

Witold Sieński, Stanisław Chrapusta, Bożena Konopka,
Zygmunt Paszko, Marek Chmielewski, Józef Szamborski

STRUKTURA MORFOLOGICZNA MIĘŚNIAKÓW MACICY A ZAWARTOŚĆ RECEPTORÓW ESTROGENÓW I PROGESTAGENÓW

Z Zakładu Patomorfologii Rozrodu Instytutu Położnictwa
i Ginekologii Akademii Medycznej w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. J. Szamborski

Ze Śródmiejskiego Szpitala Położniczo-Ginekologicznego w Warszawie

Dyrektor: dr med. O. Chmielewski

Z Samodzielnej Pracowni Endokrynologii Onkologicznej

Centrum Onkologii — Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. Z. Paszko

Dyrektor: prof. dr hab. med. J. Steffen

Oznaczono cytozolowy i jądrowy receptor estrogenów (ERC i ERn) oraz cytozolowy receptor progestagenów (PRC) w 44 mięśniakach i 32 mięśniach macicy kobiet. Średnie stężenia ERC i PRC w mięśniakach macicy, wyrażone na mg białka cytozolu były 1,7—1,9 razy większe niż w myometrium i różnice te były znamienne statystycznie. Stężenia ERn oraz całkowitego receptora estrogenów (ERC + ERn), wyrażone na mg DNA, były znamienne większe w mięśniakach niż w myometrium. Zwykłe i komórkowe mięśniaki macicy nie różniły się między sobą średnimi stężeniami ERC, ERn, ERC + ERn i PRC. Chociaż stężenie PRC/mg DNA było w zwykłych mięśniakach większe niż w komórkowych, to jednak różnica nie była statystycznie znamienne. W mięśniakach bez zwłóknienia lub tylko z nieznacznym jego stopniem stężenia PRC (wyrażone na mg białka cytozolu lub na mg DNA tkanki) były odpowiednio 1,6 i 1,9 razy większe niż w mięśniakach o średnim i dużym stopniu zwłóknienia i różnice te były znamienne statystycznie ($P < 0,01$; i $P < 0,05$). W tych samych grupach mięśniaków średnie stężenia ERC, ERn, ERC + ERn nie różniły się znamienne.

Mięśniaki macicy są uznawane za typowe nowotwory hormonozależne przeważnie rozwijają się one u kobiet w wieku rozrodczym, rozrastają i powiększają w czasie ciąży oraz często wykazują cechy zahamowania rozrostu po menopauzie (2, 9, 12). W utkaniu mięśniaków stwierdzono obecność receptorów estrogenów (1, 5, 13, 15, 17, 18, 20) progestagenów (1, 13, 17, 18, 20) przy czym stężenia tych receptorów wykazywały duże odchylenia indywidualne. W niektórych badaniach zawartość cytozolowego receptora estrogenów w mięśniakach była znamienne większa niż w mięśniach macicy (5, 13, 20). Różnice zawartości receptorów w mięśniakach mogą między innymi wiązać się z różnorodnością histologiczną guzów. Przedmiotem obecnej pracy jest zbadanie i porównanie zawartości receptorów estrogenów i progestagenów w mięśniakach o różnych cechach morfologicznych i w mięśniach macicy.

MATERIAŁ I METODY

Badania wykonano na 44 mięśniakach i 32 mięśniach trzonu macicy chorych w wieku od 31 do 64 lat. U niektórych z nich zbadano po dwa

mięśniaki. Tkanki pobrane z materiału operacyjnego zamrażano w suchym lodzie i przechowywano w ciekłym azocie. Homogenizację i frakcjonowanie wykonywano według wcześniej opisanych metod (4, 10, 14). Oznaczenia cytozolowego i jądrowego receptora estrogenów (ERc, ERn) oraz cytozolowego receptora progestagenów (PRc) wykonano metodą radiokompetycyjną przy zastosowaniu techniki węglowo-dekstranowej (4). Białko oznaczano metodą *Lowry'ego* (11), a DNA — metodą *Burtona* w modyfikacji *Gilesa* i *Myersa* (6). Do statystycznej oceny wyników zastosowano test „t” Studenta dla prób niepowiązanych.

