastrzykiwania macicy Mercoxem, daje się zaobserwować efekt opisywany w literaturze, a polegający na wypełnieniu się łożyska naczyniowego całego narządu nawet, jeśli nastrzykiwanie wykonano tylko poprzez jedno, ewentualnie dwa naczynia zaopatrujące po jednej ze stron macicy. Świadczy to o istnieniu licznych anastomoz, które łączą wzajemnie między sobą gałęzie naczyń macicznych jednostronnie, a także gałęzie prawej i lewej połowy narządu. Zjawisko to było znamienne w przypadku nastrzykiwania narządu zarówno poprzez tętnice maciczne jak i tętnice jajnikowe niezależnie od strony, po której te naczynia wykorzystano do wypełnienia systemu naczyniowego macicy.

Jeżeli chodzi o unaczynienie prawidłowe macicy, to na przekrojach poprzecznych obejmujących tak przednią, jak i tylną ścianę narządu widoczne są liczne tętnice łukowate, biorące swój początek z gałęzi wstępujących i zstępujących tętnic macicznych.



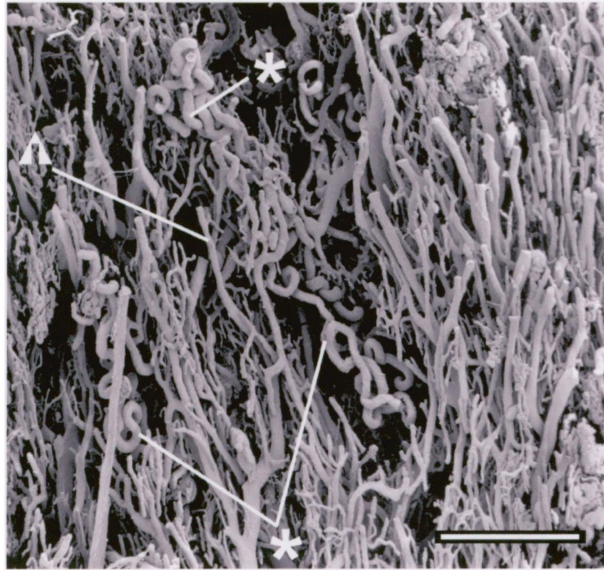
Ryc. 28. Macica prawidłowa (nr 5) 22-letniej kobiety.

Preparat mikrokorozyjny – przekrój czołowy (połowa tylna). Z prawej strony tętnice spiralne (*) i proste (▲). Centralnie: fragment jamy macicy (JM) wyścielony podśluzówkowym splotem naczyń włosowatych. SEM. Bar = 1000 μm .



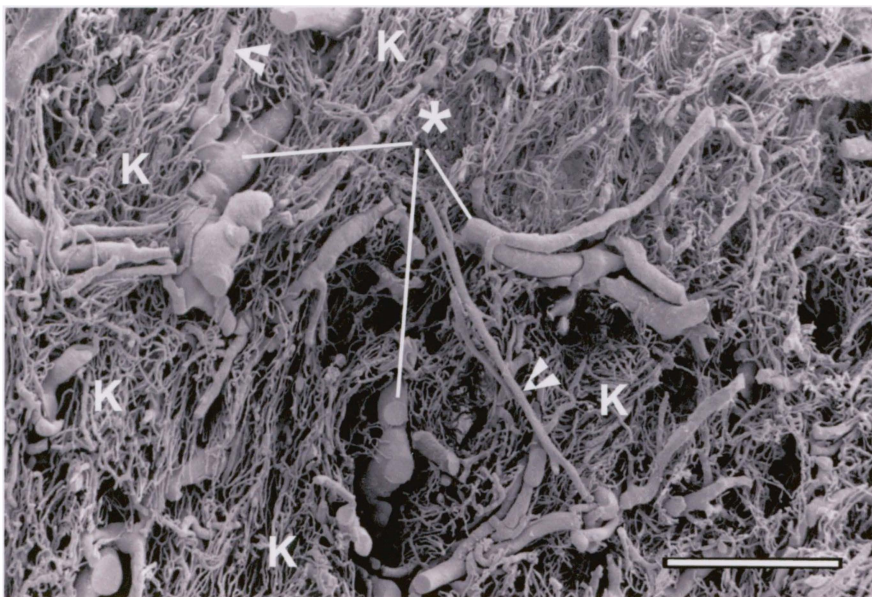
Ryc. 29A. Macica prawidłowa (nr 5) 22-letniej kobiety.

Preparat mikrokorozyjny – przekrój czołowy (połowa tylna). Z lewej strony przekroje naczyń strefy łukowatej (*) (o średnicy 220-720 μm). Centralnie – naczynia warstwy promienistej macicy (▲). Po prawej stronie fragment światła jamy macicy (JM). SEM. Bar = 1000 μm .

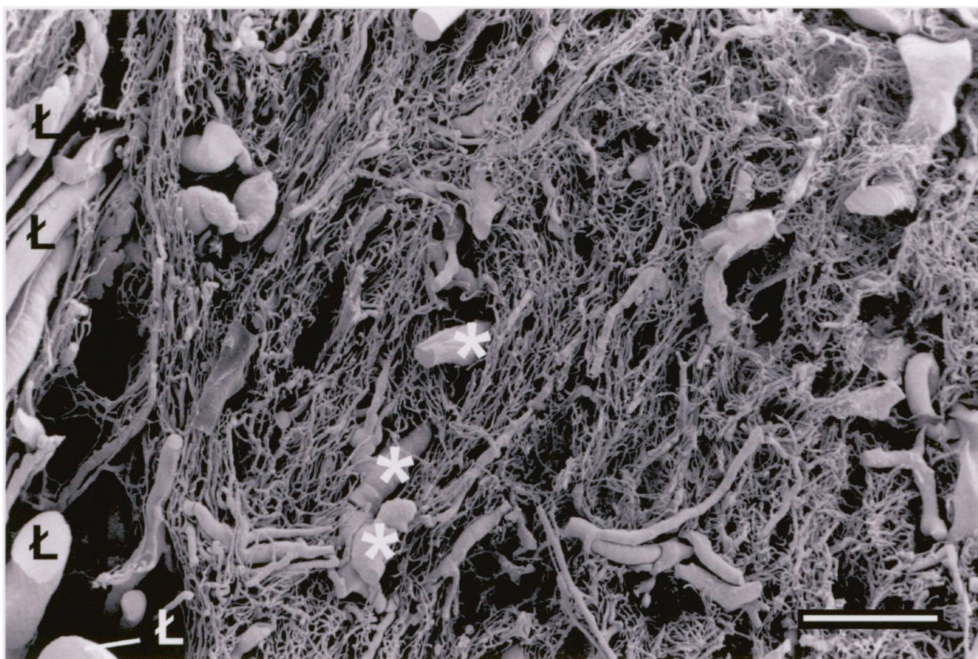


Ryc. 29B. Tętnice spiralne (★) i proste (▲) (ok. 70 μm). SEM. Bar = 1000 μm .

Naczynia odchodzące od tętnic łukowatych tj. tętnice promieniste nie wykazują jakiegoś wyraźnego uporządkowania względnie wzorca, lecz odchodzą od nich w sposób zdecydowanie przypadkowy. Niektóre z tych gałęzi, o większej średnicy, wykazywały raczej szeroki zakres unaczynienia, natomiast gałęzie o mniejszym kalibrze miały zasięg zaopatrzenia niezbyt duży. Odchodzące od tętnic łukowatych gałęzie promieniste penetrowały w głąb myometrium. Co więcej, na całej grubości mięśniówki macicy stwierdzono obecność bardzo bogatego splotu naczyń włosowatych, który tworzył sieć naczyń pobocznych unaczyniających pozostałe warstwy macicy. Zaobserwowano także obecność tętniczek spiralnych.

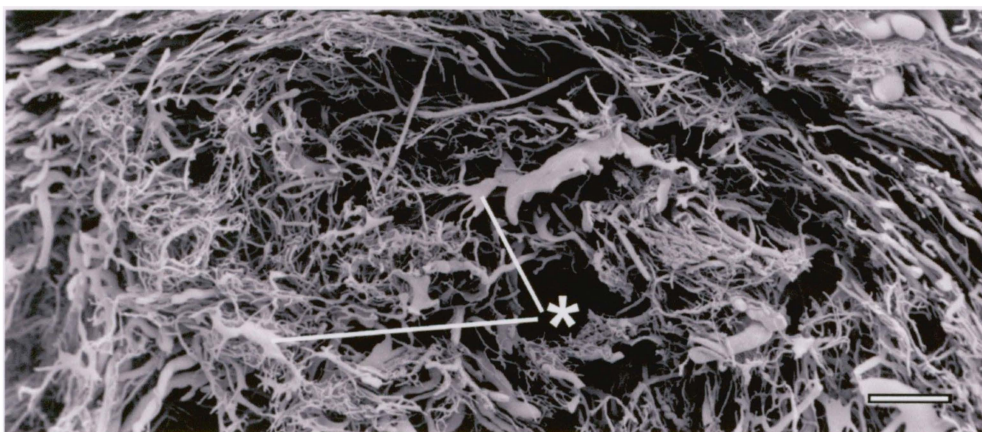


Ryc. 30A. Macica prawidłowa (nr 5) 22-letniej kobiety. Preparat mikrokorozyjny – przekrój czołowy (połowa tylna). Tętnice promieniste (★) i proste (▲) w myometrium. Naczynia włosowate (K) w mięśniówce macicy. SEM. Bar = 1000 μm .



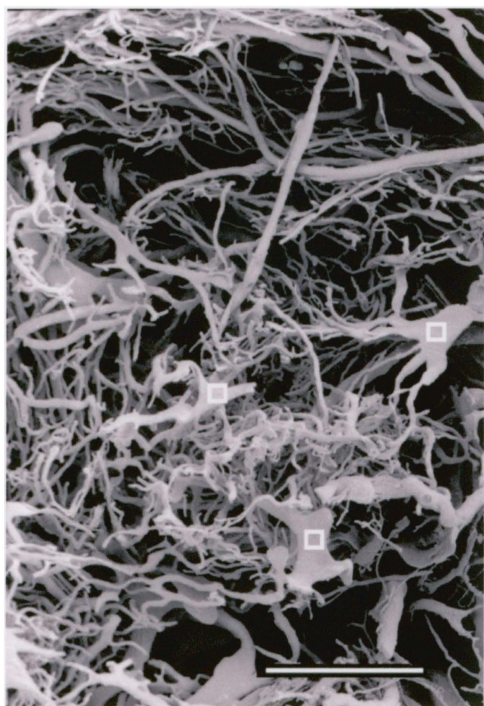
Ryc. 30B. Po lewej stronie strefa naczyń łukowatych (L), oraz odchodzące od nich naczynia promieniste (*). SEM. Bar = 1000 μm .

Naczynia żyłne na ogół towarzyszyły przebiegającym przez mięsz macicy tętnicom. Zaobserwowano także obecność spłaszczonych, palczasto rozgałęzionych poszerzeń naczyń żylnych o rozmiarach 150 x 300 μm , z którymi łączyły się żyłki (o średnicy 35-65 μm) lub naczynia włosowate (o średnicy około 16 μm). Opisywane twory są najprawdopodobniej tzw. jeziorzami żylnymi.

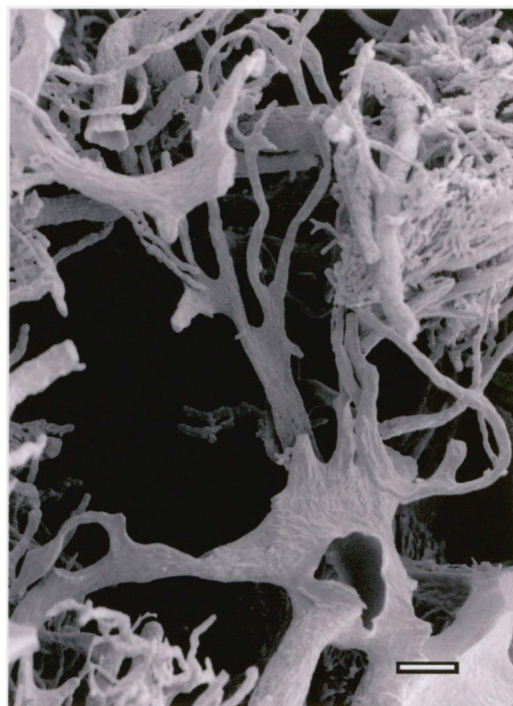


Ryc. 31A. Macica (nr 10) 45-letniej kobiety.

Preparat mikrokorozyjny – połowa lewa (preparat B). „Jeziorzka żyłne” (ok. 230 x 390 μm) (*) – widok ogólny. SEM. Bar = 1000 μm .

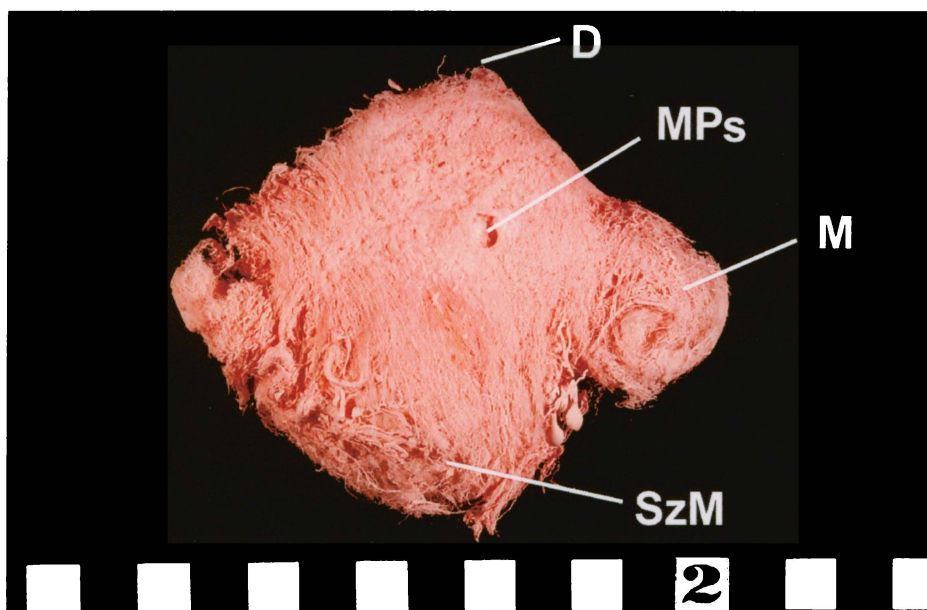


Ryc. 31B. „Jeziorko żylne” (□) z uchodzącymi do niego naczyniami włosowatymi i małymi żyłkami (35 - 80 μm). SEM. Bar = 1000 μm.



Ryc. 32. Macica (nr 9) 46-letniej kobiety. Preparat mikrokorozyjny – połowa prawa. „Jeziorko żylne” (ok. 420 μm) z uchodzącymi do niego kapilarami i drobnymi żyłkami. SEM. Bar = 100 μm.

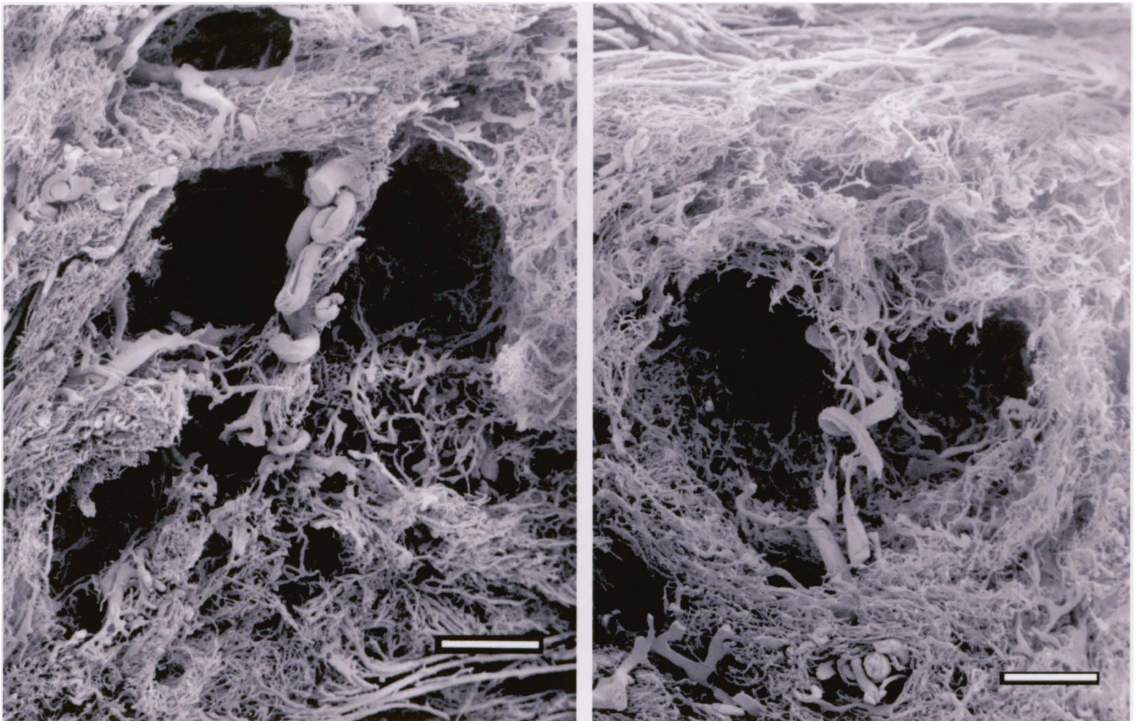
W dostępnym materiale nie udało się uzyskać odlewów sieci naczyniowej mięśniaków położonych powierzchownie. W czasie przygotowywania preparatów sieć naczyniowa tych guzów, bardzo wiotka, ulegała wykruszeniu, pozostawiając jedynie ślad w postaci zagłębień widocznych makroskopowo na powierzchni macic.



