

Stanisław Chrapusta, Elżbieta Kwiatkowska, Zygmunt Paszko,  
Halina Padzik

### CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA FORM 4S I 8S RECEPTORÓW ESTROGENÓW I PROGESTAGENÓW W CYTOSOLACH RAKA SUTKA Kobiet\*

Z Samodzielnej Pracowni Endokrynologii Onkologicznej Instytutu Onkologii w Warszawie  
Kierownik doc. dr hab. Z. Paszko  
Dyrektor: prof. dr med. T. Koszarowski

W pierwotnych rakach sutka kobiet zbadano zawartość i właściwości sedymentacyjne cytosolowych receptorów estrogenów (ER) i progestagenów (PR) posługując się metodami węglowo-dekstranową oraz ultrawirowaniem w gradiencie gęstości sacharozy w buforze o małej mocy jonowej. W większości zbadanych nowotworów receptory estrogenów lub progestagenów występowały głównie w dwóch postaciach sedymentacyjnych, tj. 8S i 4S (60% i 65%) rzadziej wyłącznie w postaci 4S (34% i 22%), a najrzadziej wyłącznie w postaci 8S (6% i 13%). W rakach, w których ER stwierdzono w postaciach 8S i 4S towarzyszący mu PR również częściej występował w dwóch postaciach. Globalne zawartości obydwu receptorów w tej grupie nowotworów były przeciętnie duże (mediana dla ER — 63 fmoli/mg białka cytosolu, dla PR—91 fmoli/mg b.c.). W grupie raków sutka, w których ER występował tylko w postaci 4S często współistniały znaczne ilości receptora progestagenów. Przeciętna zawartość obydwu receptorów w takich guzach, była raczej niska w stosunku do grupy raków z obydwoma postaciami ER, tj. 4S i 8S (mediana dla ER — 25 fmoli/mg białka cytosolu, a dla PR — 21 fmoli/mg b.c.). Wydaje się, że w rakach sutka, w których ER wykrywano wyłącznie w postaci 4S, współwystępowanie receptora progestagenów świadczy o zachowanej zdolności do odpowiedzi ich komórek na estrogen, co wyraża się syntezą receptora progestagenów.

Z naszych dotychczasowych badań wynika, że 82% raków sutka polskich kobiet zawiera receptor estrogenów (ER) (10,11). Chore z receptorododatnimi nowotworami częściej reagują remisją na endokrynną terapię niż te, których nowotwory nie posiadają receptora estrogenów (11, 12). Jednakże wśród wyraźnie receptorododatnich raków sutka znajdują się takie, które również nie reagują na endokrynną terapię (11, 12). Wyniki naszych badań na ogół są zgodne z wynikami innych badaczy (5, 6, 8). Obecność ER w rakach sutka chociaż bardzo pomocna, nie zawsze jest wystarczającym kryterium oceny ich hormonoreaktywności. Dlatego też poszukuje się bardziej precyzyjnych wskaźników hormonoreaktywności raków sutka, niż globalna zawartość ER.

Horwitz i McGuire wysunęli hipotezę, że pewniejszym wskaźnikiem hormonoreaktywności może być jednoczesne występowanie w tkance nowotworowej ER i receptora progestagenów PR (4). Obecność PR w guzie ER dodatnim miałaby świadczyć o jego reaktywności na estrogeny, gdyż stwierdzono, że hormony te powodują nagromadzenie PR w tkankach docelowych (3, 4). Wg danych tych badaczy pozytywny skutek hormonoterapii u chorych z guzami ER+ i PR+ wynosi od 70—92%, podczas gdy przy doborze chorych

\* Praca wygłoszona na X Zjeździe Endokrynologów, Kraków 1980 (2)  
Praca wykonana w ramach Programu Rządowego PR-6

na podstawie wyłącznych oznaczeń ER osiąga się remisję jedynie u 55% leczonych hormonalnie pacjentek (4).

Inne kryterium doboru chorych do terapii endokrynej zaproponowali Wittliff i wsp. (15, 16, 17). Receptor estrogenów w ludzkich rakach sutka może występować w dwóch postaciach sedymentujących w gradiencie stężeń sacharozy, o małej mocy jonowej, w obszarach 8S i 4S. Nowotwory zawierające ER w postaci 8S i 4S lub tylko 8S są wg Wittliffa i wsp. częściej hormono-reaktywne (75%) niż nowotwory zawierające tylko postać 4S (17%).

Przedstawione poniżej badania miały na celu scharakteryzowanie raków sutka polskich kobiet pod względem częstości występowania różnych postaci sedymentacyjnych ER i PR.

