



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA
V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A
LÉKAŘSKÝCH VĚD

HORMONÁLNĚ STIMULOVANÉ NÁDORY A ARTEFAKTY PŘI
DETEKCI JEJICH RECEPTORŮ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

AUTOR PRÁCE:

Ivana Koubová

VEDOUCÍ PRÁCE:

MUDr. Jiří Hochmann, CSc

Na tomto místě bych ráda vyjádřila vděčnost MUDr. Jiřímu Hochmannovi, CSc. za jeho všestrannou pomoc, ochotu a trpělivost v průběhu vzniku této práce.

Obsah

1. SOUHRN.....	4
2. ÚVOD.....	6
3. PŘEVÁŽNĚ UČEBNICOVÁ LITERATURA	7
3.1 Orgány pohlavního ústrojí ženy.....	7
3.1.1 Vaječníky.....	7
3.1.2 Děloha.....	7
3.1.3 Mléčná žláza	8
3.2 Steroidní hormony.....	8
3.2.1 Estrogeny.....	8
3.2.2 Estrogenové receptory	9
3.2.3 Progesteron	10
3.2.4 Progesteronové receptory.....	10
3.3 Steroidní hormony, menstruační cyklus a menopauza	10
3.4 Receptory a hormonální léčba nádorů.....	14
4. POZNATKY Z DŘÍVĚJŠÍCH PRACÍ ŠKOLICÍHO PRACOVIŠTĚ.....	14
4.1 Bakalářská práce Barbory Šustrové.....	15
4.2 Bakalářská práce Evy Hirmerové	17
4.3 Bakalářská práce Radky Kutové.....	20
4.4 Bakalářská práce Šárky Pešinové.....	22
5. POZNATKY ZÍSKANÉ Z CIZOJAZYČNÝCH INTERNETOVÝCH ZDROJŮ	24
5.1 Ovariální cyklus u fen - exprese ER a PR v normální a nádorové prsní tkáni	24
5.2 Vliv estradiolu na ER v pochvě u potkanů	25
5.3 Vliv estradiolu a progesteronu na steroidní receptory a reprodukční systém u ovcí	26
5.4 Vliv androgenů	26
5.5 Vliv oxytocinu na ER a PR v děloze u potkanů.....	27
5.6 Vliv věku na ER v karcinomech endometria u žen.....	28
6. REKAPITULACE HORMONÁLNÍCH ZMĚN, KTERÉ MOHOU ZAPŘÍČINIT FALEŠNÉ VÝSLEDKY.....	29
6.1 Grafické znázornění artefaktů ER a PR způsobených ovariálním cyklem.....	29
6.2 Věková závislost koncentrace estrogenů a chyby vyšetření ER, které z ní vznikají.....	30
6.2.1 Výraz stárnutí ovaria.....	32
6.3 Proměnlivost jiných hormonů, které mají vliv na ER nebo PR	32
6.3.1 Prolaktin	32
6.3.2 Androgeny	33
6.3.3 FSH a LH.....	33
7. DISKUSE	34
7.1 ER a PR v normální a nádorové tkáni	34
7.2 Vliv estradiolu a progesteronu	34
7.3 Vliv androgenů	35
7.1 Vliv oxytocinu	35
7.2 Vliv ovariálního cyklu.....	35
7.3 Věková závislost ER u dělohy v literatuře.....	36
7.4 Hormonální změny během stárnutí a jejich vliv na ER karcinomů prsu v grafech (hradecké a pardubické nemocnice).....	36
8. SEZNAM ZKRATEK	39
9. SEZNAM LITERATURY.....	40

1. Souhrn

Tato práce navazuje na snahu předchozích studentek nalézt arteficiální vlivy na koncentraci estrogenových a progesteronových receptorů (dále jen ER a PR). Jejich důsledkem by mohly být falešné výsledky vyšetření pozitivita nádoru, a následně špatně zvolený typ léčby. V zahraničních internetových abstraktech jsme hledali právě ty, které se zabývaly hormonálním vlivem na hladinu steroidních receptorů.

Nejprve jsme našli porovnání normální a nádorové tkáně; koncentrace ER byly vyšší v normální tkáni, naopak koncentrace PR byly vyšší v nádorech. Největší vliv mají hormony estradiol a progesteron. Oba mohou negativně regulovat jak své vlastní receptory, tak receptory toho druhého hormonu. I prekursorů ženských hormonů – androgeny - mají svou úlohu. Jejich zvýšené hladiny mohou být spojeny s karcinogenezí prsu, dělohy i vaječnicků, protože se z nich v periférii tvoří estrogény. Samotný testosteron snižuje koncentrace ER a především PR. Neurohypofyzární hormon oxytocin je negativním modulátorem ER a PR v děloze.

Důležitým faktorem je ovariální cyklus, během kterého dochází k pravidelnému kolísání hormonálních hladin. Námí nalezená veterinární studie uvádí, že v případě fen v mléčné žláze je koncentrace ER nejvyšší v luteální fázi cyklu. U žen bylo dřívějšími studentkami popsáno, že nejvyšší ER by mělo být kolem menstruace.

Přestože autoři z dřívějších prací se shodují, že se s věkem ve zdravé děloze snižuje hladina ER, my jsme našli abstrakt tvrdící opak u nádoru dělohy. Není vyloučeno, že nádory dělohy se v tomto chovají jinak než zdravé endometrium.

Jelikož hladiny těchto hormonů majících vliv na koncentrace steroidních receptorů se mění v závislosti na různém věku pacientek, pokusili jsme se vyhledat i tyto změny. Hladina estradiolu v krvi bývá zvýšena v období několika let před menopauzou a po ní jejich tvorba klesá. To koresponduje s grafem věkové závislosti koncentrace ER. Koncentrace prolaktinu je fyziologicky zvýšena pouze v těhotenství a při kojení, jinak se během života nemění. Případná hyperprolaktinémie způsobí, že v ovariích je blokována tvorba estrogenů a progesteronu. Androgeny se snižují před menopauzou a po ní dále klesají, stejně jako oxytocin.

Při vyšetřování karcinomu je vždy třeba mít na paměti, že existuje řada faktorů, které mohou zapříčinit falešné výsledky, a neúčinnou léčbu konkrétní pacientky. Vyhledání a zdokumentování takových faktorů snad do budoucna pomůže vyvarovat se těchto chyb.

2. Úvod

K léčbě hormonálně závislých nádorů prsu, dělohy, vaječnicků a podobných jsou využívány antiestrogeny nebo jiná hormonální terapie. K tomu je nutno vyšetřit, zda nádor konkrétní pacientky obsahuje estrogenové nebo progesteronové receptory (ER a PR) – tedy zda skutečně je hormonálně závislý, nebo nikoliv.

Koncentrace ER a PR může být uměle změněna např. tím, že žena přijde na operaci nádoru v nesprávném stadiu ovulačního cyklu. Důsledkem takto vzniklé např. falešné negativy ER nedostane hormonální léčbu a nepodaří se prodloužit její život. Proto předchozí studentky v rámci svých bakalářských a diplomových prací vyhledávaly v literatuře umělé vlivy na koncentraci ER a PR. My jsme na jejich práci navázali vyhledáváním dalších takovýchto informací, jejichž respektování by mohlo zvýšit efekt léčby.

3. Převážně učebnicová literatura

3.1 Orgány pohlavního ústrojí ženy

3.1.1 Vaječníky

Na povrchu je vaječník pokrytý jednovrstevným, nízkým krycím epitelem, pod ním je vrstva vaziva. Samotný vaječník se skládá ze dvou stavebně odlišných částí — z kůry a dřene. Dřeň vaječníku (*substantia medullaris*) je tvořena řídkým vazivem, kterým probíhají velké cévy a nervy. Není obalena kůrou ze všech stran, na jednom místě přechází ve vaječnickovou blanku, což je místo vstupu těch cév. Kůra vaječníku (*substantia corticalis*) je tvořena masou buněčného vaziva a obsahuje také folikuly, bezesporu nejdůležitější součást vaječníku.

Základní buňky, ze kterých může vzniknout vajíčko, se dělí už během nitroděložního vývoje, pak svůj vývoj zastaví, stanou se z nich oocyty I. řádu, a ty se obalí vrstvou buněk z vaziva kůry. Tento útvar se nazývá folikul. Vzniká jich velké množství, žena má v každém vaječníku založeno až 200 000 folikulů. Jen některé z nich se začnou vyvíjet a dále růst. Vývoj folikulu je řízen FSH, estrogenem a progesteronem, a záleží tedy na pohlavním cyklu, u ženy tedy v ideálním případě každých 28 dní začne dozrávat jeden nový. Když folikul dostane impuls k růstu, vznikne velký útvar, který tvoří bouli na povrchu vaječníku. Tomu se říká Graafův folikul. Je tvořený velkým oocytem, který dokončil 1. redukční dělení a dozrál na oocyt II.řádu. Vnitřek folikulu je k naplněný tekutinou, a když pod tlakem tekutiny folikul praskne, dojde k ovulaci. Oocyt, společně s jednou vrstvou buněk, která tvoří jeho ochranný obal, je doslova vystřelen do břišní dutiny, kde ho zachytí třásně vejcovodu a může dojít k oplodnění (Wikipedia).

3.1.2 Děloha

Makroskopicky se děloha člení na horní část, rohy, tělo, zúžení a krček (*fundus*, *cornua*, *corpus*, *isthmus* a *cervix*). Stěna dělohy se skládá ze tří vrstev: sliznice (*endometria*), silné hladké svaloviny (*myometria*) a zevní vrstvy (z části tvořenou pobřišnicí a z části okolním vazivem).

Krček dělohy se značně liší od těla. Sliznice krčku je tlustší než v těle a je složena v charakteristicky se větvící řasy. Je na buňky chudší a tužší. Jsou do ní vloženy mucinózní

žlázy, vystlané cylindrickým epitelem, vylučující hlen. Tato sliznice se neodlučuje při menstruaci.

Přechod tohoto epitelu ve vrstevnatý dlaždicový epitel děložního čípku je náhlý a přesně při zevním otvoru cervikálního kanálku (přechodní zóna). Hraniční čára mezi oběma epitelu nebývá však rovná a cylindrický epitel je často přesunut na vaginální plochu čípku a naopak. To bývá místem vzniku karcinomů čípku (Wolf 1996).

3.1.3 Mléčná žláza

Prsní žláza je tvořena lalůčky (lobuly), které se sdružují v laloky (loby). Těch je v prsu přibližně 20. Karcinom prsu je zhoubné nádorové onemocnění, které vzniká ve tkáni prsů. Nejčastěji se však jedná o karcinom vycházející z buněk mlékovodů (duktální karcinom) nebo z buněk lalůček (lobulární karcinom). Nádory prsu se nemusí vyskytovat jen u žen. U mužů jsou ale velmi vzácné (Petráková 2007).

Důvody, proč přesně karcinom prsu vzniká, nejsou jasné. Víme například, že pouze 5-10 % případů vzniká v souvislosti s dědičnou zátěží. Zbýlých 90 % nádorů prsu se objevuje v důsledku genetických změn, ke kterým dochází v buňkách prsních žláz v důsledku stárnutí organismu. Po sérii poškození DNA buňky ztrácejí schopnost organizovaného růstu a začínají růst bez kontroly organismem. Ani systém sebeobrany organismu je již nedokáže zastavit. Buňky časem prorostou do krevních a mízních cév a pomocí nich se dostanou na další místa v organismu, kde založí metastázy (Léčba rakoviny, vznik 2008).

3.2 Steroidní hormony

3.2.1 Estrogeny

Estrogeny jsou sloučeniny s osmnácti uhlíkovými atomy a aromatickým jádrem. Jejich biosyntéza vychází z androgenů. U žen je estradiol syntetizován a secernován v Graafových folikulech ovarií.

Estrogeny působí na růst a vývoj primárních a sekundárních pohlavních znaků. Vyvolávají vaskularizaci v ovariích, růst epitelu vejcovodů, tvorbu hlenu a proliferaci dělohy. Přímou ovlivňují vývoj mléčné žlázy. Spolu s progesteronem řídí průběh menstruačního cyklu. Nepatrné procento estrogenů je tvořeno v nadledvinkách a během gravidity je produkuje placenta. Sekrece je řízena adenohipofyzárně, pomocí FSH (folikuly stimulující hormon) a

LH (luteinizační hormon). Hypofýza je řízena podněty z hypothalamu a hladinou estrogenu v organismu (Hanč a Pádr 1982).