Ryc. 33. Wyszuszony, liofilizowany preparat mikrokorozyjny macicy mięśniakowatej (nr 2) – powierzchnia tylna. Z prawej strony duży mięśniak (M) o wymiarach 41 x 36 x 21 mm. Na tylnej ścianie trzonu widoczne zagłębienie (MPs) (o średnicy ok. 4 mm) po drobnym, podsurowicówkowym mięśniaku. D – dno macicy; SzM – szyjka macicy.

W unaczynieniu mięśniaków śródmięszkowych da się wyróżnić dwa podstawowe typy układu naczyń:

1. Mięśniaki z obecnymi centralnie kilkoma tętnicami (2-5), które oddają nieliczne gałęzie penetrujące na głębokość około 2/3 średnicy guza oraz znacznie bogatszym unaczynieniem obwodowym pochodzącym od dość licznych tętnic występujących w „torebce” guza i penetrujących tylko nieznacznie jego miąższowość.
2. Mięśniaki o nieregularnym zaopatrzeniu tętniczym, które nie wykazują przedstawionego powyżej układu naczyń.



Ryc. 34A, 34B. Preparaty mikrokorozyjne.

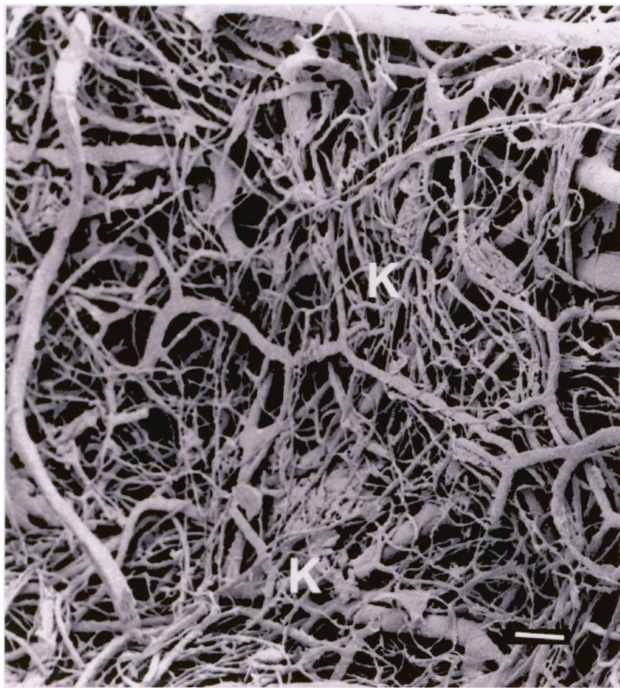
Zagłębienia mięśniakowe z wiązkami dużych naczyń (160-230 μm) penetrujących je.
SEM. Bar = 1000 μm .



Ryc. 35. Dno zagłębienia mięśniakowatego (mięśniak zlokalizowany z myometrium).

Widoczne tętnice (140-160 μm) zaopatrujące miąższ guza (*). Wokół sieć naczyń włosowatych. U góry z prawej strony widoczne naczynia żyłne (120-150 μm) z dopływami ($\blacktriangle$). Bar = 1000 μm .

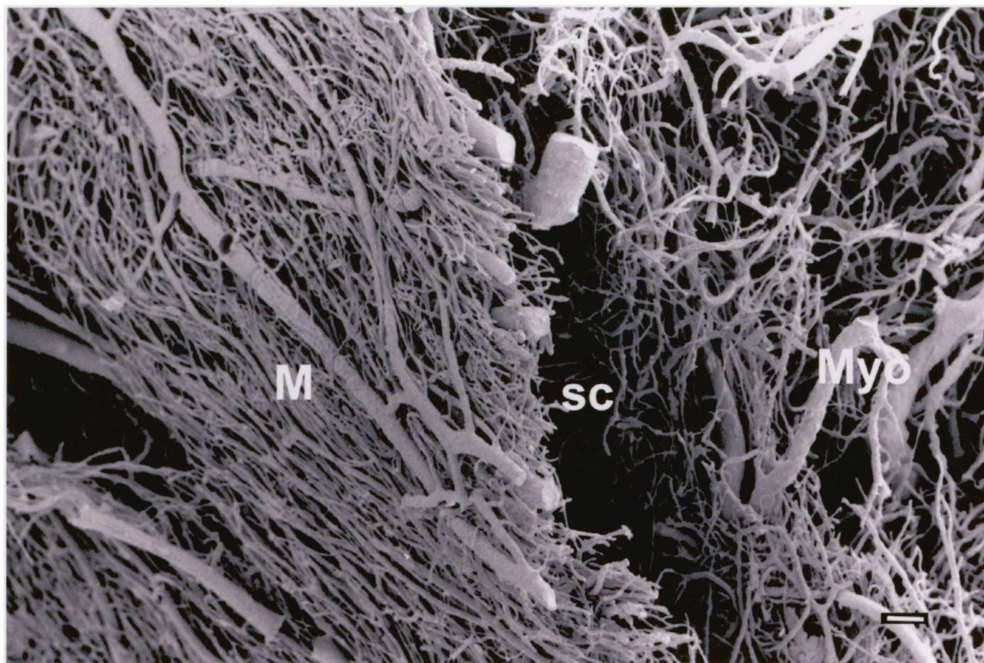
Preparaty korozyjne układu naczyniowego mięśniaków macicy wykazują nieregularną dystrybucję i gęstość atypowych naczyń krwionośnych. Naczynia te, głównie naczynia włosowate, są szczególnie obfite w partiach obwodowych guza. Mają one postać kępek naczyń.



Ryc. 36. Macica (nr 8) kobiety 60-letniej.

Preparat mikrokorozyjny – przekrój czołowy (połowa tylna). Sieć naczyń włosowatych w ścianie mięśniaka macicy (K). SEM. Bar = 100 μm .

W porównaniu z tkanką prawidłową generalnie unaczynienie mięśniaków charakteryzuje się zmniejszeniem gęstości występowania naczyń na obszarze guza. Daje się to zwłaszcza dobrze zauważyć w miejscach przejścia tkanki prawidłowej w tkankę nowotworową, gdzie w obrazie mikroskopowym niejednokrotnie występuje beznaczyniowa szczelinka, oddzielająca obie struktury między sobą.



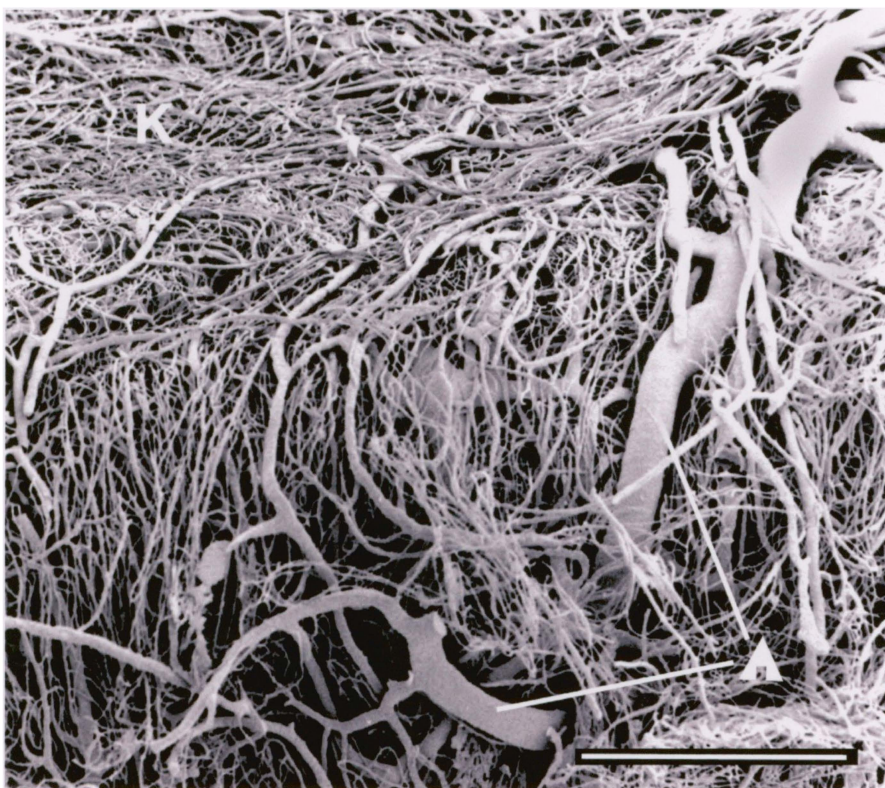
Ryc. 37. Macica (nr 8) kobiety 60-letniej.

Preparat mikrokorozyjny – przekrój czołowy (połowa tylna). Beznaczyniowa szczelina (sc) między mięśniakiem (M) - z lewej strony, a prawidłową mięśniówką macicy (Myo) pod dużym powiększeniem. SEM. Bar = 100 μ m.

Układ naczyń w tkance zdrowej myometrium jest niejako wymuszony przez przebieg włókien mięśniówki gładkiej, natomiast w mięśniakach sytuacja wygląda inaczej.

W obrazie mikroskopowym (powiększenie 10 x) daje się zaobserwować obecność kilku pojedynczych większych naczyń (2-5) penetrujących centralnie tkankę guza (głównie tętnic) oraz gęstą sieć naczyń zepchniętych na obwód przez masę wzrastającego guza, a także rozplem tkanki łącznej. W preparatach mikrokorozyjnych niejednokrotnie obserwuje się cały szereg zagłębień wywołanych obecnością zbitej masy guza. Dna tych zagłębień wyściela gęsta siateczka zbudowana z naczyń krwionośnych o małym kalibrze.

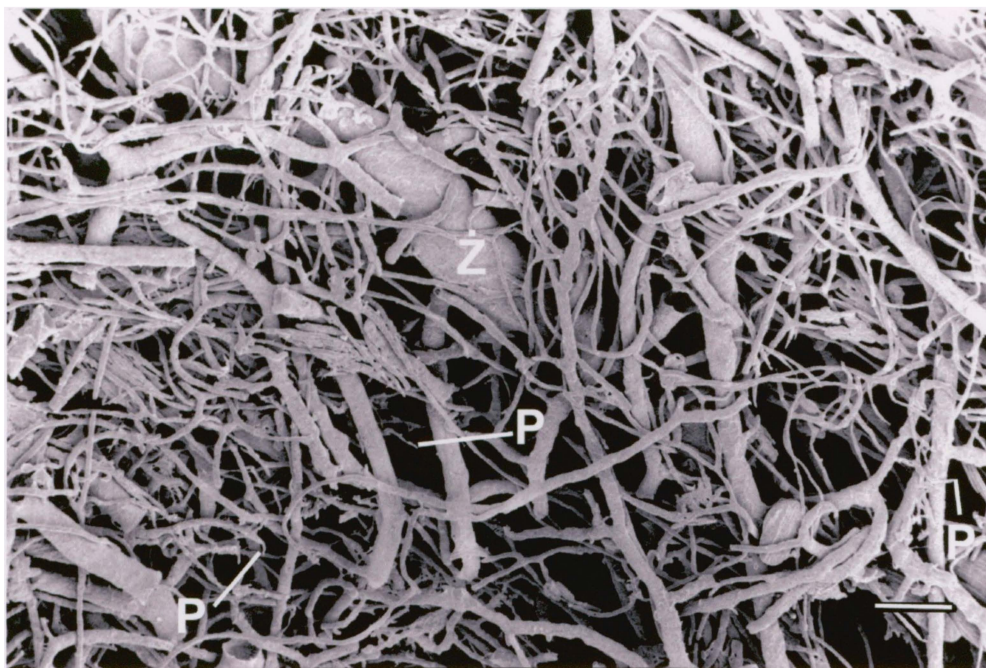
W obrazie z SEM, oprócz obecnych w centrum masy mięśniaków naczyń tętniczych, zauważa się także, już pod powiększeniem 55-100 x, wyraźne cechy replik komórek śródbłonka o kształcie heksagonalnym (podobnych do kory „starego drzewa”) charakterystycznych dla naczyń żylnych. Również bogata sieć naczyń włosowatych, wydaje się przemawiać za ewentualnym istnieniem żył w mięśniakach.



Ryc. 38. Macica (nr 8) 60-letniej kobiety.

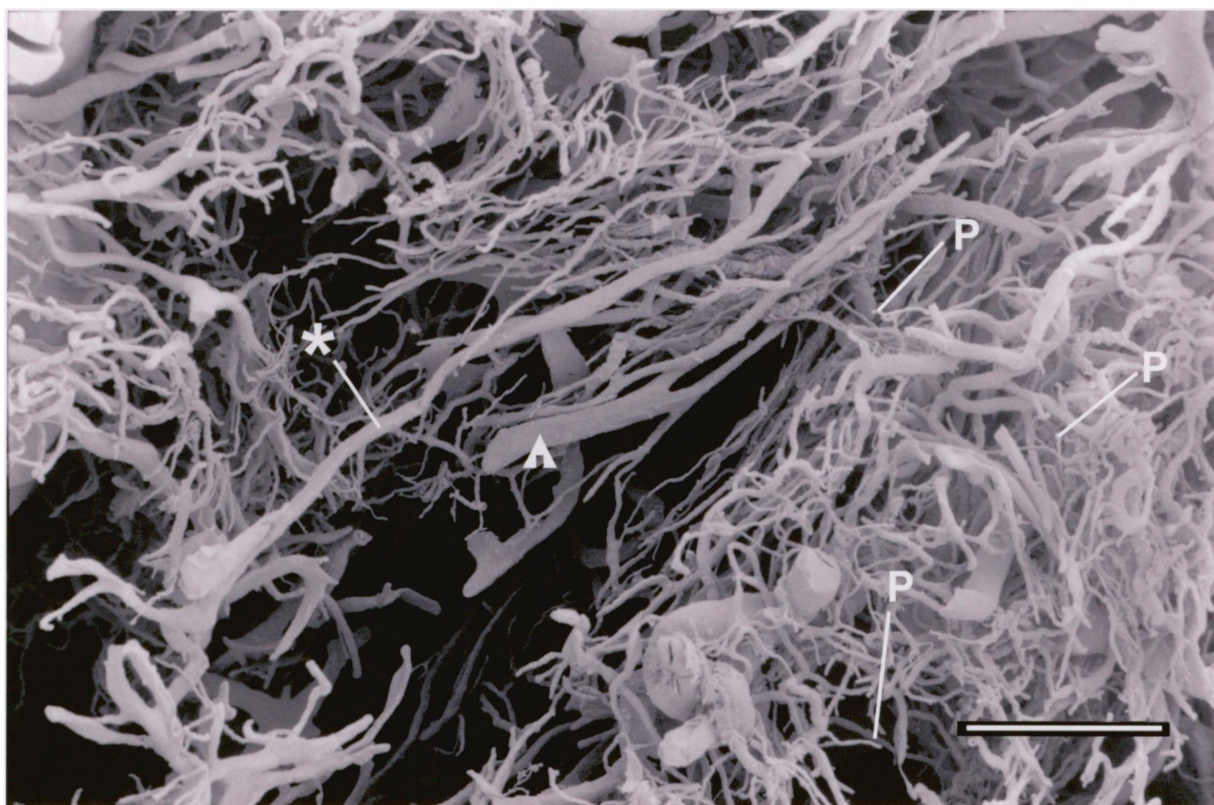
Preparat mikrokorozyjny – przekrój czołowy (połowa tylna). Sieć naczyń włosowatych (K) w ścianie mięśniaka. W dnie zagłębienia widoczne naczynia żyłne (▲) z dopływami. SEM. Bar = 1000 μm .

Angioarchitektonika guzów nie wykazywała generalnie określonego uporządkowania i była zdecydowanie nieregularna, co było spowodowane nie tylko ekspansywnym wzrostem gęsto upakowanych komórek nowotworowych, ale także procesem angiogenezy. Powierzchnie odlewów żyłek, a zwłaszcza kapilar wykazywały obecność licznych krótkich pączków naczyniowych, o różnym kształcie i średnicy. W dostępnym materiale nie zauważono fuzji pączków naczyniowych. Obserwowano dość liczne obszary pozbawione naczyń krwionośnych, jak również liczne wynaczynienia. Na obwodzie mięśniaka stwierdzono obecność żyłek i arterioli, natomiast w partiach centralnych zmiany widoczne były kapilary (o średnicy 4 – 20 μm .), które intensywnie łączyły się ze sobą. W dostępnym materiale nie zauważono występowania zespołów tętniczo-żylnych na terenie guzów.