#### MATERIAŁY I METODY

1. Odczynniki: 2,4,6,7-<sup>3</sup>H-estradiol-17β (<sup>3</sup>H—E<sub>2</sub>), akt. wł. 100 Ci/mmol Amersham; dwuetylostilbestrol (DES), Sigma; <sup>3</sup>H-promegeston (<sup>3</sup>H-R5020), akt. wł. 86 Ci/mmol, NEN); promegeston (R5020), Roussel-UCLAF; dekstran T-70, Pharmacia; PPO do scyntytacji, Koch-Light; POPOP do scyntytacji, Koch-Light; wersenian dwusodowy (EDTA) cz.d.a. POCH-Gliwice; ditio-treitol (DTT), Sigma; albumina krwi bydlęcej (BSA) fr. V wg Cohna, Sigma; gammaglobulina ludzka fr. II wg Cohna. Biomed; <sup>14</sup>C-formaldehyd, akt. wł. 10—20 mCi/mmol, Amersham; Tris cz.d.a., Australanal; węgiel akt. przemyty kwasem, Sigma; sacharoza grade I, Sigma, glicerol cz.d.a., POCH-Gliwice.

2. Materiał kliniczny: tkanki pierwotnych raków sutka po zidentyfikowaniu przez histopatologa zamrażano w suchym lodzie i przechowywano w ciekłym N<sub>2</sub> przez 1—2 tygodni.

3. Przygotowanie cytosolu: tkankę rozcierano na proszek w temperaturze ciekłego N<sub>2</sub> w moździerzu porcelanowym lub młynku wibracyjnym (Mikro-Dismembrator II, Braun-Melsungen), następnie zawieszano w 3 objętościach buforu TED (10 mM Tris/HCl, 1,5 mM EDTA, 0,5 mM DTT, pH 7,4, 20° C) za pomocą aparatu Polytron (Kinematica, 3×10 sekund, maks. prędkość obr., przerwy po 1 min.) i po następnych 20 min. ultra-wirowano (220000×g) w ciągu 30 min. Osad odrzucono, w nadsączu (cytosol) oznaczano zawartość oraz postacie sedymentacyjne receptora estrogenów (ER) i receptora progestagenów (PR). Przygotowanie cytosolu i wszystkie dalsze czynności z cytosolem prowadzono w temperaturze 0—2° C.

4. Ilościowe oznaczenie ER i PR: Cytosol inkubowano 16—20 godzin z 10 nM <sup>3</sup>H—E<sub>2</sub> w obecności i w nieobecności 1 μM DES w buforze TED z dodatkiem 10% obj. glicerolu (bufor TEDG) w celu oznaczenia ER lub z 10nM <sup>3</sup>H—R5020 w obecności i nieobecności 1 μM R5020 w celu oznaczenia PR. Następnie do wszystkich próbek dodawano 1/10 obj. 5% zawiesiny węgla akt. w 0,5% roztworze dekstranu T-70 w buforze TEDG, inkubowano stale mieszając przez dalsze 30 minut, odwirowywano węgiel (4600×g) w ciągu 10 minut i oznaczano radioaktywność nadsączu. Ilość ER i PR wyznaczano z różnicy radioaktywności nadsączów próbek nie zawierających i zawierających odpowiednio DES lub R-5020. Wyniki oznaczeń wyrażano w fmolach swoiście związanego <sup>3</sup>H-sterydu/mg białka cytosolu. Białko oznaczano metodą Lowry'ego i wsp. (7).

5. Ultrawirowanie w gradiencie gęstości sacharozy: próbki do ultrawirowania przygotowywano jak wyżej (punkty 3 i 4), skracając jedynie czas inkubacji z odpowiednimi sterydami do 2 godzin. 150 μl nadsączów (punkt 4) po usunięciu węgla aktywowanego наносzono na 5—20% gradient sacharozy w buforze TEDG i, po dodaniu do próbek po 3—5 μl (1000—2000 DPM) roztworu



$^{14}\text{C}$ -BSA lub  $^{14}\text{C}$ -gammaglobuliny, ultrawirovano przez 16—18 godzin (190 000—234 000  $\times$  g). Zawartość próbek rozfrakcjonowywano przez otwór w dnie próbówki. Do każdej frakcji dodawano po 3 ml płynu scyntylicyjnego *Bray'a* i mierzono zawartą w nich radioaktywność  $^3\text{H}$ -sterydów i  $^{14}\text{C}$ -białek. Stałe sedimentacji białek wiążących  $^3\text{H}$ -E<sub>2</sub> i  $^3\text{H}$ -R 5020 wyznaczano na podstawie położenia maksimów radioaktywności  $^{14}\text{C}$ -gammaglobuliny.

6. Przygotowanie wzorców stałych sedimentacyjnych:  $^{14}\text{C}$ -BSA i  $^{14}\text{C}$ -gammaglobulinę ludzką przygotowywano znakując odpowiednie białka  $^{14}\text{C}$ -formaldehydem wg metody *Meansa* i *Feeny'a* (9).

