

ZYGMUNT PASZKO, HALINA PADZIK, STANISŁAW CHRAPUSTA

ZMIANY ZAWARTOŚCI RECEPTORA ESTROGENÓW W ROZRZASTAJĄCEJ SIĘ MACICY NIEDOJRZALEGO SZCZURA POD WPLYWEM INIEKCJI GONADOTROPIN (PMSG, HCG) LUB ESTROGENÓW*

Samodzielna Pracownia Endokrynologii Onkologicznej Instytutu Onkologii w Warszawie

Estrogenne działanie gonadotropin zwiększa, a progestacyjne zmniejsza zawartość receptora estrogenów w macicy. Nagromadzenie znacznych ilości receptora estrogenów w macicy nie zwiększa gotowości jej komórek do reagowania rozplemem na estrogen. Wybitny spadek ilości receptora estrogenowego w macicy nie powstrzymuje w niej procesów proliferacji.

Według powszechnie przyjętych poglądów reaktywność macicy na estrogen jest uwarunkowana obecnością w jej komórkach receptora estrogenów (RE). Jednym z najwcześniejszych etapów działania estrogenu w komórce jest utworzenie kompleksu estrogen-receptor i jego przemieszczenie się do jądra (8, 9). Następstwem tego jest wzmożenie metabolizmu komórek i ich rozplemu. Po pewnym czasie ilość RE w cytoplazmie narasta, osiągając po 24 godzinach stężenie znacznie wyższe od początkowego (4, 12, 24, 25). Przypuszczalnie jest to wynikiem powrotu receptora z jądra oraz nasilenia jego syntezy.

Zmiany zawartości i rozmieszczenia RE w macicy należy rozpatrywać w aspekcie dwóch procesów: dynamicznego podziału globalnej ilości receptora między różne przedziały komórkowe oraz jego syntezy i rozpadu. Pierwszy z tych procesów jest regulowany stężeniem i czasem przebywania estrogenu w komórce, na drugi mają wpływ estrogeny i progesteron. Wykazano, że estradiol zwiększa, a progesteron zmniejsza ilość RE w macicy (3, 4, 12, 15, 24, 25). Czynność macicy zależy zatem, z jednej strony od rodzaju i wzajemnego stosunku wydzielanych przez jajnik hormonów, z drugiej — od jej reaktywności, którą warunkuje obecność odpowiedniego receptora.

*) Część wyników została przedstawiona na IX Zjeździe P.T.E., Poznań, 23—25 czerwca 1977 r. (25).

Znaczne ilości RE w macicy niedojrzałych szczurów wyraźnie maleją w miarę ich dojrzewania, a po osiągnięciu przez nie dojrzałości płciowej podlegają regularnym wahaniom w ustalonym przedziale wartości (odpowiednio do fazy cyklu płciowego). Największe ilości RE stwierdzono w fazie diestrus, najmniejsze — w proestrus (5). Niektórzy dopatrują się pewnego wzrostu RE również w fazie estrus (15). W tkance ciężarnej macicy ilość RE jest znikoma w całym okresie ciąży. Jedynie okolice zagnieżdżonego jaja i łożyska w początkowym okresie zawierają znaczniejsze jego ilości (5).

Jeżeli uznać, że obecność RE w komórkach macicy świadczy o jej gotowości do reagowania na estrogen, a jego brak wyraża niereaktywność, to poznawanie procesów regulacji zawartości RE ma doniosłe znaczenie dla lepszego zrozumienia mechanizmów warunkujących procesy rozplemu i czynności komórek tego narządu.

W dawnych naszych badaniach nad biologicznymi właściwościami gonadotropiny kosmówkowej (HCG) i gonadotropiny żrebnej klaczy (PMSG), które testowano na podstawie jednoczesnych zmian jakie zachodzą w jajnikach i macicy niedojrzałych szczurów stwierdziliśmy następujące fakty. Względnie małe dawki HCG lub PMSG, nie wywołujące jeszcze rozrostu jajników, wyraźnie pobudzają ich czynność wydzielniczą, która przejawia się postępującym przyrostem zawartości DNA, RNA i białek macicy (22). Gdy w miarę zwiększania dawek gonadotropin rozrost macicy osiąga swoje maksimum z kolei dochodzi do postępującego przerostu jajników (22).

Na tle powyżej opisanych zjawisk postanowiono zbadać czy rozrostowi macicy, a następnie jego zahamowaniu towarzyszą zmiany w zawartości receptora estrogenów.

Doświadczenia wykonano na szczurach stymulowanych estrogenami względnie gonadotropinami HCG lub PMSG.

Spodziewaliśmy się, że pośrednia—poprzez jajnik—stymulacja macicy gonadotropinami o przewodzie LH lub FSH może dostarczyć dodatkowych informacji o regulacji receptora estrogenów w macicy w porównaniu z efektami uzyskanymi drogą bezpośredniej stymulacji tego narządu estrogenami.