Jsou dva hlavní přirozené hormony typu estrogenu – estradiol a estron. Estradiol výrazně aktivizuje epiteliální buňky výstelky vývodních kanálků prsní žlázy, proto má ústřední význam jako promotor karcinomu prsu u žen. Po menopauze se většina estrogenu vytváří pozměněním androgenů (mužských pohlavních hormonů) vytvářených v nadledvinách. Tato chemická přeměna probíhá v tukové tkáni, proto u žen, které mají více tuku, vzniká více estrogenu, a tudíž mohou být náchylnější ke vzniku karcinomu prsu. Po menopauze je estronu více než estradiolu (Readová 1996).

3.2.2 *Estrogenové receptory*

Estrogeny působí v tkáních přes specifické receptory – estrogenové receptory (ER). Jsou to látky bílkovinného charakteru obsažené v cytoplazmě buněk některých orgánů. Vazbou hormon – receptor dojde ke změně konformace bílkoviny a vzniku aktivovaného komplexu. Pevný komplex hormon – receptor vejde do jádra a uvede v činnost genetický aparát, který zahájí tvorbu jiné regulační nebo jiné bílkoviny. Jde o pozitivní regulaci, na jejímž podkladě vzniká v buňce několik typů proteinů, mimo jiné i progesteronové receptory (PR). Tím dochází ke změně vlastností buňky i celé tkáně, např. množení buněk, těhotenství nebo laktace (Rochefort a spol. 1987). Výskyt PR ukazuje, že se estrogeny nejen váží, ale i působí na buňky nádoru (Ganong 1993).

Neobsazené ER jsou pravděpodobně velmi volně vázány na jádra buněk, které jsou hormonálně citlivé. Toto potvrzuje imunocytochemická metoda stanovení receptorů (Greene 1988).

To, že různě citlivé buňky v různých orgánech reagují na hormon různým způsobem, je patrně způsobeno tím, že je aktivována odlišná část genetického aparátu. Hormonem modifikovaná bílkovina se váže na různé části chromatinu (Hanč a Pádr 1982).

Množství ER patrně souvisí s hladinou estrogenu. Při poklesu estrogenu v krvi, např. ukončením produkce po menopauze, se množství ER v cytoplazmě zvyšuje.

V současnosti je známo, že existují alespoň dvě hlavní formy ER. ER α má gen lokalizovaný na chromozomu č. 6 a ER β je lokalizován na chromozomu č. 14. Byla dále

popsána variabilita ER na úrovni mRNA (jde pravděpodobně o tkáňově specifické varianty). Varianty α a β se liší jednak rozdílností v tkáňové expresi a jednak afinitou k estrogeneru (varianta α má afinitu vyšší). Zdá se, že relativní exprese varianty α je vyšší v karcinomech s vyšším invazivním potenciálem (Valík a kol. 2001).

3.2.3 Progesteron

Progesteron je druhým z hlavních steroidních hormonů. Ovária secernují malé množství progesteronu během folikulární fáze menstruačního cyklu. Intenzita sekrece se mírně zvyšuje při vrcholu sekrece gonadotropinů a velmi významně se zvyšuje po ovulaci. Společné působení progesteronu a estradiolu způsobuje přechod endometria z proliferační do sekreční fáze, která umožňuje zachycení oplodněného vajíčka. Hladina progesteronu dosáhne svého maxima 5.-7. den po ovulaci. Jestliže nedojde k oplodnění, hladina progesteronu poklesne. Pokud se oplodněné vajíčko uchytí, corpus luteum secernuje značné množství progesteronu až do 12. týdne těhotenství. Poté se hlavním místem produkce hormonu stává placenta. Progesteron je v menší míře secernován kůrou nadledvin, varlaty a je meziproduktem při syntéze androgenů (Hanč a Pádr 1982).

Progesteron stimuluje rozvoj lobulů a alveolů mléčné žlázy a vyvolává jejich sekreční aktivitu (Schreiber a kol. 1998). Je zodpovědný za progestační změny v endometriu a za cyklické změny děložního krčku a pochvy. V endometriu také snižuje počet receptorů pro estrogenery a zvyšuje stupeň přeměny 17β -estradiolu na méně aktivní estrogenery (Ganong 1993).

3.2.4 Progesteronové receptory

Progesteronové receptory (PR) se vyskytují zejména v buňkách vejcovodů a dělohy (Hanč a Pádr 1982), ale i např. v endometriu a jeho nádorech. Také byly popsány v mléčné žláze a jejích nádorech (Horton a kol. 1982).

3.3 Steroidní hormony, menstruační cyklus a menopauza

Menstruační cyklus je sled změn v děložní sliznici od jedné menstruace k druhé. Ty jsou způsobeny vaječnickovými hormony (estrogenery a progesteronem), tedy ovariálním cyklem. Menstruační cyklus se zpravidla rozděluje na čtyři fáze:

1. Fáze proliferační: Spadá do období zrání Graafova folikulu. Je způsobena účinkem estradiolu vytvářeném ve velkém množství ve zrajícím folikulu. Proliferace sliznice je ukončena asi 12. až 13. den po začátku předchozí menstruace.

2. Fáze klidová: Trvá většinou 2 dny, během ní se vzhled sliznice celkem nemění. Časově spadá do období ovulace, mezi 12. až 14. dnem cyklu. V tomto období Graafův folikul praskne – vajíčko je vyplaveno a posouvá se do vejcovodu směrem k děloze. Děložní sliznice je obnovena a je v klidu.

3. Fáze sekreční: Trvá od 15. do 28. dne cyklu. Sliznice nabývá vzhledu podobného vzhledu za těhotenství. Graafův folikul se po uvolnění vajíčka mění ve žluté tělísko, ve kterém se vytváří progesteron. Vlivem progesteronu se děložní sliznice zhušťuje, žlázy se prodlužují, rozšiřují a vyměšují sekret, který obsahuje živiny. Sliznice prosákne tkáňovým mokem. Tento proces je důležitý v přípravě k uhnízdění vajíčka.

4. Menstruace: Když nedojde k oplození vajíčka a k jeho implantaci do děložní sliznice, zhroutlí se slizniční struktura, dojde k odloučení povrchové vrstvy. Příčinou je asi náhlý pokles tvorby progesteronu (Jílek a kol. 1971).

Když dojde k oplození vajíčka, dochází v endometriu ke změnám, které se popisují jako deciduální reakce. Oplozené a rozrýhované vejce vnikne do děložní sliznice a zde se rozrůstá. Děložní sliznici je možno rozdělit na tři části: část pod vejcem (decidua basalis), část nad vejcem (decidua capsularis) a část vystylající celou zbývající dutinu dělohy. Tato decidua parietalis (neboli vera) se brzy ztlustí na 1cm a buňky jejího stromatu (= vaziva) se přemění na velké buňky deciduální. Nejde o plodové obaly (tkáň dítěte), ale o tkáň matky (Wolf 1996).

Analogická struktura endometria se objevuje i bez těhotenství – v pozdní sekreční fázi, tedy jako nejzralejší typ buněk před menstruací (Vokurka a kol. 2005).

Vedle menstruačního cyklu zároveň probíhá také ovariální cyklus. Ten má dvě fáze:

1. Folikulární fáze: Trvá 12-14 dnů s počátkem od prvního dne menstruace. V této době vlivem FSH zraje a roste folikul, který je v podstatě žlázou s vnitřní sekrecí. Tento folikul roste rychleji než zbylé a vyčnívá na povrch ovaria, Graafův folikul. Jeho růst je dán vysokou produkcí estrogenů zrajícího folikulu, které zpětně pozitivně působí na vlastní buňky folikulu. Vydává do krve estrogenu, zvláště jsou tvořena dvě maxima: během folikulární fáze, tj. kolem

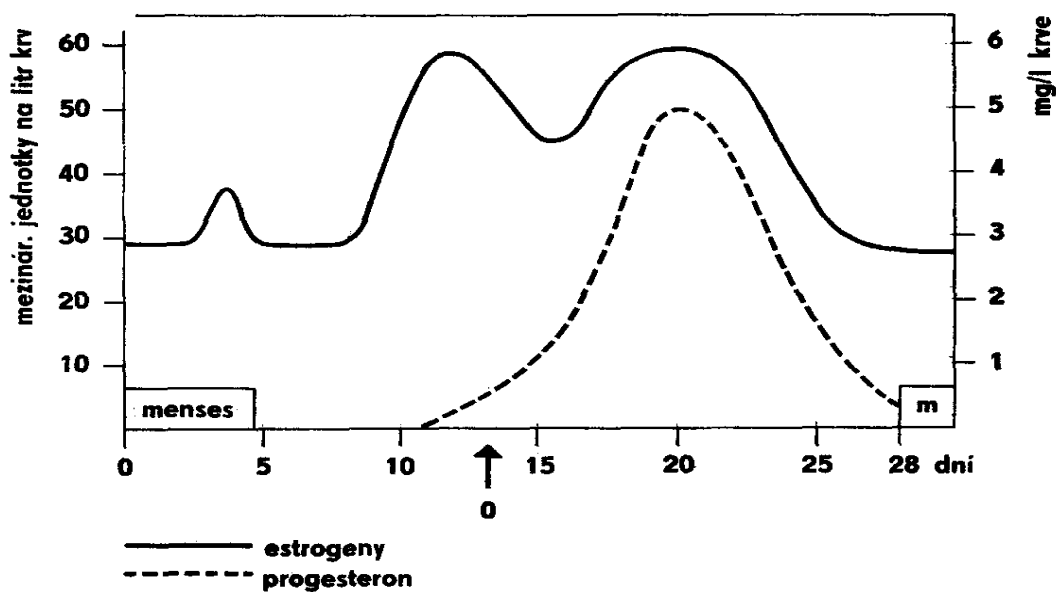
13. dne (krátce před ovulací) a v luteální fázi kolem 20. dne cyklu, v období plného rozvoje žlutého tělíska. Obě maxima jsou přibližně stejně vysoká. Folikulární fáze končí puknutím Graafova folikulu = ovulací = výdejem vajíčka z vaječníku.

2. Luteální fáze: Za fyziologických okolností trvá rovněž 14 dnů. Po ovulaci akumulují granulózní buňky folikulu vlivem LH lipid lutein – vytváří se corpus luteum. Granulózní buňky rostou, hladké endoplazmatické retikulum žlutého tělíska produkuje hlavně progesteron, jehož biologická aktivita navazuje na změny vyvolané estrogény. Mimo progesteronu, tvoří buňky žlutého tělíska také estradiol a inhibin, tlumící adenohipofyzární produkci FSH.

V případě, že nedošlo k oplodnění, do vrstvy granulóznic buněk žlutého tělíska začnou prorůstat kapiláry, které se plní krví.

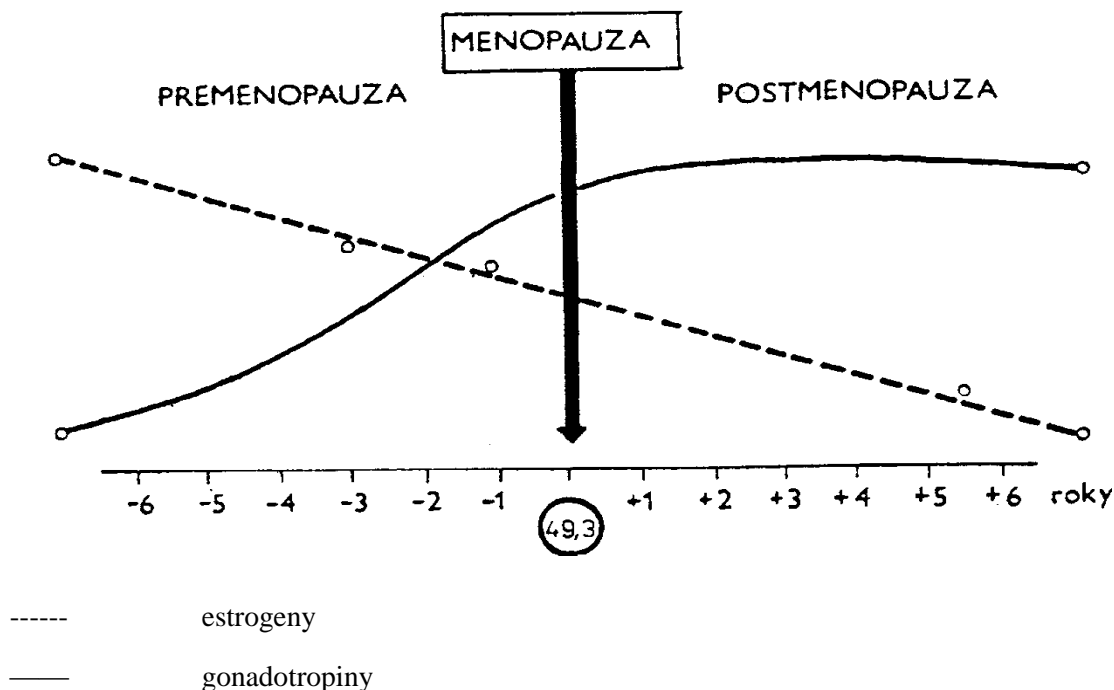
Estrogeny a progesteron působí tlumivě na sekreci LH a FSH, což po dobu sekreční fáze (menstruačního cyklu) zabraňuje zrání dalšího folikulu. Stejně působí i inhibin. Snížením sekrece LH a FSH dochází k involuci žlutého tělíska. Snižuje se jeho prokrvení, klesá produkce progesteronu a estrogenů. Mechanismem zpětné vazby se opět zvýší vyplavování FSH z adenohipofýzy a je zahájen nový ovariální cyklus (Schreiber a kol. 1998).