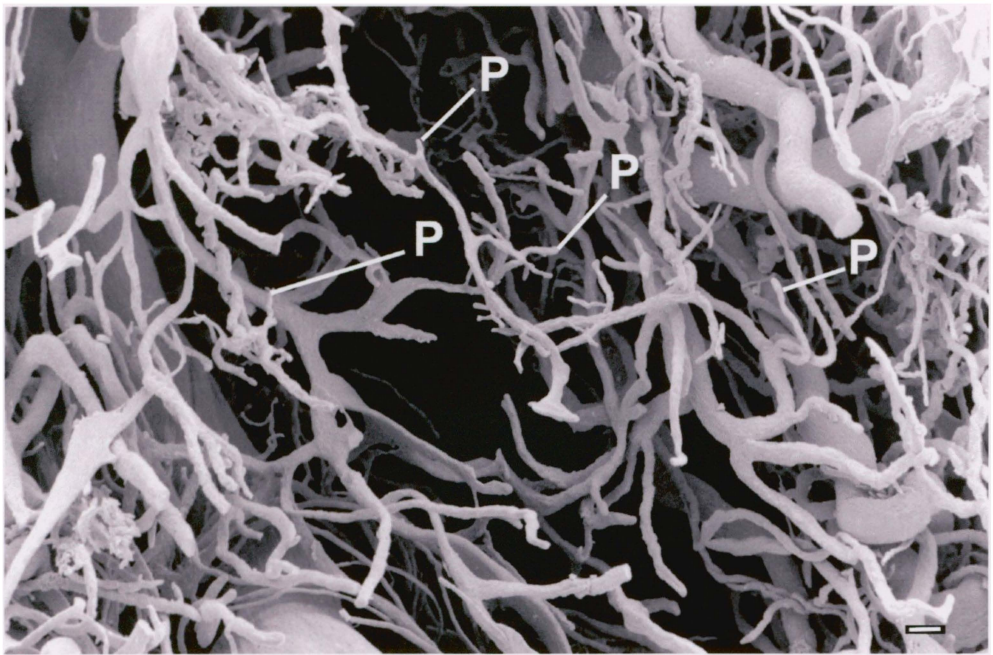
Ryc. 39A. Macica (nr 8) 60-letniej kobiety.

Preparat mikrokorozyjny – przekrój czołowy (połowa tylna). Sieć naczyń włosowatych w ścianie mięśniaka pod dużym powiększeniem. Centralnie widoczna żyła (Ż) z dopływami. Pęczki naczyniowe (P). SEM Bar = 100 μ m.

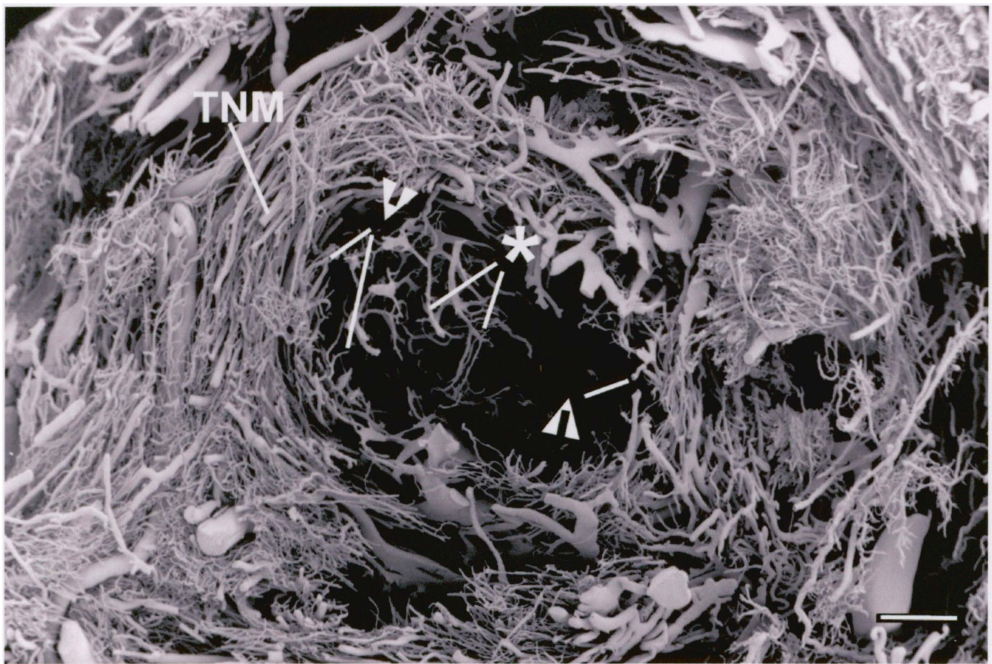


Ryc. 39B. Macica (nr 10) 45-letniej kobiety.

Preparat mikrokorozyjny – przekrój poprzeczny (preparat B). Zagłębienie mięśniakowe. Tętnice (★) i żyły (▲) penetrujące z obrzeża w głąb mięśniaka. Sieć naczyń włosowatych. Pęczki naczyniowe (P). SEM. Bar = 1000 μ m.

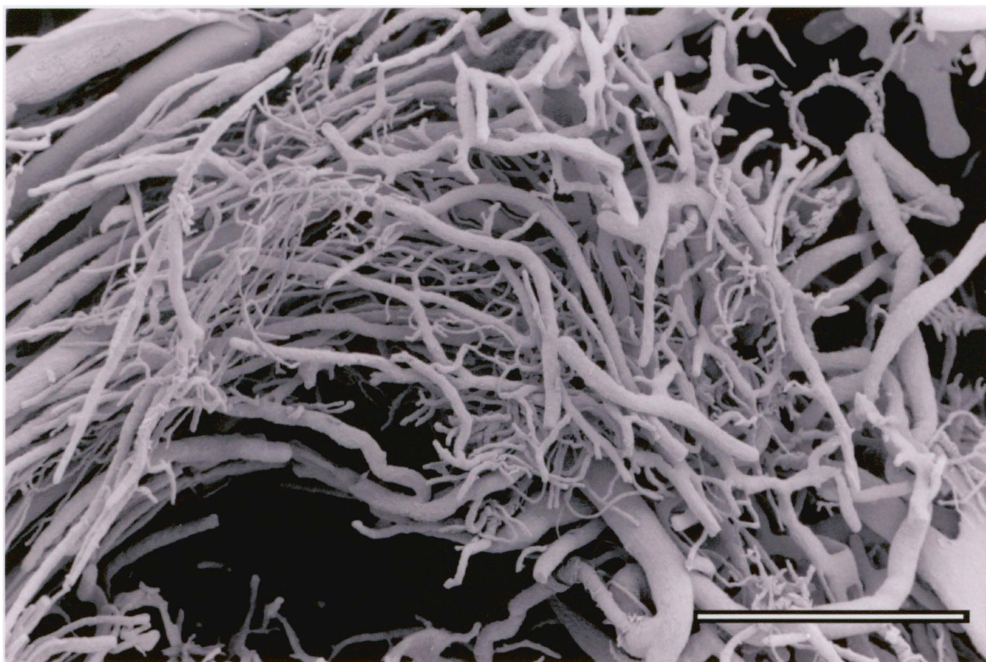


Ryc. 39C. Sieć naczyń włosowatych z poprzedniej fotografii.
Pęczki naczyniowe (P). SEM. Bar = 100 μm .

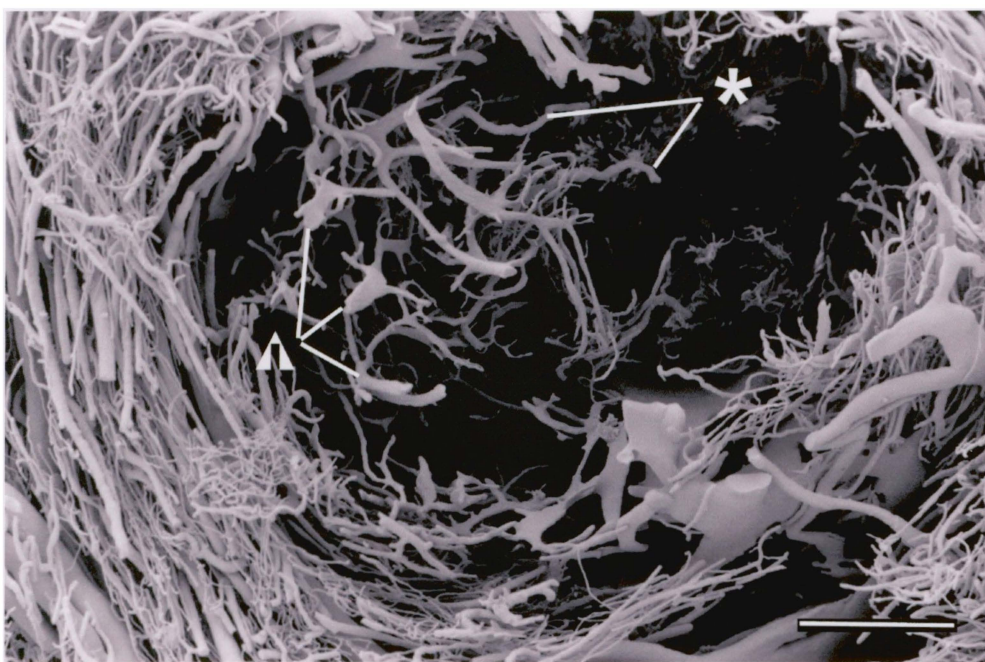


Ryc. 40A. Macica (nr 10) kobiety 45-letniej.

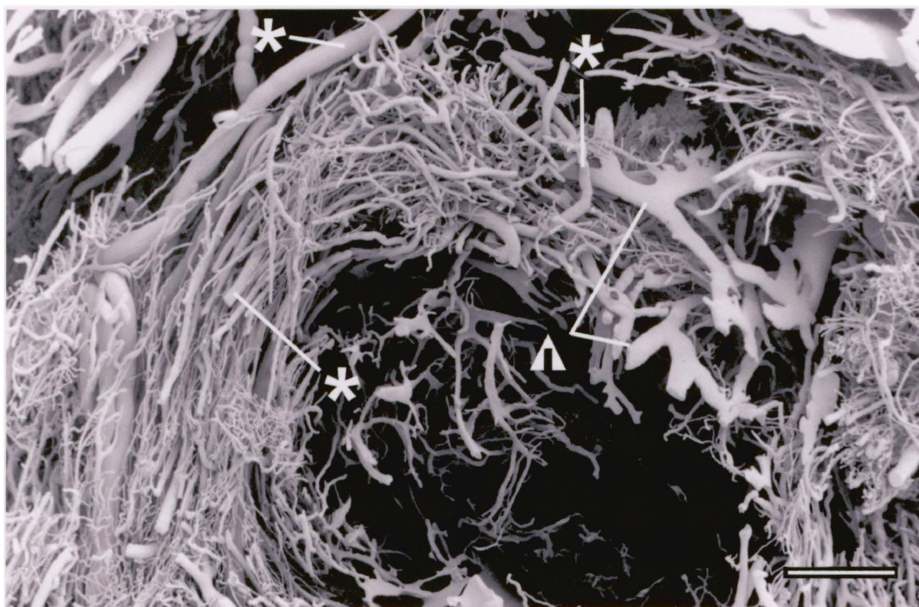
Preparat mikrokorozyjny – przekrój poprzeczny (preparat C). Obszar małego mięśniaka o średnicy ok. 8 mm – widok ogólny. Naczynia „torebki” naczyniowej (TNM) o układzie okrężnym i odchodzące od nich gałęzie, wnikające do mięszu guza (▲). Duże naczynia penetrujące głęboko mięsz zmiany (*). SEM. Bar = 1000 μm .



Ryc. 40B. Naczynia pseudotorebki guza pod dużym powiększeniem.
Widoczne drobne gałązki wnikające w miąższ mięśniaka na niewielką głębokość.
SEM. Bar = 1000 μm .



Ryc. 40C. Żyły ($\blacktriangle$) i tętnice ($\star$) wnikające głęboko w miąższ guza. SEM. Bar = 1000 μm .



Ryc. 40D. Tętnice (★) i żyły (▲) obrzeża mięśniaka. SEM. Bar = 1000 μm .

Zaobserwowano także obecność licznych artefaktów, takich jak: niepełna korozja, niecałkowicie wypełnione naczynia oraz wynaczynienia (ekstrawazaty).

Technika mikrokorozyjna nie jest wolna od obecności na powierzchni preparatów pozostałości tkanek, identyfikowanych jako zmumifikowane komórki śródbłónka, pericyty lub włókna mięśni gładkich, względnie inne drobne zanieczyszczenia. Należy podkreślić, że żaden z badanych w SEM preparatów nie był całkowicie wolny od niewytrawionych tkanek. Najczęściej spotykaną pozostałością nieskorodowanych tkanek stanowiły jądra komórek endotelium tętnic.

Obecność niecałkowicie wypełnionych naczyń dała się zaobserwować we wszystkich przebadanych preparatach. Można je było podzielić na dwie grupy: odlewy naczyń kończące się ślepo oraz miejscowe defekty w odlewach naczyń. Defekty lokalne miały formę półkoli-
stych ubytków w masie wypełniającej naczynie („skóra lamparcia”) lub objawiały się miejscowym brakiem wycisków komórek śródbłónka (co najczęściej jest spowodowane przy-
ściennym przepływem rozpuszczalnika oraz osiowo biegnącym strumieniem żywicy).

Z kolei wynaczynienia, które obserwowano, były wynikiem albo zbyt wysokiego ciśnie-
nia podczas nastrzykiwania preparatu żywicą albo lizy łożyska naczyniowego narządu pobie-
ranego w czasie sekcji, a zatem po upływie pewnego czasu od chwili zgonu. Ekstrawazaty
najczęściej były obserwowane w sieci kapilarnej endometrium i miały formę kulistych mas
żywicy biorących swój początek z naczyń (ze ścian bocznych kapilar lub też ich zakończeń).
Inne wynaczynienia dały się zauważyć w naczyniach żylnych; miały one najczęściej formę
płaskich taśmowatych odlewów.

4.3. Obserwacje w preparatach histopatologicznych

W skrawkach barwionych hematoksyliną i eozyną pod mikroskopem dają się zaobserwować pojedyncze, miernie poszerzone naczynia (bez ekstrawazatów), o cienkich ścianach, biegnące na ogół w przegrodach łącznotkankowych, które znajdują się na obszarze guza. Jedyne nieliczne naczynia mają bezpośredni kontakt z masami guzowymi, to znaczy penetrują do wewnątrz utkania nowotworu. Daje to podstawę do sądu o bardzo słabym unaczynieniu mięśniaków i stąd skłonności do powstawania lokalnych martwic, zwłaszcza na obszarze dużych guzów. Słabe unaczynienie mięśniaków, obserwowane w preparatach histopatologicznych może być także wynikiem miernej penetracji farb akrylowych do wnętrza znacznie uciśniętych naczyń.



Ryc. 41. Macica (nr 1) 46-letniej kobiety.

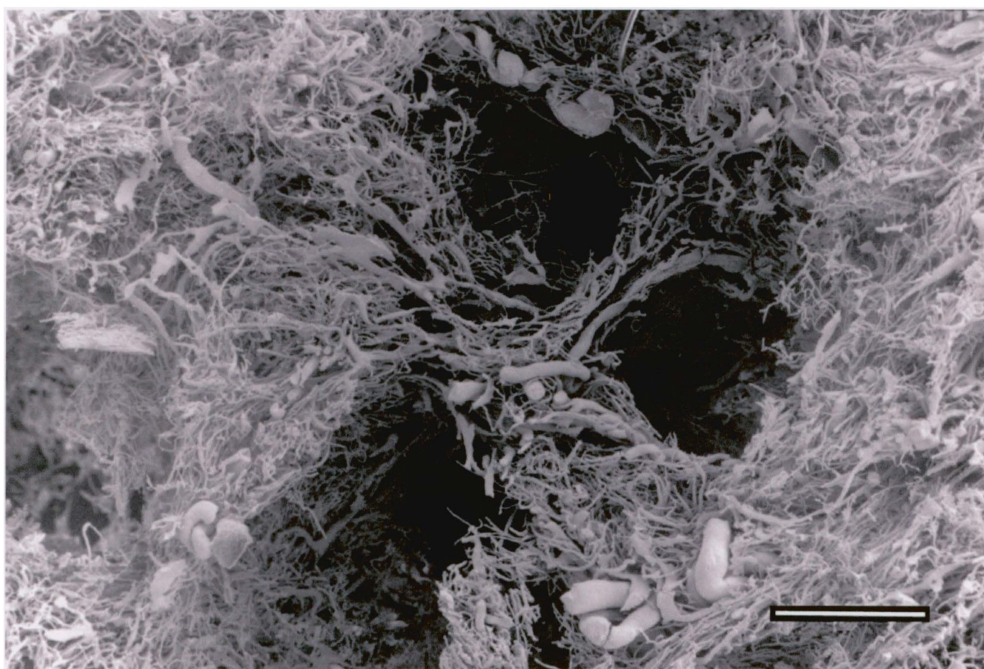
Obraz histologiczny. Obrzeże mięśniaka gładkokomórkowego macicy.

U dołu widoczne duże **naczynie tętnicze** wypełnione wodnym roztworem farby akrylowej (Liquitex R, Binney and Smith, USA). W kierunku centrum guza widoczne drobniejsze tętnice. HE. Pow. 20 x.



Ryc. 42. Macica (nr 4) 71-letniej kobiety.