### WYNIKI

Zbadano 43 cytosole raków sutka, w których oznaczono zawartość ER i PR. Spośród nich 35 cytosoli poddano ultrawirowaniu w gradiencie stężeń sacharozy w celu scharakteryzowania postaci sedimentacyjnych ER. Analogiczne badania wykonano dla PR w 23 cytosolach. Wyniki badań zestawiono w tabelach I, II i III oraz zilustrowano na ryc. 1 i 2.

*Tabela I.* Częstość występowania postaci 4S i 8S receptorów estrogenów i progestagenów w rakach sutków kobiet

*Table I.* Frequency of occurrence of the 4S and 8S forms of estrogen and progestin receptors in human breast cancer

	Postać sedimentacyjna Sedimentation form	Liczba nowotworów* Number of tumors
Receptor estrogenów Estrogen receptor	4 S	12 (34,3%)
	8 S i 4S	21 (60,0%)
	and 8 S	2 (5,7%)
	razem total	35* (100%)
Receptor progestagenów Progestin receptor	4 S	5 (21,7%)
	8 S i 4 S	15 (65,2%)
	and 8 S	3 (13,0%)
	razem total	23* (100%)

\* Zbadano 43 nowotwory, z których w 14 analizowano jednocześnie ER i PR a w pozostałych ER albo PR.

\* Total number of cases: 43. 14 tumors were analyzed for simultaneously presence of both ER and PR, the others either for ER or for PR.

### OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja

W większości zbadanych przez nas nowotworów (tab. I, ryc. 1 i 2) receptory estrogenów jak i progestagenów występowały głównie w postaciach 8S i 4S (odpowiednio 60% i 65%), rzadziej w postaci wyłącznie 4S (34% i 22%), a najrzadziej wyłącznie w postaci 8S (6% i 13%). Wyniki te różnią się od podawanych przez innych badaczy, którzy najczęściej znajdują ER w nowotworach w postaci wyłącznie 8S, jak np.: *Wittliff* i *Savlov* (17), oraz *Bloom* i wsp. (7), odpowiednio 56% i 44%, podczas gdy u nas 6%. Częstość współwystępowania form 4S i 8S ER, w naszym materiale (60%) jest zbliżona do analogicznych częstości podanych przez *Blooma* (44%), a znacznie większa niż przez *Wittliffa* i wsp. (25%). Raki sutka z PR w postaci wyłącznie 8S występowały u nas najrzadziej. Spostrzeżenie to jest zgodne z doniesieniami

*Tabela II.* Występowanie receptora progestagenów w nowotworach zawierających receptor estrogenów w postaci 4S

*Table II.* Occurrence of progestin receptor in tumors containing the 4S form only of estrogen receptor

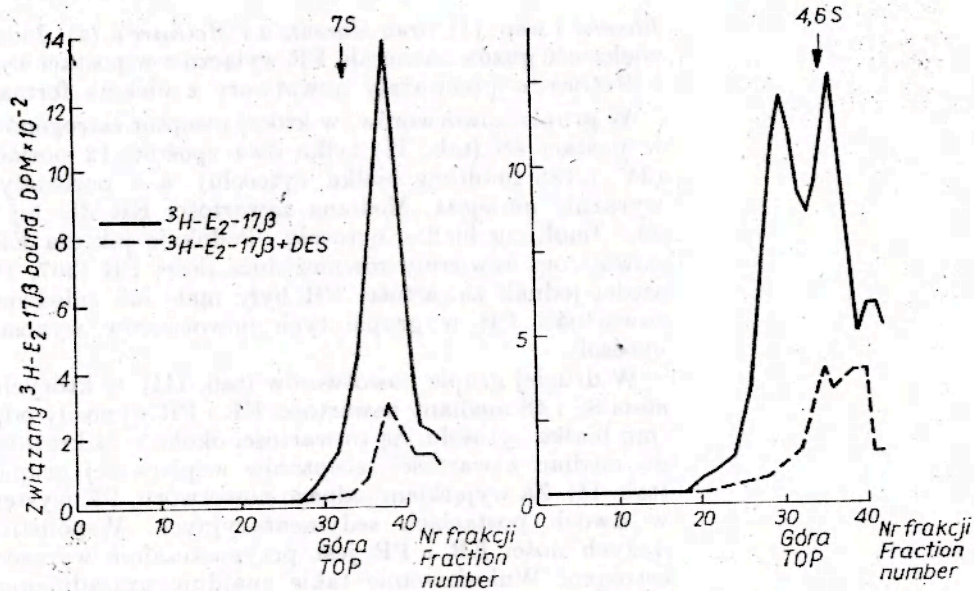
Lp.	Wiek chorych Age of patient	Receptor estrogenów Estrogen receptor			Receptor progestagenów Progesterin receptor		
		fmole/mg białka cytosolu fmoles/mg of cytosol protein	Postać sedymentacyjna Sedimentation form		fmole/mg białka cytosolu fmoles/mg of cytosol protein	Postać sedymentacyjna Sedimentation form	
			4 S	8 S		4 S	8 S
1/108	59	347	+	-	168	+	-
2/128	74	188	+	-	21	+	+
3/71	79	44	+	-			
4/105	72	32	+	-	125	+	+
5/95	32	31	+	-	<3		
6/135	59	27	+	-	91		
7/179	38	24	+	-	<3		
8/224	40	17	+	-	8		
9/243	57	14	+	-	82		
10/18		9	+	-	367	-	+
11/125	26	4	+	-	<3		
12/110	64	2	+	-	<3		
Mediana Median	59	25,5			21		

