

Wpływ hormonalnej terapii menopauzalnej na ekspresję receptora estrogenowego β w nabłonku błony śluzowej jamy ustnej i pochwy u kobiet w okresie menopauzy*

Effects of hormone therapy on estrogen receptor- β expression in oral cavity epithelium and vaginal epithelium in menopausal women*

Beata Sawczuk¹, Maria Gołębiewska¹, Andrzej Mazurek², Lech Chyczewski³

¹ Zakład Protetyki Stomatologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. M. Gołębiewska

² Klinika Ginekologii USK

Kierownik: prof. dr hab. P. Knapp

³ Zakład Patomorfologii Lekarskiej

Kierownik: prof. dr hab. L. Chyczewski

HASŁA INDEKSOWE:

receptor estrogenowy, menopauza, błona śluzowa jamy ustnej

KEY WORDS:

estrogen receptor, menopause, oral mucosa

Streszczenie

Wstęp. W okresie klimakterium ilość estrogenu produkowanego przez jajniki zmniejsza się, doprowadzając do wielu objawów ze strony tkanek estrogenozależnych, czyli bogato wyposażonych w receptor estrogenowy. Błona śluzowa jamy ustnej i pochwy wykazują podobieństwo pod względem budowy oraz zmian zachodzących w obu nabłonkach w okresie menopauzy.

Cel pracy. Celem pracy była ocena wpływu hormonalnej terapii menopauzalnej na ekspresję receptora estrogenowego β w nabłonku błony śluzowej jamy ustnej i pochwy u kobiet w okresie menopauzy.

Material i metoda. Badaniami objęto grupę 60 kobiet, poddanych hormonalnej terapii menopauzalnej drogą doustną, transdermalną i dopochwową, u których oceniono poziom ekspresji $Er\beta$ w nabłonku błony śluzowej jamy ustnej i pochwy.

Wyniki. Największy wzrost ekspresji receptora w błonie śluzowej jamy ustnej występował u pacjentek stosujących terapię doustną i transdermalną, natomiast w nabłonku błony śluzowej pochwy u pacjentek poddanych terapii miejscowej.

Wnioski. W świetle przeprowadzonych badań dolegliwości okresu menopauzy są wskazaniem do stosowania terapii hormonalnej.

Summary

Background. During menopause estrogen produced by the ovaries decreases, leading to many symptoms of tissue that is richly equipped with estrogen receptor. Oral and vaginal mucosa show similarities in terms of construction and changes in both epithelia during menopause.

Aim of the study. To assess the impact of menopausal hormone therapy on the estrogen receptor β expression in the epithelium of oral and vaginal mucosa in women during menopause.

Material and methods. A group of 60 women were subjected to menopausal hormone therapy, oral, transdermal, and vaginal, which rated $Er\beta$ expression levels in the epithelium of oral and vaginal mucosa.

Results. The highest increase in the receptor expression in oral mucosa occurred in patients using oral and transdermal therapies, and in the epithelium of vaginal mucosa in patients who underwent local therapy.

Conclusion. The studies indicated that menopausal complaints are the indication for hormone therapy.

*Praca wygłoszona na XXIX Konferencji Naukowo-Szkoleniowej Sekcji Protetyki PTS, 16-17 września 2011r. Zakopane.

Klimakterium jest kilkunastoletnim okresem w życiu kobiety, dla którego charakterystyczne jest narastanie niewydolności hormonalnej jajników. Menopauza to przerwa po ostatnim krwawieniu. Może powstawać w sposób naturalny lub przedwcześnie w wyniku chirurgicznego usunięcia jajników lub ich uszkodzenia chemo- i radioterapią. Obecnie najczęściej występuje między 45-65 rokiem życia kobiety. Menopauza spowodowana jest stopniowym i nieodwracalnym zanikaniem układu oddziaływania hormonalnego pomiędzy podwzgórzem, przysadką i jajnikami (1). W okresie klimakterium ilość estrogenów produkowanych przez jajniki zmniejsza się doprowadzając do wielu objawów ze strony tkanek bogatych w receptor estrogenowy.