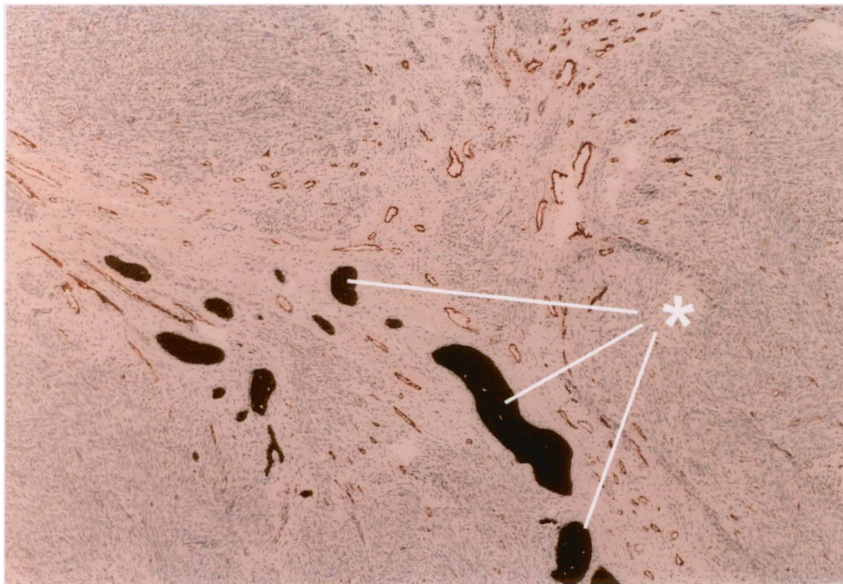
Obraz histologiczny. Z prawej strony obrzeże (O) mięśniaka gładkokomórkowego macicy z dużymi **naczyniami żylnymi**, wypełnionymi wodnym roztworem farby akrylowej (Liquitex R, Binney and Smith, USA). Na lewo oraz ku górze widoczne drobniejsze żyły (Ż) penetrujące masę guza poprzez przegrody łącznotkankowe w jego obrębie. HE. Pow. 20 x.



Ryc. 43. Macica (nr 9) 46-letniej kobiety.

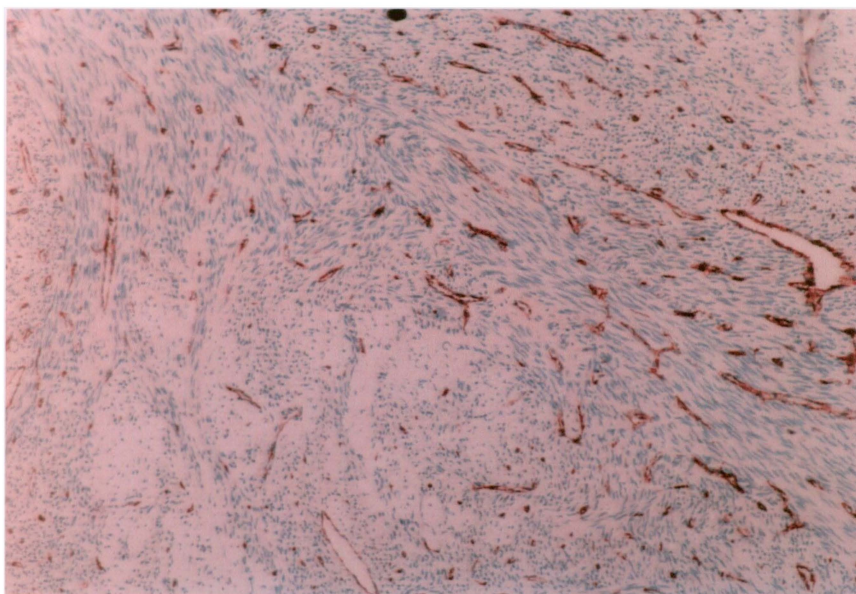
Preparat mikrokorozyjny – lewa połowa. Naczynia przegród łącznotkankowych rozdzielających zagłębienia mięśniakowe. Obraz analogiczny do układu przegród obserwowanych na fotografii powyżej. SEM. Bar = 1000 μ m.

W skrawkach przygotowanych przy użyciu odczynu immunohistochemicznego na czynnik von Willebrandta zaobserwowano pod mikroskopem oprócz wypełnionych farbami akrylowymi naczyń tętniczych, inne liczne naczynia o małej średnicy (niewypełnione), zawarte głównie w przegrodach zrazów mięśniaków oraz bogatą siatkę naczyń włosowatych w utkaniu mięśniaków gładkokomórkowych.



Ryc. 44. Macica (nr 33) 51-letniej kobiety.

Obraz histologiczny. Oprócz większych naczyń tętniczych (*) wypełnionych wodnym roztworem farb akrylowych (Liquitex R, Binney and Smith, USA), widoczne liczne, drobne, niewypełnione tętnice, głównie w przegrodach zrazów mięśniaka. Odczyn immunohistochemiczny na czynnik von Willebrandta. Pow. 40 x.



Ryc. 45. Macica (nr 33) 51-letniej kobiety.

Obraz histologiczny. Bogata siatka niewypełnionych naczyń włosowatych w utkaniu mięśniaka gładkokomórkowego macicy. Odczyn immunohistochemiczny na czynnik von Willebrandta. Pow. 80 x.

5. DYSKUSJA

Badania nad unaczynieniem guzów nowotworowych mają długą historię. Prawdopodobnie pierwszym, który przedstawił opis unaczynienia nowotworu był C. Thiersch (1865). Natomiast pierwszym badaczem pracującym nad guzami eksperymentalnie przeszczepianymi szczurom był W. H. Lewis (Lewis W. H., 1927). To właśnie on, ponad 70 lat temu sformułował dwa istotne wnioski na temat unaczynienia nowotworów:

1. Każdy rodzaj guza ma swój własny, szczególny typ układu naczyń.
2. Przebieg naczyń krwionośnych nie determinuje wzrostu guza, lecz to guz ma wpływ na wzrost i strukturę swojego układu naczyniowego.

Wnioski te są aktualne do dnia dzisiejszego, przy czym należałoby poddać modyfikacji pierwsze twierdzenie, iż układ naczyń guza nowotworowego nie jest statyczny, ale progresywnie zmienia się wraz ze wzrostem samego guza, prowadząc w konsekwencji do powstania sieci naczyń charakterystycznej dla tego nowotworu. Należy także dodać, iż łożysko naczyniowe nowotworu powstaje jako rezultat licznych interakcji pomiędzy właściwościami guza (np. produkcją czynników angiogennych, metabolizmem, wpływem układu immunologicznego), organizacją i strukturą istniejących już naczyń krwionośnych organizmu gospodarza (np. ilością i jakością istniejących wcześniej naczyń, ich wzajemnym układem, różnicami w biologii komórek endotelium) oraz zachowaniem macierzy pozakomórkowej (jej właściwościami biochemicznymi i biofizycznymi).

Pod pojęciem angiogenezy rozumiemy wzrost nowych naczyń krwionośnych z już istniejącej sieci włosniczek, żyłek postkapilarnych oraz małych żył (Hyder S. M. i wsp., 2000; Yancopoulos G. D. i wsp., 2000). W ostatnim okresie sugeruje się jednakże, iż twierdzenie o powstawaniu nowych naczyń krwionośnych (zwłaszcza w guzach) głównie z postkapilarnych żyłek, nie jest do końca prawdziwe (Shin D. i wsp., 2001; Gale N. W. i wsp., 2001). Prace licznych badaczy zostały poświęcone poznaniu samego mechanizmu, a także czynników sterujących i wspomagających to zjawisko (Drake C. J. i Little C. D., 1999; Holash J. i wsp., 1999). Szczególnie ważnym zagadnieniem wydaje się być rozwój sieci nowych naczyń w tkankach embrionalnych (Risau W., 1995; Risau W. i Flamme I., 1995; Wilting J. i Christ B., 1996; Flamme I. i wsp., 1997; Risau W., 1997; Weinstein B. M., 1999; Goldman-Wohl D. S. i wsp., 2000) oraz w guzach nowotworowych (Grunt T. W. i wsp., 1986; Grunt T. W., 1992; Konerding M. A. i wsp., 1995; Christofferson R. H. i wsp., 1997; Emoto M. i wsp., 1999; Folkman J., 1999; Holash J. i wsp., 1999; Carmeliet P. i Jain R. K., 2000; Chien-nan L. i wsp., 2000; Kubo H. i wsp., 2000; McDonald D. M. i Foss A. J. E., 2000; Seki N. i wsp., 2000;

Yuan-yao C. i wsp., 2000; Zagzag D. i wsp., 2000). Angiogeneza w guzach nowotworowych polega najczęściej na wytworzeniu pączków naczyniowych, których powstawanie jest indukowane przez komórki guza, a następstwem jest wytworzenie sieci mikrokrażenia na obszarze nowotworu. Najbardziej podobnym zjawiskiem w warunkach prawidłowych jest wytworzenie pączków naczyniowych w tkance ziarninującej, która powstaje podczas gojenia się np. ran. Subtelne procesy, jakie zachodzą w czasie płodowej angiogenezy mogą stanowić pomost pomiędzy procesem normalnego gojenia się tkanek i angiogenezą w guzach nowotworowych.

Wyróżniono dwa podstawowe typy angiogenezy nowotworowej. Typ pierwszy, czyli angiogeneza pierwotna, która polega na wstępnej waskularyzacji mas rosnącego guza i jest oceniana jako nieodzowna dla „przeżycia” i dalszego rozrostu mas nowotworowych, a także tworzenia jego przerzutów oraz typ drugi, wtórna angiogeneza, której obszarem działania jest obwód rosnącej zmiany, która jest odpowiedzialna za włączenie nowych obszarów mikrokrażenia tkanki prawidłowej w obszar ekspansji nowotworu.

Powszechność występowania mięśniaków macicy u kobiet, podkreślana w pracach licznych autorów (Essen-Möller E., 1901; Sampson J. A., 1913, 1914; Faulkner R. L., 1944; Muran D. i wsp., 1980; Buttram V. C. jr., Reiter R. C., 1981; Winer-Muram H. T. i wsp., 1983; Cramer S., Patel B., 1990; Vollenhoven B. J. i wsp., 1990; Cramer D., 1992; Rein M. S., Nowak R. A., 1992), była dodatkowym bodźcem do podjęcia tych badań.

W powstawaniu mięśniaków macicy jedną z pierwszorzędowych ról odgrywa regulacja czynników angiogennych przez hormony płciowe (West C. P. i wsp., 1987; Rein M. S., Nowak R. A., 1992; Verkauf B., 1993; Burroughs K. D. i wsp., 1997; Matsuo H. i wsp., 1997; Burroughs K. D. i wsp., 2000; Maruo T. i wsp., 2000; Barbarisi A. i wsp., 2001). Nie bez znaczenia wydaje się być fakt opracowania modelu eksperymentalnego umożliwiającego spontaniczny rozwój mięśniaków macicy u zwierząt (Everitt J. I. i wsp., 1995; Burroughs K. D. i wsp., 1997; Burroughs K. D. i wsp., 2000).

Mięśniaki gładkokomórkowe są średnio bogato unaczynionymi guzami (Essen-Möller E., 1901; Sampson J. A., 1913; Bardon G., 1921; Holmgren B., 1938; Faulkner R. L., 1944, 1945, 1951; Farrer-Brown G. i wsp., 1970; Awataguchi K., 1982), a składniki odżywcze muszą być dostarczane przez rozrastający się system naczyń krwionośnych włosowatych. Guzy te w licznych przypadkach mogą osiągać dość znaczne rozmiary (do kilkunastu cm średnicy) i na ogół posiadają dość dobrze wykształconą sieć naczyniową, która rozwija się z układu naczyniowego myometrium (Essen-Möller E., 1901; Sampson J. A., 1913; Bardon G., 1921; Holmgren B., 1938; Faulkner R. L., 1944, 1945, 1951; Farrer-Brown G. i wsp., 1970).

Podjęmowane do tej pory badania nad unaczynieniem mięśniaków macicy (Fredet P., 1899; Essen-Möller E., 1901; Sampson J. A., 1913; Ahlström E., 1917; Bardon G., 1921; Holmgren B., 1937; Faulkner R. L., 1944, Dalgaard J. B., 1946; Schlegel J. U., 1946, Faulkner R. L., 1951; Harris J. W. S., Ramsey E. M. 1966; Farrer-Brown i wsp., 1970, 1971; Greiss F., Anderson S., 1970; Lindenbaum E. i wsp., 1978, Czerkwiński J., 1980; Awataguchi K., 1982; Winer-Muram H. T. i wsp., 1983) były prowadzone przy użyciu technik iniekcyjnych wykorzystujących głównie masy wypełniające o dużej lepkości, a zatem nieprzechodzące przez łożysko kapilarne i tym samym uniemożliwiające zobrazowanie trójwymiarowe łożyska naczyniowego badanych struktur. W niniejszej pracy po raz pierwszy do badania mikrostruktury systemu naczyniowego mięśniaków macicy zastosowano medium (Mercocox CL-2R) wypełniające całkowicie system naczyniowy badanej struktury.

Poza tym badania prowadzone na zwierzętach, zwłaszcza na szczurach nie mogą być reprezentatywne dla unaczynienia ludzkiej macicy, a zwłaszcza endometrium. Chociaż naczynia maciczne u szczurów podlegają również wpływom cyklicznych zmian poziomu estrogenów i progesteronu, proces menstruacji u tych gryzoni nie zachodzi, co odróżnienia je od naczyń macicy ludzkiej. Najprawdopodobniej ma to swoje źródło w różnicach w unaczynieniu endometrium u tych dwóch gatunków (Anderson B. G. i Anderson W. D., 1978; Christoffersson R. H. i Nilsson B. O., 1988 b). W macicy ludzkiej istnieją dwa odrębne systemy naczyń tętniczych, z których jeden zaopatruje tylko warstwę podstawną – regeneracyjną endometrium, drugi zaś, utworzony przez system tętnic spiralnych, zaopatruje bogate łożysko kapilarne w obrębie powierzchownej warstwy funkcjonalnej endometrium (Fredet P., 1899; Holmgren B., 1938; Faulkner R. L., 1945; Farrer-Brown G. i wsp., 1970; Hickey M., Fraser I. S., 2000). W odpowiedzi na obniżony poziom estrogenów i progesteronu, tętnice spiralne podlegają nieregularnym skurczom, prowadzącym do czasowego niedokrwienia warstwy funkcjonalnej błony śluzowej macicy (Bartelmez G. W., 1931; Dalgaard J. B., 1946; Schlegel J. U., 1946). Takiego rodzaju zachowanie się tętnic spiralnych jest powodem ich pęknięcia, a wynaczyniająca się krew „podminowuje” warstwę funkcjonalną endometrium, co jest podstawą dla menstruacji (Bartelmez G. W., 1931). Pozostałe naczynia występujące w warstwie podstawnej endometrium służą do odtworzenia systemu naczyniowego warstwy funkcjonalnej w czasie fazy proliferacyjnej cyklu miesięczkowego.

Na przekrojach poprzecznych narządu (zwłaszcza w preparatach oglądanych w elektronicznej mikroskopii skaningowej) obserwuje się podział myometrium na trzy strefy (Schlegel J. U., 1946), spośród których **zewnętrzna** 1/3 jest zaopatrywana przez gałęzie obwodowe, których źródłem są tętnice łukowate; część **środkowa**, bardzo wąska, jest wyznaczona przez

przebiegające w niej tętnice i żyły łukowate; wreszcie **wewnętrzna**, stanowiąca około 2/3 grubości myometrium, zaopatrywana przez tętnice promieniste, odchodzące od tętnic łukowatych (Sampson J., 1913; Schlegel J. U., 1946). W dostępnym materiale nie stwierdzono obecności anastomoz tętniczo-żylnych (Schlegel J. U.), zarówno w obrębie tkanki prawidłowej, jak i na obszarze mięśniaków macicy. Opisywane przez autorów z połowy lat 50-tych XX wieku, przy użyciu mediów nie penetrujących przez łożysko kapilarne były najprawdopodobniej artefaktami wynikającymi z uszkodzeń samych guzów, bądź materiału w całości w czasie pozyskiwania lub niedoskonałości techniki iniekcyjnej.

W mikroskopii optycznej nie zauważono także, opisywanych wcześniej, poszerzeń w obrębie układu żylnego, które są znane pod nazwą „jeziorek żylnych”. Podobne poszerzenia zaobserwowano natomiast w preparatach mikrokorozyjnych, aczkolwiek ich średnica dość znacznie przekraczała rozmiary podawane przez innych autorów (Schlegel J. U., 1946).

Organizację unaczynienia mięśniaków macicy, podobnie jak w przypadku innych pierwotnych nowotworów litych - raków rozwijających się u człowieka (Bugajski A. i wsp., 1989; Miodoński A. J. i wsp., 1992; Miodoński A. J. i wsp., 1998), można zaliczyć do jednego z dwóch rodzajów wzorów sieci naczyniowej, odpowiadających opisanym przez Falka (Falk P., 1978 i 1982) systemom naczyniowym linii włókniakomięsaków (różniących się szybkością wzrostu i reakcją na radioterapię) charakteryzującym guzy „wiotkie” oraz guzy „napięte”. Organizacja sieci naczyniowej charakterystyczna dla guzów „napiętych” jest zależna od zwartości wzrastającej tkanki nowotworowej, podwyższonego w jej obszarze ciśnienia śródtkankowego, a także od umiejscowienia narządowego tych guzów. Pod tym względem system naczyń mięśniaków odpowiada wzorcowi charakterystycznemu dla guzów „napiętych”. Sugeruje się także, że w układzie naczyniowym guzów „napiętych” (a zatem i mięśniaków wzrastających pośród mięśniówki) czynnikami sprawczymi takiego, a nie innego ułożenia naczyń jest ciśnienie śródmiąższowe wywołane przez wzrost samego guza oraz związanie łącznotkankowej przydanki naczyń guza z analogicznymi strukturami tkanki łącznej otaczającej dany guz (co powoduje wytworzenie „torebki” naczyniowej, gęsto infiltrowanej przez naczynia docierające z zewnątrz).