MATERIAŁY I METODY

Materiały: — 17β -estradiol (E_2), Organon; 2,4,6,7- 3H -estradiol, akt. wł. 100 Ci/mmol, Amersham; serogonadotropina (PMSG), Biowet; ludzka gonadotropina kosmówkowa (HCG), Biomed; dekstran T-70, Pharmacia; węgiel aktywowany, Merck; trójhydroksymetyloaminometan, cz.d.a., Australal; Na_2EDTA , cz.d.a., POCH Gliwice; dwu-etylostilbestrol (DES), Sigma; 2,5-dwufenylookszazol (PPO) do scynt. Amersham; 1,4-dwu 2-(5-fenylookszazolilo)-benzen (POPOP) do scynt. Amersham; szczury samice rasy Wistar, 23—25-dniowe.

METODY

Iniekcje hormonów; estradiol (0,033 $\mu\text{g}/0,5$ ml lub 3,3 $\mu\text{g}/0,5$ ml) rozpuszczony w 5% wodnym roztworze etanolu wstrzykiwano podskórnym, co 24 godziny. Gonadotropiny wstrzykiwano podskórnym również w 24-godzinnych odstępach — PMSG jako zawiesinę (0,5 I.U./0,5 ml lub 13,3 I.U./0,5 ml), a HCG jako roztwór (6,66 I.U./0,5 ml) w fizjologicznym roztworze NaCl. Kontrolę stanowiły zwierzęta nie otrzymujące żadnych hormonów. Na każdą grupę doświadczalną przypadało od 8—10 zwierząt.

Przygotowanie „cytosolu” i frakcji jądrowej komórek macicy

Zwierzęta zabijano przez dokapitację. Macice natychmiast po wypreparowaniu i zważeniu zamrażano w suchym lodzie. Tkankę sproszkowaną ręcznie w mrożdzierzu z ciekłym azotem, zawieszano w 5 ml zimnego (2—4°C) buforu TE (10 mM trójhydroksymetyloaminometan, 1,5 mM Na₂EDTA), pH=7,4 i po następnych 15 min. wirowano przy 860 \times g przez 20 min. Nadsącz ponownie wirowano przy 20000 \times g przez 40 min. Osad z tego wirowania odrzucano; nadsącz („cytosol”) przechowywano w temp. —25°C do oznaczenia cytoplazmatycznego receptora estrogenów. Osad po pierwszym wirowaniu (frakcja jądrowa — 860 \times g) 3-krotnie prze-mywano przez zawieszanie w zimnym buforze TE (1 ml/macice), wirowanie (10 min., 860 \times g) i dekantację, a następnie oznaczano w nim jądrowy receptor estrogenów (RE_n).

Oznaczanie receptora cytoplazmatycznego (RE_c) wykonywano wg zmodyfikowanej metody Korenmana (16, 20), wykorzystując metodę Scatcharda (27) do określenia ilości miejsc wiążących. Do blokowania miejsc swoiście wiążących zamiast nieznakowanego estradiolu użyto DES ze względu na jego znikome powinowactwo do białek surowicy krwi.

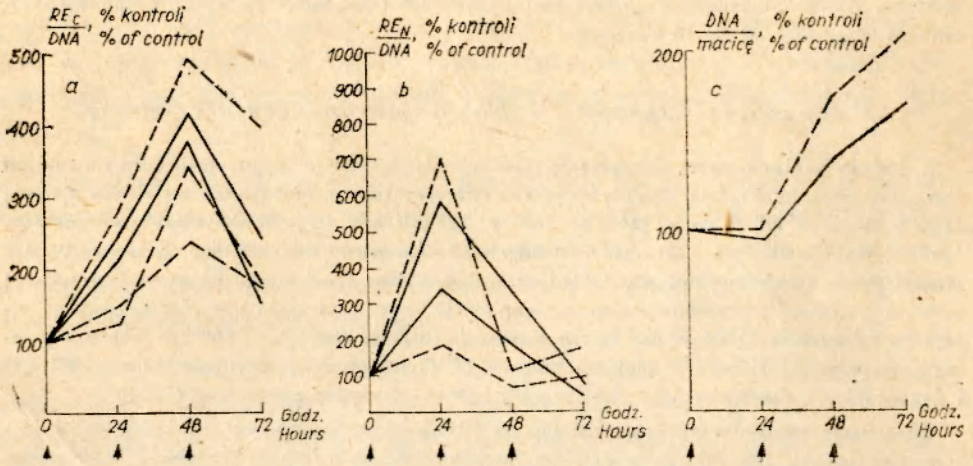
Jądrowy receptor estrogenów (RE_n) oznaczano wg metody Andersona (1). DNA oznaczano wg metody Burtona w modyfikacji Giles'a i Myers'a (7), a białko wg metody Lowry'ego (17). Radioaktywność mierzono w liczniku scyntylacyjnym Mark I. Nuclear Chicago.

WYNIKI

Estradiol, zarówno w zbliżonych do fizjologicznych (0,033 $\mu\text{g}/\text{iniekcję}$), jak i stukrotnie większych dawkach, powoduje początkowo wyraźny przyrost ilości cytoplazmatycznego receptora estrogenów (RE_c) w macicy niedojrzałych szczurzyce (ryc. 1a). Przyrost ten osiąga maksimum w drugiej dobie działania hormonu. Po trzeciej iniekcji zawartość RE_c maleje, jest jednak nadal znacznie wyższa od wyjściowej. Zawartość RE_c w macicy na mg DNA wynosiła u zwierząt nie otrzymujących estrogenów — 1,98 ± 1,1 pmola; u zwierząt otrzymujących estrogeny po 24 godz. od pierwszej iniekcji 2,47—4,84 pmola; po 48 godz. — od 6,65—9,92 pmola, a po 72 godzinach od 3,56—6,27 pmola.