*Tabela III.* Występowanie receptora progestagenów w nowotworach zawierających dwie postacie receptora estrogenów (4S i 8S)

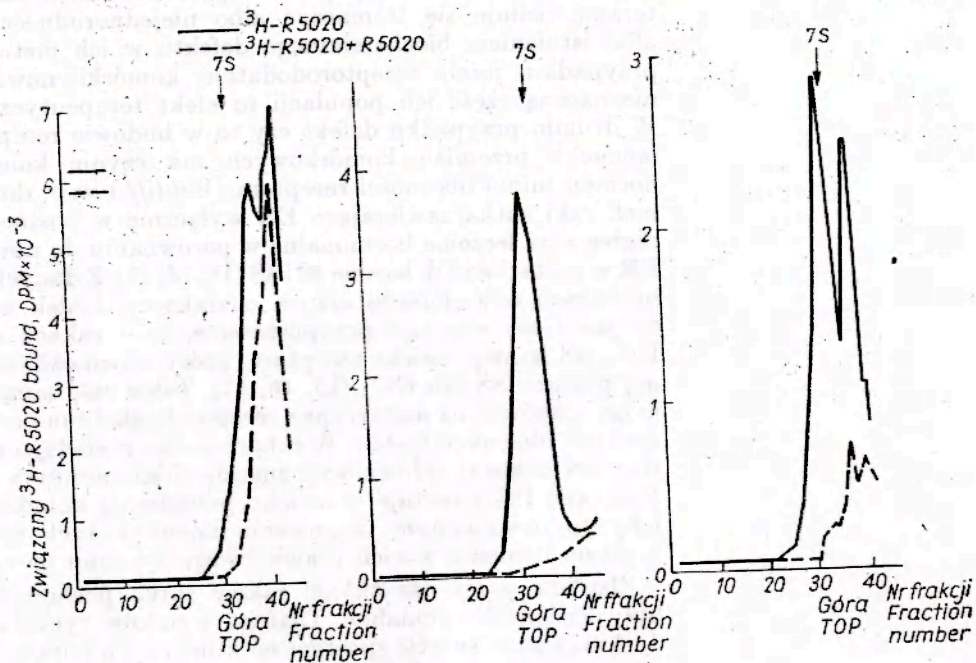
*Table III.* Occurrence of progestin receptor in tumors containing two sedimentation forms of estrogen receptor (4S and 8S)

Lp.	Wiek chorych Age of patient	Receptor estrogenów Estrogen receptor			Receptor progestagenów Progesterin receptor		
		fmole/mg białka cytosolu fmoles/mg of cytosol protein	Postać sedymentacyjna Sedimentation form		fmole/mg białka cytosolu fmoles/mg of cytosol protein	Postać sedymentacyjna Sedimentation form	
			4S	8S		4S	8S
1/253	65	368	+	+	238	+	+
2/72a	58	249	+	+	15		
3/132		159	+	+	20		
4/64	69	152	+	+	175		
5/248	77	130	+	+	23		
6/66	69	105	+	+	424		
7/187	68	76	+	+	33	+	-
8/67	65	69	+	+	6		
9/245	47	65	+	+	295	+	+
10/205	63	64	+	+	18	+	+
11/250	63	63	+	+	166	+	+
12/111	67	53	+	+	215	+	+
13/81	63	53	+	+	91	+	+
14/259	54	50	+	+			
15/247	40	47	+	+			
16/91		44	+	+	140	+	+
17/131	52	29	+	+	<3		
18/130	36	27	+	+	127	+	+
19/240	46	24	+	+	9		
20/213		20	+	+	17		
21/93	81	9	+	+	105	+	+
Mediana	63	63			91		





Ryc. 1. Profile sedymentacyjne receptora estrogenów raka sutka kobiet.  
 Fig. 1. Sedimentation patterns of estrogen receptor from human breast cancer.



Ryc. 2. Profile sedymentacyjne receptora progesteragenów raka sutka u kobiet.  
 Fig. 2. Sedimentation patterns of progesterin receptor from human breast cancer.