V první polovině menstruačního cyklu sekrece estrogenů stoupá, těsně před menstruací klesá. Malé množství progesteronu se tvoří již během proliferační fáze. K značnější produkci dochází těsně před ovulací, pak jeho tvorba stoupá s rozvojem žlutého tělíska a dosahuje maxima na konci ovulačního cyklu. Těsně před menstruací tvorba progesteronu klesá (Jílek a kol. 1971).



Množství estrogenů a progesteronu v krvi v průběhu menstruačního cyklu, 0 = ovulace, (Jílek a kol. 1971).

Ukončení reprodukční aktivity a poslední menstruace se označuje menopauza. Funkce ovaria se snižuje postupně. U žen okolo 45. roku nastává klimakterium. Charakteristické pro toto období je nepravidelné krvácení s typickými neurovegetativními projevy, které jsou způsobeny odeznívající produkcí estrogenů.



Vylučování estrogenů a gonadotropinů v klimakteriu (v premenopauze a postmenopauze)

3.4 Receptory a hormonální léčba nádorů

Ženský hormon estrogen může urychlit růst nádorových buněk u žen, u kterých nádorové buňky obsahují hormonální receptory. Hormonální léčba zabraňuje nádorovým buňkám v růstu a množení tím, že blokuje jejich schopnost navazovat estrogen přes tyto receptory.

Léčba je rozdílná u žen, které jsou premenopauzální (před přechodem), tedy u žen u kterých jsou ženské hormony produkovány hlavně vaječníky a u žen postmenopauzálních (po přechodu), tedy u žen, kde ženské hormony vznikají v tukové tkáni v důsledku proměny testosteronu na estrogeny pomocí enzymu aromatázy (Petráková, Vyzula 2006).

Objev hormonálních receptorů umožnil identifikaci nádorů senzitivních k hormonální léčbě a v dnešní době je již nepředstavitelné zahájit léčbu bez znalosti této základní informace. Vyšetření exprese hormonálních receptorů je nutnou podmínkou a předpovídá odpověď na hormonální léčbu.

4. Poznatky z dřívějších prací školícího pracoviště

4.1 Bakalářská práce Barbory Šustrové

Barbora Šustrová (2006) se ve své bakalářské práci zabývala hladinou estrogenových a progesteronových receptorů ve tkáni karcinomu prsu, konkrétně vlivem vnějších faktorů na přesnost jejího stanovení v laboratoři.

Nejprve pojednala o vztahu mezi ER a PR, který je ovlivňován samotnými hormony. Estradiol se váže na ER, a následně tím snižuje jeho koncentraci. V menopauze, kdy se tvorba estradiolu snižuje, proto dochází ke zvýšení hladiny ER.

Skutečnost, že někteří autoři uvádějí věkový pokles a jiní věkový vzestup PR přičítá tomu, že premenopauzální pacientky se v době operace a vyšetření nádoru nacházely v různých fázích ovariálního cyklu. Koncentrace PR je totiž regulována komplexem estradiol-ER. PR jsou v nádorech prsu indukovány nejen ovariálními estrogeny, ale také intratumorovým estradiolem pomocí ER. Z dvou izoform ER je ER α hlavním regulátorem genu PR v nádorech prsu.

Významné jsou izoformy PR. Promotory PRA a PRB jsou odlišně regulované estradiolem v odlišných buňkách nádoru prsu. PRA projevuje dominantní inhibiční efekt na aktivitu PRB a na další jaderné receptory. Nadměrná exprese PRA ovlivňuje endogenní progestinové cíle, které závisí na buněčném poměru PRA:PRB. To může být spjato s inhibicí účinku progestinu a později se špatnou prognózou. Isoformy PR mají inhibiční vliv na transkripční aktivitu ER; změnou několika faktorů (poměr PRA:PRB a změna v pořadí elementů progestinové odpovědi) lze tento účinek zrušit.

Podobně jako jiné práce, ani tato neopomíná zmínit vliv menstruačního a ovariálního cyklu. Šustrová zde uvádí, že při vysoké koncentraci hormonů v těle dochází ke zvýšené negativní regulaci exprese receptorů, a hladiny steroidních receptorů jsou proto nižší. Nalezená abstrakta však nebyla jednotná. Paradiso a kol. (2001) uvádí výrazná maxima ER v luteální fázi a maximální hladiny PR v ovulační a luteální fázi ovulačního cyklu. K jiným závěrům došel Atalay a kol. (2002): ER pozitivita byla významně vyšší v hormonálně definované folikulární fázi a také měla tendenci být vyšší v perimenstruální fázi. Hladiny PR však uvedli jako na cyklech nezávislé. A Pujol a kol. (1998) uvádí průměrnou hladinu ER

vyšší ve folikulární fázi a průměrnou hladinu PR vyšší ve fázi ovulační. Nejvyšší ER ovšem našli kolem menstruace.

Zajímavá byla studie z roku 2005, provedená na prsní žláze opice makaka. Zjistili, že vyšší hodnoty estradiolu a vstup buněk do buněčného cyklu snižují expresi pouze izoformy ER α a proliferující buňky produkují pouze PR izoformy B. Tudíž za normálních podmínek závisí poměr ER α a ER β v prsu na plazmatické koncentraci estradiolu.

V různých fázích života je hladina hormonů v těle jiná, proto je nutné brát v úvahu i věk pacientky. S přibývajícím věkem vaječníky produkují menší množství hormonů, což je kompenzováno zvýšenou produkcí steroidních receptorů, aby byl signál pro cílovou tkáň dostačující. Většina autorů se shoduje v tom, že hladina ER s věkem roste. Ovšem pokud se jedná o PR, výsledky se dost liší. Zde se hodí zmínit problematiku hodnocení pozitivitu nádoru, protože dříve byla fixně stanovena mezní hodnota, dnes víme, že je třeba před tímto rozhodnutím zohlednit různé charakteristiky nádoru.

Poměrně značné množství estrogenů vzniká aromatizací přímo ve tkáni nádoru. Tyto „endogenní“ estrogény mohou ovlivňovat hladinu ER a zapříčinit tak falešnou negativitu ER v nádoru. V případě postmenopauzálních pacientek tato sekrece převládá nad produkcí hormonů ovarií. Kromě klasické produkce estrogenů aromatázou tvoří buňky také enzymy 17-betahydroxysteroid dehydrogenázy (17 beta-HSD), které se podílejí na metabolismu estrogenů. Normální prsní žláza exprimuje 17 beta-HSD typ 1 i 2, zatímco nádory mají často nedostatečné hladiny typu 2. Oduwole a kol. (2004) uvádí, že nadměrná exprese 17 beta-HSD typu 1 a 5 má nepříznivý vliv na prognózu.

La Guardia a Giammanco (2001) píše, že endokrinní funkce tukové tkáně při obezitě může významně snížit hladiny receptorů, což má za následek horší prognózu. Ostatní autoři uvádí tukovou tkáň pouze jako rizikový faktor, hlavně u žen po menopauze.

Tamoxifen (antiestrogen) je podáván preventivně u postmenopauzálních žen s vysokým rizikem tumoru prsu. Při podání tamoxifenu před vyšetřením prsu může zapříčinit falešné výsledky. Tamoxifen vazbou na ER inhibuje jeho funkci. Studie Mediny a kol. (2005) upozornila na zajímavou skutečnost, že mnoho nádorů prsu, které se objevují po léčbě tamoxifenem je ER α -negativní, přestože premaligní poruchy jsou vysoce ER α -pozitivní.

Isaksson a kol. (2003) zkoumali na prsní tkáni makaků účinek tamoxifenu, MPA (medroxyprogesteron acetát), a CEE (konjugované koňské estrogény). Tyto látky měly

odlišný vliv na expresi dvou izoforem PR. Jejich používání vede tedy k narušení rovnováhy mezi PRA a PRB. Synteticky vyráběný progesteron MPA patří k blokátorům tvorby PR. Ovšem je třeba brát v úvahu hladiny androgenních receptorů; jejich nízká hladina přispívá k nedostatečné odpovědi na MPA.

V poslední kapitole uvádí Šustrová vliv kationtů kovů, a sice hlinité kationty, které jsou schopny působit změny v DNA. Mohou interferovat s funkcí ER lidských nádorových buněk karcinomu prsu, zvaných MCF7. Naproti tomu selen, v podobě methylselenové kyseliny (MSA), v těchto buňkách inhibuje tvorbu estrogenových receptorů (ER α). Hlavní způsob účinku MSA na signalizování ER je pomocí tlumivé regulace exprimování genu ER α . Mezi vápenatými kationty kostní tkáň a metastázujícím tumorem uvedla jiná studie jakousi zpětnou vazbu. Nádor má schopnost indukovat osteolýzu, což vede k uvolnění množství vápníku. Na druhé straně kalcium, uvolněné v průběhu procesu metastazující kostní destrukce, může modulovat funkci ER, snížením jejich aktivity.

4.2 Bakalářská práce Evy Hirmerové

Eva Hirmerová (2006) se ve své bakalářské práci zaměřila na zhodnocení vlivu různých faktorů na hladinu estrogenových a progesteronových receptorů v nádorech dělohy.

Vlivem ztráty diferenciací nádorové masy se mění i podíl ER a PR. Práce, které srovnávaly hladiny ER a PR v leiomyomu (benigní nádor), endometriu a myometriu uvádí, že v leiomyomu nalezneme vyšší hladinu ER než v myometriu a nižší než v endometriu. Stejná tendence se objevila i u hladiny PR, ale nebyla statisticky signifikantní.

Zjištění, že ER a PR v endometriálním karcinomu (maligní nádor) jsou nižší, než v endometriu uvedlo 5 zahraničních a 1 česká práce (Saito 1987, Orejuela a kol. 2005, Neumannova a kol. 1983, O'Toole a kol. 2005, Nunobiki a kol. 2003, Petrlová a kol. 2004).

Hirmerová dále poukazuje na to, že menstruační cyklus má veliký vliv na hladinu steroidních receptorů. Fakt, že za fyziologických podmínek je hladina steroidních receptorů vyšší v proliferační fázi, vysvětluje sníženou hladinou estrogenu. Navíc, estrogen zaktivuje některé buňky k mitotickému procesu a tím se zvýší množství hormonálně aktivních buněk. Naproti tomu snížení hladiny receptorů v sekreční fázi funguje zřejmě na opačném principu.

Buňky pod vlivem vysoké hladiny estrogenu snižují koncentraci receptorů, aby nebyly přehlceny signálem.

Mangal a kol. (1997) měřili relativní expresi PRA a PRB v děloze menstruuujících žen, obě izoformy byly zvýšené v peri-ovulační fázi, ale hladina PRA byla vždy vyšší než PRB. Poměr mezi nimi se měnil během cyklu, na konci cyklu byl PRB prakticky nedetekovatelný. Exogenní estrogen ve formě orální antikoncepce ve folikulární fázi zvýšil expresi PRB.

Chrapusta a kol. (1999) hodnotil stav ER a PR v myometriu a v leiomyomech. Hladiny ER v normálních myometriích a v celulárních leiomyomech měly tendenci být vyšší ve folikulární fázi než v luteální fázi. V prostém leiomyomu tomu tak nebylo. Hladina cytosolických PR byla ve všech případech v luteální fázi statisticky signifikantně nižší než ve folikulární.

Vollmer a kol. (1990) sledoval vliv menstruačního cyklu v endometriálním adenokarcinomu. Byly měřeny jednoznačné kvantitativní změny obsahu steroidního receptoru. Změny se týkaly jejich koncentrace a také molekulárních vlastností PR.