Ilość receptora estrogenów we frakcji jądrowej macicy (RE_n) po 24 godzinach od pierwszej iniekcji jest znacznie większa (0,45 ± 0,02 pmola) niż w grupie kontrolnej (0,24 ± 0,03 pmola), po czym zmniejsza się (0,16 ± 0,02 pmola) i w 72 godzinie jest zazwyczaj zbliżona do wartości wyjściowych (0,25 ± 0,05 pmola), zarówno po małych, jak i dużych dawkach estradiolu (ryc. 1b).

Iniekcje estradiolu powodują znaczny przyrost zawartości DNA w macicy, który ujawnia się dopiero w 2 i 3 dobie stymulacji. Efekty działania małych i dużych dawek różniły się, jednak różnice te nie są statystycznie znamienne.

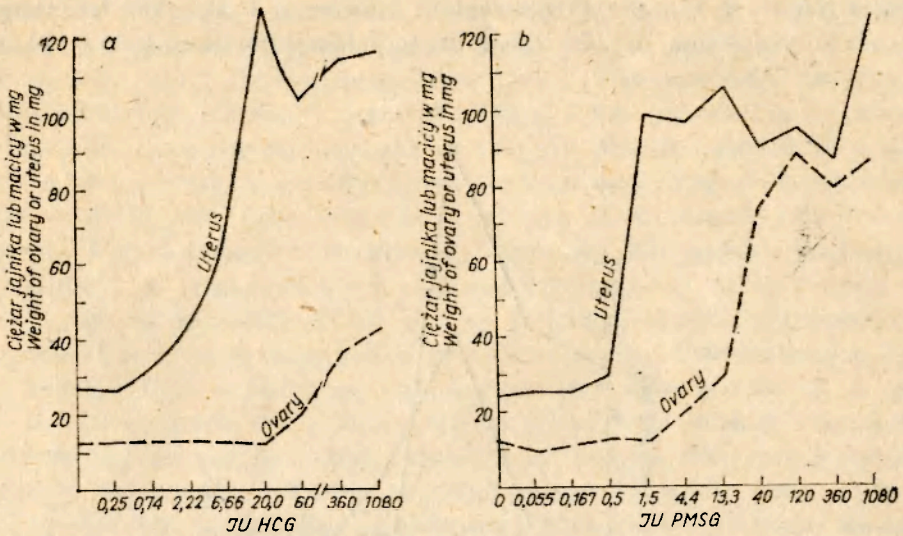


Ryc. 1. Wpływ podskórnych iniekcji 17 β -estradiolu (E_2) na: 1a) — zawartość cytoplazmatycznego receptora estrogenów (RE_c), 1b) — zawartość jądrowego receptora estrogenów (RE_n) i 1c) — zawartość DNA w macicy niedojrzałego szczura. Przedstawiono wyniki kilku odrębnych doświadczeń. --- — 3,33 μg E_2 /iniekcję; — — — — 0,033 μg /iniekcję; czas iniekcji zaznaczono strzałkami.

Fig. 1. Effect of daily s.c. injections of 17 β -estradiol on the cytoplasmic estrogen receptor (RE_c) — 1a), nuclear estrogen receptor (RE_n) — 1b) and DNA contents in the immature rat uterus. Results of several independent experiments are presented. — — — — 3.33 μg E_2 /injection; --- — 0.033 μg E_2 /injection; hormone was given at a time indicated by the arrows.

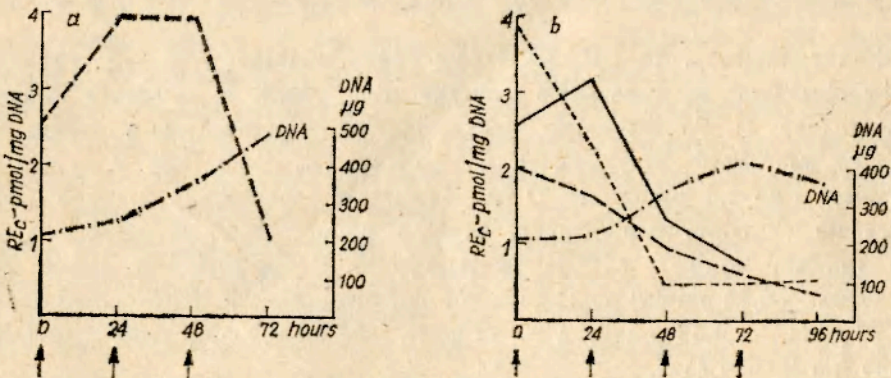
Ryciny 2a i b przedstawiają typowy przykład jednoczesowych zmian, jakie zachodzą w ciążach jajników i macie szczurów pod wpływem wzrastających dawek gonadotropin (HCG lub PMSG). Małe dawki gonadotropin, nie wywołujące jeszcze zmian w ciążarce jajników, wyraźnie stymulowały ich czynność, która przejawiała się postępującym przyrostem macicy. Działanie większych dawek gonadotropin, wywołujące przerost jajników, przypada na fazę zahamowania przyrostu masy macicy. Efekty wywołane mniejszymi dawkami wydają się być odmienne od efektów dużych dawek gonadotropin. Z tych to powodów w następnych doświadczeniach zbadano działanie dwóch wybranych dawek PMSG na zawartość receptora estrogenów w macicy.