Badania histopatologiczne wykonano na skrawkach parafinowych barwionych hematoksyliną-eozyną. Preparaty z bezpośredniego sąsiedztwa tkanki użytej do oznaczeń receptorów były podstawą do określenia morfologicznych cech mięśniaków. Wyróżniono mięśniaki zwykle z przewagą utkania o gęstości komórkowej podobnej lub mniejszej niż w sąsiadującym mięśniu oraz mięśniaki komórkowe z przewagą utkania o gęstości komórkowej większej niż w myometrium. Ponadto oceniono stopień włóknienia i szklwienia guzów.

WYNIKI

Wyniki oznaczeń zawartości ERc, ERn i PRc w mięśniakach i mięśniach macicy zestawiono w tabeli I.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja

Dotychczasowe badania receptorów estrogenów w mięśniakach macicy dotyczyły przede wszystkim ERc (1, 5, 13, 15, 17, 18, 20). *Farber* i wsp. (5) zaobserwowali, że ilość ERc w 7 spośród 10 zbadanych mięśniaków była większa, a w 3 guzach — mniejsza niż w mięśniu macicy. *Puukka* i wsp. (15) oraz *Wilson* i wsp. (20) wskazali, że mięśniaki zawierają więcej ERc na mg białka cytozolu niż myometrium oraz mniej niż endometrium, jednak tylko w materiale *Wilsona* (20) różnice średnich zawartości ERc w tych tkankach były znamienne. *Soules* i *McCarty* (17) oraz *Cchiai* (13) stwierdzili większe stężenie ERc/mg białka w mięśniakach niż w myometrium tylko w fazie proliferacyjnej cyklu miesięczkowego. *Tamaya* i wsp. (18) wskazali, że zarówno w mięśniakach jak i w myometrium stężenia ER i PR wyrażone na mg białka nie różniły się między sobą znamienne, natomiast ER wyrażone na mg DNA było w myometrium znacznie większe niż w mięśniakach ($p < 0,05$).

Przeprowadzone przez nas badania wykazały podwyższony poziom ERc i ERn w mięśniakach w porównaniu z myometrium. Różnice te były statystycznie znamienne zarówno w odniesieniu do ilości ERc na mg białka oraz ERn i ERc+ERn na mg DNA, natomiast różnica stężeń ERc/mg DNA nie była znamienne.

Dotychczasowe badania nie wykazały znamienych różnic ilości PRc w mięśniakach i prawidłowych tkankach macicy (1, 13, 17, 18, 20) w związku z dość znacznymi indywidualnymi różnicami zawartości tego receptora. W naszym materiale średnie stężenie PRc było większe w mięśniakach niż w myometrium, przy czym różnica ta była statystycznie znamienne, gdy stężenie PRc wyrażano na mg białka cytozolu, natomiast po przeliczeniu jego stężenia na DNA różnica nie była znamienne. Nie stwierdziliśmy istotnych różnic stosunku PRc/ER w mięś-

Tablica 1. Zawartość receptorów estrogenów (ER) i progesteronów (PR) w mięśniach i w różnych typach histologicznych mięśniaków macicy kobiet
Table 1. Contents of estrogen (ER) and progesterone (PR) receptors in the myometrium and different histologic types of uterine myomas of women