*Blooma* i wsp. (1), oraz *Horwitz'a* i *McGuire'a* (4). Jednak w materiale *Blooma* większość guzów zawierała PR wyłącznie w postaci 4S, podczas gdy w naszym i *McGuire'a* przeważały nowotwory z obiema formami PR.

W grupie nowotworów, w której receptor estrogenów występował wyłącznie w postaci 4S (tab. II) tylko dwa spośród 12 posiadały bardzo duże ilości (347 i 188 fmoli/mg białka cytosolu), a w pozostałych zawartość ER była wyraźnie mniejsza. Mediana zawartości ER dla tej grupy guzów wynosiła 25,5 fmoli/mg białka cytosolu. Podobnie jak dla ER w grupie tej niektóre nowotwory zawierały również duże ilości PR (367, 168, 125 fmoli), w większości jednak zawartości PR były małe lub zaledwie wykrywalne. Mediana zawartości PR w grupie tych nowotworów wynosiła 21 fmoli/mg białka cytosolu.

W drugiej grupie nowotworów (tab. III), w których ER występował w postaci 8S i 4S mediany zawartości ER i PR wynosiły odpowiednio 63 i 91 fmoli/mg białka cytosolu. Są to wartości około 3—4 krotnie większe w porównaniu do median zawartości receptorów w pierwszej grupie nowotworów ER 4S (tab. II). Za wyjątkiem jednego nowotworu, PR występował podobnie jak ER w dwóch postaciach sedymentacyjnych. Współistnienie w rakach sutka dużych ilości ER i PR jest przypuszczalnie wyrazem ich reaktywności na estrogen. Wnioskowanie takie znajduje uzasadnienie w świetle znajomości mechanizmów regulacji zawartości tych receptorów w komórce oraz postępowaniu terapeutycznym. Wiemy bowiem, że estrogen pobudza syntezę i nagromadzenie w komórce ER i PR (3, 4, 13), a raki sutka zawierające obydwa te receptory częściej reagują regresją na endokrynną terapię niż guzy zawierające tylko ER (4).

Niereaktywność niektórych receptorododatnich raków sutka na hormonoterapię usiłuje się tłumaczyć albo niejednorodnością komórek nowotworu albo istnieniem biochemicznego defektu w ich metabolizmie. W pierwszym przypadku jeżeli receptorododatnie komórki nowotworu stanowią tylko nieznaczną część ich populacji to efekt terapeutyczny może być znikomy. W drugim przypadku defekt czy to w budowie receptora, czy innym członie łańcucha przemian komórkowych ma czynić komórkę niereaktywną na hormon mimo obecności receptora. *Wittliff* i wsp. donoszą, że zbadane przez nich raki sutka zawierające ER wyłącznie w postaci 4S rzadziej reagowały regresją na leczenie hormonalne w porównaniu do nowotworów zawierających ER w postaci 8S lub łącznie 8S i 4S (15, 16, 17). Z danych tych, oraz na podstawie informacji o wielopostaciowym charakterze białek receptorowych, (zarówno 8S jak i 4S) wysunęli przypuszczenie, że w rakach zawierających wyłącznie ER—4S istnieje defekt receptora, który uniemożliwia powstanie jego aktywnej postaci (8S lub 6S?) (15, 16, 17). Takie raki mimo obecności ER—4S nie mogą reagować na endokrynną terapię. Pogląd ten nie odpowiadałby wynikom naszych obecnych badań. W rakach sutka posiadających receptor tylko w postaci 4S często znajdowaliśmy znaczne ilości receptora progestagenów (tab. II). Ponieważ PR powstaje w wyniku pobudzenia komórek estrogenem świadczyłoby to o sprawnym reagowaniu komórek tych nowotworów na estrogen a zatem istnieniu w nich prawidłowego systemu receptora estrogenów.

Zbadane przez nas tkanki raków sutka pochodziły od kobiet, które nie były leczone hormonalnie. Dlatego wyników tych badań nie możemy przedyskutować w świetle spostrzeżeń klinicznych odnośnie hormonoreaktywności nowotworów. Charakteryzują one wstępnie w sposób statyczny stan receptorowy raków sutka zbadanych przez nas kobiet. Domniemany defekt receptora estrogenów w nowotworach ER—4S budzi wątpliwość z innych jeszcze

*Blooma* i wsp. (1), oraz *Horwitz'a* i *McGuire'a* (4). Jednak w materiale *Blooma* większość guzów zawierała PR wyłącznie w postaci 4S, podczas gdy w naszym i *McGuire'a* przeważały nowotwory z obiema formami PR.

