

Stanisław Chrapusta, Bożena Konopka, Marian Goluńa, Halina Padzik,  
Mieczysław Ujiec, Zygmunt Paszko

## ZAWARTOŚĆ RECEPTORÓW ESTROGENÓW I PROGESTAGENÓW W ENDOMETRIUM I MYOMETRIUM Kobiet PODCZAS CYKLU MIESIĄCZKOWEGO

Z Samodzielnej Pracowni Endokrynologii Onkologicznej  
Centrum Onkologii — Instytutu im. Marii Skłodowskiej Curie w Warszawie  
Kierownik: prof. dr hab. Z. Paszko  
Dyrektor: prof. dr hab. J. Steffen  
Z II Katedry i Kliniki Ginekologii Akademii Medycznej we Wrocławiu  
Kierownik: prof. dr hab. M. Ujiec

Zbadano zawartość „cytozolowych” receptorów estrogenów (ERc) i progestagenów (PRc) oraz „jądrowego receptora estrogenów (ERn) w prawidłowych tkankach macic 72 miesięczkujących kobiet. Stwierdzono, że zawartość tych receptorów jest skorelowana z fazą cyklu miesięczkowego i zaawansowaniem procesów proliferacji i sekrecji w endometrium, przy czym największym względnym wahaniom ulega zawartość ERn w endometrium. Wykazano, że endometrium zawiera znamienne więcej ERc i PRc w fazie proliferacji niż w fazie sekrecji. Stwierdzono występowanie analogicznych zmian w myometrium, przy czym jednak różnica stężeń ERc w tej tkance w fazie proliferacji i sekrecji nie osiągała znamienności statystycznej. Wykazano, że maksimum zawartości ERc w błonie mięśniowej występuje wcześniej niż w śluzowej (odpowiednio we wczesnym i późnym okresie fazy proliferacji). Omówiono hormonalne uwarunkowanie obserwowanych zmian zawartości receptorów i wysunięto przypuszczenie, że przyczyną różnic w przebiegu tych zmian w błonach śluzowej i mięśniowej może być proliferacja komórek śluzówki.

Ilość receptorów estrogenów i progestagenów w komórkach macicy dojrzałych samic ulega w czasie cyklu płciowego regularnym wahaniom zależnym od zmian stężenia estrogenów i progesteronu w krwi (7, 8, 22, 23). Wiadomo, że estrogeny mogą wywoływać wzrost, a progestageny — zmniejszenie ilości miejsc receptorowych, wiążących estrogeny, progestageny lub androgeny w macicy i innych narządach docelowych (4, 5, 13). Zmiany ilości receptorów mogą być jedną z przyczyn zmian reaktywności komórek na dany hormon (4, 24). Komórki różnych tkanek macicy różnią się nie tylko ilościowo, ale i jakościowo reaktywnością na hormony steroidowe, co jest następstwem różnicowania się komórek w trakcie ontogenezy. Reaktywność komórek docelowych na hormon może być również uzależniona od fazy ich cyklu życiowego (9).

Celem poniższej pracy było określenie i porównanie zawartości receptorów estrogenów i progestagenów w błonach śluzowej i mięśniowej macicy ludzkiej w czasie cyklu miesięczkowego.

### MATERIAŁ I METODY

Materiał stanowiły macice 72 normalnie miesięczkujących kobiet, usunięte z powodu endometriozы trzonu macicy (*adenomyosis*), mięśniaków lub stanu przedrakowego szyjki macicy (*dysplasia*). Do badań pobierano błonę śluzową oraz makroskopowo nie zmienione fragmenty