Podobnie jak w wypadku badań prowadzonych przez Farrera-Browna i wsp. (Farrer-Brown. i wsp., 1970) najpełniejszy obraz unaczynienia uzyskano przy pomocy mikroskopii świetlnej obserwując małe guzy (< 1 cm średnicy). Guzy podsurowicówkowe cechował układ tętnic sugerujący jedynie lokalną ekspansję sieci naczyniowej z sąsiedztwa (Sampson J., 1913; Holmgren B., 1938; Farrer-Brown G. i wsp., 1970), nie wykazując obecności „własnej”, zindukowanej sieci naczyniowej (Farrer-Brown G. i wsp., 1970). Natomiast mięśniaki

zlokalizowane w obrębie mięśniówki macicy zawierały tętnice wykazujące mniej kręty przebieg, aniżeli analogiczne naczynia w otaczającym myometrium, które unaczyniając guz wchodzi do jego wnętrza od strony jego obwodu (Farrer-Brown G. i wsp., 1970). Małe naczynia w obrębie mięśniaków są zorientowane zgodnie z przebiegiem włókien mięśniowych gładkich i dlatego nie wykazują żadnego regularnego układu, co zostało potwierdzone także badaniami na innych nowotworach (Konerding M. A. i wsp., 1991). Zarówno w guzach występujących śródmięśniowo, jak i w nowotworach podsurowicówkowych zaobserwowano zmniejszoną gęstość naczyń krwionośnych w stosunku do otaczającej tkanki prawidłowej (Farrer-Brown G. i wsp., 1970; Awataguchi K., 1982).

Porównując układ żył i tętnic mięśniaków, zauważa się wyraźną dominację tętnic (Sampson J. A., 1913; Holmgren B., 1938; Faulkner R. L., 1944; Farrer-Brown G. i wsp., 1970). Jest to prawdopodobnie spowodowane poprzez znaczny ucisk wywierany przez tkanki guzów na naczynia żyłne, co w ostatecznym efekcie powoduje ich słabe wypełnienie w czasie iniekcji (Farrer-Brown G. i wsp., 1970; Czerkwiński J. i wsp., 1970) lub jego zupełny brak.

Obecność ekspansywnie rozrastających się mięśniaków wywiera swój wpływ na zachowanie się układu żylnego w obrębie endometrium. Badania przeprowadzone przez Farrera-Browna (Farrer-Brown G. i wsp., 1971), wykazały w obrębie endometrium macic zajętych przez mięśniaki obecność poszerzonych przestrzeni żylnych, o charakterze ogniskowym lub rozlanym, co pozostaje najprawdopodobniej w związku z nasileniem krwawień miesięcznych i międzymiesięcznych.

W dostępnej literaturze nie znaleziono opisu systemu naczyniowego mięśniaków gładko-komórkowych macicy opartego na analizie preparatów mikrokorozyjnych. Dlatego też niniejsze obserwacje własne, prowadzone głównie przy pomocy skaningowej mikroskopii elektro-nowej, mogą być odnoszone jedynie do wyników badań nad unaczynieniem guzów nowotworowych innych narządów, bowiem do tej pory brak komplementarnych badań wykonanych na tych guzach u kobiet. Tym niemniej próby, jakie podejmowano celem prześledzenia rozwoju sieci naczyniowej w innych guzach nowotworowych (także na modelach eksperymentalnych) datują się od dość dawna (Falk P., 1978, 1982; Christofferson R. H., 1981; Grunt T. W., 1986, 1992; Bugajski A. i wsp., 1989; Miodoński A. J. i wsp., 1992, 1998; Konerding M. A. i wsp., 1995, 1997; Emoto M. i wsp., 1999; Holash J. i wsp., 1999; Carmeliet P., Rakesh K. J., 2000; Chien-nan L. i wsp., 2000; Seki N. i wsp., 2000; Zagzag D. i wsp., 2000).

W przypadku mięśniaków badanych przy użyciu techniki mikrokorozyj bardzo łatwo dochodzi do uszkodzenia (wykruszania się) układu naczyniowego tych guzów, które rozwijają się w macicy podsurowicówkowo (powierzchniowo). Dlatego też prześledzenie angioar-

chitektoniki tak umiejscowionych nowotworów było niemożliwe. Niemniej mięśniaki gładkokomórkowe, które rosną śródmięśniowo zachowują się jak guzy „napięte”. Wzrost ciśnienia w obrębie rosnącego mięśniaka macicy przemieszcza naczynia krwionośne na jego obwód, co zostało potwierdzone także obserwacjami przy użyciu SEM, które wykazały pod małymi powiększeniami istnienie powierzchniowej „torebki” naczyniowej guza. Przemieszczenie naczyń na obwód zmiany powoduje, że jej główne zaopatrzenie pochodzi z zewnątrz (od naczyń „torebki”), gdzie tworzy się rodzaj swoistego „płaszcz” naczyniowego (Falk P., 1978; 1982). „Torebka” mięśniaka jest na ogół zbudowana zarówno z tętnic jak i żył i jest szczególnie dobrze rozwinięta w nowotworach o dużych rozmiarach.

Naczynia krwionośne tworzące gęstą powierzchnią „torebkę” naczyniową guza były ułożone w sposób okrężny, wykonując przy tym kręte, falujące przebiegi. Od naczyń „torebki” w głąb guza odchodziły gałązki penetrujące miąższ mięśniaka na stosunkowo nieznaczną głębokość (powierzchniowo: ok. 150-250 μm), których przebieg był promienisty i na ogół prostopadły do osi długiej guza. (Bugajski A. i wsp., 1989). Taki układ naczyń jest indukowany rosnącym ciśnieniem śródmiąższowym guza i prowadzi do nieprawidłowego rozmieszczenia jego naczyń, a także uszkadzających zmian w śródbłonku naczyń krwionośnych, które nie mogą być skompensowane przez wzmożoną proliferację tych komórek (Grunt T. W., 1986). W konsekwencji na obszarze mięśniaków macicy może dochodzić do powstania lokalnych ognisk martwicy w wyniku obniżenia bądź zablokowania przepływu krwi przez naczynia (Cramer S., Patel B., 1990). Przypuszczalnie także wpływ czynników angiogennych jest najsilniejszy na obwodzie zmiany ze względu na znacznie podwyższone ciśnienie śródmiąższowe oraz uciśnięcie naczyń krwionośnych w częściach centralnych guza. Czynniki angiogenne mogą się dyfundować w tkankach nawet na dość znaczny dystans kilku milimetrów (Folkman J., 1975), a że najczęściej są uwalniane na obwodzie zmiany (prolifracja komórek nowotworu), mogą wpływać na struktury naczyniowe położone w bezpośrednim sąsiedztwie nowotworu.

Główną składową naczyniową „torebki” mięśniaka, oprócz tętnic i żył o większej średnicy, były kapilary układające się w gęsty splot. Zauważono także naczynia (liczniejsze tętnice i rzadziej występujące żyły) penetrujące miąższ guza znacznie głębiej niż wspomniane poprzednio. Ich dośrodkowy przebieg nie wykazywał szczególnego uporządkowania i był na ogół prostopadły w stosunku do obwodowej „torebki” mięśniaka. W oglądanym w SEM materiale zaobserwowano, że odlewy tętnic znajdujące się w ścianach guzów mają na przekroju kształt okrągły lub owalny, podczas gdy odlewy żył położonych na obwodzie mięśniaka wykazywały formę palczasto rozgałęzionych, poszerzonych i spłaszczonych tworów naczynio-



wych. Podobnie poszerzone naczynia żyłne obserwowano także w preparatach mikrokorozyjnych innych guzów nowotworowych np. w raku jasnokomórkowym nerki (Bugajski A. i wsp. 1989). Zdaniem autorów najprawdopodobniej prowadzą one do zwolnienia przepływu krwi żyłnej przez naczynia na obszarze guza, co w efekcie powoduje wydłużenie działania czynników angiogennych na komórki endotelium tych naczyń (Reinhold H. S., Van der Berg-Blok A., 1983). Dlatego też angiogeneza indukowana przez mięśniak jest także odpowiedzialna za zmiany adaptacyjne naczyń oraz przekształcenia sieci naczyniowej, co zostało zaobserwowane również w prezentowanym materiale. Potwierdzają się między innymi obserwacje wcześniejszych autorów (Falk P., 1978, 1982, Grunt T. W. i wsp., 1986) dotyczące pochodzenia naczyń zaopatrujących guzy nowotworowe. Oprócz sieci naczyń zaadoptowanych z istniejącej już sieci prawidłowej tkanki „gospodarza”, unaczynienie mięśniaków macicy rozwija się drogą pączkowania nowych naczyń, co Grunt (Grunt T. W., 1982) określa jako pierwszą fazę angiogenezy na terenie nowotworu.

Niejednokrotnie obserwowano istnienie wąskiej, beznaczyniowej szczeliny oddzielającej na obwodzie zmiany mięszak mięśniaka od prawidłowej tkanki myometrium, co odnotowano również w przypadku innych guzów nowotworowych, np. w raku nerki lub krtani (Bugajski A. i wsp., 1989; Miodoński A. J. i wsp., 1992).

W obrębie mięśniaków gładkokomórkowych macicy stwierdza się także obecność łącznotkankowych przegród, rozdzielających ogniska nasilonego rozplemu komórek mięśniaka, poprzez które naczynia mogą penetrować w głąb masy nowotworu, co uwidoczniła zarówno analiza w SEM, jak również preparatów histologicznych.

W prawidłowym narządzie naczynia włosowate tworzą bogaty spłot obecny na całej grubości mięśniówki macicy oraz w powierzchownych warstwach endometrium. Na obszarze mięśniaków tworzą one bogaty spłot wyścielający szczególnie obficie powierzchnię wewnętrzną jego „torebki” naczyniowej. Kapilary te są szczególnie gęsto skupione wokół dużych żył przebiegających w „torebce” naczyniowej guza. Nie będąc ułożone w jakiś określony wzór, podążają na ogół zgodnie z kierunkiem prawdopodobnego rozkładu ciśnień wywieranych przez masę wzrastającego nowotworu, a jedynie sporadycznie występują w formie kępek odgałęziających się od arterioli. Jak już wcześniej wspomniano, kapilary na terenie mięśniaków są podstawowym źródłem, z którego wywodzą się pączki naczyniowe, warunkujące dalszy rozwój sieci naczyń tego guza. W preparatach nastrzykiwanych wodnym roztworem farb akrylowych (oglądanych zarówno makroskopowo, jak i oglądanych pod większym powiększeniem po wybarwieniu hematoksyliną i eozyną) sieć naczyń włosowatych jest niewidoczna, gdyż medium to dociera jedynie do poziomu arterioli. Natomiast w skrawkach

tkanki mięśniaków metoda immunohistochemiczna (odczyn immunohistochemiczny na czynnik von Willebrandta) uwidacznia bogatą sieć niewypełnionych farbą naczyń włosowatych, a także innych naczyń o większej średnicy (najprawdopodobniej są to żyły – w preparatach nastrożkiwanych od strony tętnic).

W zakresie mianownictwa naczyń zaopatrujących prawidłowo macicę sugerowałbym wprowadzenie kilku uzupełnień, zwłaszcza, iż niektóre nazwy, jak np. tętnice spiralne dość dawno się przyjęły w terminologii embriologicznej oraz ginekologiczno-położniczej. W stosowanym mianownictwie anatomicznym (Aleksandrowicz R., Gołąb B., Narkiewicz O., 1989; Aleksandrowicz R., Gielecki J., Gacek W., 1997; Aleksandrowicz R., Gielecki J., Gacek W., 1998; Whitmore I., 1998), jako gałęzie tętnicy macicznej wymienione są: gałęzie ślimakowe (*rami helicini*), gałęzie pochwowe (*rami vaginales*), gałąź jajnikowa (*ramus ovaricus*), gałąź jajowodowa (*ramus tubarius*). Tymczasem wg. większości źródeł podręcznikowych (m. in. w „Anatomii człowieka” A. Bochenka, t. II, 1992) tętnica maciczna zanim dokona końcowego podziału na gałąź jajnikową i jajowodową, oddaje do brzegu bocznego macicy od 9 do 14 gałęzi macicznych (*rami uterini*). Te właśnie gałęzie w obowiązującym mianownictwie anatomicznym są zwane gałęziami ślimakowymi (*rami helicini*). Najwyższą z gałęzi macicznych nazywa się gałęzią dna (*ramus fundi*). Z kolei gałęzie ślimakowe dzielą się na tętnice łukowate przednie i tylne (*arteriae arcuatae anteriores et posteriores*), zaopatrujące odpowiednie powierzchnie trzonu macicy, nazwane tak przez Fredeta (Fredet P., 1899), co zostało zaakceptowane także przez innych autorów (m.in. Schlegel J. U., 1946). Nie wspomina się także o mniejszych odgałęzieniach tętnic łukowatych, tzw. gałęziach (tętnicach) promienistych, które odchodzą od tętnic łukowatych pod kątem prostym jeszcze w myometrium, a następnie przechodzą do warstwy podstawnej endometrium. Innymi gałęziami tętnic łukowatych są tzw. gałęzie obwodowe (peryferyczne). Po przekroczeniu granicy myo-endometrialnej gałęzie promieniste oddają tętnice podstawne (*arteriae basales*) (zaopatrujące warstwę podstawną endometrium) oraz tętnice spiralne (*arteriae spirales*) (Leopold, 1874; Freund, 1904), które biegną w kierunku powierzchni błony śluzowej macicy, zaopatrując jej warstwę czynnościową (Hickey M., Fraser I. S., 2000). W cyklu miesięczkowym są to rzeczywiście najważniejsze naczynia, a poza tym wydaje mi się, że warto byłoby wprowadzić do mianownictwa także i te naczynia, z których tętnice spiralne biorą swój początek.

Odływ krwi żyłnej z macicy ma swój początek w splocie kapilarnym podnabłonkowym (zaopatrywanym przez tętnice spiralne), z którego krew odpływa do spłotu żylnego w warstwie funkcjonalnej endometrium (Hickey M., Fraser I. S., 2000). Z tego spłotu krew żylna

odpływa drobnymi żyłkami (mogą one poszerzać swoją objętość w zależności od fazy cyklu) do żyłek promienistych, które odprowadzają krew do żył łukowatych przednich i tylnych. Z żył łukowatych powstają żyły maciczne (*venae uterinae*) uchodzące ostatecznie do żyły biodrowej wewnętrznej. Opisywano także obecność poszerzeń żylnych, swego rodzaju zatok żylnych (*laci venosi*), zorganizowanych w formie dwóch łańcuchów, tj. powierzchownego i głębokiego, a połączonych ze sobą i z żylnym splotem w myometrium poprzez żyłki promieniste (Schlegel J. U., 1946; Ramsey M., 1949; 1955). Istnienie podobnych „jeziorek żylnych” zaobserwowano w preparatach mikrokorozyjnych. W warstwie zewnętrznej myometrium, a szczególnie po bokach narządu, przebiegają żyły zbiorcze, które towarzyszą tętnicom łukowatym. Zbierają one krew żylną z macicy, odprowadzając ją do żył macicznych usytuowanych pomiędzy dwiema blaszkami więzadła szerokiego macicy. Często tętnicy macicznej, zamiast jednej lub dwóch żył, towarzyszy niejednorodny splot żylny maciczno-pochwowy, który kończy się w żyłę biodrowej wewnętrznej. Jak już wcześniej wspomniano, żyły maciczne, żyły jajnikowe oraz większe gałęzie maciczne żył jajnikowych o średnicy ponad 2,5 mm, posiadają dwupłatowe zastawki, całkowicie zamykające światło naczyń, przy czym ich liczba ulega redukcji w miarę upływu lat. Nie stwierdzono obecności zastawek w żyłach myometrium, krezki jajowodu, więzadeł obłych macicy oraz w zespoleniach żył macicznych z żyłami pęcherzowymi, pomimo, iż średnica światła niektórych naczyń przekraczała 3,5 mm (Czerkwiński J., 1980; Aleksandrowicz R., Czerkwiński J., 1981).