V kapitole o vlivu věku na receptory autorka poukazuje na skutečnost, že problematika není dostatečně zdokumentována, a názory na ni se dost různí. Koshiyama a kol. (1996) a Z. Han a kol. (1989) shodně potvrdili snižující se hladinu ER ve zdravé děloze s věkem (zatímco u prsní tkáně pozorujeme opačný trend). Mohlo by to být způsobeno tím, že pokles hormonů po menopauze udělá z funkční děložní tkáně chudou nefunkční a do značné míry tedy i bezreceptorovou tkáň. Jazaeri a kol. (2001) tvrdí, že poměr mRNA ER α / β byl signifikantně vyšší v endometriu u zdravých postmenopauzálních žen ve srovnání s endometriem zdravých premenopauzálních žen. A do třetice, Chambers a kol. (1988) ve své práci uvádí, že nenašli korelaci mezi věkem pacientky a receptorovou hladinou (tato práce se ovšem zabývá nádorovou tkání).

Na koncentraci receptorů má vliv i poloha zkoumané oblasti v orgánu. Zmíněné studie se liší lokalizací vyšetřované oblasti.

Tsibris a kol. (1981) pozorovali příkré snižování hladiny ER a PR z fundu do krčku. Během menstruačního cyklu nebo po menopauze se rovnovážná disociační konstanta (ER a

PR) mezi různými řezy neměnila. Ve všech řezech kromě cervikálních byly průměrné distribuční jaderné ER a PR hladiny opačné v porovnání s cytoplazmatickými hladinami ER a PR. Shen a kol (1994) nenalezli signifikantní rozdíl mezi stavem ER v normálním cervixu a v cervikální rakovině, ale stav PR a jeho hladina v normálním cervixu byla signifikantně vyšší než v cervikální rakovině.

Vollmer a kol. (1990) hodnotili jaderné subtypy ER a PR v závislosti na poloze v histologických vrstvách. V proliferačním endometriu se obsah obou druhů receptorů (ER a PR) zvyšoval až 6×, a to směrem od laminy functionalis do laminy basalis. Pozorovaný rozdíl byl méně výrazný v myometriální části tkáně. V endometriálním adenokarcinomu nebyly naměřeny jen jednoznačné kvantitativní změny obsahu steroidního receptoru, ale také signifikantně změněné receptorové prostorové typy – jejich koncentrace a také změna molekulárních vlastností PR.

Například Neumannová a kol. (1983) navíc zmiňují buněčnou lokalizaci ER, tedy jaderné a cytosolické subtypy. Cytosolické hladiny ER a PR jsou signifikantně vyšší v normální endometriální tkáni než v maligní endometriální tkáni. Poměr cytosolických ku jaderným receptorům je v normální tkáni vysoký. Většina adenokarcinomů endometria má nižší koncentrace cytosolických receptorů.

Jordan a kol. (1997) zkoumali vliv estradiolu na jaderné i cytoplazmatické ER. Pozorovali rapidní snížení cytoplazmatických ER a jen malý vzestup jaderných ER.

Při absenci progesteronu jsou PRA lokalizovány v jádře, PRB jsou pak z velké části cytoplazmatické, ale v přítomnosti progesteronu jsou hojně umístovány do jádra. Jaderné PRB byly statisticky signifikantně spojeny s rostoucí nádorovou diferenciací (Leslie a kol. 2005).

Tamoxifen je antiestrogen používaný k léčení rakoviny prsu. Při studii se ukázalo, že celková žlázová a stromální ER exprese z benigní děložní hyperplazie a z benigního děložního polypu u takto léčených pacientek byla oproti kontrolním skupinám významně nižší; celková exprese PR byla víceméně stejná. Rowsby a kol. (1978) pozorovali po jeho podání nedospělým samicím potkanů dávkově závislé snižování cytoplazmatických ER v děloze.

Antiestrogen ICI 164,384: antiestrogeny snižují intracelulární obsah ER prostřednictvím zkrácení poločasu jejich životnosti.

Estrogenový trifenyletylen ICI 47 699 a ICI 3188 vytvořily dávkově závislé snižování počtu cytoplazmatických ER. Zvýšení dávky ICI 47 699 mělo za následek zvýšení koncentrace ER uvnitř jádra (Rowsby a kol. 1978).

Saygili a kol. (1997) zkoumal vliv danazolu a triptorelinu na ER a PR v potkaním endometriu. Hladina ER byla vyšší v danazolové skupině než v kontrolní skupině.

4.3 Bakalářská práce Radky Kutové

Radka Kutová (2008) se zabývala karcinomem mléčné žlázy a jeho rizikovými faktory. V praktické části zpracovala výsledky z histochemického pracoviště pardubické nemocnice, a sice závislost ER a PR na věku.

Z rizikových faktorů karcinomu prsu je vhodné nejprve upozornit na **prokázané**, kam řadíme *věk* jako hlavní rizikový faktor (riziko onemocnění roste v průběhu menoaktivního období). Druhým nejvýznamnějším faktorem je *karcinom prsu v rodinné anamnéze* (největší riziko je u žen, u kterých se v přímém příbuzenstvu nachází nemocná s bilaterálním nádorem prsu během premenopauzálního období). Civilizačním faktorem je *celková doba menstruační aktivity* (vyšší počet menstruačních cyklů, tj. delší doba estrogenní stimulace je rizikovější), a také *pozdní věk prvního těhotenství* (ženy, které poprvé rodily po 35. roce, mají riziko karcinomu prsu až třikrát vyšší než ty, které poprvé rodily před 20. rokem). Dále lze jmenovat následující rizikové faktory: *fibrocystická nemoc prsu*, *užívání estrogenů* (existují studie potvrzující zvýšené riziko, ale i jiné, které nebezpečí vylučují), *jiná zhoubná onemocnění* jako je karcinom ovaria a endometria, vzácněji karcinom tlustého střeva, *radiace prsu* (ozařování bylo v dřívějších dobách ordinováno při léčbě poporodní mastitidy a akné. Zvýšení kancerogenního rizika se dává často do souvislosti s frekvencí provádění mamografie), *obezita* (na kancerogenezi se podílí přeměna androstendionu v estron v tukové tkáni).

Další skupina se označuje jako **pravděpodobné** rizikové faktory: *dieta bohatá na tuky* (energetická hodnota potravy ovlivňuje energetický metabolismus organismu, a tedy produkci steroidních hormonů), *alkohol* (mechanismus účinku alkoholu je dán především prostřednictvím ovlivnění hladiny estrogenů v ženském organismu, narušením integrity buněčných membrán a inhibicí reparačních změn v DNA), *perorální kontraceptiva a substituční léčba* (řada studií ukázala na zvýšené riziko u žen, které užívaly orální hormonální

antikoncepci), *kouření* (provedené epidemiologické studie nepřinesly jednoznačné závěry o významnosti aktivního či pasivního kouření jako rizikového faktoru karcinomu prsu).

Třetí typ jsou faktory **protektivní**: *těhotenství před 20. rokem věku* (jedná se o první těhotenství končící porodem, nikoliv graviditu zakončenou potratem), *fyzická aktivita* (u žen, které sportovaly pravidelně čtyři a více hodin týdně, bylo riziko vzniku rakoviny prsu až poloviční oproti ženám, které nesportovaly vůbec. Pozitivní vliv fyzické aktivity může být dále zprostředkován stimulací imunitního systému – především posílením jeho role při rozpoznání a likvidaci neoplastických buněk), *laktace* (aktivní kojení a délka doby kojení ovlivňují přímo hladinu estrogenu v ženském organismu a byly potvrzeny jako faktory s protektivním účinkem na rozvoj maligního onemocnění prsu).

Zkoumají se i jiné faktory, které zřejmě mají vliv na rozvoj karcinomu prsu. Jedná se například o rasu, životní prostředí, psychologické aspekty, vzdělání a další.

Fáze ovariačního cyklu ovlivňují hladiny steroidních hormonů, stejně tak jako hladiny jejich receptorů. Proto je nutné správně načasovat provedení operace, aby pak nevznikaly falešné výsledky vyšetření, a následkem toho nedocházelo k chybné léčbě. Ovšem názory autorů se i v této problematice rozcházejí, a není možné jednoznačně říct, jaké stadium je nejvhodnější. Studie z roku 2004 (Minckwitz a kol.) ukázala, že premenopauzální pacientky operované během luteální fáze (0-2 dny a 13-35 dní) menstruačního cyklu vykázaly zlepšení klinických výsledků. Efekt byl omezen na nádory s pozitivním nálezem metastáz v lymfatických uzlinách a na nádory pozitivní při vyšetření na hormonální receptory. Tyto pacientky měly statisticky nižší riziko rekurence onemocnění (míněno – růst původně mikroskopických metastáz) a delší celkové přežití, než nemocné operované ve fázi folikulární (Žaloudík a kol. 1995). Tato problematika má také vliv na odhalitelnost metastáz při operaci (např. nejen zdravý prs, ale i metastáza jeho karcinomu může měnit svou velikost během menstruačního cyklu).

Hladina receptorů může být ovlivněna také hypersekrecí hormonů vaječnicků. Tato hyperfunkce vaječnicků může být zapříčiněna jejich hormonálně aktivními nádory (primární ženský hypergonadismus) nebo zvýšenou produkcí gonadotropních hormonů v adenohipofýze (centrální ženský hypergonadismus). V druhém případě rozlišujeme dvě formy: tvorba folikulových cyst schopných produkovat estrogenu a Steinův-Leventhalův

syndrom, pro který je typické výrazné zvýšení LH, které vede k nadměrné tvorbě androgenů ve vaječnících, z nichž se účinkem aromatáz tvoří ve zvýšené míře extraglandulárně estrogény. Domníváme se, že v takovém případě by mohla vznikat falešná negativita vyšetření ER v nádorech prsu.

Obrovský počet prací uvádí, že rakovina prsu je vyvolána nadbytkem estrogenů, a že jí lze předcházet podáváním progesteronu. Je však nutno si uvědomit, že některé pacientky mohou být výjimkou z tohoto pravidla. To Kutová dokládá studií na myších, u nichž vyvolávají karcinom mléčné žlázy léky progesteronového typu (Montero a kol. 2007).

Ze studií o závislosti steroidních receptorů na věku se většina autorů shodla na tom, že s věkem roste cytosolová koncentrace ER. Pokud jde o koncentrace PR, názory se opět značně liší.

Vlastní analýza pardubických imunohistochemických výsledků sice ukazuje, že ER s věkem roste a PR klesá, nicméně statistická významnost není v tomto případě imunohistochemických hodnot dostačující (na rozdíl od starších hodnot získaných radioreceptorovou metodou). Grafy v práci Kutové zobrazují věkové závislosti počtu ER(+) a PR(+) buněk, věkové závislosti intenzity ER(+) a PR(+) buněk, věkové závislosti IRS (imunoreaktivní stupnice) ER(+) a PR(+) buněk, věkové závislosti pardubického kódu pro počet ER(+) a PR(+) buněk.

4.4 Bakalářská práce Šárky Pešinové

Šárka Pešinová (2008) se zabývala ER a PR v karcinomu prsu, a to z hlediska statistického. Jednak se snažila posoudit citlivost metod různých laboratoří a poté zpracovala výsledky pardubické nemocnice z hlediska rozhraní pozitivita.

Vytvořila grafy závislosti množství ER(+) nebo PR(+) pacientek na roku vydání publikace od odlišných autorů a snažila se zjistit, zda nárůst koncentrace progesteronových a estrogenových receptorů je způsoben lepšími vyvíjejícími se vyšetřovacími technikami. Pešinová hodnotila v literárních zdrojích zvlášť výsledky získané imunohistochemickou a biochemickou metodou, rozlišila pacientky premenopauzální, postmenopauzální, se smíšeným (pre- i postmenopauzálním) věkem, starší a mladší 50ti let.

Z grafů je patrný procentuální nárůst pozitivivity ER v nádorových buňkách pacientek s novějším datem publikované studie. Při vyšetřování PR byl viditelný nárůst pozitivivity v závislosti na roku publikace pouze u mladších pacientek (ovšem ne statisticky signifikantní). U starších (nad 50 let) zůstávala procenta pozitivivity konstantní nebo nepatrně klesala v závislosti na roku publikace. Statistická významnost nárůstu pozitivivity v novějších pracích se objevila pouze u výše uvedených ER(+) premenopauzálních pacientek (i těch s věkem pod 50 let) a pacientek se smíšeným věkem.