blony mięśniowej. Błone śluzową badano pod względem histomorfologicznym w celu ustalenia aktualnej fazy cyklu miesięczkowego, a mięśniową — w celu wyeliminowania fragmentów zawierających ogniska endometriotyczne lub mięśniaki. Do oznaczeń biochemicznych użyto wyłącznie tkanek o cechach prawidłowych. Zebrany materiał podzielono na 6 grup odpowiadających wczesnemu (PI, średnia wieku pacjentek 51 lat; n=6), środkowemu (PII, średnia wieku 43 lata, n=12) i późnemu (PIII, średnia wieku 43 lata, n=15) okresowi fazy proliferacji oraz wczesnemu (SI, średnia wieku 46 lat, n=15), środkowemu (SII, średnia wieku 43 lata, n=11) i późnemu (SIII, średnia wieku 42 lata, n=13) okresowi fazy sekrecji. Podziału dokonano na podstawie wyglądu nabłonka powierzchniowego i gruczołów, uwzględniając podział warstwy czynnościowej endometrium na strefę zbitą i gąbczastą, obecność zmian doczesnowych oraz zachowanie się tkanki łącznej siateczkowej.

Sposób przygotowania cytozolu oraz ekstraktu z jądrowej frakcji homogenatów tkankowych, a także metody oznaczania receptorów estrogenów i progestagenów podano w innej publikacji (3). Do oznaczeń białka stosowano metodę *Lowry'ego* (14), a do oznaczania DNA — zmodyfikowaną metodę *Burtona* (11). Do statystycznej oceny wyników zastosowano test „t” Studenta.

## WYNIKI

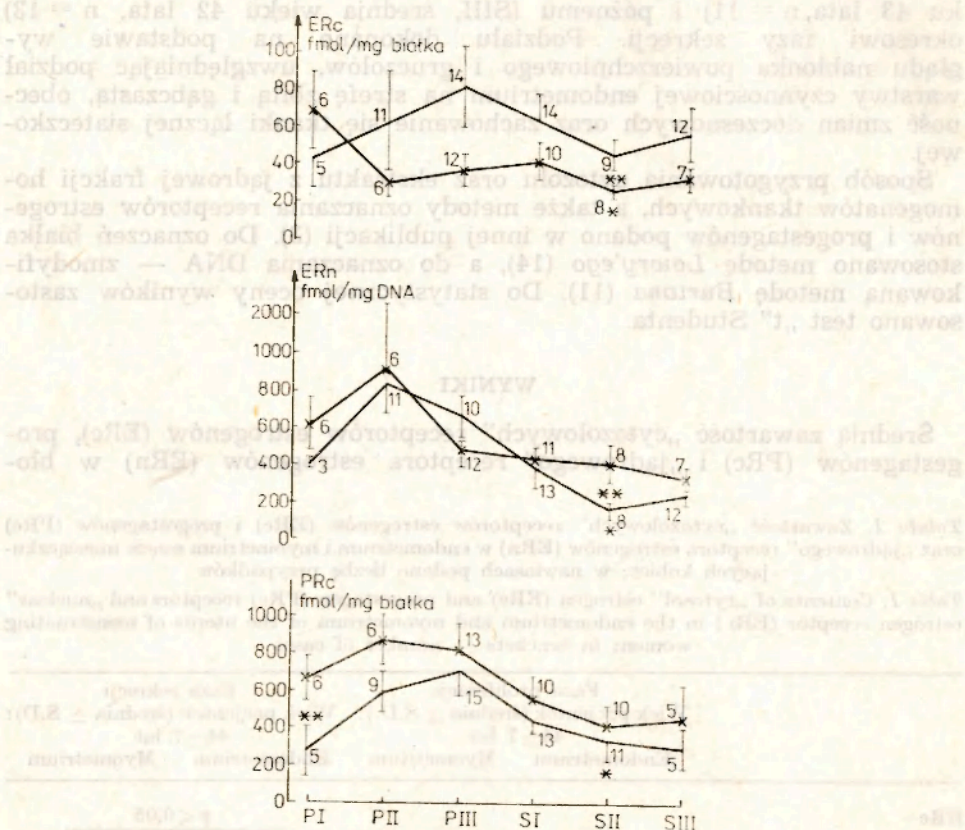
Średnią zawartość „cytozolowych” receptorów estrogenów (ERc), progestagenów (PRc) i „jądrowego” receptora estrogenów (ERn) w błonie