Receptor	Mięśni macicy	Mięśniaki macicy	Mięśniaki bez lub z nieznanym włóknieniem i szkewaniem	Mięśniaki ze średnim lub dużym włóknieniem i szkewaniem	Mięśniaki zwykłe	Mięśniaki komórkowe
ERc fmole/mg białka ± SD*)	43 ± 31 (32)	73 ± 43 (44)	67 ± 36 (23)	80 ± 50 (21)	69 ± 36 (32)	84 ± 59 (12)
	p < 0,001					
ERc fmole/mg DNA ± SD	891 ± 376 (14)	1325 ± 792 (22)	1191 ± 786 (16)	1083 ± 755 (6)	1338 ± 752 (18)	1267 ± 1030 (4)
	NS					
ERn fmole/mg DNA ± SD	580 ± 135 (14)	1040 ± 597 (22)	1052 ± 657 (16)	1009 ± 452 (6)	1044 ± 640 (18)	1022 ± 419 (4)
	p < 0,01					
ERc+ERn fmole/mg DNA ± SD	1471 ± 361 (14)	2365 ± 987 (22)	2224 ± 1000 (16)	2621 ± 850 (6)	2382 ± 959 (18)	2289 ± 1263 (4)
	p < 0,002					
PRc fmole/mg białka ± SD	686 ± 429 (31)	1269 ± 735 (42)	1578 ± 815 (21)	961 ± 494 (21)	1274 ± 668 (30)	1258 ± 916 (12)
	p < 0,001					
PRc fmole/mg DNA ± SD	15954 ± 7760 (13)	22750 ± 12586 (20)	26633 ± 12581 (14)	13689 ± 7042 (6)	24869 ± 12808 (16)	14273 ± 7943 (4)
	NS					
	p < 0,05					

W nawiasach () liczba badań;
 NS — nieznamienista różnica
 SD — odchylenie standardowe
 *) — prawdopodobieństwo

ERc — cytozolowy receptor estrogenów
 ERn — jądrowy receptor estrogenów
 PRc — cytozolowy receptor progesteronów

niakach i mięśniu macicy, zarówno przy przeliczeniach na mg białka, jak i mg DNA (tab. I).

Zawartość receptorów estrogenów i progestagenów w tkankach macicy może być regulowana estrogenami i progestagenami, przy czym estrogeny zwiększają a progesteron zmniejsza zawartość tych receptorów w tkankach (3, 8, 16, 19). Zwiększona zawartość ER i PR w mięśniakach w porównaniu do mięśnia macicy sugeruje, że efekt ten można by powiązać ze zwiększoną ich reaktywnością na estrogeny, lub zmniejszoną reaktywnością na progesteron. W wykonanych przez nas badaniach nad stężeniem ER i PR w mięśniakach podczas różnych faz cyklu miesięczkowego opisanych w osobnej pracy (4) wykazano, że średnie stężenie obydwu tych receptorów zarówno w fazie proliferacji i w fazie sekrecji jest w mięśniakach większe niż w mięśniach macicy. Stężenie PRc w mięśniakach podczas fazy sekrecji jest mniejsze niż podczas fazy proliferacji i różnica ta była znamienna statystycznie, gdy PR przeliczano na mg białka cytozolu, a nieznamienna, gdy przeliczano na mg DNA tkanki. Odnośnie do różnic w zawartości receptorów estrogenów w mięśniakach podczas faz cyklu miesięczkowego nie znaleźliśmy przekonujących dowodów (4).

Autorzy poprzednich badań nad zawartością receptorów w mięśniakach macicy nie oceniali histologicznych cech guzów. W naszym materiale mięśniaki o przewodzie zwykłego, dojrzałego utkania nie różniły się znamiennie średnią zawartością receptorów od mięśniaków z przewagą utkania komórkowego. Brak znamiennych różnic między średnimi stężeniami receptorów w obu grupach mięśniaków mógł wiązać się z nierzadko niejednorodnym, częściowo zwykłym i częściowo komórkowym charakterem utkania w preparatach, które stanowiły podstawę do histologicznej klasyfikacji badanego materiału. Ponadto w niektórych guzach dodatkowym elementem utkania były pola epitelioidne bądź pola utworzone przez drobne komórki podobne do stromalnych komórek endometrium. Należy jednak podkreślić, że grupa mięśniaków zwykłych wykazywała tendencję do większej zawartości PRc/mg DNA niż mięśniaki komórkowe. Wskazuje to na celowość dalszych biochemicznych badań receptorów na wyselekcjonowanym materiale mięśniaków o jednolitym utkaniu, a także badań pozwalających na ocenę cytologicznej lokalizacji receptorów.