PMSG — stosowana w mniejszej dawce ($3 \times 0,5$ I.U.) spowodowała znaczne zwiększenie ilości RE_c w macicy utrzymujące się przez dwa dni, po czym nastąpił gwałtowny spadek zawartości RE_c do około 1 pmola/mg DNA (ryc. 3a). Większa dawka PMSG ($13,3 \times 3$ I.U.) na ogół od razu powodowała duży spadek zawartości RE_c w macicy do wartości 0,37—0,58 pmola/



Ryc. 2. Ciężary jajników i macicy niedojrzałych szczurów po iniekcjach gonadotropin HCG lub PMSG. Wzrastające dawki gonadotropin wstrzykiwano 1 × dziennie przez 3 kolejne dni; sekcję wykonano w 4 dniu. Małe dawki gonadotropin (HCG — 0,7 — 20 I.U., a PMSG — 0,5 — 1,5 I.U.) nie wywołujące jeszcze rozrostu jajników wzbudzają ich czynność, przejawiającą się postępującym rozrostem macicy. Maksimum rozrostu macicy przypada na dawki gonadotropin, które pobudzają również rozrost jajników (22).

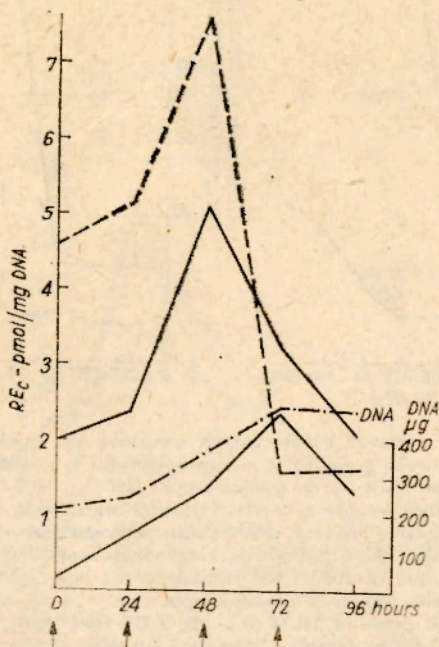
Fig. 2. Weight of ovary and uterus of the immature rat injected with HCG or PMSG. Animals received s.c. increasing doses of gonadotropin every 24 hours for three days and were sacrificed on day 4. Small doses of HCG (0.7—20 I.U.) or PMSG (0.5—1.5 I.U.) did not induce changes of ovary weight, nevertheless stimulate function of the ovary resulting in the uterine growth. Maximum uterine growth corresponds with large doses of gonadotropin, resulting in the growth of the ovary.



Ryc. 3. Przebieg zmian zawartości cytoplazmatycznego receptora estrogenów (RE_c) oraz DNA w macicy niedojrzałego szczura pod wpływem iniekcji PMSG: 3a) — 0,5 I.U. PMSG/ /iniekcję; 3b) — 13,3 I.U./iniekcję; czas iniekcji zaznaczono strzałkami.

Fig. 3. Time course of PMSG-induced changes of cytoplasmic estrogen receptor (RE_c) and DNA contents in the immature rat uterus; 3a) 0.5 I.U. (injection; 3b) — 13.3 I.U. injection; gonadotropin was given at a time indicated by the arrows.

/mg DNA (ryc. 3b). Stężenie receptora jądrowego u zwierząt kontrolnych wynosiło 0,33 pmola, a w 72 i 96 godz. po iniekcji hormonu było 0,23—0,29 pmola/mg DNA.



Ryc. 4. Wpływ podskórnych iniekcji HCG na zawartość cytoplazmatycznego receptora estrogenów (RE_c) oraz DNA w macicy niedojrzałego szczura. HCG — (6,66 I.U./iniekcję) wstrzykiwano w momentach zaznaczonych strzałkami.

Fig. 4. HCG-induced changes of cytoplasmic estrogen receptor (RE_c) and DNA contents in the immature rat uterus. HCG (6.66 I.U./inj.) was given at a time indicated by the arrows.

Efekty działania 20 I.U. HCG ($3 \times 6,66$) określone w trzech odrębnych doświadczeniach są w zasadzie podobne mimo różnic w natężeniu wielkości reakcji (ryc. 4). Po przyroście utrzymującym się przez dwa, a czasem trzy dni we wszystkich przypadkach nastąpił spadek ilości RE_c w macicy do wartości 1,2—2,2 pmola/mg DNA. Zawartość receptora jądrowego (RE_n) wyraźnie wzrastała w pierwszym dniu po iniekcji HCG, po czym gwałtownie spadała poniżej wartości wyjściowych. Początkowa zawartość RE_n wynosiła — 0,33 pmola; po 24 godz. od pierwszej iniekcji HCG — 0,88 pmola; po 48 godz. — 0,52 pmola, a po 72 godz. i 96 od 0,2—0,1 pmola/mg DNA. Dane nie ilustrowane.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja

Stan fizjologiczny macicy regulowany jest cykliczną funkcją jajników, które poprzez naprzemienne wydzielanie estradiolu lub estradiolu z pro-

gesteronem wpływają na rozplam i czynność jej komórek. Wstrzykując estradiol lub gonadotropiny naśladujemy zazwyczaj w wyolbrzymiony sposób niektóre etapy fizjologicznego pobudzenia. Wyrazem tego jest stopniowe zwiększanie się masy, zawartości DNA, RNA i białek macicy, które po pewnym czasie osiągają maksimum (22). W przedstawionych tu badaniach estradiol podawany niedojrzałym samicom szczura spowodował—obok przyrostu DNA—przyrost receptorów estrogenów w cytoplazmie i we frakcji jądrowej komórek macicy. Zwiększona zawartość RE wynika prawdopodobnie nie tylko z namnożenia komórek, gdyż jego ilość rośnie również w przeliczeniu na jednostkę DNA. Na tej podstawie można przypuszczać, że estradiol wzmacnia syntezę RE w komórkach macicy. Potwierdzają to wyniki badań innych autorów oraz nasze uprzednie spostrzeżenia (3, 4, 24, 25). Na uwagę zasługuje jednak fakt, że wielokrotne iniekcje estradiolu doprowadzają macicę do takiego stanu, przy którym ilości receptora po przejściowym wzroście zarówno w cytoplazmie jak i jądrze wyraźnie maleją. Spadek ten nie przekracza zazwyczaj poziomu wyjściowego. Zwiększanie się ilości RE w macicy przypada na okres postępującego przyrostu DNA a zmniejszanie się w okresie zwolnionego tempa nagromadzenia DNA (ryc. 1). Należy tu zaznaczyć, że oznaczenia wykonywane w 24-godzinnych odstępach czasu po iniekcjach nie odzwierciedlają wczesnych zmian w rozmieszczeniu receptora w obrębie komórki zachodzących w ciągu pierwszych 4-ch godzin (translokacja receptora do jądra i jego powrót do cytoplazmy) lecz rejestrują późne efekty działania estrogenu — nagromadzanie się receptora w cytoplazmie i jądrze.

Wpływ małych dawek PMSG oraz HCG na zawartość RE w macicy jest podobny do działania estradiolu (ryc. 1, 3a, 4). Tu również po przejściowym wzroście RE obserwujemy spadek jego zawartości, choć można zauważyć pewne różnice w nasileniu narastania lub spadku. Narastanie RE przypada również na okres przyrostu DNA macicy.

Odmienne działanie przejawiają duże dawki PMSG. Jednocześnie ze wzrostem DNA ilość RE w macicy zazwyczaj gwałtownie maleje. Po kilku iniekcjach dużych dawek PMSG ilość RE w macicy ustala się na poziomie niższym o jeden rząd wielkości w stosunku do wartości wyjściowej (ryc. 3b). Dotyczy to zarówno receptora cytoplazmatycznego i jądrowego. Stan ten można porównać z opisanymi przez innych autorów znikomymi ilościami RE w macicy ciężarnych szczurzyce oraz z wydatnym zmniejszaniem się RE_c w błonie doczesnowej rzekomo ciężarnej macicy szczurów (5, 28). Podobny spadek zawartości RE w macicy zaobserwowaliśmy u dojrzałych samic szczura z nadmiernie pobudzoną czynnością przysadki, wywołaną elektrokoagulacyjnym uszkodzeniem nucleus raphe medianus w mózgu (30).

Zawartość RE w macicy po iniekcjach PMSG lub HCG jest prawdopodobnie uwarunkowana stopniem pobudzenia i stanem morfologiczno-czyn-

nościowego zróżnicowania jajników, które w tych warunkach mogą wydzielać ponadfizjologiczne ilości estrogenów i progesteronu (10, 11). Efekt działania PMSG na jajnik niedojrzałego szczura jest zależny od dawki. Mała dawka, nie wywołująca jeszcze wyraźnego rozrostu elementów morfotycznych jajnika, (ryc. 2b) wydaje się stymulować przede wszystkim jego czynność estrogeną, co powoduje narastanie ilości receptora w macicy, a następnie jego niewielki spadek. Porównując ten efekt z podobnym działaniem HCG, które przejawia przede wszystkim działanie LH, możnaby sądzić, że pobudzenie estrogennej czynności jajnika spowodowane jest działaniem hormonu luteinizującego. Obniżające działanie dużych dawek PMSG na zawartość RE w macicy możnaby tłumaczyć tym, że szybciej zróżnicowany pod ich wpływem jajnik oprócz estrogenów zaczyna wydzielać również progesteron, który hamuje syntezę RE w macicy (3, 12, 15). Duże dawki PMSG wywołują olbrzymi przerost jajnika i całkowitą jego folikulizację (21, 22, 23). Rodzaj i wielkość odpowiedzi (RE-macica) zależy prawdopodobnie od stopnia uruchomienia estrogennej i progestagennej czynności jajnika. Gdy przeważa działanie estrogenów (mała dawka PMSG lub HCG) — ilość RE w macicy rośnie, gdy następnie dochodzi do zwiększenia wydzielania progesteronu — maleje. Nasilenie tych zmian niekoniecznie uwarunkowane jest stosunkiem FSH do LH, lecz przypuszczalnie tempem i kolejnością różnicowania się elementów morfotycznych jajnika. W małej dawce PMSG stosunek FSH do LH jest przecież taki sam jak w dawce dużej, a efekt jej działania jest, przynajmniej w pierwszej fazie, podobny do efektów HCG i do estradiolu. Wskazywałoby to, że różnicujące się pod wpływem gonadotropin jajniki wcześniej ujawniają czynność estrogeną, a później progestageną. Do rozwoju progestagennej czynności jajnika niezbędne jest współdziałanie estrogenów z gonadotropinami. Przemawiają za tym badania innych autorów, z których wynika, że FSH wydatniej pobudza wytwarzanie progesteronu przez komórki ziarniste pęcherzyków gdy są one traktowane estrogenami lub androgenami (2, 6, 19).