Błona śluzowa jamy ustnej i pochwy wykazują podobieństwo pod względem budowy histologicznej oraz zmian zachodzących w obu nabłonkach w okresie menopauzy. Nabłonek błony śluzowej pochwy ulega ścięczeniu, traci brodawki nabłonkowo-łącznotkankowe. W badaniu histologicznym stwierdza się zmniejszenie zawartości glikogenu i spłaszczenie komórek nabłonka. Glikogen jest głównym substratem wykorzystywanym przez bakterie *Lactobacillus* do produkcji kwasu mlekowego i nadtlenu wodoru. Wzrost pH może doprowadzić do nawracających stanów zapalnych pochwy i infekcji dolnego odcinka dróg moczowych. Błona śluzowa jamy ustnej w okresie menopauzy ulega ścięczeniu. Jest sucha i blada oraz słabiej unaczyniona. Nabłonek staje się przepuszczalny dla szkodliwych substancji i podatny na urazy mechaniczne. Zmniejszona możliwość samooczyszczania wpływa na wzmożoną kolonizację i penetrację powierzchni nabłonka przez drobnoustroje i grzyby. Zmniejsza się zdolność gojenia ran. Nabłonek wykazuje różnice w objętości, gęstości, stopniu rogowacenia i kształtu komórek. W obrazie histologicznym obserwuje się ścięczenie nabłonka i spłylenie soplí nabłonkowych. Stopniowo zanika też granica z tkanką łączną (1, 2, 3, 5).

Przez wiele lat uważano, że istnieje tylko jeden receptor, przez który estrogeny mogą oddziaływać na komórki (6). W 1996r. w kilku laboratoriach niezależnie, odkryto u szczura, myszy i człowieka drugi specyficzny dla estrogenów receptor (7, 8). Wcześniej poznane i scharakteryzowane białko określono jako receptor estrogenowy alfa ($E\alpha$),

zaś to nowe jako receptor estrogenowy beta ($E\beta$) (9, 10).

Stosowanie hormonalnej terapii menopauzalnej (HTM) polega na zastąpieniu naturalnej czynności jajników poprzez podawanie estrogenów i progesteronu lub jego pochodnych (progestagenów) w minimalnie skutecznych dawkach. Preparaty mogą być podawane drogą doustną w postaci tabletek, transdermalną – plastrów przezskórnych lub dopochwową – globulek dopochwowych. Terapia doustna jest najczęstszą formą HTM. Zaletą jest łatwość stosowania, możliwość korygowania dawki, dobra tolerancja leku oraz możliwość szybkiego wstrzymania leczenia. Do cech niekorzystnych tej terapii należy zaliczyć zwiększone stężenie leku bezpośrednio po przyjęciu, gorsze wchłanianie przy schorzeniach jelita cienkiego i antybiotykoterapii. Zaletą terapii transdermalnej jest ominięcie w pierwszym etapie wątroby, a także wyeliminowanie niekorzystnych objawów podrażnienia przewodu pokarmowego. Dopochwowe podawanie estrogenów stosowane w postaci kremu, żeli i globulek zalecane jest u kobiet starszych, niechętnych do HTM. Wybór drogi podania hormonów jest uzależniony od ogólnego stanu zdrowia pacjentki, przyzwyczajenia i dotychczasowych doświadczeń. Pacjentka podczas stosowania HTM powinna być pod opieką lekarza prowadzącego (1, 13).

Celem pracy była ocena wpływu hormonalnej terapii menopauzalnej na ekspresję receptora estrogenowego β w nabłonku błony śluzowej jamy ustnej i pochwy u kobiet w okresie menopauzy.

Material i metoda

Badaniami objęto grupę 60 kobiet, które podzielono na trzy podgrupy w zależności od rodzaju zastosowanej terapii hormonalnej. Średnia wieku badanych pacjentek stosujących terapię miejscową wynosiła 59 lat, terapię ogólną transdermalną 52 lata i ogólną doustną 53 lata. Materiał do badań stanowiły wymazy pobrane z błony śluzowej policzka i błony śluzowej pochwy przed terapią, 6 tygodni po rozpoczęciu terapii, 3, 6 oraz 12 miesięcy po rozpoczęciu terapii. Receptor estrogenowy β zidentyfikowano przy pomocy liofilizowanych przeciwciał monoklonalnych mysich użytych w stężeniu 1:25 w reakcji immunohistochemicznej. Analiza