*Tabela I.* Zawartość „cytozolowych” receptorów estrogenów (ERc) i progestagenów (PRc) oraz „jądrowego” receptora estrogenów (ERn) w endometrium i myometrium macicy miesiączkujących kobiet; w nawiasach podano liczbę przypadków

*Table I.* Contents of „cytosol” estrogen (ERc) and progestagen (PRc) receptors and „nuclear” estrogen receptor (ERn) in the endometrium and myometrium of the uterus of menstruating women; in brackets — number of cases

	Faza proliferacji Wiek pacjentek (średnia ± S.D.): 44 ± 7 lat		Faza sekrecji Wiek pacjentek (średnia ± S.D.): 44 ± 7 lat	
	Endometrium	Myometrium	Endometrium	Myometrium
ERc			p < 0,05	
fmol mg białka ± S.E.	68 ± 14 (30)	43 ± 7 (24)	57 ± 7 (35)	35 ± 4 (25)
ERn			p < 0,05	
fmol mg DNA ± S.E.	705 ± 85 (24)	619 ± 97 (24)	283 ± 49 (33)	403 ± 43 (26)
	p < 0,01			
PRc			p < 0,01	
fmol mg białka ± S.E.	592 ± 78 (29)	790 ± 87 (25)	370 ± 56 (33)	480 ± 71 (25)
	p < 0,05			

nach śluzowej i mięśniowej macic usuniętych w fazie proliferacji i sekrecji przedstawiono w tabeli I. Stężenia tych receptorów w proliferacyjnej fazie cyklu miesięczkowego były większe niż w fazie sekrecyjnej, przy czym jednak różnice te osiągały wartość statystycznie znamienneą ( $p \geq 0,05$ ) tylko dla ERn i PRc. W fazie proliferacji średnia zawartość ERc i ERn w endometrium była większa, a PRc — mniejsza, niż w błonie mięśniowej, ale różnice te były statystycznie nieistotne. W fazie sekrecji średnia zawartość ERc w błonie śluzowej była znamienne większa



Ryc. 1. Zmiany średniej zawartości „cytozolowych” receptorów estrogenów (ERc), progesteragenów (PRc) i „jądrowego” receptora estrogenów (ERn) w błonie śluzowej (—) i mięśniowej (x-x-x) macic miesięczkujących kobiet w czasie cyklu miesięczkowego; pionowymi kreskami zaznaczono błąd standardowy średniej, liczbę oznaczeń podano w tle wykresów. PI, PII, PIII — wczesny, środkowy i późny okres fazy proliferacji; SI, SII, SIII — wczesny, środkowy i późny okres fazy sekrecji. \* — różnica w porównaniu z maksimum znamienne statystycznie dla  $p \leq 0,05$ ; \*\* — różnica wartości dla śluzówki i mięśniówki bliska znamienności statystycznej ( $p \leq 0,1$ ).

Fig. 1. Changes of mean contents of „cytosol” estrogen (ERc) and progesteragen (PRc) receptors and of „nuclear” estrogen receptor (ERn) in the mucosa and muscularis of the uterus of menorrhagic women in the course of menstruation cycle; perpendicular lines denote standard error of the mean value, number of estimations is shown in the background of the graphs. PI, PII, PIII — early, medium and late period of the secretory phase. \* — difference compared with maximum statistically significant  $p \leq 0,05$ ; \*\* — difference of value for mucosa and muscularis approaching the statistical significance  $p \leq 0,1$ .



sza niż w mięśniowej, natomiast różnice zawartości ERn i PRc w błonach śluzowej i mięśniowej nie były statystycznie istotne.