Zasadnicza różnica w działaniu estradiolu i małych dawek PMSG oraz HCG w porównaniu do działania dużych dawek PMSG polega na tym, że spadek zawartości RE w macicy po małych dawkach gonadotropin lub estradiolu nigdy nie jest tak wielki jak po dużych dawkach PMSG. Działanie progesteronu niewystarczająco jednak tłumaczy to zjawisko.

Z ostatnich naszych doświadczeń wynika, że stosowanie nawet znacznych dawek samego progesteronu lub progesteronu z estradiolem chociaż wstrzymało nagromadzanie RE w macicy (3) nie wywołało jednak tak dużego obniżenia zawartości RE, jaki stwierdziliśmy po iniekcjach dużych dawek PMSG.

Czym należałoby tłumaczyć tak wydatne obniżenie RE w macicy? Nie wynika ono zapewne z zablokowania receptorowych miejsc wiążących en-

dogennym estradiolem. W dodatkowych doświadczeniach stwierdziliśmy, że ilość skompleksowanego w ten sposób receptora cytoplazmatycznego jest nieznaczna w porównaniu do całkowitej jego puli. Nie jest to również spowodowane przemieszczaniem RE do jądra komórkowego, gdyż we frakcji jądrowej również jest go niewiele. Być może w bardziej odległym procesie zróżnicowania się komórek macicy pojawiają się w nich czynniki powodujące zmniejszenie ilości lub degradację receptorów. Mogą nimi być np.: prostaglandyny. Wykazano bowiem, że prostaglandyna PGF_2 może *in vitro* zmniejszać zawartość RE w tkance lutealnej jajnika szczura (14). Macica szczura również może wytwarzać prostaglandyny (18), które mogłyby wpływać na zawartość RE.

Z innych czynników „zewnętrznych“, które oprócz progesteronu mogłyby wpływać na poziom RE w macicy należałoby wziąć pod uwagę prolaktynę, której ilość we krwi wzrasta po iniekcjach estrogenów (13). Wykazano, że zawartość RE w nowotworach gruczołu mlekowego myszy może być regulowana prolaktyną. Jednakże, w macicach tych samych zwierząt efektu takiego nie zaobserwowano (26, 29).

Rozpatrując zmiany w zawartości RE w rozrastającej się macicy szczura stymulowanej bezpośrednio estrogenami lub pośrednio poprzez jajniki gonadotropinami obserwujemy dwie następujące sytuacje:

1. W odpowiedzi na estradiol w macicy narasta ilość RE_c . Największe ilości RE_c stwierdza się w okresie postępującego przyrostu DNA, czyli w okresie wzmożonego rozplemu komórek macicy. Gdy tempo rozplemu maleje, zawartość RE również maleje. Podobne efekty wywołują w pierwszej fazie swego działania małe dawki PMSG i HCG (estrogenna czynność).

2. Odmienną sytuację obserwujemy przy pobudzeniu dużymi dawkami PMSG (działanie estrogenne i progestagenne). Postępującemu przyrostowi DNA w macicy towarzyszy wybitne zmniejszanie się ilości RE_c . Faza maksymalnego przyrostu DNA przypada na fazę maksymalnego spadku ilości RE_c . Wygląda na to, że w opisanej tu sytuacji w macicy namnażają się komórki nie posiadające RE_c lub zawierające tylko znikome jego ilości. Powstaje pytanie czy nagromadzanie się RE_c w komórkach macicy, które jest typową późną odpowiedzią na pobudzenie estradiolem czyni je bardziej podatnymi na dalszą proliferację? Wydaje się, że nie. Wskazuje na to fakt, że po największym nagromadzeniu RE w macicy wywołanym estrogenem tempo proliferacji komórek już nie wzrasta (maksimum przyrostu DNA). Przemawia za tym również to, że mimo gwałtownego spadku ilości RE_c po iniekcjach dużych dawek PMSG nadal obserwuje się równoczesny przyrost DNA w macicy.

Przytoczone tu fakty doświadczalne są niewystarczające do wyjaśnienia, na czym polega dwojaki zachowanie się (wzrost i spadek) ilości RE_c w macicy podczas jej rozrostu. W rozważaniach możnaby sądzić, że zmiany

w zawartości RE_c w macicy albo są wyrazem różnych stanów czynnościowych tych samych rodzajów komórek, w których poziom RE_c jest regulowany estrogenami lub progesteronem, albo w procesie rozrostu macicy powstają dwa różne typy komórek, z których jeden nagromadza duże ilości RE_c , a drugi nie posiada go wcale lub znikome jego ilości.