Tabela I. Porównanie natężenia ogólnej ekspresji receptora Erβ w jamie ustnej i pochwie w zależności od rodzaju terapii

	Terapia miejscowa	Terapia doustna (2)	Terapia transdermalna (3)
Natężenie ogólne po 6tyg.	0,015*	0,15	0,95
Natężenie ogólne po 3 miesiącach	<0,0001*	0,013*	0,59
Natężenie ogólne po 6 miesiącach	<0,0001*	0,607	0,77
Natężenie ogólne po 12 miesiącach	<0,0001*	0,1	0,24

* – różnice istotne statystycznie na poziomie istotności $p < 0,05$.

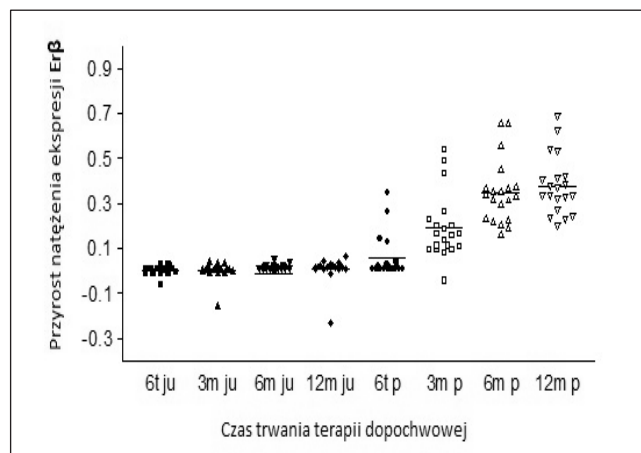
odczynów immunohistochemicznych w badanych przypadkach została przeprowadzona przy użyciu mikroskopu świetlnego przy powiększeniu 600x. Nasilenie ekspresji receptora oceniano w postaci strątów barwnych w jądrach 200 różnych komórek w różnych polach widzenia w każdym preparacie. Dokonano podziału badanych komórek na przypadki z wysoką ekspresją receptora w jądrze komórkowym, średnią ekspresją, niską ekspresją, brakiem ekspresji. Zliczono ilość komórek z różnym nasileniem ekspresji w każdym polu widzenia. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

Wyniki

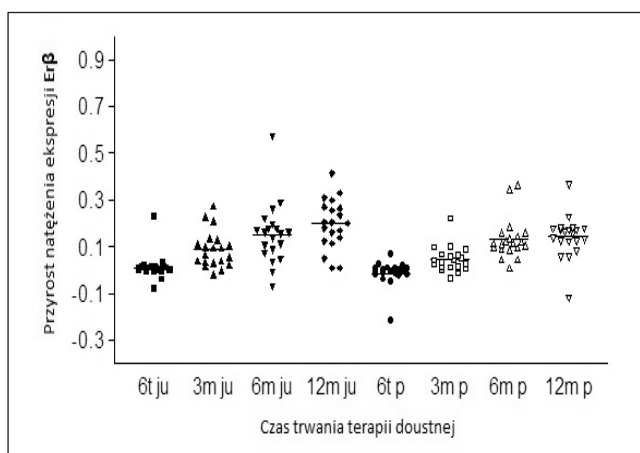
Porównanie natężenia ekspresji Erβ w jamie ustnej i pochwie poprzez analizę barwnych strątów w jądrach 200 różnych komórek przedstawiono w tabeli I. Porównano natężenie ogólnej ekspresji Erβ pomiędzy komórkami jamy ustnej i pochwy w zależności od rodzaju terapii. Zauważono, że w przypadku terapii miejscowej występują różnice istotne statystycznie w każdym analizowanym czasie badania. W przypadku terapii doustnej jedynie natężenie ogólne po 3 miesiącach różni się pomiędzy jamą ustną i pochwą ($p=0,013$).