V další části porovnála soubor pardubických PR či ER imunochemicky pozitivních pacientek s výše zpracovanými světovými údaji. Pracovala se dvěma hodnotami hranice pozitivivity: kód 1 (2 - 15 %), kód 2 (15 – 50 %). Zjistila, že, aby měla stejné procento ER pozitivních pacientek jako ve světě, musí brát hranici pozitivivity minimálně 2 % pozitivních buněk. U pozitivivity PR nedokázala jasně doporučit, která hodnota by nejlépe vyhovovala světovému průměru, navrhuje proto jistý kompromis, například 8% pozitivních buněk. Správná hranice pro určení pozitivivity nádoru je důležitá např. při rozhodování o léčbě tamoxifenem. Přestože se tento lék podával téměř všem pacientkám, PR(-) nádory neodpovídaly na tuto léčbu. Při špatně nastavené (příliš nízké) hranici je tedy tamoxifen podáván zbytečně.

5. Poznatky získané z cizojazyčných internetových zdrojů

Tato kapitola obsahuje poznatky z literatury, které jsme nepřevzali od dřívějších studentek, ale které jsme vyhledali v zahraničních internetových databázích, a vybrané pasáže z nich přeložili.

5.1 Ovariální cyklus u fen - exprese ER a PR v normální a nádorové prsní tkáni

Radioreceptorovou metodou byly měřeny koncentrace estrogenových a progesteronových receptorů v nádorové (319 vzorků) a normální (166 vzorků) prsní tkáni od 248 fen. Střední hodnoty koncentrace ER byly v normálních tkáních významně vyšší než ve tkáních nádorových (46 +/- 47 fmol/mg cytosolového proteinu v porovnání s 27 +/- 24 fmol/mg cytosolového proteinu; $P = 0.0002$). Na druhé straně, koncentrace PR byly podstatně vyšší v nádorech (zejména benigních) než v normální tkáni. (57 +/- 52 fmol/mg vs 77 +/- 99 fmol/mg; $P = 0.03$).

Málo diferencované maligní nádory vykazovaly nižší koncentrace receptorů, než jak tomu bylo u benigních nebo dobře diferencovaných maligních nádorů. Koncentrace ER a PR klesaly se vzrůstající velikostí nádorů.

Hormonální stav fen statisticky signifikantně ovlivnil expresi receptorů ve zdravé tkáni: feny v luteální fázi cyklu měly vyšší koncentraci ER (69 +/- 62 fmol/mg) než feny, u kterých byla provedena ovariectomie (24 +/- 19 fmol/mg) nebo nebyly v říji (38 +/- 45 fmol/mg) nebo byly ve folikulární fázi cyklu (13 +/- 7 fmol/mg). Vyšší koncentrace PR byly pozorovány v normální tkáni u fen mimo říji než u fen během pseudogravidity¹ nebo při podávání medroxyprogesteron acetátu. Podobné, ale statisticky nevýznamné výsledky byly pozorovatelné v nádorové tkáni – s výjimkou fen ovlivněných medroxyprogesteron acetátem – u kterých byly koncentrace PR vysoké v nádorech a nízké v normální tkáni – vždy v porovnání u jedné a téže feny.

Nebylo zaznamenáno signifikantně významné spojení mezi expresí receptorů a věkem, nebo předchozími hormonálně aktivními úseky života nebo počtem či umístěním nádorů.

¹ Je to fyziologický stav, kdy má fena veškeré příznaky březosti a blížíciho se porodu. Nejčastěji se s ním setkáme přibližně jeden až dva měsíce po hárání. Během hárání uvolňují vaječníky vajíčka, která v těle spustí stejné procesy, jako kdyby byla oplodněná, a začnou se vyplavovat hormony typické pro těhotenství (PLANETA ZVÍŘAT 2009)

Nicméně, statisticky signifikantně nižší ($P < 0.05$) koncentrace receptorů byly nalezeny u tří kraniálních² párů mléčných žláz (ER 37 +/- 45; PR 43 +/- 30 fmol/mg) než u dvou kaudálních párů (ER 51 +/- 50; PR, 62 +/- 53 fmol/mg). (Donnay a kol. 1995)

5.2 Vliv estradiolu na ER v pochvě u potkanů

Byly použity intaktní nebo ovariectomizované samice Sprague-Dawley potkanů. Dva týdny po operaci dostávali potkani infúze s vehikulem (= pouze s rozpouštědlem, polyethylenglykol), nebo estradiol v koncentraci nižší než je fyziologická hodnota (5 µg denně) nebo estradiol ve fyziologické koncentraci (15 µg denně) a to po dobu 14 dnů. Změny v krevním oběhu vagíny vyvolané stimulací pánevního nervstva byly hodnoceny laserovou Dopplerovskou průtokometrií. Celková hladina funkčních ER byla určena radioligandovou vazebnou metodou a k hodnocení ER proteinu byla použita Western blotová analýza.

Průměrná plazmatická koncentrace estradiolu u skupiny, která dostala jen rozpouštědlo, klesla vlivem ovariectomie o 63 %, tedy na 37 % intaktní skupiny. Skupiny se subfyziologickou a fyziologickou hodnotou estradiolu měly plazmatické hladiny dosahující 55 % a 83 % hodnoty v intaktní skupině. Děložní a vaginální „vlhká“ váha³ a vaginální krevní oběh byly výrazně sniženy ve skupině, která dostala jen rozpouštědlo, a byly navraceny k normě vlivem fyziologických hladin estradiolu. Nicméně, vaginální krevní oběh byl výrazně větší ve skupině se subfyziologickou hladinou estradiolu ve srovnání s intaktními zvířaty.

Specifická vazba [H-3]estradiolu v extraktech vaginální tkáně intaktních potkanů byla 0.51 fmol/mg proteinu, a u skupiny, která byla ovariectomizována, a dostala jen rozpouštědlo, se zvýšila 30krát. Vázání estradiolu (míněno na ER) ve vaginální tkáni krysa s fyziologickou hodnotou estradiolu pokleslo na hodnoty srovnatelné s hodnotami u intaktních zvířat, zatímco ve skupině se subfyziologickou hodnotou zůstala tato vazba na ER zvýšena. Tyto změny byly podobné hladinám ER α proteinu. Nižší hodnoty plazmatického estradiolu spouští kompenzační pozitivní regulaci ER α (Kim a kol. 2004).

2. Fena má 4-5 párů mléčných žláz (resp. struků), poměrně běžný je i nepravidelný počet. Kraniální – umístěné blíže hlavy, kaudální – umístěné blíže zadních končetin

³ nezměněná např. vlivem vysušení nebo fixace pro histologii

5.3 Vliv estradiolu a progesteronu na steroidní receptory a reprodukční systém u ovcí

Na dvouměsíčních ovcích (n = 11) byl studován vliv 17-betaestradiolu (E-2) a progesteronu (P) na reprodukční systém a na děložní estrogenové a progesteronové receptory. Ve dnech 0, 1 a 2 byl ovcím podáván E-2 (1 µg/kg, skupina E, n = 4), P (0.3 mg/kg, Skupina P, n = 4) nebo vehikulum kukuřičný olej (kontrolní skupina C, n = 3) a třetí den byly všechny ovce usmrceny.

Skupina E (n = 12) měla průměrnou sérovou koncentraci E-2 43.8 +/- 2.2 pmol/L, podobnou jaká bývá ve folikulární fázi; zatímco koncentrace P ve skupině P (n = 12) byla podobná (2.8 +/- 0.18 nmol/L) jako v luteální fázi ovčího cyklu. Podávání E-2 zvýšilo váhu reprodukčního systému, zatímco podávání P zvýšilo pouze váhu dělohy.

Jak E-2 tak P receptory z horní a střední části dělohy byly stanoveny vazebnými metodami, pomocí triciovaných hormonů, separací pomocí aktivního uhlí modifikového dextranskem a inverzní Scatchardovy analýzy.

Podávání E-2 i P snížilo koncentraci E-2 i P receptorů v horní a střední části dělohy, přičemž horní část měla vyšší koncentraci receptorů než část střední (P<0.01). Koncentrace E-2 receptorů v horní části byly ve skupině C 1236 +/- 34, ve skupině P 667 +/- 80 a ve skupině E 444 +/- 103 fmol/mg prot. Koncentrace P receptorů byly 2434 +/- 135 (sk. C), 1273 +/- 102 (sk. P) a 1536 +/- 213 (sk. E). Vysoká koncentrace P receptorů v horní části dělohy umožňuje účinek progesteronu bez předchozí estrogenové přípravy ovcí.

Tyto výsledky naznačují, že E-2 a P mohou během vývoje negativně regulovat jak své vlastní receptory, tak receptory toho druhého hormonu. Biologická odpověď vyvolaná E-2 a P ukazuje na základě měření váhy reprodukčního systému, že děložní receptory jsou v časném stupni vývoje fyziologicky aktivní (Meikle a kol. 1997).

5.4 Vliv androgenů

Androgeny ovlivňují vývoj a růst mléčné žlázy u žen. Podávání androgenů zvířatům nebo buněčným kulturám má jak inhibiční, tak stimulační efekt na proliferaci prsního epitelu a rakovinné buňky; mechanismus této dvojí funkce stále není jasný. Epidemiologické údaje naznačují, že podobně jako vzrůst estrogenů, i zvýšené androgeny v séru mohou být spojeny s rozvojem rakoviny prsu. Pokusy na hlodavcích také ukázaly, že současné podávání

androgenu a estrogenu působí synergicky na karcinogenezi prsní žlázy. Podobný synergický účinek obou hormonů byl pozorován u karcinogeneze děložního myometria zvířecích samic. Existují také klinické a experimentální indikace možného spojení zvýšených hladin androgenů a estrogenů s rozvojem ovariálního a endometriálního karcinomu. Nabízí se tedy hypotéza, že současné zvýšení těchto hormonů může způsobit vyšší riziko vzniku nádorů prsu a reprodukčního systému než zvýšení hladiny jednoho hormonu samotného (Dezhong a kol. 2007).

Na myších byl studován účinek androgenu na morfologii a hladinu cytosolických ER a PR v děloze a mléčné žláze. Testosteron podávaný novorozené myši nebo průběžně v dospělosti snižuje koncentraci ER a PR jak v děloze, tak v mléčné žláze zejména v mladším věku (40-60 dní). V pozdějším věku už pozorujeme méně výrazné změny. V každém věku se ale snižovaly hladiny PR v děloze i mléčné žláze. Testosteron je tedy negativním modulátorem PR v těchto tkáních (Edery 1989).

5.5 Vliv oxytocinu na ER a PR v děloze u potkanů

Vliv oxytocinu na děložní estrogenové a progesteronové receptory byl zkoumán in vivo ve skupině nedospělých potkaních samic, kterým byl podkožně podáván oxytocin 0.5 nebo 5 IU (1 nebo 10 μ g) po dobu pěti respektive tří dnů. Oxytocin nezměnil afinitu receptoru ani u jednoho steroidního hormonu, ale nižší dávky statisticky signifikantně snížily koncentraci receptorů: z ER = 486 +/- 76 fmol/mg na 346 +/- 105 fmol/mg ($P < 0.001$) a z PR = 686 +/- 237 fmol/mg na 433 +/- 236 fmol/mg ($P < 0.01$) (první jsou hodnoty kontrolní skupiny, druhé jsou ze zkoumané skupiny).

Nebyl pozorován žádný signifikantní vliv na plazmatické koncentrace 17-betaestradiolu ani progesteronu. V případě dospělých potkanů při studiích in vitro ale metoda specifického vázání estradiolu a progesteronu v děloze za přítomnosti nebo absence oxytocinu neukázala žádné změny. Oxytocin by mohl být negativním modulátorem ER a PR v děloze, ačkoli mechanismus tohoto účinku zůstává neznámý (Garofalo, Raymondo, 1995).

5.6 Vliv věku na ER v karcinomech endometria u žen

Autoři zkoumali vzorky z hysterektomie od 125 pacientek s karcinomem endometria. Hladiny estrogenových a progesteronových receptorů byly kvantifikovány na čerstvých tkáních použitím radioreceptorové analýzy využívající aktivní uhlí. ⁴Věk byl statisticky signifikantně spojen s vysokými hladinami ER ($p=0.007$) (Mariani a kol. 2005). Tato publikace dokládá zájem o tuto problematiku a o detekci ER radioreceptorovou metodou i v nejnovějších pracích. Navíc údajem o vzestupu ER v děloze v závislosti na věku se liší od údajů Hirmerové (2006).