W grupie nowotworów, w której receptor estrogenów występował wyłącznie w postaci 4S (tab. II) tylko dwa spośród 12 posiadały bardzo duże ilości (347 i 188 fmoli/mg białka cytosolu), a w pozostałych zawartość ER była wyraźnie mniejsza. Mediana zawartości ER dla tej grupy guzów wynosiła 25,5 fmoli/mg białka cytosolu. Podobnie jak dla ER w grupie tej niektóre nowotwory zawierały również duże ilości PR (367, 168, 125 fmoli), w większości jednak zawartości PR były małe lub zaledwie wykrywalne. Mediana zawartości PR w grupie tych nowotworów wynosiła 21 fmoli/mg białka cytosolu.

W drugiej grupie nowotworów (tab. III), w których ER występował w postaci 8S i 4S mediany zawartości ER i PR wynosiły odpowiednio 63 i 91 fmoli/mg białka cytosolu. Są to wartości około 3—4 krotnie większe w porównaniu do median zawartości receptorów w pierwszej grupie nowotworów ER 4S (tab. II). Za wyjątkiem jednego nowotworu, PR występował podobnie jak ER w dwóch postaciach sedymentacyjnych. Współistnienie w rakach sutka dużych ilości ER i PR jest przypuszczalnie wyrazem ich reaktywności na estrogen. Wnioskowanie takie znajduje uzasadnienie w świetle znajomości mechanizmów regulacji zawartości tych receptorów w komórce oraz postępowaniu terapeutycznym. Wiemy bowiem, że estrogen pobudza syntezę i nagromadzanie w komórce ER i PR (3, 4, 13), a raki sutka zawierające obydwa te receptory częściej reagują regresją na endokrynną terapię niż guzy zawierające tylko ER (4).

Niereaktywność niektórych receptorododatnich raków sutka na hormonoterapię usiłuje się tłumaczyć albo niejednorodnością komórek nowotworu albo istnieniem biochemicznego defektu w ich metabolizmie. W pierwszym przypadku jeżeli receptorododatnie komórki nowotworu stanowią tylko nieznaczną część ich populacji to efekt terapeutyczny może być znikomy. W drugim przypadku defekt czy to w budowie receptora, czy innym członie łańcucha przemian komórkowych ma czynić komórkę niereaktywną na hormon mimo obecności receptora. *Wittliff* i wsp. donoszą, że zbadane przez nich raki sutka zawierające ER wyłącznie w postaci 4S rzadziej reagowały regresją na leczenie hormonalne w porównaniu do nowotworów zawierających ER w postaci 8S lub łącznie 8S i 4S (15, 16, 17). Z danych tych, oraz na podstawie informacji o wielopostaciowym charakterze białek receptorowych, (zarówno 8S jak i 4S) wysunęli przypuszczenie, że w rakach zawierających wyłącznie ER—4S istnieje defekt receptora, który uniemożliwia powstanie jego aktywnej postaci (8S lub 6S?) (15, 16, 17). Takie raki mimo obecności ER—4S nie mogą reagować na endokrynną terapię. Pogląd ten nie odpowiadałby wynikom naszych obecnych badań. W rakach sutka posiadających receptor tylko w postaci 4S często znajdowaliśmy znaczne ilości receptora progestagenów (tab. II). Ponieważ PR powstaje w wyniku pobudzenia komórek estrogenem świadczyłoby to o sprawnym reagowaniu komórek tych nowotworów na estrogen a zatem istnieniu w nich prawidłowego systemu receptora estrogenów.

Zbadane przez nas tkanki raków sutka pochodziły od kobiet, które nie były leczone hormonalnie. Dlatego wyników tych badań nie możemy przedyskutować w świetle spostrzeżeń klinicznych odnośnie hormonoreaktywności nowotworów. Charakteryzują one wstępnie w sposób statyczny stan receptorowy raków sutka zbadanych przez nas kobiet. Domniemany defekt receptora estrogenów w nowotworach ER—4S budzi wątpliwość z innymi jeszcze



powodów. Nie wiemy, jak dotąd, jaką rolę spełnia w komórce postać 4S receptora oraz jakie jest jej pochodzenie. Może ona być produktem degradacji aktywnego ER podczas procedury jego oznaczania. Ponadto należałoby ustalić z całą pewnością, że we wszystkich przypadkach wiązanie estrogenu w obszarze 4S jest rzeczywiście wiązaniem receptorowym. Identyfikacja receptora w tym obszarze, zwłaszcza gdy jest go bardzo mało, może napotykać na duże trudności. Obszar ten w przeciwieństwie do obszaru 8S jest zawsze zanieczyszczony znaczną ilością białek nieswoiście wiążących estradiol, np. SHGB. Ostateczny wynik oznaczenia może być obarczony znacznym błędem, na skutek czego guz receptoroujemny możemy zidentyfikować jako receptorododatni 4S.