Zastosowanie terapii transdermalnej nie powoduje istotnych statystycznie różnic między natężeniem Erβ w nabłonku błony śluzowej jamy ustnej i pochwy. Przyrost ekspresji Erβ w jamie ustnej i pochwie u pacjentek stosujących terapię miejscową różni się we wszystkich okresach pomiaru. Przyrost natężenia ekspresji w pochwie jest wysoki natomiast w jamie ustnej jest nieznaczny (ryc. 1).

Przyrost natężenia ekspresji Erβ w jamie ustnej

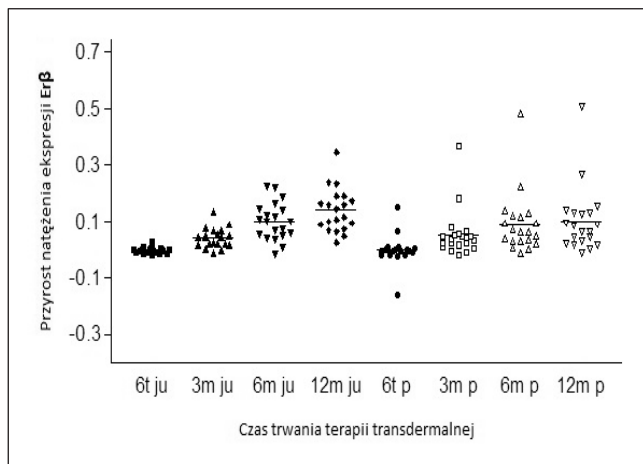


Ryc. 1. Ocena natężenia ekspresji Erβ w jamie ustnej i pochwie w terapii miejscowej w kolejnych pomiarach.



Ryc. 2. Ocena natężenia ekspresji Erβ w jamie ustnej i pochwie w terapii doustnej w kolejnych pomiarach.

i pochwie pod wpływem terapii doustnej różni się, jest wyższy w jamie ustnej we wszystkich okresach terapii w porównaniu do natężenia Erβ w błonie śluzowej pochwy (ryc. 2). Terapia transdermalna



Ryc. 3. Ocena natężenia ekspresji $Er\beta$ w jamie ustnej i pochwie w terapii transdermalnej w kolejnych pomiarach.

powodowała porównywalny przyrost ekspresji $Er\beta$ w kolejnych pomiarach (ryc. 3).

Dyskusja

Przemiany hormonalne dokonujące się w organizmie kobiety w czasie menopauzy prowadzą do szeregu zmian w wielu narządach wewnętrznych, skórze i błonie śluzowej (14). Błona śluzowa jamy ustnej i pochwy reaguje podobnie na niedobór poziomu estrogenów. Wyniki badań naukowych zarówno doświadczalnych, klinicznych jak i epidemiologicznych wskazują na korzyści wynikające z zastępczego leczenia hormonalnego menopauzy (HTM) (1, 2, 3, 4, 5, 15). Korzyści ze stosowania tej terapii oraz związane z nią objawy uboczne są analizowane w aspekcie lokalizacji, ekspresji i funkcji receptorów estrogenowych w różnych tkankach i narządach (9, 10, 11, 16). Do oznaczania receptora estrogenowego najczęściej są wykorzystywane reakcje immunohistochemiczne, immunofluorescencyjne, hybrydyzacja *in situ* oraz metoda RT-PCR (20, 21, 23, 24). Najwyższy poziom $Er\beta$ zlokalizowano w jajniku, gruczole sutkowym, macicy, płucach, naczyniach krwionośnych, nadnerczach, tarczycy, skórze, błonie śluzowej jamy ustnej. Receptora $Er\beta$ nie wykryto w mózgdzku i wątrobie (12, 17, 18).

Grinspan i wsp. zbadali 500 kobiet z dolegliwościami jamy ustnej określanymi zespołem palącej jamy ustnej (BMS). Stwierdzili, że 77% pacjentek

była w okresie okołomenopauzalnym. Potwierdzają to także badania *Miller* i wsp., którzy zaobserwowali występowanie tego zespołu u kobiet w wieku 60-70 lat. U badanych pacjentek z rozpoznaniem BMS stwierdzono współwystępowanie zaburzeń psychicznych pod postacią depresji i lęków (2, 3).