6. WNIOSKI

Obserwacje prowadzone na 50 macicach mięśniakowatych dają podstawę do sformułowania kilku wniosków:

1. Unaczynienie tętnicze mięśniaków macicy pochodzi z jednej lub kilku (2-5) tętnic, włączonych do masy guza z już istniejących naczyń krwionośnych tkanki prawidłowej. Mięśniaki macicy są relatywnie słabo unaczynionymi guzami, stąd również tworzenie się nowych naczyń w obszarze samego guza wydaje się być raczej nieistotne. Guzy te są unaczynione przez naczynia powierzchowne, obwodowe, które penetrują tkankę guza od strony torebki.
2. W tkance guza oprócz nielicznych naczyń tętniczych występują również pojedyncze naczynia żyłne, których zdecydowana większość przebiega na jego powierzchni - obwodowo.
3. Dzięki dość bogatej sieci kapilarnej w masie guza, istnieje normalna wymiana tętniczokapilarno-żylna.
4. Mięśniaki macicy, tak jak w przypadku innych guzów nowotworowych da się zaklasyfikować do grupy guzów o typie „napiętym”, a zatem wykorzystującym obecność dobrze rozwiniętej obwodowej „pochewki” naczyniowej ze stosunkowo nielicznymi naczyniami penetrującymi miąższ guza.

7. STRESZCZENIE

Do zanalizowania angioarchitektoniki mięśniaków gładkokomórkowych macicy użyto 50 macic pobranych podczas sekcji zwłok w Katedrze Medycyny Sądowej CM UJ. Unaczynienie badano przy użyciu tradycyjnych metod iniekcyjnych, stosując masę wypełniającą niepenetrującą przez łożysko kapilarne (Liquitex R, Binney and Smith, USA) – 28 preparatów (24 nastrzyknięte od strony tętnic i 4 od strony żył) oraz drobnocząsteczkową żywicę syntetyczną wypełniającą cały układ naczyniowy guza (Mercor CL-2R, Vilene, Japan) – 22 preparaty.

Macice, w których łożysko naczyniowe wypełniono wodnym roztworem farb akrylowych, utrwalono, poczym krojono na plasterki (o grubości 4–6 mm), które prześwietlano w salicylanie metylu. Tak otrzymane preparaty oglądano i fotografowano w mikroskopie optycznym stereoskopowym.

W przypadku macic, których system naczyniowy wypełniono Mercorem, poddawano je dalszej obróbce, polegającej na wytrawieniu tkanek w roztworze KOH, z naprzemiennym płukaniem preparatów w wodzie destylowanej. Tak uzyskane preparaty mikrokorozyjne łożyska naczyniowego macic zawierały również system naczyniowy mięśniaków. Po wysuszeniu drogą liofilizacji preparaty cięto w kilku płaszczyznach, a przekroje po napyleniu złotem, oglądano w skaningowym mikroskopie elektronowym (SEM).

Z części preparatów nastrzykniętych wodnym roztworem farb akrylowych wykonano skrawki histologiczne, które wybarwiono hematoksyliną i eozyną, poczym analizowano pod mikroskopem optycznym. Niektóre ze skrawków histologicznych wybarwiono przy pomocy odczynu immunohistochemicznego na czynnik von Willebrandta, aby uwidocznić komórki śródbłonna naczyń krwionośnych, zwłaszcza włosowatych.

W preparatach, w których wypełniono łożysko naczyniowe macic wodnym roztworem farb akrylowych zaobserwowano dwa podstawowe wzorce unaczynienia mięśniaków gładkokomórkowych, zależnie od ich umiejscowienia w narządzie. Mięśniaki podsurowicówkowe, wyrastając poza obręb macicy w sposób „egzofityczny”, zachowywały się (wg klasyfikacji Falka) jak guzy „wiotkie”, pociągając za sobą sieć naczyń zaopatrujących, a które wywodzą się z naczyń „gospodarza”, znajdowały się w bezpośrednim sąsiedztwie zmiany. Pod tym względem są one podobne do nowotworów nabłonkowych, raków wzrastających jako guzy „wiotkie” np. w krtani, względnie pęcherzu moczowym. Natomiast system naczyniowy mięśniaków wzrastających śródmięśniówkowo wykazywał układ okrężny, wywołany ich zepełnieniem na obwód przez masy wzrastającego guza, przy czym kilka naczyń zaopatrujących penetrowało miąższ mięśniaka. Zatem, mięśniaki, o tego rodzaju umiejscowienia za-

chowowały się (zgodnie z klasyfikacją Falka) jak guzy „napięte”, upodabniając się pod tym względem do raków wzrastających śródmiąższowo, jak np. rak nerki.

Spośród naczyń obecnych na terenie mięśniaków, w obrazie mikroskopowym dominowały tętnice, które były obecne zarówno w częściach centralnych zmiany, jak również na jej obwodzie, przy czym naczyń przebiegających obwodowo było znacznie więcej. Naczynia żyłne obecne zarówno w częściach obwodowych, a także centralnych guzów występowały mniej licznie w porównaniu z naczyniami tętniczymi. Tego rodzaju obraz może być wynikiem znacznego ucisku wywieranego przez rozrastające się masy nowotworowe na te raczej cienkościenne naczynia żyłne, co najprawdopodobniej uniemożliwiło ich wypełnienie masami iniekcyjnymi. W dostępnym materiale na terenie mięśniaków nie znaleziono anastomoz tętniczo-żylnych, opisywanych przez innych autorów.

W badanym materiale nie udało się zachować odlewów sieci naczyniowej mięśniaków położonych powierzchownie, wzrastających „egzofitycznie”, z powodu ich znacznej wiotkości i jednocześnie małej odporności mechanicznej, co powodowało wykruszanie się ich w trakcie przygotowywania preparatów mikrokorozyjnych. Natomiast mięśniaki rozwijające się śródmięśniówkowo wykazywały zasadniczo dwa typy układu naczyń krwionośnych:

1. Mięśniaki z obecnymi w jego częściach centralnych kilkoma naczyniami tętniczymi (2–5), które oddają na swym przebiegu nieliczne gałązki wtórne penetrujące miąższość około 2/3 średnicy guza, oraz znacznie bogatszym unaczynieniem obwodowym pochodzącym od dość licznych tętnic o przebiegu okrężnym występujących w zakresie „torebki” guza, a które penetrują dość płytko obszar „podtorebkowy” guza.
2. Mięśniaki o nieregularnym, chaotycznym zaopatrzeniu tętniczym, które odbiegały od wzorca układu naczyniowego opisanego powyżej.

Generalnie unaczynienie mięśniaków gładkokomórkowych macicy w porównaniu z tkanką prawidłową charakteryzowała zmniejszona gęstość naczyń na obszarze guza. Daje się to zwłaszcza dobrze zauważyć w strefach granicznych pomiędzy tkanką prawidłową, a tkanką nowotworową, gdzie w obrazie mikroskopowym niejednokrotnie występowała beznaczyniowa szczelinka, oddzielająca obie struktury między sobą. Jest ona najprawdopodobniej spowodowana przez zagęszczenie tkanki łącznej w obrębie „torebki” naczyniowej guza, która w trakcie obróbki preparatów uległa wytrawieniu.

W obrazie mikroskopowym (powiększenie 10 x) zaobserwowano obecność kilku pojedynczych większych naczyń (2–5) penetrujących centralnie tkankę guza (głównie tętnic) oraz gęstą sieć naczyń zepchniętych na obwód przez masę wzrastającego guza, której towarzyszy rozplem tkanki łącznej.

W preparatach mikrokorozyjnych niejednokrotnie obserwowano cały szereg zagłębień wywołanych obecnością zbitej masy guza. „Dna” tych zagłębień wyścielała gęsta siateczka zbudowana z naczyń krwionośnych o małym kalibrze, pod którą widoczne były naczynia o większej średnicy, zepchnięte na obwód przez rozrost masy nowotworu.

Generalnie angioarchitektonika guzów nie wykazywała określonego uporządkowania i była zdecydowanie nieregularna, co było spowodowane nie tylko ekspansywnym wzrostem gęsto upakowanych komórek nowotworowych, często tworzących „zraziki” oddzielone przez łącznotkankowo-naczyniowe przegrody, ale także procesem angiogenezy.

Powierzchnie odlewów żyłek, a zwłaszcza kapilar wykazywały obecność licznych krótkich pączków naczyniowych, o różnym kształcie i średnicy. W dostępnym materiale nie obserwowano wzajemnej fuzji pączków naczyniowych.

Na obwodzie mięśniaka stwierdzono obecność żyłek i arterioli, natomiast w partiach centralnych zmiany przeważały zdecydowanie naczynia kapilarne (o średnicy 4-20 μm), które intensywnie łączyły się wzajemnie między sobą. W dostępnym materiale, badanym przy pomocy SEM, nie znaleziono na obszarze guzów (zarówno w zakresie ich torebki, jak i w miąższości) zespołów tętniczo-żylnych. W badanym materiale obserwowano również dość liczne obszary pozbawione naczyń krwionośnych, a także obecność dość licznych wynaczynień. Obserwowano także obecność innych artefaktów, takich jak np. pozostałości nie w pełni wytrawionych tkanek, niecałkowicie wypełnione naczynia.

W skrawkach barwionych hematoksyliną i eozyną w mikroskopie świetlnym widoczne są pojedyncze, miernie poszerzone naczynia (bez ekstrawazatów), o cienkich ścianach, biegnące na ogół w przegrodach łącznotkankowych, które znajdują się na obszarze guza. Jedynie nieliczne naczynia mają bezpośredni kontakt z masami guzowymi, to znaczy penetrują do wnętrza utkania nowotworu. Komplementarne obrazy tego rodzaju przegród naczyniowych stwierdzono na materiale mikrokorozyjnym. Pozwala to na przypuszczenie o bardzo słabym unaczynieniu mięśniaków, co wiąże się ze skłonnością do powstawania lokalnych martwic, zwłaszcza na obszarze dużych guzów. Niezbyt bogate unaczynienie mięśniaków, obserwowane w preparatach histopatologicznych może być także wynikiem słabszej penetracji farb akrylowych do wnętrza znacznie uciśniętych naczyń.

W skrawkach przygotowanych przy użyciu odczynu immunohistochemicznego na czynnik von Willebrandta zaobserwowano pod mikroskopem oprócz wypełnionych farbami akrylowymi naczyń tętniczych, liczne niewypełnione masą naczynia o małej średnicy (kapilary), przebiegające głównie w przegrodach łącznotkankowych rozdzielających „zraziki” w obrębie

dużych mięśniaków oraz bogatą siatkę naczyń włosowatych w utkaniu tkanki utworzonej z rozrastających się patologicznie komórek mięśniówki gładkiej.

W oparciu o dostępną literaturę oraz obserwacje własne unaczynienia macic prawidłowych zarówno w mikroskopii optycznej, jak i skaningowej, podjęto próbę uporządkowania nomenklatury anatomicznej dotyczącej nazewnictwa naczyń zaopatrujących macicę. Wskazano na potrzebę wprowadzenia do oficjalnego mianownictwa anatomicznego nazw naczyń będących naczyniami dalszego rzędu oddawanych przez tzw. gałęzie ślimakowe, które to odchodzą obustronnie od tętnic macicznych.

Przyczyny powstawania mięśniaków nie są precyzyjnie określone, tym niemniej istnieje niewątpliwy związek pomiędzy ich rozwojem a sterydami jajnikowymi. Podkreśla się rolę kilku czynników angiogennych (a ostatnio także i limfangiogennych) podległych wpływom hormonów jajnikowych (EGF, IGF-I, PDGF, VEGF i FGF), sugerując ich związek z rozwojem mięśniaków macicy i wytworzeniem sieci naczyń krwionośnych w tych guzach. Na szczególną uwagę wydaje się zasługiwać VEGF-A (określany w literaturze także jako waskulotropina), który pozostaje najbardziej selektywnym mitogenem (dla komórek endotelium naczyń krwionośnych), jaki odkryto do tej pory i to właśnie on wydaje się regulować procesy powstawania naczyń w tkankach embrionalnych, nowotworowych, a także i w procesach fizjologicznego gojenia się ran. Zdolność wiązania heparyny przez różne formy VEGF-A (pośrednictwo w wytwarzaniu połączeń z powierzchniami komórek i macierzą międzykomórkową), a zarazem różnorodne interakcje z macierzą są niezwykle istotnymi przesłankami w procesie angiogenezy na terenie mięśniaków, które zbudowane z dużych ilości włókien kolagenowych oraz innych składników macierzy międzykomórkowej mogą służyć jako potencjalny rezerwuuar VEGF-A lub innych czynników naczyniowzrostowych np. bFGF, kontrolujących rozrost sieci naczyniowej na terenie tych guzów.

8. PIŚMIENNICTWO

1. Abrahamsohn P., Lundkvist Ö., Nilsson O. Ultrastructure of the endometrial blood vessels during implantation of the rat blastocyst. *Cell Tissue Res.* 1983; 229, 269-280.
2. Aharinejad S. H., Lametschwandtner A. *Microvascular Corrosion Casting in Scanning Electron Microscopy*; Springer Verlag Wien New York 1992.
3. Ahlström E. *Über Nekrosen interstitieller Uterusmyome*. Berlin 1917.
4. Aleksandrowicz R., Czerkwiński J. The valves of the uterine and ovarian veins (abstract). *Verh Anat. Ges.* 1981; 75, 731.
5. Aleksandrowicz R., Czerkwiński J. The veins of the female reproductive system. *Fol. Morphol. Českoslov.* 1981; XXIX, 3, 227-229.
6. Aleksandrowicz R., Gielecki J., Gacek W. *Anatomia topograficzna. Przewodnik do ćwiczeń prosektoryjnych polsko-angielski*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa 1998.
7. Aleksandrowicz R., Gołąb B., Narkiewicz O. *Mianownictwo Anatomiczne*. PZWL, Warszawa 1989.
8. Aleksandrowicz R., Gielecki J., Gacek W. *Słownik mian anatomicznych łacińsko-polsko-angielski*. PZWL, Warszawa, 1997.
9. Alon T., Hemo I., Itin A., Pe'er J., Stone J., Keshet E. Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity. *Nat. Med.* 1995; 1, 1024-1028.
10. Anderson B. G., Anderson W. D. Scanning electron microscopy of microcorrosion casts. Intracranial and abdominal microvasculature in domestic animals. *American Journal of Anatomy* 1978; 153, 523-536.
11. Awataguchi K. Studies on the angioarchitecture of uterine myoma. *J. Nippon Med. Sch.* 1982, 49, 225-232.
12. Bacsich P., and Wyburn G. M. Cyclic variations in the vascular architecture of the uterus of the guinea pig, *Trans. Roy. Soc. Edin.* 1940, LX Part I, No. 2.
13. Barbarisi A., Petillo O., Dilieto A., Melone M. A. B., Margarucci S., Cannas M., Peluso C. 17-beta estradiol elicits an autocrine leiomyoma cell proliferation: Evidence for a stimulation of protein kinase-dependent pathway. *J. Cell. Phys.* 2001, 186, 3, 414-424.
14. Bardon G. Circulation artérielle dans les fibromes utérines. *Gynecologie et Obstetrique* IV, 1921.

15. Bartelmez G. W. The human uterine mucous membrane during menstruation. *Am. J. Obstet. Gynec.* 1931, 21, 623.
16. Bartelmez G. W. The mechanism of menstruation. *Anat. Rec.* 1947, 97, 380.
17. Bartelmez G. W., Corner G. W., Hartman C. G. Cyclic changes in the endometrium of the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Contrib. Embryol. Carnegie Inst.* 1951, 34, 99-146.
18. Bartelmez G. W. Premenstrual and menstrual ischaemia and the myth of endometrial arteriovenous anastomoses. *Amer. J. Anat.* 1956, 98, 69-95.
19. Bartelmez G. W. The form and the function of the uterine blood vessels in the rhesus monkey. *Contrib. Embryol.* 1957, 36, 153-182.
20. Bartelmez G. W. The phase of the menstrual cycle and their interpretation in terms of the pregnancy cycle. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1957, 74, 931-955.
21. Bendz A., Hansson H. A., Svensen P., Wiqvist N. On the extensive contact between veins and arteries of the human ovarian pedicle. *Acta Physiol. Scand.* 1982, 115, 179-182.
22. Bochenek A. *Anatomia człowieka, t. II. Trzewa*. Pod red. W. Łasińskiego. PZWL, Warszawa, 1992.
23. Boye H. Vergleichende Untersuchungen über die arterielle Gefassversorgung des Uterus von Wild- und Hausschweinen. *Z. Tierzucht. Zucht Biol.* 1956, 67, 259-296.
24. Brooks P. C., Stromblad S., Sanders L. C., von Schalscha T. L., Aimes R. T., Stetler Stevenson W. G., Quigley J. P., Cheresch D. A.. Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin alpha v beta 3. *Cell* 1996, 85, 683-693.
25. Bugajski A., Nowogrodzka-Zagórska M., Leńko J., Miodoński A. J. Angiomorphology of the human renal clear cell carcinoma. *Virchows Archiv A. Pathol. Anat.* 1989, 415, 103-113.
26. Burger P. C., Chandler D. B., Klintworth G. K. Scanning electron microscopy of vascular casts. *J. Electr. Microsc. Techn.* 1984, 1, 341 – 348.
27. Burroughs K. D., Fuchs-Young R., Davis B., Walker C. L. Altered hormonal responsiveness of proliferation and apoptosis during myometrial maturation and the development of uterine leiomyomas in the rat. *Biol. Reprod.* 2000, 63, 1322-1330.
28. Burroughs K. D., Kiguchi K., Howe S. R., Fuchs-Young R., Trono D., Barrett J. C., Walker C. Regulation of apoptosis in uterine leiomyomata. *Endocrinology* 1997, 138, 3056-3064.