Raynaud i wsp. (13) stosowali do oznaczeń ER syntetyczny steryd (moxestrol), o wyższym, niż estradiol powinowactwie do ER i lepszej wybiórczości wiązania (nie wiąże się z globuliną krwi SHGB, wiążącą estrogeny i androgeny). Wykazali oni, że ilość miejsc swoiście wiążących estrogen w obszarze 4S wyznaczona moxestrolem jest w niektórych rakach sutka wielokrotnie mniejsza, a niekiedy niewykrywalna w porównaniu do oznaczeń wykonanych estradiolem. Tak więc wyniki uzyskane za pomocą estradiolu mogą być albo zawyżone albo fałszywie dodatnie. Zagadnienie niereaktywności niektórych ER-dodatnich raków sutka jest zapewne zjawiskiem złożonym i nie, da się wyjaśnić na podstawie kilku danych o stanie receptorowym guza, które mają statyczny charakter. Potrzebne jest dalsze gromadzenie informacji o jakościowych cechach receptorów przy zastosowaniu innych technik analitycznych.

Z opublikowanych w ostatnim czasie prac doświadczalnych na modelach zwierzęcych wynika, że receptory w komórce podlegają nie tylko ilościowym, lecz i jakościowym regulacjom, które mają wpływ na jej procesy fizjologiczne. Przykładem takim mogą służyć dwie postacie receptora progestagenów różniące się punktem izoelektrycznym, a które występują w zmiennych ilościach w różnych stanach fizjologicznych ustroju (14). Podobnej analogii możnaby dopatrzeć się w występowaniu w nowotworach pojedynczej formy sedymentacyjnej ER 4S.

С. Храпуста, Э. Квятковска, З. Пашко, Х. Падзик

#### ЧАСТОТА ВЫСТУПЛЕНИЯ ФОРМ 4S И 8S РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТАГЕНОВ В ЦИТОСОЛАХ РАКА ЖЕНСКОЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

##### Содержание

В первичных раках женской молочной железы исследовали содержание и седиментационные свойства цитосольных рецепторов эстрогенов (p<sub>э</sub>) и прогестагенов (p<sub>р</sub>), используя угле-декстранный метод и сверхцентрифугу в градиенте плотности сахарозы в буфере с малой ионной мощностью. В большинстве исследованных опухолей рецепторы эстрогенов или прогестагенов прежде всего выступали в двух седиментационных видах, т.е. 8S и 4S (60 и 65%), реже исключительно в виде 4S (34 и 22%), наиболее редко исключительно в виде 8S (6 и 13%). В раках, в которых p<sub>э</sub> установили в виде 8S и 4S, сопутствующий ему p<sub>р</sub> также чаще выступал в двух видах. Валовые содержания обоих рецепторов в этой группе опухолей были в среднем большие (медианы для p<sub>э</sub> — 63 моль/мг белка цистоса, для p<sub>р</sub> — 91 моль/мг белка цистоса). В группе раков женской молочной железы, в которых p<sub>э</sub> выступал только в виде 4S, чаще сосуществовали значительные количества рецептора прогестагенов. Среднее содержание обоих рецепторов в таких было скорее небольшое по отношению к группе раков с обоими видами p<sub>э</sub>, т.е. 4S и 8S (медиана для p<sub>э</sub> — 25 моль/мг белка цистоса, а для p<sub>р</sub> — 21 моль/мг белка цистоса). Кажется, что при раках женской молочной железы, в которых p<sub>э</sub> устанавливали исключительно в виде 4S, сосуществование рецептора прогестагенов свидетельствует о сохраненной способности к ответу их клеток на эстроген, что выражается синтезом рецептора прогестагенов.



S. Chrapusta, E. Kwiatkowska, Z. Paszko, H. Padzik

## FREQUENCY OF 4S AND 8S FORMS OF ESTROGEN AND PROGESTIN RECEPTORS IN BREAST CANCER CYTOSOLS

## Summary

The levels and the sedimentation properties of estrogen (ER) and progestin (PR) receptors in cytosol using the charcoal-dextran method and ultracentrifugation in saccharose density gradient in a buffer of low ionic strength. In most studied neoplasms these receptors were present mainly in two sedimentation forms, i.e. 8S and 4S (60% and 65%), less frequently only in the 4S form (34% and 22%), and least frequently only in the 8S form (6% and 13%). In cancers with ER present in the forms 8S and 4S the accompanying PR were present more frequently also in two forms. The global values of both receptors in this group of neoplasms were usually high (median for ER — 63 fmol/mg of cytosol protein, for PR — 91 fmol/mg). In the group of breast cancers with ER present only in the 4S form high amounts of PR were usually found. The average levels of both receptors in such tumours were rather small with respect to the group of cancers with both forms of ER that is 4S and 8S) median for ER — 25 fmol/mg of cytosol protein and for PR — 21 fmol/mg of cytosol protein). It seems that in breast cancers in which ER was found only in the 4S form coexistence of progestin receptors suggests persistence of the ability of tumour cells to respond to estrogen as reflected in progestin synthesis.