⁴Předpokládali jsme, že je myšleno „zvyšující se věk“, ačkoli z abstraktu není jasně patrné, zda se jedná o vysoký nebo nízký věk. Pokud by tomu bylo naopak, korespondovala by tato studie s jinými, a nebylo by třeba ji dále vyzdvihoval.

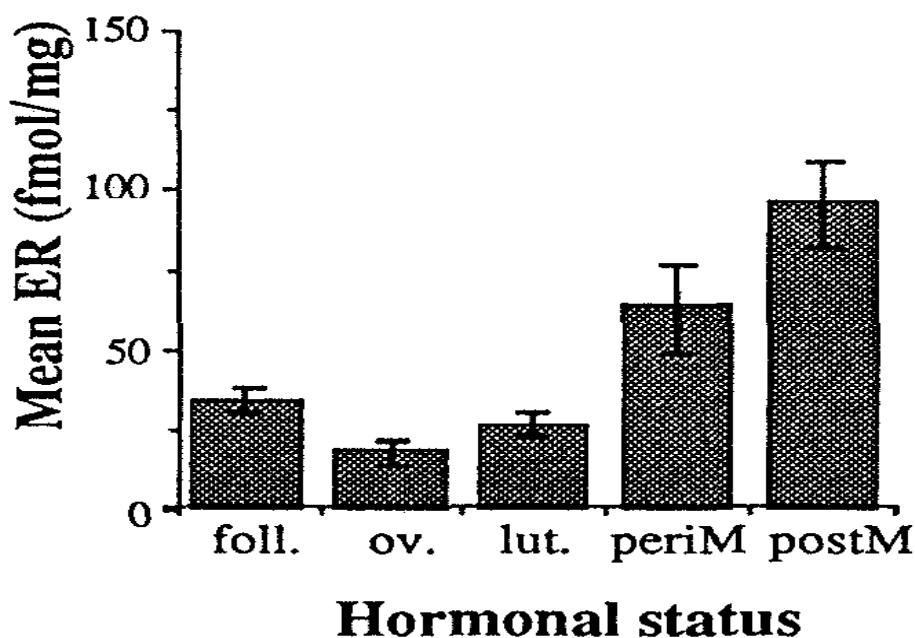
6. Rekapitulace hormonálních změn, které mohou zapříčinit falešné výsledky

Za nejdůležitější artefakty považujeme ty, které vznikají vlivem ovariálního cyklu a vlivem stárnutí.

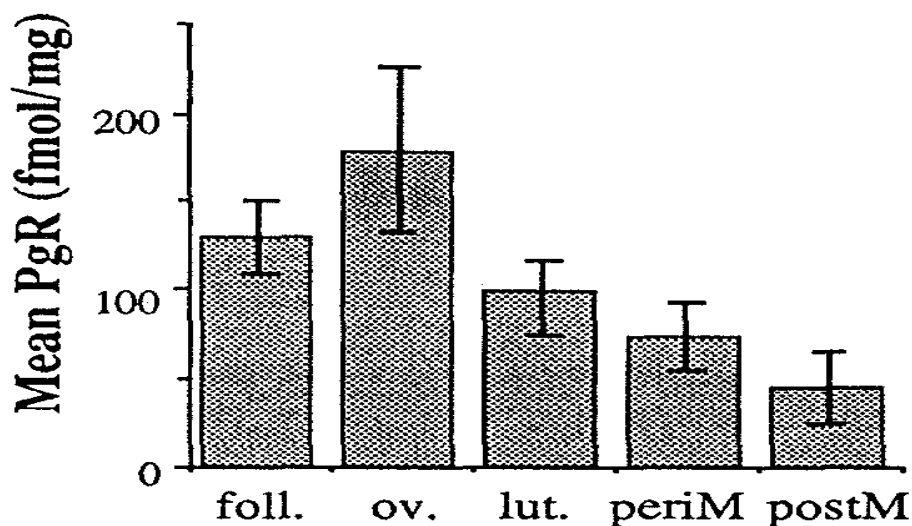
6.1 Grafické znázornění artefaktů ER a PR způsobených ovariálním cyklem

Tyto grafy jsme překopírovali z dřívějších bakalářských prací, poněvadž jsou nejinstruktivnější. Navzdory tomu je nelze brát za definitivní, protože existují studie, které získaly odlišné výsledky.

Pujol a kol. (1998) uvádí, že průměrné hladiny ER v karcinomu prsu jsou vyšší ve folikulární fázi oproti fázi luteální i ovulační. Nejvyšší ER jsou v době kolem menstruace. Průměrné hladiny PR jsou pak nejvyšší ve fázi ovulační ve srovnání s folikulární a luteální fází.



Změny estrogenních receptorů v karcinomu prsu v závislosti na hormonálním stavu (Pujol a kol. 1998).



Hormonal status

Změny progesteronových receptorů v karcinomu prsu v závislosti na hormonálním stavu (Pujol a kol. 1998).

Vysvětlivky ke grafům:

Mean PgR – průměr PR

Hormonal status – hormonální stav

foll. – folikulární fáze

ov. – ovulace

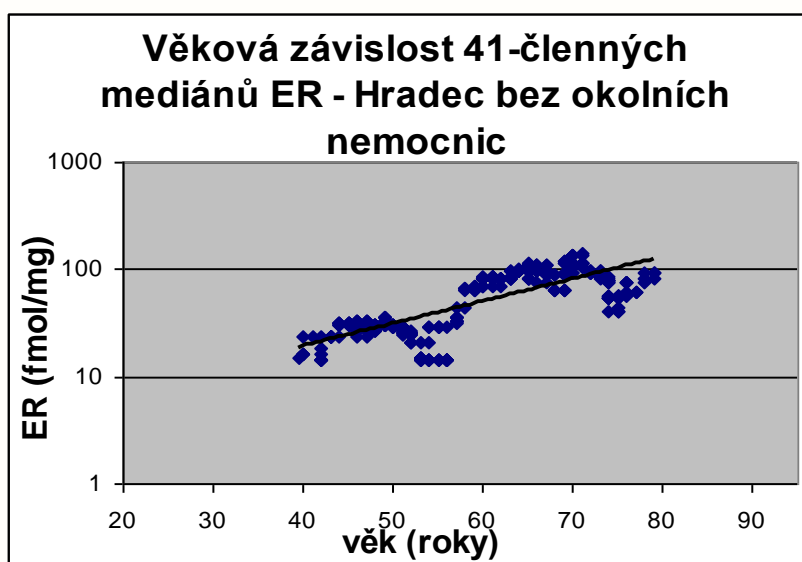
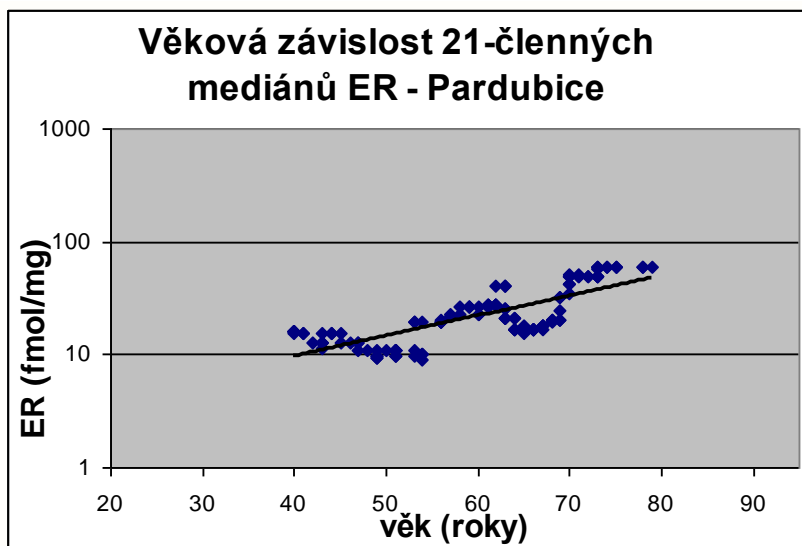
lut. – luteální fáze

periM – perimenopauza

postM – postmenopauza

6.2 Věková závislost koncentrace estrogenů a chyby vyšetření ER, které z ní vznikají

Následující grafy závislosti koncentrace ER na věku jsme nevytvořili, nýbrž převzali z diplomové práce Hanákové (2009). Jde o grafy mediánů překrývajících se sousedních skupin pacientek seřazených podle věku.



Hradecké (novější) mediány ER jsou poněkud výše než starší výsledky z Pardubic (to je v souladu se světovým trendem zvyšování citlivosti těchto metod). Ale věková závislost ER tím není ovlivněna, neboť nedochází ke smísení výsledků obou laboratoří. Pokles tvorby estrogenů po menopauze má za následek vzestup ER ve druhé polovině grafu. Ale vzestup koncentrací estradiolu v krvi v období několika let před nástupem menopauzy by mohl korespondovat s mírným poklesem koncentrací ER v obou těchto grafech kolem 50 let stáří. Přesnější údaje o hormonálních koncentracích však nemáme. Při prohledávání české internetové literatury jsme našli alespoň následující.

6.2.1 Výraz stárnutí ovaria

Infraklinická fáze: nastává asi od 35. roku věku, rychle se snižuje fertilita, menstruační cyklus však zůstává pravidelný a ovulační. Začíná se zvyšovat FSH, ostatní hormony jsou v normě. Délka folikulární fáze cyklu se zkracuje s věkem. U žen do 30 let trvá asi 14 dní, před menopauzou 10 dní. Estradiol bývá vyšší u žen kolem 40 let, některé folikuly reagují přehnaně na zvyšující se FSH. Nejcitlivějším ukazatelem změn v ovariu je inhibin, klesá nejdříve a je nejcitlivějším markerem množství folikulů.

Perimenopauza: vlastní přechod je charakterizován luteální insuficiencí s nadbytkem estrogenů, daným zrychleným zráním folikulu pod vlivem zvýšených gonadotropinů. Tato období se střídají s obdobími hypoestrinními, kdy folikul nereaguje.

Postmenopauza: v období tzv. "androgenního ovaria" fungují stromální buňky a hilus ovaria. Endokrinní funkce postmenopauzálního ovaria sestává především z produkce testosteronu, androstendionu, malého množství estradiolu a estronu. Ovariální produkce testosteronu je po celý život stejná, ale v postmenopauze relativně narůstá. Ovarium v celé šíři produkuje 3 skupiny různých steroidních hormonů, podílí se změny v hormonech nadledvin a štítné žlázy, které jsou v interakci s hypofyzárními hormony (Huber 2009).

6.3 Proměnlivost jiných hormonů, které mají vliv na ER nebo PR

Nejen estradiol a progesteron dokážou ovlivnit hladinu ER a PR. Proto je vhodné brát v úvahu i změny dalších hormonů v průběhu stárnutí ženy.

6.3.1 Prolaktin

Je hormonem, který je do krevního oběhu uvolňovaný z hypofýzy (podvěšku mozkového). Jeho vylučování probíhá ve 24hodinovém rytmu s maximální hladinou kolem půlnoci. Hlavním význam prolaktinu spočívá v tom, že způsobuje změny v prsní žláze a produkci mléka-laktaci. Normálně (fyziologicky) je hladina prolaktinu zvýšená v těhotenství a při kojení. Jinak se během života jeho hladina výrazně nemění.

Samotná zvýšená hladina prolaktinu mimo těhotenství může být způsobena hladověním, stresem, poruchami spánku, ale také nádorem podvěšku mozkového nebo některými nemocemi, například jater nebo ledvin. Působí potom na uvolňování pohlavních

hormonů a tím i na průběh menstruace. U žen se projeví hyperprolaktinemie především snížením hladin estrogenů, oligomenoreou, amenoreou, anovulačními cykly a sterilitou. Centrální účinek prolaktinu vede k produkci nadměrného množství dopaminu a endogenních opioidů v hypothalamu. Vlivem těchto působků je zde tlumena pulzatilní sekrece GnRH (gonadotropiny uvolňující hormon), a tím i hypofyzárních FSH a LH. Zvýšené množství prolaktinu také narušuje negativní i pozitivní zpětnou vazbu estrogenů a gonadotropinů. V ovariích je pak blokována tvorba estrogenů i progesteronu (Marek 2009).

Prolaktin má důležitou roli v patogenezi nádorového onemocnění prsu. Stojí na počátku signálních drah, které mohou regulovat růst a životaschopnost nádorových buněk prostřednictvím enzymů - Janusovy kinázy 1 (Jak 1) a již dříve známé Jak 2. Receptory pro prolaktin jsou přítomny na většině buněk nádorů prsu. Hladina prolaktinu na rozdíl od estrogenů zůstává téměř neovlivněna menopauzou, a pacientky jsou tedy účinkům prolaktinu vystaveny po celý svůj život (Thomas Jefferson University, 2007).