29. Buttram V. C. Jr, Reiter R. C. Uterine leiomyoma: etiology, symptomatology and management. *Fertil. Steril.* 1981, 36, 433-447.
30. Carmeliet P., Rakesh K. J. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature.* 2000, 407, 249-257.
31. Chien-nan L., Wen-fang C., Chi-an C., Jan-show C., Chang-yao H., Fon-jou H. Angiogenesis of Endometrial Carcinomas Assessed by Measurement of Intratumoral Blood Flow. Microvessel Density, and Vascular Endothelial Growth Factor Levels. *Obst. Gynecol.* 2000, 96, 4, 615-621.
32. Christofferson R. H. Angiogenesis as induced by trophoblast and cancer cells. PhD. Thesis. University of Uppsala. 1981.
33. Christofferson R. H., Nilsson B. O. Microvascular corrosion casting with analysis in the scanning electron microscope. *Scanning* 1988, 10, 43-63.
34. Christofferson R. H., Nilsson B. O. Morphology of the endometrial microvasculature during early placentation in the rat. *Cell Tiss. Res.* 1988, 253, 209 – 220.
35. Christofferson R. H., Sköldenberg E. G., Nilsson B. O. Tumor growth in a defined microcirculation. *APMIS* 1997, 105, 487-496.
36. Cole F. J. The history of anatomical injections. In: Singer C (ed.) *Studies in the history and methods of science.* Oxford University Press. London, 1921, 285-343.
37. Corner G. W. Cyclic changes in the ovaries and uterus of the sow, and their relation to the mechanism of implantation. *Contrib. Embryol. Carneg. Inst.* 1921, 13, 117-146.
38. Cornilie F. J., Lauweryns J. M. Vascular (blood and lymphatic) and non-vascular clearance pathways in the rat endometrium. *J. Anat.* 1986, 146: 235 (Abstract No. 14)
39. Cramer D. Epidemiology of myomas. *Semin. Reprod. Endocrinol.* 1992; 10, 320-324.
40. Cramer S., Patel B. The frequency of uterine leiomyomas. *Am. J. Clin. Pathol.* 1990, 94, 435-438.
41. Czerkwiński J. Żyły i zastawki żyłne wewnętrznych narządów płciowych kobiet w normie i niektórych stanach chorobowych. Praca doktorska. Warszawa 1980.
42. Dalgaard J. B. The blood vessels of the human endometrium. *Acta Obstet. Gynecol. Scandinav.* 1946, 26, 342-378.
43. Daron G. H. The arterial pattern of the Tunica Mucosa of the uterus in *Macacus Rhesus*. *Amer. Journ. Anat.* 1936, 58, 349-419.
44. Daron G. H. The veins of the endometrium (*macacus rhesus*) as a source of the menstrual blood. *Anat. Rec.* 1937, 67, suppl. 3, 13.

45. Del Campo C. H., Ginther O. J. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: guinea pigs, rats, hamsters, rabbits. *Am. J. Vet. Res.* 1972, 33, 2561-2578.
46. De Vries C., Escobedo J. A., Ueno H., Houck K., Ferrara N., Williams L. T. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science* 1992, 255, 989-991.
47. Drake C. J., Little C. D. VEGF and Vascular Fusion: Implications for Normal and Pathological Vessels. *J. Histochem. Cytochem.* 1999, 47 (11), 1351-1355.
48. Dvorak H. F., Brown L. F., Detmar M., Dvorak A. M. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am. J. Pathol.* 1995, 146, 1029-1039.
49. Emoto M., Iwasaki H., Ishiguro M., Kikuchi M., Horiuchi S., Saito T., Tsukamoto N., Kawarabayashi T. Angiogenesis in carcinosarcomas of the uterus: differences in the microvessel density and expression of vascular endothelial growth factor between the epithelial and mesenchymal elements. *Human Pathol.* 1999, 30 (10), 1232 – 1241.
50. Essen-Möller E. Klinische und pathologisch-anatomische Studien zur Aetiologie des Uterusmyoms. *Mittheil. Aus der Gyn. Klin. Des Prof. Dr Otto Engström, Helsingfors.* Bd. III. 1901.
51. Everitt J. I., Wolf D. C., Howe S. R., Goldsworthy T. L., Walker C. Rodent model of reproductive tract leiomyomata. Clinical and pathological features. *Am. J. Pathol.* 1995, 146, 1556-1567.
52. Fagin J., Reynolds S. R. M. The endometrial vascular bed in relation to rhythmic uterine motility with a consideration of the functions of the intermittent contractions of oestrus. *Am. J. Physiol.* 1936, 117, 86-91.
53. Falk P. Pattern of vasculature in two pairs of related fibrosarcomas in the rat and their relation to tumor response to single large dose of radiation. *Eur. J. Cancer.* 1978, 14, 237-250.
54. Falk P. Differences in vascular pattern between the spontaneous and transplanted C3H mouse mammary carcinoma. *Eur. J. Cancer.* 1982, 18, 155-165.
55. Farrer-Brown G., Beilby J. O. W., Tarbit M. H. The vascular patterns in myomatous uteri. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm.* 1970, 77, 967-975.
56. Farrer-Brown G., Beilby J. O., Rowles P. M. Microvasculature of the uterus. An injection method of study. *Obstet. Gynec.* 1970, 35, 21-30.

57. Farrer-Brown G., Beilby J. O., Tarbit M. H. Venous changes in the endometrium of myomatous uteri. *Obstet. Gynec.* 1971, 38, 743-751.
58. Faulkner R. L. The blood vessels of the myomatous uterus, *Amer. J. Obstet. Gynec.* 1944, 47, 185-189.
59. Faulkner R. L. An injection study of uterine blood vessels. *Amer J. Obstet. Gynec.* 1945, 49, 1-6.
60. Faulkner R. L. An injection study of the blood vessels of the bleeding uterus. *Amer J. Obstet. Gynec.* 1951, 61, 766-769.
61. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: molecular and biological aspects. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1999, 237, 1-30.
62. Ferrara N., Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr. Rev.* 1997, 18, 4-25.
63. Ferrer F. A., Miller L. J., Andrawis R. I., Kurtzman S. H., Albertsen P. C., Laudone L. P., Kreutzer D. L. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human prostate cancer: in situ and in vitro expression of VEGF by human prostate cancer cells. *J. Urol.* 1997, 157, 2329-2333.
64. Finn C. A., Porter D. G. *The Uterus.* Elek. Science. London, 1975, 57-73
65. Flamme I., Frölich T., Risau W. Molecular Mechanisms of Vasculogenesis and Embryonic Angiogenesis. *J. Cell. Physiol.* 1997, 173, 206-210.
66. Folkman J. Tumor angiogenesis. W: Becker FF (ed) *Cancer 3: a comprehensive treatise. Biology of tumors: cellular biology and growth.* Plenum Press, New York, London. 1975, 355-388.
67. Folkman J. Angiogenic zip code. *Nature Biotechnol.* 1999, 17, 749.
68. Fredet P. *Recherches sur les artères de l'utérus.* Paris, Steinheil, 1899.
69. Gale N. W., Baluk P., Pan L., Kwan M., Holash J., Dechiara T. M., McDonald D. M., Yancopoulos G. D. Ephrin-B2 selectively marks arterial vessels and neovascularization sites in the adult, with expression in both endothelial and smooth-muscle cells. *Develop. Biol.* 2001, 230 (2), 151-160.
70. Gassner J., Lametschwandtner A., Weiger T., Bauer H. C., Diluted and undiluted Mercox severely destroy unfixed endothelial cells. A Light And Electron Microscopic Study Using Cultured Endothelial Cells and Tadpole Tail Fin Vessels. *Scan. Microsc.* 1994, 8 (3), 721-734.
71. Ginther O. J. Comparative anatomy of uteroovarian vasculature. *Scope XX (Kalamazoo),* 1976, 1-17.

72. Ginther O. J., Dierschke D. J., Walsh S. W., Del Campo C. H. Anatomy of arteries and veins of uterus and ovaries in Rhesus monkeys. *Biol. Reprod.* 1973, 11, 205-211.
73. Goldberg I. D., Rosen E. M. Regulation of angiogenesis. EXS. Boston: Birkhauser. 1997, 79.
74. Goldman-Wohl D. S., Ariel I., Greenfield C., Lavy Y., Yagel S. Tie-2 and angiopoietin-2 expression at the fetal-maternal interface: a receptor ligand model for vascular remodeling. *Mol. Hum. Reprod.* 2000, 6 (1), 81-87.
75. Gorczyca J., Litwin J. A., Nowogrodzka-Zagórska M., Skawina A., Miodoński A. J. Microcirculation of human fetal tooth buds: a SEM study of corrosion casts. *Eur. J. Morphol.* 1994, 32, 3-10.
76. Gorczyca J., Skawina A., Litwin J. A., Miodoński A. J. Microcirculation of human fetal posterior root ganglia: a scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Ann. Anat.* 1998, 180, 25-30.
77. Greiss F., Anderson S. Effects of ovarian hormones on the uterine vascular bed. *Am. J. Obstet. Gynec.* 1970, 107, 829-836.
78. Grunt T. W., Lametschwandtner A., Karrer K. The characteristic structural features of the blood vessels of the Lewis lung carcinoma. *Scan. Electron Microsc.* 1986, II, 575-589.
79. Grunt T. W., Lametschwandtner A., Karrer K., Staindl O. The angioarchitecture of the Lewis lung carcinoma in laboratory mice (a light microscopic and scanning electron microscopic study). *Scan. Electron Microsc.* 1986, II, 557-573.
80. Grunt T. W. The fundamental vascular structures in epithelial cancer demonstrated in an experimental lung carcinoma. W: Motta P. M., Murakami T., Fujita H. *Scanning electron microscopy of vascular casts: methods and applications.* Kluwer Academic Publishers. 1992.
81. Halder J. B., Zhao X., Soker S., Paria B. C., Klagsbrun M., Das S. K., Dey S. K. Differential Expression of VEGF Isoforms and VEGF₁₆₄-Specific Receptor Neuropilin-1 in the Mouse Uterus Suggests a Role for VEGF₁₆₄ in Vascular Permeability and Angiogenesis During Implantation. *Genesis* 2000, 26, 213-224.
82. Harris J. W. S., Ramsey E. M. The morphology of the human uteroplacental vasculature. *Contrib. Embryol. Carnegie Inst.* 1966, 38(260), 43-58.
83. Hartman C. G. The oestrus cycle in the opossum. *Am. J. Anat.* 1923, 32, 353-421.
84. Hickey M., Fraser I. S. The structure of endometrial microvessels. *Human Reprod.* 2000, 15 (suppl. 3), 57-66.

85. Hodde K. C., Nowell J. A. SEM of micro-corrosion casts. Scanning Electron Microscopy SEM Inc., Chicago, 1980/II, 88-106.
86. Holash J., Maisonpierre P. C., Compton D., Boland P., Alexander C. R., Zagzag D., Yancopoulos G. D., Wiegand S. J. Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science*. 1999, 284, 1994-1998.
87. Holash J., Wiegand S. J., Yancopoulos G. D. New model of tumor angiogenesis: dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and VEGF. *Oncogene* 1999, 18, 5356-5362.
88. Holmgren B. Some observations on the blood vessels of the uterus under normal conditions and in myoma. *Acta Obstet. Gynaec. Scand.* 1938, 18, 192-203.
89. Huet-Hudson Y. M., Chakraborty C., Suzaki Y., Andrews G. K., Dey S. K. Estrogen regulates synthesis of epidermal growth factor in mouse uterine epithelial cells. *Mol. Endocrinol.* 1990, 4, 510-523.
90. Hudlicka O., Tyler K. R. Angiogenesis: The growth of the vascular system. Academic Press, London, Orlando, San Diego, New York, Austin, Montreal, Sydney, Tokyo, Toronto. 1986.
91. Hyder S. M., Huang J. C., Nawaz Z., Boettger-Tong H., Mäkelä S., Chiapetta C., Stancel G. Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor Expression by Estrogens and Progestins. *Environmental Health Perspectives*. 2000, 108 (suppl. 5), 785-790.
92. Iruela-Arispe M. L., Rodriguez-Manzanique J. C., Abu-Jawdeh G. Endometrial Endothelial Cells Express Estrogen and progesterone Receptors and Exhibit a Tissue Specific Response to Angiogenic Growth Factors. *Microcirculation*. 1999, 6, 127-140.
93. Janson P.O., Svendsen P. Angiographic studies of the extrinsic vasculature of the rabbit ovary. *J. Reprod. Fert.* 1975, 42, 175-178.
94. Kaiser I. H. Histological appearance of coiled arterioles in the endometrium of Rhesus monkey, baboon, chimpanzee and gibbon, *Anat. Rec.* 1947, XCIX, 199 – 202.
95. Kaiser I. H. Absence of coiled arterioles in the endometrium of menstruating new world monkeys. *Anat. Rec.* 1947, XCIX, 353-360.
96. Kaiserman-Abramof I. R., Padykula H. A. Angiogenesis in the Postovulatory Primate Endometrium: The Coiled Arteriolar System. *Anat. Rec.* 1989, 224, 479-489.
97. Kardon R. H., Farley D. B., Hediger P. M., van Orden D. E. Intraarterial cushions of the rat uterine artery: a scanning electron microscope evaluation utilizing vascular casts. *Anat. Rec.* 1982, 203, 19-29.

98. Klagsbrun M., D'Amore P. A. Vascular endothelial growth factor and its receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1996, 7, 259-270.
99. Kniseley M. H. Microscopic observations on circulatory system of living transilluminated mammalian spleens and parturient uteri. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1934, 32, 212-214.
100. Konerding M. A., Miodoński A. J., Lametschwandtner A. Microvascular corrosion casting in the study of tumor vascularity: a review. *Scan. Microsc.* 1995, 9 (4), 1233-1244.
101. Konerding M. A., van Ackern C., Hinz S., Steinberg F., Streffer C. Ultrastructural studies of tumour angiogenesis in human xenotransplanted tumours. *Int. J. Radiat. Biol.* 1997, 60, 49-53.
102. Kubo H., Fujiwara T., Jussila L., Hashi H., Ogawa M., Shimizu M., Awane M., Sakai Y., Takabayashi A., Alitalo K., Yamaoka Y., Nishikawa S. Involvement of vascular endothelial growth factor receptor-3 in maintenance of integrity of endothelial cell lining during tumor angiogenesis. *Blood.* 2000, 96 (2), 546-553.
103. Kuś J. Historia metod iniekcyjnych w naukach morfologicznych. *Folia Morphol. (Warszawa)* 1969, 28, 147-160.
104. Lametschwandtner A., Simonsberger P., Adam H. Scanning electron microscopical studies of corrosion casts. The vascularization of the paraventricular organ of the toad. *Mikroskopie Bd.* 1976, 32, 195-203.
105. Lametschwandtner A., Miodoński A., Simonsberger P. On the prevention of specimen charging in scanning electron microscopy of vascular corrosion casts by attaching conductive bridges. *Microscopie (Wien).* 1980, 36, 270-273.
106. Lametschwandtner A., Lametschwandtner U., Weiger T. Scanning electron microscopy of vascular corrosion casts – technique and application. *Scanning Electron Microscopy. SEM Inc. Chicago.* 1984/II, 663-695.
107. Lametschwandtner A., Lametschwandtner U., Weiger T. Scanning electron microscopy of vascular corrosion casts – technique and application: updated review. *Scanning Microsc.* 1986, 4, 889-941.
108. Lange H. Neue Untersuchungen zur Vascularisation des Schweineuterus. *Inaug. Diss. Freien Universitat, Berlin* 1959.
109. Langer N., Beach D., Lindenbaum E. S. Novel Hyperactive Mitogen to Endothelial Cells: Human Decidual NKG5. *AMRI.* 1999, 42, 263-272.
110. Lee C. S., O'Shea J. D. Observations on the utero-ovarian vasculature of the sheep. *J. Reprod. Fert.* 1974, 36, 459-460.

111. Lewis W. H. The vascular pattern of tumours. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* 1927, 41, 156-159.
112. Lindenbaum E., Brandes J. M., Itzkovitz J. Ipsi- and contralateral anastomosis of the uterine arteries. *Acta Anat.* 1978, 102, 157-252.
113. Lippert H. *Anatomia. Wydanie I polskie pod redakcją R. Aleksandrowicza. Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław* 1998.
114. Lundkvist Ö., Ljungkvist I. Morphology of rat endometrial stroma at the appearance of the pontamine blue reaction during implantation after an experimental delay. *Cell Tissue Res.* 1977, 184, 453-466.
115. Lundkvist Ö., Nilsson O., Bergström S. Studies on the trophoblast-epithelial complex during induction in rats. *Am. J. Anat.* 1979, 154, 211-230.
116. Łasiński W. *Anatomia topograficzna i stosowana. Tom 3. PZWL. Warszawa* 1991.
117. MacDonald A. A. Uterine vasculature in the pregnant pig: A scanning electron microscope study. *Anat Rec.* 1976, 184, 689-698.
118. Markee J. E. Rhythmic variations in the vascularity of the uterus of the guinea pig during the oestrus cycle. *Am. J. Obst. Gynec.* 1929, 17, 205-208.
119. Markee J. E. Rhythmic vascular uterine changes. *Am. J. Physiol.* 1932, 100, 32-39.
120. Markee J. E. Menstruation in intraocular endometrial transplants in the rhesus monkey. *Contrib. Embryol. Carnegie Inst.* 1940, 28, 219-308.
121. Markee J.E. The morphological and endocrine basis for menstrual bleeding. *Prog. Gynecol.* 1946, 2, 63-74.
122. Martín-Orti R., Stefanov M., Gaspar I., Marin R., Martín-Algualcíl N. Effect of anticoagulation and lavage prior to casting of postmortem material with Mercocox® and Batson® 17. *J. Microsc.* 1999, 195, 150-160.
123. Maruo T., Matsuo H., Samoto T., Shimomura Y., Kurachi O., Gao Z., Wang Y., Spitz I. M., Johansson E. Effects of progesterone on uterine leiomyoma growth and apoptosis. *Steroids.* 2000, 65, 585-592.
124. Matsuo H., Maruo T., Samoto T. Increased expression of Bcl-2 protein in human uterine leiomyoma and its upregulation by progesterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997, 82, 293-299.
125. McDonald D. M., Foss A. J. E. Endothelial cells of tumor vessels: Abnormal but not absent. *Cancer and Metastasis Rev.* 2000, 19, 109-120.
126. Mignatti P., Rifkin D. B. Plasminogen activators and matrix metalloproteinases in angiogenesis. *Enzyme Protein.* 1996, 49, 117-137.