Goldzieher i wsp. (7) stwierdzili, że egzogenne progestageny powodują powstawanie w mięśniakach macicy zmian wstecznych, których następstwem jest włóknienie i szkliwienie. W naszym badaniu wykazaliśmy, że włóknienie i szkliwienie utkania mięśniaków rzutuje na zawartość PRc. Średnie stężenie PRc było znamiennie większe w tych mięśniakach, w których włóknienie i szkliwienie nie występowało lub było jedynie nieznaczne.

В. Сеиньски, С. Храпуста, В. Конопка, З. Пашко, М. Хмелевски,
Ю. Шамборски

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МИОМ МАТОК А СОДЕРЖАНИЕ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТОГЕНОВ

Резюме

Обозначено цитозольный и ядерный рецептор эстрогенов (ERc и ERn) а также цитозольный рецептор прогестогенов (PRc) в 44 миомах и 32 миоменгриях маток женщин. Средние концентрации ERc и PRc в миомах матки, пересчитаны на

mg białka cytozola były 1,7—1,9 raza większe niż w miometrii i te różnice były statystycznie znaczne. Średnie koncentracje ERc i PRc w miomach i miometrii, przeliczone na mg DNA badanych tkanek, różniły się mniej (1,5 i 1,4 raza) i te różnice nie były statystycznie znaczne. Koncentracje ERn a także całego receptora estrogenów (ERc + ERn), przeliczone na mg DNA, były znacznie większe w miomach niż w miometrii. Typowe i komórkowe miomy macicy nie różniły się od drugich średnimi koncentracjami ERc, ERn, ERc + ERn i PRc. Choć koncentracja PRc/mg DNA była w typowych miomach większa niż w komórkowych, różnica ta nie była statystycznie znaczna. W miomach bez fibrozy lub tylko z niewielkim fibrozem koncentracje PRc (przeliczone na mg białka cytozola lub na mg DNA tkanki) były odpowiednio 1,6 i 1,9 raza większe niż w miomach o średniej i dużej stopniu fibrozy i te różnice były statystycznie znaczne ($p < 0,01$; $p < 0,05$). W tych grupach miom średnie koncentracje ERc, ERn, ERc + ERn nie różniły się statystycznie.

W. Sieński, S. Chrapusta, B. Konopka, Z. Paszko,
M. Chmielewski, J. Szamborski

MORPHOLOGIC STRUCTURE OF UTERINE MYOMAS AND CONTENTS OF ESTROGEN AND PROGESTAGEN RECEPTORS

Summary

Cytosol and nuclear estrogen (ERc and ERn) and cytosol progesterone receptor (PRc) have been estimated in 44 myomas and 32 myometria of women. Mean concentration of ERn and PRc in uterine myomas calculated for mg of cytosol protein have been 1,7—1,9 times greater as compared with myometrium, and the differences have been statistically significant. Mean concentrations of ERc and PRc in myomas and myometrium calculated for mg of DNA of examined tissues, differed in a lesser degree (1,7 and 1,4 times) and the differences have been not statistically significant. Concentrations of ERn and of a total estrogen receptor (ERc + ERn) expressed for mg of DNA have been statistically significantly greater in myomas as compared with myometrium. Simple and cellular uterine myomas did not differ between them as mean concentrations of ERc, ERn, ERc+ERn and PRc are concerned. Although the concentration of PRc (mg of DNA) has been in simple myomas greater as compared with cellular, the difference has not been statistically significant. In myomas without fibrosis or with insignificant degree of fibrosis, concentrations of PRc (expressed for mg of cytosol protein or mg of DNA of the tissue) have been correspondingly 1,6 and 1,9 times greater as compared with myomas with medium or great degree of fibrosis and the differences have been statistically significant ($p < 0,01$ and $p < 0,05$). In the same groups of myomas mean concentrations of ERc, ERn, ERc + ERn did not differ significantly.