6.3.2 *Androgeny*

Androgeny jsou u žen přítomny jako prekurzory pohlavních hormonů. V období menopauzy dochází ke změnám hladin androgenů. Před menopauzou dochází k poklesu cirkulujících androgenů (celkový a volný testosteron, dehydroepiandrosteron-DHEA a jeho sulfát-DHEA-S). Po menopauze potom jejich hladiny kontinuálně klesají s věkem. (Košťálová, Košťál 2009). U zdravých postmenopauzálních žen klesá ovariální produkce androstendionu, nadledvinková žláza se stává primárním zdrojem tohoto prekurzoru a objevuje se 50% snížení celkové sérové koncentrace androstendionu. Následně dochází k poklesu periferní produkce testosteronu přeměnou z androstendionu. Ovariální produkce testosteronu zůstává poměrně stálá; relativní podíl ovariální produkce na celkovém testosteronu tedy vzrůstá. Nadledvinkové androgeny DHEA a DHEA-S s věkem také klesají, nezávisle na menopauze; mezi 40. a 50. rokem jsou jejich hodnoty asi poloviční ve srovnání s mladšími ženami. Pokles koncentrace sérového testosteronu je po menopauze malý navzdory poklesu produkce nadledvinkových androgenů, což napovídá, že DHEA je u starších žen až vedlejším zdrojem androstendionu a testosteronu (Rhoda 2009).

6.3.3 *FSH a LH*

Tyto gonadotropiny byly zmíněny výše. Nástupu menopauzy se „hypofýza brání“ zvýšenou produkcí gonadotropinů.

7. Diskuse

Z bakalářské práce Radky Kutové, která pojednává též o karcinogenezi, vyplývá, zda vzniklý nádor bude ER(+) nebo ER(-). Jestliže např. nádor prsu vzniká v prostředí nadměrné koncentrace estradiolu, budou k množení stimulovány buňky ER pozitivní, nikoli ER negativní. Celý nádor bude pak ER(+). Ale tato pozitivita bude uměle tlumena estradiolem, a teoreticky může dojít i k falešné negativitě vyšetření ER.

7.1 ER a PR v normální a nádorové tkáni

V práci Hirmerové jsme se dočetli, že cytosolické hladiny ER a PR jsou signifikantně vyšší v normální endometriální tkáni než v maligní endometriální tkáni (Neumannova a kol. 1983).

Námi nalezená studie pojednávala o výzkumu normální a nádorové prsní tkáně fen. Koncentrace ER byly vyšší v normální tkáni, naopak koncentrace PR byly vyšší v nádorech, zejména benigních. V porovnání nádorových tkání - málo diferencované maligní nádory vykazovaly nižší koncentrace obou receptorů, než nádory dobře diferencované nebo benigní. ER i PR klesaly se vzrůstající velikostí nádoru (Donnay a kol. 1995). Z toho je vidět, jak se po 12 letech zvýšil zájem autorů o přesnost těchto údajů. Starší práce se mnoho nestaraly o rozdíl mezi dobře diferencovanými a málo diferencovanými karcinomy.

7.2 Vliv estradiolu a progesteronu

Z minulých prací zmíníme vliv estradiolu na izoformy receptorů. Poměr ER α a ER β v prsu závisí na plazmatické koncentraci estradiolu (Cheng a kol. 2005). Estradiol způsobil rapidní snížení cytoplazmatických ER a malý vzestup jaderných ER (Jordan a kol. 1997). Při absenci progesteronu PRA lokalizovány v jádře, PRB jsou pak z velké části cytoplazmatické, ale v přítomnosti progesteronu jsou hojně umístovány do jádra (Leslie a kol. 2005).

My jsme našli další studie s touto problematikou: Kim a kol. 2004 zkoumali vliv estradiolu ve vaginální tkáni potkanů. Ovariectomizované samice dostávaly buď jen rozpouštědlo, estradiol v subfyziologické nebo fyziologické koncentraci. Jako kontrola byly použity intaktní samice.

Specifická vazba [H-3]estradiolu (tedy množství ER) byla ve skupině s fyziologickou hodnotou estradiolu srovnatelná s intaktními zvířaty, zvýšená ve skupině se subfyziologickou

hodnotou a mnohonásobně zvýšená ve skupině s rozpouštědlem. Možnost provedení takovéto studie u člověka je prakticky nedostupná, stejně jako u následující práce.

Meikle a kol. 1997 uvádí, že estradiol a progesteron mohou během vývoje negativně regulovat jak své vlastní receptory, tak receptory toho druhého hormonu. Dokládá to výzkum na dvouměsíčních ovcích, kterým byl podáván buď estradiol nebo progesteron nebo pouze vehikulum. Oba dva hormony snížily koncentraci ER i PR v děloze. Další studie - u fen (Donnay a kol. 1995), poskytuje materiál pro řešení zvláštních problémů – jako např. pseudogravidita.

7.3 Vliv androgenů

Vliv androgenů zatím není v předchozích pracích podrobně zpracován, my jsme našli alespoň několik faktů.

Zvýšené hladiny androgenů mohou mít vliv na rozvoj rakoviny prsu, dělohy i vaječníku. Pokud se zvýšené androgeny vyskytují současně se zvýšenými estrogeny, tento kancerogenní účinek se dokonce násobí (Dezhong a kol. 2007).

Testosteron je důležitý nejen coby prekurzor estradiolu, ale sám dokáže ovlivnit hladiny steroidních receptorů v děloze a mléčné žláze, konkrétně snižuje koncentraci estrogenových, ale především progesteronových receptorů (Edery 1989).

7.1 Vliv oxytocinu

Dále jsme problematiku obohatili o vliv oxytocinu. Ten by mohl být negativním modulátorem ER a PR v děloze. 1 µg podávaný nedospělým potkaním samicím po dobu pěti dnů signifikantně snížil koncentrace steroidních receptorů v děloze. Naopak u dospělých samic studie neprokázala žádný vliv oxytocinu na afinitu receptorů, ani na plazmatické koncentrace 17-betaestradiolu a progesteronu, ani na specifické vázání estradiolu a progesteronu, tedy na množství receptorů (Garofalo, Raymondo, 1995).

7.2 Vliv ovariálního cyklu

Donnay a kol. (1995) prováděli studii prsních žláz u fen v závislosti na jejich hormonálním stavu. Feny v luteální fázi měly ER výrazně vyšší než ty ve fázi folikulární, to odpovídá studii Paradisa a kol. (2001) citované Šustrovou. Zároveň je to ale opačná tendence, než můžeme vidět v grafu Pujola uvedeném v kapitole 6.1; ale jak uvádí Šustrová, mnohé

studie se v těchto výsledcích neshodují. Přibrat do takovýchto úvah ženy je ovšem dost komplikované, neboť nemenstruují. A Pujol popsal nejvyšší hladiny ER právě kolem menstruace.

Koncentrace PR v normální tkáni byly vyšší u žen mimo říjí než během pseudogravidity nebo při podávání medroxyprogesteron acetátu. V nádorové tkáni žen ovlivněných MPA byly PR vyšší než v normální tkáni.

Tato studie nezaznamenala spojení mezi expresí receptorů a věkem, předchozími hormonálně aktivními úseky života nebo počtem či umístěním nádorů. Našla ale signifikantní rozdíl mezi koncentrací receptorů v kraniálních a kaudálních mléčných žlázách (vyšší v kaudálních).

7.3 Věková závislost ER u dělohy v literatuře

Další námi nalezený abstrakt byl z roku 2005 (Mariani a kol.), a uváděl, že vzorky karcinomu endometria vykazovaly statisticky signifikantní spojení věku a vysokých hladin ER. To je zajímavé, poněvadž dřívější práce, uvedené Hirmerovou - Koshiyama a kol. (1996) a Zhou Han a kol. (1989), vykazují naopak snižující se hladinu ER ve zdravé děloze s věkem, a v jejích nádorech nebyla pozorována korelace věku a hladin receptorů (Chambers a kol. 1988). Pokud se jedná o nádory prsu, dřívější práce se shodují na tom, že s věkem se cytosolová koncentrace ER zvyšuje. Pokud by se tento náš nálezn u karcinomů dělohy v budoucnu ukázal jako pravdivější než to, co zjistila Hirmerová, tak by mnohé zákonitosti u karcinomů prsu mohly být převedeny na karcinomy dělohy.

7.4 Hormonální změny během stárnutí a jejich vliv na ER karcinomů prsu v grafech (hradecké a pardubické nemocnice)

Hladiny steroidních receptorů jsou ovlivňovány hladinami hormonů, které mohou během života ženy kolísat.

Stárnutí ovaria můžeme sledovat na jeho tvorbě estrogenů. Hladina estradiolu se zvyšuje u žen kolem 40 let, období perimenopauzy charakterizuje nadbytek estrogenů, v postmenopauzálním věku je už jejich tvorba minimální (Huber 2009). Tomu odpovídají i grafy závislosti ER na věku pacientek převzané od Hanákové, kde je znatelný pokles ER kolem 50. roku života. Tuto hypotézu považujeme za předběžnou – neprokázanou.

Naproti tomu hladina prolaktinu není ovlivněna menopauzou (Marek 2009).

Koncentrace androgenů, ze kterých se tvoří ženské pohlavní hormony, se snižuje před menopauzou, a po ní dále kontinuálně klesají s věkem. Konkrétně klesá ovariální produkce androstendionu, z něhož se v periferních tkáních tvoří testosteron, ale je zachována jeho produkce v nadledvinkách. Také ovariální produkce testosteronu zůstává více méně zachována. Pokles celkové sérové koncentrace testosteronu je tedy po menopauze jen malý (Rhoda 2009).

Pokud by se v budoucnu potvrdil údaj z práce Edery (1989), že testosteron snižuje množství ER a PR v nezralé tkáni prsu, dalo by se uvažovat o tom, že snížením koncentrace testosteronu ve stáří se zvýší množství ER v nádorech. Ale na tuto úvahu se není možno spolehnout zvláště proto, že by testosteron obdobně měl zvyšovat množství PR – které ale s věkem neklesá.

8. Závěr

Předchozí studentky ve svých diplomových a bakalářských pracích našly v literatuře, že nepřesnosti ve stanovení ER a PR mohou vzniknout v mléčné žláze a jejích nádorech vlivem věku, stadia menstruačního/ovariálního cyklu, vlivem rozdílů mezi pacientkami z hlediska koncentrací estradiolu, progesteronu nebo třeba přítomností kationtů kovů.

U dělohy a jejích nádorů zjistily obdobné vlivy menstruačního cyklu, věku, ale i lokalizace vyšetřované oblasti, protože koncentrace receptorů se mohou lišit v závislosti na buněčné lokalizaci, histologické vrstvě nebo poloze v děloze. Také vyhledaly účinky exogenních látek jako tamoxifen, estrogenový trifenyletylen nebo danazol.

My jsme nálezy předchozích studentek v problematice karcinomu prsu a dělohy obohatili o vlivy dalších látek např. oxytocin, testosteron, prolaktin.

Dále jsme alespoň v české internetové literatuře vyhledali rozšíření kvalitativních údajů o vlivu věku na koncentraci hormonů. Např. před menopauzálním poklesem estrogenů dochází k jejich vzestupu. Ten by mohl zavinit vznik falešné negativy ER.