127. Miodoński A. J., Bugajski A., Litwin J. A., Piasecki Z. Vascular architecture of human urinary bladder carcinoma: a SEM study of corrosion casts. *Virchows Arch.* 1998, 433, 145-151.
128. Miodoński A. J., Hodde K. C., Backer C. Rasterelektronenmikroskopien von Plastik-Korrosion-Präparaten: Morphologische Unterschiede zwischen Arterien und Venen. *BEDO. Münster.* 1976, 9, 435-442.
129. Miodoński A. J., Kuś J. Metody iniecyjne w badaniach układu krwionośnego. *Wszechświat.* 1978, 7-8, 183-186.
130. Miodoński A. J., Kuś J., Nowogrodzka-Zagórska M., Olszewski E., Bugajski A. Angiomorphology of the human larynx and renal carcinoma a comparative study. W: Motta P. M., Murakami T, Fujita H. *Scanning Electron Microscopy of Vascular Casts: Methods and Applications.* Kluwer Academic Publishers 1992, 345-361.
131. Miodoński A. J., Kuś J., Tyrankiewicz R. SEM blood-vessel cast analysis. In: Three dimensional microanatomy of cells and tissue surfaces. D. J. Allen, P. M. Motta, L. J. A. DiDio (eds.). Elsevier/North Holland, New York, Amsterdam, Oxford. 1981, 71-87.
132. Miodoński A. J., Gorczyca J., Nowogrodzka-Zagórska M., Litwin J. A., Składzień J. Microvascular system of the human fetal inner ear: a scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Scan. Microsc.* 1993, 7, 585-595.
133. Murakami T. Application of the scanning electron microscope to the study of the fine distribution of the blood vessels. *Arch. Histol. Jap.* 1971, 32, 445-454.
134. Muran D., Gilleson M., Walters J. H. Myomas of the uterus in pregnancy: Ultrasonographic follow-up. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1980, 138, 16-19.
135. Murphy L. J., Ghahary A. Uterine insuliné-growth factor – 1: regulation of expression and its role in estrogen – induced uterine proliferation. *Endocr. Rev.* 1990, 11, 443-453.
136. Nelson K. G., Takahashi T., Lee D. C., Luetkeke N. C., Mclachlan J. A. Transforming growth factor is a potential mediator of estrogen action in the mouse uterus. *Endocrinology* 1992, 131, 1657-1664.
137. Neufeld G., Cohen T., Gitay Goren H., Poltorak Z., Tessler S., Sharon R., Gengrinovitch S., Levi B. Z. Similarities and differences between the vascular endothelial growth factor (VEGF) splice variants. *Cancer Metastasis Rev.* 1996, 15, 153-158.
138. Neufeld G., Cohen T., Gengrinovitch S., Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* 1999, 13, 9-22.
139. Nieminen U. Studies on the vascular pattern of ectopic endometrium with special reference to cyclic changes. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 1962, 41 (suppl. 3), 15-25.

140. Nowell J. A., Pangborn J., Tyler W. S. SEM of the avian lung. Scan. Electron Microsc. IITRI, Chicago. 1970/I, 249-256.
141. Okkels H., Engle E.T. Studies on the finer structure of the uterine blood vessels of the *Macacus* monkey. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 1938, 15, 150-157.
142. Orsini M. W. The vascular knot of the hamster uterus. J. Morphol. 1957, 100, 565-599.
143. Osteen K. G., Keller N. R., Feltus F. A., Melner M. H. Paracrine Regulation of Matrix Metalloproteinase Expression in the Normal Human Endometrium. Gynecol. Obstet. Invest. 1999, 48 (suppl. 1), 2-13.
144. Park J. E., Chen H. H., Winer J., Houck K. A., Ferrara N. Placenta growth factor. Potentiation of vascular endothelial growth factor bioactivity, in vitro and in vivo, and high affinity binding to Flt-1 but not to Flk-1/KDR. J. Biol. Chem. 1994, 269, 25646-25654.
145. Parr M. B., Tung H. N., Parr E. L. The ultrastructure of the rat primary decidual zone. Am. J. Anat. 1986, 176, 423-436.
146. Pityński K., Litwin J. A., Nowogrodzka-Zagórska M., Gorczyca J., Miodoński A. J. The vascular architecture of human fetal oviduct: a scanning electron microscopic study of corrosion casts. Human Reprod. 1994, 9 (10), 1958-1963.
147. Pityński K., Litwin J. A., Nowogrodzka-Zagórska M., Miodoński A. J. Vascular architecture of the human fetal adrenal gland: a SEM study of corrosion casts. Ann. Anat. 1996, 178, 215-222.
148. Psychoyos A. La réaction déciduale est précédée de modifications précoces de la perméabilité capillaire de l'utérus. C.R.Séanc. Soc. Biol. 1960, 154, 1384-1391.
149. Quinn T. P., Peters K. G., De Vries C., Ferrara N., Williams L. T. Fetal liver kinase I is a receptor for vascular endothelial growth factor and is selectively expressed in vascular endothelium. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993, 90, 7533-7537.
150. Ramsey E. M. The vascular pattern of the endometrium of the pregnant Rhesus monkey (*Macaca mulatta*). Contr. Embryol. Carnegie Inst. Wash. 1949, XXXIII, 113-147.
151. Ramsey E. M. Vascular patterns in the endometrium and the placenta. Angiology. 1955, 6, 321-339.
152. Rein M. S., Nowak R. A. Biology of uterine myomas and myometrium in vitro. W: Barbieri R. L. Seminars in reproductive endocrinology. Thieme, New York. 1992, 10, 310-319.
153. Reinhold H. S., Van der Berg-Blok A. Vascularization of experimental tumors. W: Development of the vascular system. Ciba Foundation Symposium 100, Pitman, London. 1983, 100-110.

154. Reynolds R., Lawrence P., Killilea S. D., Redmer S., Dale A. Angiogenesis in the female reproductive system. *FASEB J.* 1992, 6, 886-892.
155. Risau W. Differentiation of endothelium. *FASEB J.* 1995, 9, 926-933.
156. Risau W., Flamme I. Vasculogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 1995, 11, 73-91.
157. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature.* 1997, 386, 671-674.
158. Roberts W. H., Krishinger G. L. Comparative study of human internal iliac artery based on Adachi classification. *Anat. Rec.* 1967, 158, 191-196.
159. Rogers P. A., Gannon B. J. The vascular and microvascular anatomy of the rat uterus during the oestrus cycle. *Aust. J. Exp. B.* 1981, 59, 667-669.
160. Rogers P. A., Murphy C. R., Gannon B. J. Absence of capillaries in the endometrium surrounding the implanting rat blastocyst. *Micron.* 1982, 13, 373-375.
161. Rogers P. A., Murphy C. R., Gannon B. J. Changes in the spatial organization of the uterine vasculature during implantation in the rat. *J. Reprod. Fert.* 1982, 65, 211-214.
162. Rogers P. A. W., Gannon B. J. The microvascular casts as a three-dimensional tissue skeleton: visualization of rapid morphological changes in tissues of the rat uterus. *J. Microsc.* 1983, 131, 241-247
163. Rogers P. A., Murphy C. R., Gannon B. J. Effects of an IUD on the spatial organization of the uterine vasculature in pregnant rats. *J. Anat.* 1983, 136, 646-647.
164. Rogers P. A., Murphy C. R., Rogers A. W., Gannon B. J. Capillary patency and permeability in the endometrium surrounding the implanting rat blastocyst. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 1983, 2, 241-249.
165. Sampson J. A. The influence of myomata on the blood supply of the uterus with special reference to abnormal uterine bleeding. *Surg. Gynaec. Obstet.* 1913, 16, 144-168.
166. Sampson J. A. The influence of ectopic pregnancy on the uterus with special reference to changes in its blood supply and uterine bleeding. *Surg. Gynaec. Obstet.* 1914, 18, 587-612.
167. Schlegel J. U. Arteriovenous anastomoses in the endometrium in man. *Acta Anat.* 1946, 1, 284-325.
168. Seki N., Kodama J., Hongo A., Miyagi Y., Yoshinouchi M., Kudo T. Vascular endothelial growth factor and platelet-derived endothelial cell growth factor expression are implicated in the angiogenesis of endometrial cancer. *Eur. J. Cancer.* 2000, 36, 68-73.

169. Shin D., Garciacardena G., Hayashi S. I., Gerety S., Asahara T., Stavrakis G., Isner J., Folkman J., Gimbrone M. A., Anderson D. J. Expression of ephrinB2 identifies a stable genetic difference between arterial and venous vascular smooth muscle as well as endothelial cells, and marks subsets of microvessels at sites of adult neovascularization. *Develop. Biol.* 2001, 230 (2), 139-150.
170. Skawina A., Litwin J. A., Gorczyca J., Midoński A. J. Blood vessels in epiphyseal cartilage of human fetal femoral bone: a scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Anat. Embryol.* 1994, 189, 457-462.
171. Składzień J., Litwin J. A., Nowogrodzka-Zagórska M., Gorczyca J., Miodoński A. J. Mucosal vasculature of human fetal palate: a scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Ann. Anat.* 1995, 177, 543-547.
172. Składzień J., Litwin J. A., Nowogrodzka-Zagórska M., Miodoński A. J. Corrosion casting study on the vasculature of nasal mucosa in the human fetus. *Anat. Rec.* 1995, 242: 411-416.
173. Smith J.; Walters W.; Spong J.: Effects of pregnancy on the diameter of the uterine arteries in the rabbit. *Obstet. Gynec. N.Y.* 1968, 31, 788-794.
174. Spanel-Borowski K., Amselgruber W., Sinowatz F. Capillary sprouts in ovaries of immature superstimulated golden hamsters: a SEM study of microcorrosion casts. *Anat. Embryol.* 1987, 176, 387-391.
175. Spanel-Borowski K. Morphology of angiogenesis and angioregression in the hamster ovary. *Italian J. Anat. Embryol.* 1999, 104 (suppl. 1), 671. Abstract XV Cong. IFAA & 4th Int. Malpighi Symp. Rzym.
176. Stacker S. A., Achen M. G. The vascular endothelial growth factor family: signalling for vascular development. *Growth Factors.* 1999, 17, 1-11.
177. Stręk P., Litwin J. A., Nowogrodzka-Zagórska M., Miodoński A. J. Microvasculature of the dorsal mucosa of human fetal tongue: A SEM study of corrosion casts. *Ann. Anat.* 1995, 177, 361-366.
178. Stręk P., Nowogrodzka-Zagórska M., Litwin J. A., Miodoński A. J. The lung in closeview: a corrosion casting study on the vascular system of human fetal trachea. *Eur. Respir. J.* 1994, 7, 1669-1672.

179. Stręk P., Nowogrodzka-Zagórska M., Skawina A., Pityński K., Gorczyca J., Walocha J., Budzyń M. Vasculature of the human fetus palatine tonsil. A light and scanning electron microscopical study. (Unaczynienie migdałka podniebiennego płodu ludzkiego. Badania w mikroskopie świetlnym i SEM). XVI Congress of the Polish Anatomical Society, Olsztyn, 1993, abstr. 135.
180. Tachi S., Tachi C. Ultrastructural studies on maternal-embryonic cell interaction during experimentally induced implantation of rat blastocysts to the endometrium of the mouse. *Dev. Biol.* 1979, 68, 203-223.
181. Tafani A. Sulle condizioni uteroplacentari della vita fetale: nuove indaginiembriologiche comparate. *Arch della Scuola D'anat Patol. Pubblic, del R. Inst. Firenze Sezione Med. Chir.* 1886, 4, 52-216.
182. Takemori K., Okamura H., Kanzaki H., Okuda Y., Fujii S. Scanning electron microscopic observations of microcorrosion casts for nonpregnant rat uterine vascular architecture. *Acta Obstet. Gynecol. Jpn.* 1982, 34, 729-737.
183. Takemori K., Okamura H., Kanzaki H., Koshida M., Konishi I. Scanning electron microscopy study on corrosion cast of rat uterine vasculature during the first half of pregnancy. *J. Anat.* 1984, 138, 163-173.
184. Takemori K., Okamura H., Kanzaki H., Koshida M., Konishi I., Mori T. Scanning electron microscopy study on corrosion casts of rat uterine vasculature during the second half of pregnancy and post partum. *J. Anat.* 1985, 142, 21-31.
185. Terman B. I., Dougher Vermazen M. Biological properties of VEGF /VPF receptors. *Cancer Metastasis Rev.* 1996, 15, 159-163.
186. Verco C. J., Gannon B. J., Jones W. R. Microvascular architecture of the mechanically induced hydrosalpinx in the rabbit. *Clin Reprod. Fert.* 1982, 1, 311-321.
187. Verco C. J., Gannon B. J., Jones W. R. Rabbit oviduct microvascular architecture after tubal ligation. *Fertil Steril.* 1983, 40, 127-130.
188. Verco C. J., Gannon B. J., Jones W. R. Fallopian tube microvasculature in the rabbit. *Aust. J. Exp. Med. Sci.* 1983, 61, 127-138.
189. Verco C. J., Gannon B. J., Jones W. R. Uterine tube microvascular architecture after oophorectomy in the rabbit. *Acta Anat.* 1983, 117, 193-200.
190. Verco C. J., Gannon B. J., Jones W. R. Variations in rabbit oviduct microvascular architecture after ovulation induced by hCG. *J. Reprod. Fert.* 1984, 72, 15-19.
191. Verco C. J., Gannon B. J., Jones W. R. Microvascular architecture of the pregnant rabbit oviduct. *Acta Anat.* 1984, 118, 167-170

192. Verkauf B. Changing trends in treatment of leiomyomata uteri. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 1993, 5, 301-310.
193. Vollenhoven B. J., Lawrence A. S., Healy D. L. Uterine fibroids. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1990, 97, 285-298.
194. Weinstein B. M. What guides early embryonic blood vessel formation? *Dev Dyn.* 1999, 215, 2-11.
195. West C. P., Lumsden M. A., Lawson S., Williamson J., Baird D. T. Shrinkage of uterine fibroids during therapy with goserelin (Zoladex): a lutenizing hormone-releasing hormone agonist administered as a monthly subcutaneous (s.c.) depot. *Fertil. Steril.* 1987, 48, 45-51.
196. Whitmore I. *Terminologia Anatomica*. IFAA, FCAT. Georg Thieme Verlag. Germany. 1998, 89.
197. Williams M. F. The vascular architecture of the rat uterus as influenced by estrogen and progesterone. *Am. J. Anat.* 1948, 83, 247-308.
198. Wilting J., Christ B. Embryonic angiogenesis: a review, *Naturwissenschaften.* 1996, 83, 153-164.
199. Winer-Muram H. T., Muram D., Gilieson M. S., Ivy B. J., Muggah H. F. Uterine myomas in pregnancy. *Can. Med. Assoc. J.* 1983, 128, 949-950.
200. Wolańska M., Sobolewski K., Drożdżewicz M. Integryny a aktywność prolidazy w różnych okresach wzrostu mięśniaków macicy. *Ginekologia Polska.* 2001, 3, 121-126.
201. Yancopoulos G. D., Davis S., Gale N. W., Rudge J. S., Wiegand S. J., Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature.* 2000, 407, 242-247.
202. Young A. Vascular architecture of the rat uterus. *Proc. Roy. Soc. Edin.* 1951, 64, 292-311.
203. Young A. The vascular architecture of the rat uterus during pregnancy. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh.* 1956, 63, 167-184.
204. Yuan-yao C., Yu-lin L., Chun-ji L., Yi-lei L., Li-ping C., Yun-peng J., Hang-gao C., Takahashi T., Yaegash H. Studying the Growth of Cervical Carcinoma Nests and Angiogenesis by Immunostaining, Quantitation and Three-Dimensional Structural Analysis. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, 2000, 22 (1), 12-21.
205. Zagzag D., Amirnovin R., Greco A., Yee H., Holash J., Wiegand S. J., Zabski S., Yancopoulos G. D., Grumet M. Vascular Apoptosis and Involution in Gliomas Precede Neovascularization: A Novel Concept for Glioma Growth and Angiogenesis. *Lab. Invest.* 2000, 80 (6), 837-849.