Szczegółowy obraz zmian zawartości ERc, ERn i PRc w prawidłowych tkankach macicy przedstawiono na ryc. 1. Przyrost i zmniejszanie się stężeń ERn i PRc przebiegały w endometrium i myometrium jednocześnie. Maksimum ERn przypadało na środkowy, a maksimum PRc — na środkowy lub późny okres fazy proliferacji, natomiast minima — na środkowy i późny okres fazy sekrecji. Różnice między ekstremalnymi wartościami średniego stężenia PRc były statystycznie znamienne zarówno dla błony śluzowej, jak i mięśniowej, natomiast stężenie ERn zmieniało się w sposób znaczący jedynie w endometrium. Uwagę zwraca fakt, że stężenie ERc w endometrium w czasie fazy proliferacji rosło, natomiast w myometrium — malało. W obu tych tkankach minimum stężenia ERc przypadało na okres sekrecji, przy czym różnica między stężeniami ERc zbliżała się do progu znamienności statystycznej, podobnie jak różnica zawartości ERn ( $p \leq 0,1$ , ryc. 1). Średnia zawartość PRc w błonie mięśniowej była większa niż w błonie śluzowej we wszystkich okresach fazy proliferacji i sekrecji, ale różnica ta zbliżała się do wartości statystycznie istotnej jedynie we wczesnym okresie fazy proliferacji (ryc. 1).

#### DYSKUSJA

Wyniki niniejszej pracy świadczą, że zawartość receptorów estrogenów i progesteragenów w prawidłowych tkankach macic miesiączkujących kobiet ulega wahaniom zależnym od hormonalnego stanu ustroju. Analogiczne wyniki uzyskano w szeregu wcześniejszych prac, których większość dotyczyła jednak błony śluzowej, natomiast dane o regulacji zawartości receptorów hormonów steroidowych w błonie mięśniowej są znacznie skromniejsze. Ogólnie stwierdza się, że zawartość ER i PR w fazie proliferacji jest większa niż w fazie sekrecji zarówno w błonie mięśniowej (10, 22), jak i w śluzowej (1, 15). Jak wykazano w toku obecnej pracy, maksimum PRc przypada na środkowy lub późny okres fazy proliferacji. Obserwacja ta jest zgodna ze spostrzeżeniami innych badaczy (1, 15, 22). Wzrost stężenia PR w tkankach macicy przypisuje się działaniu estradiolu (7, 23), natomiast jego spadek w okresie sekrecji — wpływowi progesteronu, który może zarówno powodować zmniejszenie ilości „cytozolowego” PR w wyniku jego przemiany w formę o zwiększonym powinowactwie do jąder komórkowych (tzw. „jądrowy” PR, PRn), jak i wywoływać zmniejszenie łącznej ilości PR w komórkach macicy (7, 13, 19, 24).

Większość badaczy stwierdza, że stężenie ERc w błonach śluzowej i mięśniowej w ciągu fazy proliferacji początkowo wzrasta, a w czasie przedowulacyjnego maksimum stężenia estradiolu we krwi maleje, czemu towarzyszy wzrost stężenia ERn (15, 22). Jak się obecnie uważa, receptory dla hormonów steroidowych są białkami jądrowymi (12, 19, 25). Białko receptorowe nie skompleksowane z hormonem ma słabe powinowactwo do chromatyny, w wyniku czego przy homogenizacji komórek może uwalniać się do środowiska. Ta frakcja receptora odpowiada tzw. „cytozolowemu” receptorowi. Kompleksy hormon—receptor, wykazujące silniejsze powinowactwo do chromatyny, mogą być z niej częściowo wyekstrahowane roztworami o dużej mocy jonowej, np. 0,4 M KCl. Jak wykazano, ilość ekstrahowalnego ERn jest wprost proporcjonalna do całkowitej ilości ERn (21).