9. Seznam zkratek

17 beta-HSD	17-beta-hydroxysteroid dehydrogenáza
CEE	konjugované koňské estrogény
DHEA	dehydroepiandrosteron
DHEA-S	sulfát dehydroepiandrosteronu
E-2	17-betaestradiol
ER	estrogenové receptory
ER α (β)	izoformy ER
FSH	folikuly stimulující hormon
GnRH	gonadotropiny uvolňující hormon
IRS	imunoreaktivní stupnice
Jak 1(2)	Janusova kináza 1(2)
LH	luteinizační hormon
MPA	medroxyprogesteron acetát
MSA	methylselenové kyseliny
P	progesteron
PR	progesteronové receptory
PRA(B)	izoformy PR

10. Seznam literatury

- ATALAY C, KANLIOZ M, ALTINOK M: *Menstrual cycle and hormone receptor status in breast cancer patients*. Neoplasma 49 (4): 2002, 278-282
- DEZHONG J. LIAO, ROBERT B. DICKSON: *Roles of androgens in the development, growth, and carcinogenesis of the mammary gland*, Georgetown University Medical Center 2007
- DONNAY I, RAUIS J, DEVLEESCHOUWER N, WOUTERSBALLMAN P, LECLERCQ G, VERSTEGEN J: *Comparison of estrogen and progesterone-receptor expression in normal and tumor mammary tissues from dogs*. American journal of veterinary research 9, 1188-1194, SEP 1995
- EDERY M, MILLS KT: *Effects of testosterone on morphology and on progestin and estrogen receptor levels in the mouse uterus and mammary gland*. Biol Neonate, 1989;56(6):324-31.
- GANONG WF.: *Přehled lékařské fyziologie*. H & H, Jinočany 1995, p. 368, 373, 381
- GAROFALO EG, RAYMONDO SG: *Effect of oxytocin on estrogen and progesterone receptors in the rat uterus*. Veterinary research 4. 284-291, 1995
- HAN Z, KOKKONEN GC, ROTH GS: *Effect of aging on populations of estrogen receptor-containing cells in the rat uterus*. Experimental Cell Research 1, January 1989, 234-242.
- HANÁKOVÁ T.: *Vliv věku a jiných faktorů na cytosolovou koncentraci steroidních receptorů u karcinomu prsu*. Diplomová práce – školitel Hochmann J., Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové 2009.
- HANČ O, PÁDR Z: *Hormony*. Praha, Academia, 1989: 188-94.
- HIRMEROVÁ E.: *Estrogenové a progesteronové receptory v nádorech dělohy ve vztahu k ostatním ukazatelům*. Bakalářská práce, školitel - Hochmann J., Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové 2006.
- CHAMBERS JT, MACLUSKY N, EISENFELD A, KOHORN EI, LAWRENCE R, SCHWARTZ PE: *Estrogen and progestin receptor levels as prognosticators for survival in endometrial cancer*. Gynecol Oncol. 1988 Sep;31(1):65-81
- CHRAPUSTA S, SIEINSKI W, KONOPKA B, SZAMBORSKI J, PASZKO Z.: *Estrogen and progestin receptor levels in uterine leiomyomata: relation to the tumour histology and the phase of menstrual cycle*. Molecular Human Reproduction 6, 559-564, June 1999.
- ISAKSSON E, WANG H, SAHLIN L, VON SCHOULTZ B, CLINE JM, VON SCHOULTZ E: *Effects of long-term HRT and tamoxifen on the expression of progesterone receptors A and B in breast tissue from surgically postmenopausal cynomolgus macaques*. Breast cancer research and treatment 79 (2): 233-239 MAY 2003

HUBER JC: Hormonální poruchy ve stáří - genitální a extragenitální důsledky, dostupné z http://www.adc-sanatorium.cz/hrt_02.html, 2009

JAZAERI AA, NUNES KJ, DALTON MS, XU MH, SHUPNIK MA, RICE LW: *Well-differentiated endometrial adenocarcinomas and poorly differentiated mixed mullerian tumors have altered ER and PR isoform expression*. *Oncogene* 20 (47): 6965-6969 OCT 18 2001, ISSN: 0950-9232.

JORDAN VC, DIX CJ, ROWSBY L, PRESTWICH G: *Studies on the mechanism of action of the nonsteroidal antioestrogen tamoxifen (I.C.I. 46,474) in the rat*. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2, April 1977, 177-192.

KIM SW, KIM NN, JEONG SJ, MUNARRIZ R, GOLDSTEIN I, TRAISH AM: *Modulation of rat vaginal blood flow and estrogen receptor by estradiol*. *Journal of urology* 4, 1538-1543, OCT 2004

KOSHIYAMA M, YOSHIDA M, TAKEMURA M, YURA Y, MATSUSHITA K, HAYASHI M, TAUCHI K, KONISHI I, MORI T: *Immunohistochemical analysis of distribution of estrogen receptors and progesterone receptors in the postmenopausal endometrium*. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1996 Sep;75(8):702-6.

KOŠŤÁLOVÁ M., KOŠŤÁL M.: *Menopauza a stárnutí kůže*. Časopis ženských lékařů GYNEKOLOG, dostupné z <http://www.gyne.cz/clanky/2007/307c11.htm>, 2009

KUTOVÁ R.: Vliv okolních faktorů na hormonální receptory nádorů prsu. Bakalářská práce, školitel - Hochmann J., Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové 2008.

LA GUARDIA M, GIAMMANCO M: *Brest cancer and obesity*. *Panminerva medica* 43 (2): JUN 2001, 123-133

Léčba rakoviny, vznik (2008), dostupné z http://www.lecba-rakoviny.cz/vznik_prs%20

LESLIE KK, STEIN MP, KUMAR NS, DAI D, STEPHENS J, WANDINGER-NESS ANGELA, GLUECK D: *Progesterone receptor isoform identification and subcellular localization in endometrial cancer*. *Gynecologic Oncology* 1, January 2005, 32-41.

MAREK J. Prolaktin a Psychofarmakologie, dostupné z <http://www.prolaktin.cz/odbornik/prolaktin-vs-dopamin-109> (zvolit možnost „odborník ve zdravotnictví“, článek *Prolaktin vs. dopamin*), 2009

MARIANI A, SEBO TJ, KATZMANN JA, RIEHLE DL, DOWDY SC, KEENEY GL, LESNICK TG, PODRATZ KC: *HER-2/neu overexpression and hormone dependency in endometrial cancer: Analysis of cohort and review of literature*. *Anticancer research* 4. 2921-2927, JUL-AUG 2005

MEDINA D, KITTRELL FS, HILL J, SHEPARD A, THORDARSON G, BROWN P: *Tamoxifen inhibition of estrogen receptor-alpha-negative mouse mammary tumorigenesis*. *Cancer research* 65 (8): 3493-3496 APR 15 2005

MEIKLE A, TASENDE C, RODRIGUEZ M, GAROFALO EG: *Effects of estradiol and progesterone on the reproductive tract and on uterine sex steroid receptors in female lambs.* Therionology 7, 1105-1113, NOV 1997

MINCKWITZ G, KAUFMANN M, DOBBERSTEIN S, GRISCHKE EM, DIEL IJ: *Surgical procedure can explain varying influence of menausrual cycle on prognosis of premenopausal breast cancer patients.* The Breast. 2004 March 4(1): 29-32

MONTERO GG, VANZULLI S, CERLIANI J, BOTTINO M, BOLADO J, VELA J, BECUVILLALOBOS D, BENAVIDES F, GUTKIND S, PATEL V, MOLINOLO A, LANARI C: *Both receptors were downregulated in progestin-treated BALBc mice.* Brest cancer res., 2007; 9(2): 22

NEUMANNOVA M, KAUPPILA A, VIHKO R.: *Cytosol and nuclear estrogen and progestin receptors and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in normal and carcinomatous endometrium.* Obstet Gynecol. 1983 Feb;61(2):181-8

NUNOBIKI O, TANIGUCHI E, ISHII A, TANG W, UTSUNOMIYA H, NAKAMURA Y, MORI I, KAKUDO K: *Significance of hormone receptor status and tumor vessels in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium.* Pathology international 53 (12): 846-852 Dec 2003, ISSN: 1320-5463.

O'TOOLE SHARON A, DUNN E, SHEPPARD BL, SHEILS O, O'LEARY JJ, WUTTKE W, SEIDLOVA-WUTTKE D: *Oestrogen regulated gene expression in normal and malignant endometrial tissue.* Maturitas 2, 16 June 2005, 187-198.

ODUWOLE OO, LI Y, ISOMAA VV, MANTYNIEMI A, PULKKA AE, SOINI Y, VIHKO PT: *17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 is an independent prognostic marker in breast cancer.* Cancer research 64 (20): OCT 15 2004, 7604-7609

OREJUELA FJ, RAMONDETTA LM, SMITH J, BROWN J, LEMOS LB, LI Y, HOLLIER LM: *Estrogen and progesterone receptors and cyclooxygenase-2 expression in endometrial cancer, endometrial hyperplasia, and normal endometrium.* Gynecologic Oncology 2, May 2005, 483-488.

PARADISO A, SERIO G, FANELLI M, MANGIA A, CELLAMARE G, SCHITTULLI F: *Predictability of monthly and yearly rhythms of breast cancer features.* Breast cancer research and treatment 67 (1): MAY 2001, 41-49

PEŠINOVÁ Š: *Bioanalytický přístup k estrogenovým a progesteronovým receptorům v nádorech prsu .* Bakalářská práce - školitel Hochmann J., Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové 2008.

PETRÁKOVÁ K, VYZULA R: *Zhoubný nádor prsu, Brno 2006.* Dostupné z http://www.linkos.cz/pacienti/prso_clanek.php?t1=1&t2=1&t3=1&t=1

PETRLOVÁ B, HEJDA V, ULČOVÁ-GALLOVÁ Z, MUKENŠNÁBL P, ROKYTA Z: *Porovnání ukazatelů steroidního metabolismu v endometriu žen s endometriózou, s hyperplazií a bez těchto patologických změn.* Česká gynekologie 69, 2004, č.3. 218-224.

PUJOL P, DAURES JP, THEZENAS S, GUILLEUX F, ROUANET P, GRENIER J: *Changing estrogen and progesterone receptor patterns in breast carcinoma during the menstrual cycle and menopause.* Cancer 83 (4): 698-705 AUG 15 1998

READOVÁ C.: *Rakovina prsu - skryté nebezpečí.* Frýdek-Místek, Alpress, 1996: 86-179

RHODA HC: AACE Menopause Guidelines Revision Task Force, *Androgen Production in Postmenopausal Women* dostupné z http://www.medscape.com/viewarticle/540531_12, 2009

ROCHEFORT H., CAPONY F., GARCIA F., CAVAILLISE V., FREISS G., CHAMBON M., MORISSET M., VIGNON F.: *Estrogen – induced lysosomal proteases secreted by Breast cancer cells: a role in carcinogenesis.* Cellular biochemistry 35, 1987 : 17-29.

ROWSBY L, DIX CJ, PRESTWICH G, JORDAN VC: *Dose-related effects of non-steroidal antioestrogens nad oestrogens on the measurement of cytoplasmic oestrogen receptors in the rat and mouse uterus.* The Journal Of Endocrinology 1, July 1978, 71-81 ISSN: 0022-0795.

SAITO N: *Biochemical analysis of estrogen receptor and progesterone receptor in normal uterus and endometrial carcinoma.* Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi. 1987 Feb 20;63(2):87-101.

SHEN K, YUENG W, NGAN H: *Estrogen and progesterone receptors in normal cervix and primary cervical carcinoma.* Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 1994 May;29(5):284-8, 317-8.

SCHREIBER M. A KOL.: *Funkční somatologie.* H & H, 1998

ŠUSTROVÁ B.: *Estrogenové a progesteronové receptory v nádoru prsu ve vztahu k jiným ukazatelům.* Bakalářská práce - školitel Hochmann J., Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové 2006.

Thomas Jefferson University (2007, October 3): *New Evidence Of Prolactin's Possible Role In Breast Cancer Uncovered.* dostupné z <http://www.prolaktin.cz/odbornik/role-prolaktinu-v-patogenezi-karcinomu-prsu-145> (zvolit možnost „odborník ve zdravotnictví“, článek Role prolaktinu v patogenezi karcinomu prsu)

TSIBRIS JCM, FORT EL, CAZENAVE CR, CANTOR B, BARDAWIL WA, NOTELOVITZ M, SPELLACY WN.: *The uneven distribution of estrogen and progesterone receptors in human endometrium.* Journal of Steroid Biochemistry 10, October 1981, 997-1003.

VALÍK D., VYZULA R., JANÁKOVÁ E., NENUTIL R.: *Predikátory účinnosti hormonální léčby karcinomu prsu: co dnes víme o struktuře a funkci estrogenového receptoru?* Lékařské listy č. 46/2001

VOKURKA M., HUGO J. a kol.: *Velký lékařský slovník.* Maxdorf Praha 2005, str. 174.

VOLLMER G, KNIEWE M, MEYN U, TUCHEL L, ARNHOLDT H, KNUPPEN R: *Spatial and molecular aspects of estrogen and progesterone receptor expression in human uteri and uterine carcinomas*. Journal of Steroid Biochemistry 1-2, 8 June 1990, 43-55.

WIKIPEDIA ENCYKLOPEDIÉ: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Vaje%C4%8Dn%C3%ADk>, 2009

WOLF J.: Histologie, SZN Praha 1996 str. 663

ŽALOUDÍK J, PAČOVSKÝ Z, JANÁKOVÁ L, VERMOUSEK I: *Časování operace karcinomu prsu v rámci menstruačního cyklu*. Klinická onkologie, 2, 1995, p. 49-51