## PIŚMIENNICTWO

1. Bloom N., Tobin E., Degenshein G. A.: Clinical correlations of endocrine ablation with estrogen and progesterone receptors in advanced breast cancer. Progesterone receptors in normal and neoplastic tissues, ed. W. L. McGuire et al. Raven Press, New York, 1977, p. 125. — 2. Chrapusta S., Kwiatkowska E., Paszko Z.: Częstość występowania formy 8S i 4S receptora estrogenów i progestagenów w cytosolach raków sutka kobiet. Streszczenia X Jubileuszowego Zjazdu Endokrynologów Polskich, Kraków, 1980, str. 30. — 3. Chrapusta S., Paszko Z.: Regulacja zawartości receptorów estrogenów i progestagenów. Streszczenia X Jubileuszowego Zjazdu Endokrynologów Polskich, Kraków, 1980, str. 31. — 4. Horwitz K. B., McGuire W. L.: Estrogen and progesterone: Their relationship in hormone-dependent breast cancer. Progesterone receptors in normal and neoplastic tissues, ed. W. L. McGuire et al. Raven Press, New York, 1977, p. 103. — 5. Jensen E. V., Polley T. Z., Smith S., Block G. E., Ferguson D. J., DeSombre E. R.: Prediction of hormone dependency in human breast cancer. Estrogen Receptors in Human Breast Cancer ed. W. L. McGuire, P. P. Carbone, E. P. Vollmer. Raven Press, New York 1975, p. 37. — 6. Leclercq G., Heuson J. C.: Therapeutic significance of sex-steroid hormone receptors in the treatment of breast cancer. *Europ. J. Cancer*, 1977, 13, 1205. — 7. 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. — 8. McGuire W. L., Horwitz K. B., Peirson O. H., Segaloff A.: Current status of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Cancer*, 1977, 39, 2934. — 9. Means G. E., Feeney R. E.: Reductive alkylation of amino groups in proteins. *Biochemistry*, 1968, 7, No. 6, 2192. — 10. Paszko Z., Padzik H., Dąbska M., Pięnkowska F.: The estrogen receptor in human breast cancer tissues in relation to tumor morphology and endocrine therapy. *Tumori*, 1978, 64, 495. — 11. Paszko Z., Padzik H., Pięnkowska F., Chrapusta S., Wąsowska B., Kwiatkowska E.: The value of hormone receptors assays for prediction of the effectiveness of endocrine therapy. "Ninth International Symposium on the Biological Characterization of Human Tumours", Bologna, 23—26 September 1981. — 12. Pięnkowska F., Paszko Z., Padzik H., Dziadek T.: Porównanie skutków endokrynnnej terapii u kobiet chorych na raka sutka z obecnością receptora estrogenowego w tkance nowotworowej. *Nowotwory*, 1980, XXX, 1. — 13. Raynaud J. P., Marin P. M., Bouton M. M., and Ojasoo T.: 11 $\beta$ -methoxy-17-ethynyl-1,3,5 (10)-estratriene-3,17 $\beta$ -diol (moxestrol), a tag for estrogen receptor binding sites in human tissues. *Cancer Research*, 34, 3044—3050, 1978. — 14. Spelsberg T. C., Martin-Dani G., Boyd P. A., Lian Kon O.: Evidence for a temporary nonfunctional steroid receptor: seasonal rhythm in the biological activity of the progesterone-receptor in the chick oviduct. Second International Congress on Cell Biology Berlin (West), ed. H. G. Schweiger, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1981, p. 851. — 15. Wittliff J. L.: Steroid receptor interactions in human breast carcinoma. *Cancer*, 1980, 46, 2053. Supplement. — 16. Wittliff J. L., Beatty B. W., Baker D. T. Jr., Savlov E. D., Cooper R. A., Jr.: Clinical significance of molecular forms of estrogen receptors in human breast cancer. In: A. Vermeulen, A. Klopper, F. Sciarra, P. Jungblut and L. Lerner (eds), *Research on Steroids*, vol. 7, pp. 393—403. Amsterdam: Elsevier (North-Holland Biochemical Press, 1977. — 17. Wittliff J. L., Savlov E. D.: Estrogen-binding capacity of cytoplasmic forms of the estrogen receptors in human breast cancer. *Estrogen Receptors in Human Breast Cancer*, ed. W. L. McGuire, P. P. Carbone, E. P. Vollmer. Raven Press, New York, 1975, p. 73.

Praca wpłynęła do redakcji: 23.02.1982 r.

Adres autora: Instytut Onkologii, ul. Wawelska 15, 02-034 Warszawa