Taylor i wsp. w swoich badaniach oceniali występowanie receptora $Er\beta$ w różnych tkankach ludzkich w reakcjach immunohistochemicznych (17). *Ojanoko-Harri* i wsp. badali obecność receptorów androgenowych w błonie śluzowej jamy ustnej w biopsji policzka i dziąsła pobranych od zdrowych kobiet i mężczyzn. Badania immunohistochemiczne tych autorów wykazały brak receptora estrogenowego i progesteronowego oraz dominację receptora androgenowego we wszystkich warstwach nabłonka, zwłaszcza w warstwie podstawnej i fibroblastach. Autorzy są zdania, że niewykrycie receptora estrogenowego mogło być spowodowane zbyt małą czułością użytych przeciwciał (19).

Obecności receptora estrogenowego nie wykazała także *Leimola-Virtanen* i wsp. oceniając w 1997r. w badaniach immunohistochemicznych błonę śluzową pobraną z biopsji policzka (20). Autorzy ci w 2000r. ocenili ekspresję receptora estrogenowego w błonie śluzowej policzka i gruczołach ślinowych. Pozytywne wyniki uzyskano z zastosowaniem metody PCR i Western Blot, natomiast nie wykryto Er w reakcjach immunohistochemicznych.

Valimaa i wsp. w 2004 r. wykazali w błonie śluzowej jamy ustnej obecność $Er\beta$, natomiast nie potwierdzili występowania receptora $Er\alpha$. Badania przeprowadzono w grupie 16 kobiet i 8 mężczyzn z wykorzystaniem biopsji błony śluzowej policzka, dziąsła oraz gruczołów ślinowych metodą immunohistochemiczną. Receptor $Er\beta$ obecny był w jądrach komórek wszystkich warstw nabłonka włącznie z komórkami podstawnymi, a nie występował w komórkach powierzchniowych. Zaobserwowano większą ekspresję $Er\beta$ w komórkach nabłonka dziąsła niż błony śluzowej policzka. $Er\beta$ występował również w gruczołach ślinowych u 12 z 13 badanych pacjentek. Ekspresję $Er\beta$ zaobserwowano nie tylko w jądrze, ale również w cytoplazmie komórek gruczołów ślinowych. Nie wykryto obecności $Er\alpha$ w gruczołach ślinowych jamy ustnej (21).

Forabosco i wsp. ocenili metodą immunohistochemiczną występowanie receptora estrogenowego

w błonie śluzowej jamy ustnej kobiet w wieku rozrodczym oraz w okresie menopauzy. Pacjentki w okresie menopauzy zgłaszały liczne dolegliwości ze strony jamy ustnej. Autorzy nie określili rodzaju badanego receptora, można przypuszczać, opierając się na doniesieniach innych autorów, że był to Erβ. Receptor estrogenowy występował u 8 z 10 pacjentek w okresie menopauzy oraz u 6 z 10 kobiet płodnych. Ekspresja receptora estrogenowego była najbardziej intensywna w komórkach nabłonka jamy ustnej. Badania *Farabosco* sugerują związek między objawami klinicznymi i zmianami mikroskopowymi w błonie śluzowej jamy ustnej. Uważają, że receptor estrogenowy występuje wybiórczo u niektórych kobiet, a identyfikacja tego receptora przy użyciu immunohistochemii może pomóc w identyfikacji tych pacjentek, dla których HTM będzie dobroczynna (22).

W badaniach *Gebharda* i wsp. stwierdzono wysoki poziom ekspresji Erβ w nabłonku pochwy u pacjentek w wieku premenopauzalnym oraz niską ekspresję receptora estrogenowego w okresie menopauzy. W badaniach tych autorzy stwierdzili także wzrost ekspresji Erβ pod wpływem terapii hormonalnej u pacjentek w okresie menopauzy (24).

W badaniach własnych przeprowadzonych w grupie 60 kobiet w okresie menopauzy z zastosowaniem metod immunohistochemicznych stwierdzono występowanie receptora Erβ w nabłonku błony śluzowej jamy ustnej i pochwy u wszystkich badanych pacjentek. Należy sądzić, iż rodzaj i jakość użytych przeciwciał oraz zastosowana metoda immunohistochemiczna, umożliwiającą dokładne zlokalizowanie receptora Erβ w komórce, pozwoliły na jego wykrycie. Ekspresję receptora Erβ zlokalizowano głównie w jądrze komórkowym, ale także w cytoplazmie komórkowej. Przeprowadzone badania potwierdzają doniesienia *Forabosco* i *Valimaa* oraz *Gebharda* (22, 21, 24).