Uzyskany przez nas obraz zmian zawartości ERc, ERn i PRc wykazuje pewne istotne różnice w porównaniu z danymi z piśmiennictwa. Polegają one m.in. na wcześniejszym pojawianiu się maksimów. Może to wynikać z przyjętego przez nas podziału faz cyklu na 3 okresy (większość badaczy dzieli każdą z nich na 2 części). Inną prawdopodobną przyczyną jest datowanie na podstawie wyłącznie cech histomorfologicznych endometrium, które obrazują stosunkowo późne efekty działania steroidów płciowych, gdy inni badacze opierają się głównie na wywiadzie lekarskim lub na danych o stężeniu estradiolu i progesteronu we krwi obwodowej.

Nieco zaskakujący jest natomiast zaobserwowany w naszych badaniach przeciwny kierunek zmian zawartości ERc w błonach śluzowej i mięśniowej w początkowym okresie fazy proliferacji. Nie wynikało to z różnic w przemianie ERc w ERn, gdyż ilość ERn w obu badanych tkankach zmieniała się w ten sam sposób i z tą samą amplitudą (ryc. 1). Najbardziej prawdopodobną przyczyną wydaje się proliferacja komórek, która odbywa się jedynie w błonie śluzowej i może być jedną z przyczyn opóźnienia spadku ilości ERc w tej tkance.

Jak wynika z badań na zwierzętach, wzrost średniej ilości ER w komórkach macicy (w przeliczeniu na jednostkę DNA) odbywa się głównie wskutek pojawiania się nowych komórek, zawierających duże ilości tego białka (2, 18). Doświadczenia nad lokalizacją ER w tkankach macicy, prowadzone przy użyciu przeciwciał monoklonalnych przeciwko ER, wykazały, że najwięcej tego receptora znajduje się w nabłonku gruczołowym (6). Ponadto badania nad regulacją zawartości ER w ogniskach endometriozy umiejscowionych w mięśni macicy, a składających się zarówno z tkanki mięśniowej, jak i nabłonka wykazały, że spadek ilości ERc w tych ogniskach w fazie proliferacji następuje wcześniej niż w endometrium, ale później niż w prawidłowej mięśniówce (26). Wykonane w ramach niniejszej pracy oznaczenia ERc w warunkach pozwalających oznaczyć także ERc skompleksowany z endogennym estrogenem wykazały, że spadek stężenia ERc w mięśniówce nie można przypisać blokowaniu miejsc wiążących estrogeny w cząsteczkach receptora przez endogenne estrogeny (dane nie prezentowane).

Zmniejszenie ilości ER w sekrecyjnym endometrium może być następstwem zarówno spadku stężenia estradiolu we krwi obwodowej, przynajmniej w początkowym okresie fazy sekrecji, jak i działania progesteronu. Hormon ten może indukować czynnik bezpośrednio zmniejszający ilość ERn (8, 16), a także hamować syntezę i wywoływać degradację ER (5, 8). Inną przyczyną zmniejszenia się ilości ER i PR w tkankach macicy przy przejściu z fazy proliferacji do fazy sekrecji może być wywołany przez progesteron wzrost aktywności dehydrogenazy 17 $\beta$ -hydroksysteroidowej. Efekt ten występuje zarówno w błonie śluzowej (20), jak i mięśniowej (22), a prowadzi do zwiększenia przemiany estradiolu w estron — estrogen o znacznie słabszym działaniu biologicznym.

С. Храпуста, Б. Конопка, М. Голюда, Х. Падзик, М. Уец,  
З. Пашко

СОДЕРЖАНИЕ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТОГЕНОВ  
В ЭНДОМЕТРИИ И МИОМЕТРИИ ЖЕНЩИН В ТЕЧЕНИЕ МЕСТРУАЛЬНОГО  
ЦИКЛА