Зигмунт Пашко, Галина Падзик, Станислав Храпуста

ИЗМЕНЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ
В РАСТУЩЕЙ МАТКЕ НЕЗРЕЛОЙ КРЫСЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ВПРЫСНУТЫХ
ГОНАДОТРОПИНОВ (PMSG, HCG) ИЛИ ЭСТРОГЕНОВ

Резюме

Исследовались изменения количества рецепторов эстрогенов в матке крысы под влиянием эстрогенов или гонадотропинов. Получены следующие результаты:

1. Повторяющиеся инъекции эстрадиола вызывают у незрелых самок крыс в начале повышение количества цитоплазматических (RE_c) и ядерных (RE_n) рецепторов в матке, а в следующем их понижение до величин приближенных к начальным.
2. Гонадотропины (PMSG или HCG) впрыснутые незрелым самкам крыс вызывают изменения количества RE_c в матке, ход которых зависит от степени развития яичников. Относительно небольшие дозы HCG или PMSG не вызывающие еще отчетливой гиперплазии яичников вызывают эффект похожий на эстрогены — в начале повышение, а потом понижение количества RE_c в матке. Высокие дозы RE_c вызывающие быстрое повышение роста яичников сразу отчетливо уменьшают количество RE_c в матке. Увеличение количества RE_c в матке мы объясняем эстрогенной, а его отчетливое понижение прогестагенной функцией яичников возбужденной гонадотропинами.
3. Повышение количества RE_c в матке в период стимуляции эстрогенами или небольшими дозами гонадотропинов происходит в период повышенной гиперплазии его клеток (повышение количества DNA). Когда гиперплазия матки достигнет максимума количество RE_c бурно понижается. Значительное понижение количества RE_c в матке вызванное высокими дозами гонадотропинов не понижает отчетливо гиперплазии ее клеток. Свидетельствует об этом одновременный, перед понижением прирост DNA. Нагромаждение значительного количества RE_c в матке кажется не повышает ее склонности к реактивации гиперплазией. Оно только является следствием эстрогенного возбуждения, которое наиболее отчетливо проявляется во время повышенной гиперплазии клеток.

Zygmunt Paszko, Halina Padzik and Stanislaw Chrapusta

CHANGES IN THE ESTROGEN RECEPTOR OF CONTENT PROLIFERATING UTERUS
OF IMMATURE RAT UNDER THE INFLUENCE OF GONADOTROPIN (PMSG, HCG)
OR ESTROGENS

Summary

The changes of estrogen receptor in the immature rat uterus under the influence of estrogen or gonadotropin have been investigated. The following facts has been found:

1. Stimulation of animals with several daily injections of estradiol resulted in transient increase of cytoplasmic estrogen receptor (RE_c) and nuclear estrogen receptor (RE_n) content, followed by the rapid decrease to the levels resembling those in nonstimulated animals.

2. The effects of gonadotropin injections on the RE_c depend on the stage of ovarian development. Relatively small doses of HCG or PMSG, unable to induce real growth of an ovary, exerted estrogen — like effect: transient increase followed by the rapid decrease of uterine RE_c level. In our opinion, the increase might be explained in terms of estrogenic, and the decrease — in progestagenic function of the gonadotropin-stimulated ovaries.

3. The increase of uterine RE_c in course of the stimulation with estrogens or small doses of gonadotropins coincided with the phase of enhanced uterine cells proliferation (increasing DNA content). Considerable decrease of uterine RE_c level induced with large doses of gonadotropins didn't result in the decrease of uterine cells proliferation as DNA content increased. Accumulation of appreciable amounts of RE_c in the uterus seems not to correlate with readiness of the uterus to react with proliferation. It only seems to be a result of estrogenic stimulation, that is especially well-seen during the phase of enhanced cells proliferation.

PIŚMIENNICTWO

1. Anderson J., Clark J.H., Peck E.J.: Oestrogen and nuclear binding sites: determination of specific sites by 3H -oestradiol exchange. *Biochem. J.*, 1972, 126, 561. — 2. Armstrong D.T., Dorrington J.H.: Androgens augment FSH-induced progesterone secretion by cultured rat granulosa cells. *Endocrinology*, 1976, 99, 1411. — 3. Chrapusta S., Paszko Z.: Zmiany zawartości receptorów estrogenów i progestagenów w macicy szczura po iniekcjach estradiolu i progesteronu. — w przygotowaniu do druku. — 4. Clark J.H., Peck E.J.Jr.: Oestrogen receptors and antagonism of steroid hormone action. *Nature*, 1974, 251, 446. — 5. Feherty P., Robertson D.M., Waynforth H.B., Kellie A.E.: Changes in the concentration of high-affinity oestradiol receptors in rat uterine supernatant preparations during the oestrous cycle, pseudopregnancy, pregnancy, maturation and after ovariectomy; *Biochem. J.*, 1970, 120, 837. — 6. Funkenstein B., Nimrod A., Lindner H.R.: The development of steroidogenic capability and responsiveness to gonadotropins in cultured neonatal rat ovaries. *Endocrinology* 1980, 106, 98. — 7. Giles K.W., Meyers A.: An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature*, 1965, 93, 206. — 8. Gorski J., Gaumn F.: Current models of steroid hormone action: A critique. *Ann. Rev. Physiol.* 1976, 38, 425. — 9. Gorski J., Toft D., Shyamala G., Smith D., Notides A.: Hormone receptors: Studies on the interaction of estrogen with the uterus. *Recent Prog. Horm. Res.*, 1968, 24, 45. — 10. Horikoshi H., Wiest W.G.: Estrogen secretion by the superovulated rat ovary. *Endocrinology*, 1970, 86, 1454.