PIŚMIENNICTWO

1. Baron J., Chwalisz K., Mikołajewska-Fischer Z., Adamski J.: Receptor estrogenowy i progesteronowy w mięśniakach macicy. *Endokrynol. Pol.* 1982, 33, 37. — 2. Benjamin G., Louis B., Krishnan N., Rao R., Raghavan S., Prasad B.: Case report: giant fibroid uterus complicating pregnancy. *Acta Obstet. Gynec. Scand.* 1981, 60, 437. — 3. Chrapusta S.: Wpływ estradiolu i progesteronu na syntezę receptorów hormonów płciowych i DNA w macicy niedojrzałego szczura. *Akademia Medyczna, Warszawa*, 1986. — 4. Chrapusta S., Sieński W., Konopka B., Paszko Z., Szamborski J.: Stężenia receptorów estrogenów i progestagenów w mięśniakach macicy kobiet podczas cyklu miesięczkowego. *Nowotwory — w przygotowaniu do druku*. — 5. Farber M., Conrad S., Heinrichs W., Herrmann W.: Estradiol binding by fibroid tumors and normal myometrium. *Obstet. Gynecol.* 1972, 40, 479. — 6. Giles K., Myers A.: An improved diphenylamine method for the estimation of desoxyribonucleic acid. *Nature*, 1965, 93, 206. — 7. Goldzieher J., Maqueo M., Ricaud L., Aguilar J., Canales E.: Induction of degenerative changes in uterine myomas by high-dosage progestin therapy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1966, 96, 1978. — 8. Hsueh A., Peck E., Clark J.: Progesterone antagonism of the oestrogen receptor and oestrogen-induced uterine growth. *Nature*, 1975, 254, 337. — 9. Kempson R., Hendrickson M.: Pure mesenchymal neoplasms of the

uterine corpus. W: „Haines and Taylor Obstetrical and Gynaecological Pathology”, ed. Fox H., vol. 1, 411, Edinburgh, London, Melbourne, New York, 1987. — 10. *Konopka B., Chrapusta S., Paszko Z.*: Nuclear estrogen receptors in human tumors of breast and uterus. W: „Cancer Chemotherapy and selective drug development”, Martinus Nijhof Publ., Boston, 1984.

11. *Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R.*: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265. — 12. *Muram D., Gillieson M., Walters J.*: Myomas of the uterus in pregnancy: ultrasonographic follow-up. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1980, 138, 16. — 13. *Ochiai K.*: Cyclic variation and distribution in the concentration of cytosol estrogen and progesterone receptors in the normal human uterus and myoma. *Acta Obst. Gynaec. Jpn.* 1980, 32, 945. — 14. *Padzik H., Paszko Z.*: Oznaczenie receptora estrogenowego w cytozolu komórek docelowych dla estrogenów. W: „Biomolekularne podstawy interakcji hormon-komórka”, red. Dawidowicz A., PZWL, Warszawa, 1975. — 15. *Puukka M., Kontula K., Kauppi A., Janne O., Vikho R.*: Estrogen receptor in human myoma tissue. *Mol. Cell Endocrinol.* 1976, 6, 35. — 16. *Schmidt-Gollwitzer M., Eiletz J., Pollow K.*: Determination of estradiol, estrone and progesterone in serum and myometrium: correlation with the content of sex steroid receptors and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity throughout the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1979, 49, 370. — 17. *Soules M., McCarty K.*: Leiomyomas: steroid receptor content. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1982, 143, 6. — 18. *Tamaya T., Motoyama T., Ohono Y., Ide N., Tsurusaki T., Okada H.*: Estradiol-17 β -progesterone and 5 α -dihydrotestosterone receptors of uterine myometrium and myoma in the human subject. *J. Steroid Biochem.* 1979, 10, 615. — 19. *Thi M., Baulieu E., Milgrom E.*: Comparison of the characteristics and of the hormonal control of endometrial and myometrial progesterone receptors. *J. Endocrinol.* 1974, 66, 349. — 20. *Wilson E., Yang F., Rees E.*: Estradiol and progesterone binding in uterine leiomyomata and in normal uterine tissues. *Obstet. Gynecol.* 1980, 55, 20.

Adres autora: Zakład Patomorfologii Rozrodu Instytutu Położnictwa i Ginekologii AM, 00-315 Warszawa, ul. Karowa 2

Praca wpłynęła do redakcji: 1987.09.17