Резюме

Изучено содержание „цитозольных” рецепторов эстрогенов (ERc) и прогестогенов (PRc) а также „ядерного” рецептора эстрогенов (ERn) в правильных тканях



matki 72 женщин с менструациями. Констатируется, что содержание этих рецепторов проявляет корреляцию с периодом менструального цикла и степенью развития пролиферативных процессов и секреции в эндометрии, при чем самые большие относительные отклонения отметили в содержании ERn в эндометрии. Доказано, что эндометрии содержит значительно больше ERc и PRc в пролиферативной фазе чем в секреторной фазе. Констатируется появление аналогичных изменений в миометрии, при чем разница концентрации ERc в этой ткани в пролиферативной и секреторной фазе не достигла однако статистической значимости. Доказано, что максимум содержания ERc в миометрии появляется ранее чем в эндометрии (соответственно в раннем и позднем периоде пролиферативной фазы). Обсуждено гормональное обусловление наблюдаемых изменений содержания рецепторов и сделано предположение, что причиной различий в течении этих изменений в эндометрии и миометрии может быть пролиферация клеток эндометрия.

S. Chrapusta, B. Konopka, M. Goluda, H. Padzik, M. Ujec, Z. Paszko

ESTROGEN AND PROGESTAGEN RECEPTOR CONTENTS  
IN THE ENDOMETRIUM AND MYOMETRIUM OF WOMEN  
IN THE COURSE OF MENSTRUAL CYCLE

Summary

Contents of estrogen and progestagen „cytosol” receptors (PRc) and of „nuclear” estrogen receptors (ERn) in normal uterine tissue of 72 menorrhagic women has been estimated. It has been found that contents of these receptors correlates with the phase of menstrual cycle and with the advancement of proliferative and secretory processes in the endometrium, greatest relative fluctuations of ERn contents being in the endometrium. It has been shown that endometrium contains significantly more of ERc and PRc in the proliferative phase as compared with secretory phase. It has been found that analogic changes occur in the myometrium, although the difference of concentrations of ERc in this tissue in the proliferative and secretory phase did not reach the statistical significance. It has been also shown that the maximum of ERc content in the myometrium occurs earlier as compared with mucosa (correspondingly in early and later period of the proliferation phase). Hormonal conditioning of the observed changes of receptor contents are discussed and the hypothesis advanced that a cause of differences in the course of changes in the mucosa and muscularis may be the proliferation of mucosa cells.

PIŚMIENNICTWO

1. Bayard F., DaMilano S., Robel P., Baulieu E. E.: Cytoplasmic and nuclear estradiol and progesterone receptors in human endometrium. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1978; 46: 635. — 2. Chrapusta S.: Wpływ estradiolu i progesteronu na syntezę receptorów hormonów płciowych i DNA w macicy niedojrzalego szczeniaka. Praca doktorska, Akademia Medyczna w Warszawie 1986, 113. — 3. Chrapusta S., Sieniński W., Konopka B., Paszko Z., Szamborski J.: Stężenia receptorów estrogenowych i progestagenowych w mięśniakach macicy kobiet podczas cyklu miesiączkowego. *Nowotwory* 1987; 38: 23. — 4. Clark J. H., Peck E. J. Jr.: Oestrogen receptors and antagonism of steroid hormone action. *Nature* 1974; 251: 446. — 5. Coulson P. B., Pavli E. J.: Effects of estrogen and progesterone on cytoplasmic estrogen receptor and rates of protein synthesis in rat uterus. *J. Steroid Biochem.* 1975; 8: 205. — 6. DeSombre E. R., Chun P., Dixon R., Jun H., Kuivanen P. C., Perlman R., Toth J.: Mechanism of steroid action in the uterus. Twelve annual report of Cancer Research University of Chicago 1984—1985: 170. — 7. Eiletz J., Genz T., Scheibner T., Asdie A.: Variation of nuclear and cytoplasmic hormone receptor content in human myometrium and endometrium throughout the menstrual cycle. *Acta endocrinol.* 1981; 96 (Suppl. 240): 124. — 8. Evans R. W., Chen T. J., Hendry W. J. III, Leavitt W. W.: Progesterone regulation of estrogen receptor in the hamster uterus during the estrous cycle. *Endocrinology* 1980; 107: 383. — 9. Gerschenson L. E., Conner E. A., Yang J., Andersson M.: Hormonal regulation of proliferation in two populations of rabbit endometrial cells in culture. *Life Sci.* 1979; 24: 1337. — 10. Giannopoulos G., Tulchinsky D.: Cytoplasmic and nuclear progestin receptors in human myometrium during the me-