11. Horikoshi H., Wiest W.G.: Interrelationships between estrogen and progesterone secretion and trauma-induced deciduomata on causes of uterine refractoriness in the „Parlow rat”. *Endocrinology*, 1971, 89, 807. — 12. Hsueh A.J.W., Peck E.J.Jr., Clark J.H.: Progesterone antagonism of the oestrogen receptor and oestrogen-induced uterine growth. *Nature*, 1975, 254, 337. — 13. Jacobi J., Lloyd H.M., Moares J.D.: Onset of oestrogen-induced prolactin secretion and DNA synthesis by the rat pituitary gland. *J. Endocrin.*, 1977, 72, 35. — 14. Jacobson H.I.: Oncolytic action of prostaglandins. *Cancer Chemother. Rep. Part 1*, 1974, 58, 503. — 15. Kielhorn J., Hughes A.: Variations in uterine cytosolic oestrogen and progesterone receptor levels during the rat oestrous cycle. *Acta endocr. (Kbh.)*, 1977, 86, 842. — 16. Korenman S.G., Tulchinsky D., Eaton L.W.: Radio-ligand procedures for estrogen assay in normal and pregnancy plasma. w: *Karolinska Symposia on Research Methods in Reproductive Endocrinology*, 2-nd Symposium, ed. E. Diezfalusy, Stockholm 1970. — 17. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 265. — 18. Lukaszewska J.: Wpływ prostaglandyn na ste-

rydogenezę. W: „Biomolekularne podstawy interakcji hormon—komórka” pod red. A. Dawidowicza, PZWL Warszawa, 1975. — 19. Nimrod A., Lindner H.R.: A synergistic effect of androgen on the stimulation of progesterone secretion by FSH in cultured rat granulosa cells. *Moll. Cell Endocrinol.*, 1976, 5, 315. — 20. Padzik H., Paszko Z.: Oznaczanie receptora estrogenowego w cytosolach komórek docelowych dla estrogenów. W: „Biomolekularne podstawy interakcji hormon—komórka” pod red. A. Dawidowicza, PZWL Warszawa, 1975.

21. Paszko Z.: Gonadotropiny ludzkie I. Wybrane zagadnienia z zakresu biologicznych metod oznaczania gonadotropin. *Post. Hig. i Med. Dośw.*, 1971, 25, 129. — 22. Paszko Z., Padzik H.: Zawartość DNA, RNA i białek w jajniku i macicy szczurów otrzymujących gonadotropinę kosmówkową (HCG) lub gonadotropinę źrebnej klaczy (PMS). VII Krajowy Zjazd Endokrynologów, Streszczenia, 8, 1971. — 23. Paszko Z., Padzik H., Nowosielski J.: Synteza DNA, RNA i białek w niedojrzałym jajniku szczura pod wpływem małych i dużych dawek gonadotropiny źrebnej klaczy (PMS). VII Krajowy Zjazd Endokrynologów, 1971, Streszczenia, 8. — 24. Paszko Z., Padzik H., Chrapusta S.: Regulacja zawartości i rozmieszczenia receptora estrogenowego w cytoplazmie i jądrach komórkowych macicy szczura. XV Zjazd P. T. Bioch., 1977, Streszczenia 6. — 25. Paszko Z., Padzik H., Chrapusta S.: Wpływ estradiolu, progesteronu, gonadotropin i prolaktyny na regulację zawartości receptora estrogenowego w macicy i jajniku szczura. IX Zjazd PTE, 1977, Streszczenia, 59. — 26. Saiuddin S., Zassenhaus H.P.: Effect of prolactin on specific oestradiol receptors in the rat uterus. *J. Endocrinol.*, 1977, 72, 101. — 27. Scatchard G.: The attractions of proteins for small molecules and ions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1949, 51, 660. — 28. Talley D.J., Tobert J.A., Armstrong E.G.Jr., Villee C.A.: Changes in estrogen receptor levels during deciduomata development in the pseudopregnant rat. *Endocrinology* 1977, 101, 1538. — 29. Vignon F., Rochefort H.: *Endocrinologie et Cancerologie — Regulation des recepteurs des oestrogens dans les tumeurs mammaires: effet de la prolactine in vivo.* *C. R. Acad. Sci.*, 1974, 278. — 30. Waloch M., Paszko Z.: Wpływ elektrokoagulacyjnego uszkodzenia jąder szwu mózgu oraz zahamowania syntezy serotoniny na zawartość receptora estrogenowego w macicy szczura. — w przygotowaniu do druku.

Wpłynęło: 4.09.80 r.

Adres autorów: 02-082 Warszawa, ul. Wawelska 15. Instytut Onkologii.