- nstrual cycle and in pregnancy at term. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1979; 49: 100
11. *Giles K. W., Myers A.*: An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature* 1965; 206: 93. — 12. *King W. J., Greene G. L.*: Monoclonal antibodies localize oestrogen receptor in the nuclei of target cells. *Nature* 1984; 307: 745. — 13. *King R. J. B., Townsend P. I., Siddle N., Whitehead M. I., Taylor R. W.*: Regulation of estrogen and progesterone receptor levels in epithelium and stroma from pre- and postmenopausal endometria. *J. Steroid Biochem.* 1982; 10: 21. — 14. *Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.*: Protein measurements with Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193: 265. — 15. *Martin P. M., Rolland P. H., Gammerre M., Serment H., Toga M.*: Estradiol and progesterone receptors in normal and neoplastic endometrium: correlations between receptors, histopathological examinations and clinical responses under progestin therapy. *Int. J. Cancer* 1979; 23: 321. — 16. *Okulicz W. C., Evans R. W., Leavitt W. W.*: Progesterone regulation of the occupied form of nuclear estrogen receptor. *Science* 1981; 213: 503. — 17. *Paszko Z., Goiduda M., Padzik H., Chrapusta S., Ujec M., Konopka B.*: Estrogen and progestin receptors in adenomyosis foci as well as in human endometrium and myometrium in the proliferative and secretory phase. W przygotowaniu do druku. — 18. *Paszko Z., Padzik H., Chrapusta S.*: Zmiany zawartości receptora estrogenów w rozrastającej się macicy niedojrzałego szczura pod wpływem iniekcji gonadotropin (PMSG, HCG) lub estrogenów. *Endokrynol. Pol.* 1981; 33: 253. — 19. *Perrot-Appianat M., Groyer-Picard M. T., Logeat F., Milgrom E.*: Ultrastructural localization of the progesterone receptor by an immuno-gold method: effect of hormone administration. *J. Cell Biol.* 1986; 102: 1191. — 20. *Pollow K., Lubbert H., Boquoi E., Kreutzer G., Jeske R., Pollow B.*: Studies on 17  $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in human endometrium and endometrial carcinoma. *Acta endocrinol.* 1975; 79: 134.
21. *Rinehart J. S., Ruh T. S., Ruh M. F.*: Anti-oestrogen action: uterine nuclear retention of the CI 628 anti-oestrogen receptor complex in vitro. *Acta endocrinol.* 1977; 84: 367. — 22. *Schmidt-Gollwitzer M., Eiletz J., Genz T., Pollow K.*: Determination of estradiol, estrone, and progesterone in serum and myometrium: correlation with the content of sex steroid receptors and 17  $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity throughout the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1979; 49: 370. — 23. *Vu Hai M. T., Logeat F., Milgrom E.*: Progesterone receptors in the rat uterus: variations in cytosol and nuclei during the estrus cycle and pregnancy. *J. Endocrinol.* 1978; 76: 43. — 24. *Walters M. R., Clark J. H.*: Relationship between the quantity of progesterone receptor and the antagonism of estrogen-induced uterotrophic response. *Endocrinology* 1979; 105: 383. — 25. *Welshons W. V., Gorski J.*: Nuclear location of the unoccupied estrogen, progesterone, and glucocorticoid receptors in GH<sub>3</sub> cells enucleated without cytochalasin. *J. Steroid Biochem.* 1984; 20: 1632.

Adres autora: Samodzielna Pracownia Centrum Onkologii — Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie, ul. Wawelska 15, 00-973 Warszawa  
Praca wpłynęła do redakcji: 1987.09.17