W przeprowadzonych badaniach własnych oceniono również ekspresję Erβ pod wpływem zastosowanej terapii hormonalnej podawanej doustnie, transdermalnie i dopochwowo. Dokonano porównania ekspresji Erβ w komórkach nabłonka jamy ustnej i pochwy. Ekspresja receptora Erβ w błonie śluzowej jamy ustnej zmieniła się pod wpływem terapii doustnej i transdermalnej w porównywalnym stopniu, terapia dopochwowa nie wpłynęła na

wzrost ekspresji receptora Erβ w błonie śluzowej jamy ustnej. Ekspresja Erβ w nabłonku pochwy osiągnęła największy przyrost pod wpływem terapii miejscowej, zaś zdecydowanie mniejszy pod wpływem terapii doustnej i transdermalnej. Największy przyrost ekspresji w jamie ustnej i pochwie występował po 3 miesiącach trwania terapii. Należy zatem oczekiwać, że poprawę stanu błony śluzowej jamy ustnej można uzyskać u kobiet stosując terapię hormonalną podawaną drogą doustną i transdermalną już po okresie około 3 miesięcy. Natomiast istotną poprawę stanu błony śluzowej pochwy uzyskamy stosując terapię miejscową po 3 miesiącach.

Na podstawie przeprowadzonych badań wysunięto następujące wnioski:

1. Pod wpływem hormonalnej terapii menopauzalnej ekspresja receptora Erβ w nabłonku błony śluzowej jamy ustnej u kobiet wzrastała, najlepsze wyniki uzyskano za pomocą terapii doustnej i transdermalnej.
2. W świetle przeprowadzonych badań dolegliwości okresu klimakterium jak piekąca jama ustna, suchość i drażliwość błony śluzowej jamy ustnej wydaje się być wskazaniem do wdrożenia hormonalnej terapii menopauzalnej metodą doustną i/lub transdermalną.

Piśmiennictwo

1. *Jakowicki J.*: Klimakterium. Hormonalna terapia zastępcza. Poradnik terapeutyczny. Biofolium, 2001.
2. *Grinspan D., Blanco G., Allevato M.*: Burning mouth syndrome. *International Journal of Dermatology*, 1995; 34 (483-487).
3. *Miller I., Kurnatowska A., Miller A.*: Zespół piekących ust – cechy kliniczne i współwystępowanie zaburzeń psychicznych. *Czas. Stomatol.*, 2004; 12: 775-783.
4. *Bergdahl J., Anneroth G., Anneroth I.*: Clinical study of patients with burning mouth. *Scand. J. Dent. Res.*, 1994; 102: 299-305.
5. *Sawczuk B., Mazurek M., Gołębiowska M.*: Co stomatolog powinien wiedzieć na temat menopauzy. *Mag. Stomat.*, 2006; 5 (172): 82-83.
6. *Beato M., Truss M., Chavez S.*: Control of transcription by steroid hormones. *Ann. N. Y. Acad. Sci. Usa.*, 1996; 784: 93-123.

7. Tkaczyk M., Kalita K.: Receptor estrogenowy beta–budowa, regulacja i funkcja. *Postępy Biochemii*, 2001; 47 (1): 73-79.
8. Jakimiuk A., Bogusiewicz M., Tarnowski R.: Ekspresja receptora estrogenowego alfa i beta w prawidłowych tkankach macicy u kobiet przed menopauzą. *Przeg. Menopauz.*, 2003; 6: 12-17.
9. Brodowska A., Laszczyńska M., Starczewski A.: Zmiany lokalizacji i funkcji receptora estrogenowego alfa w jajniku kobiet po menopauzie w porównaniu z wiekiem rozrodczym. *Pol. Merk. Lek.*, 2000; 23 (135): 231-234.
10. Brodowska A., Laszczyńska M., Starczewski A.: The localization of estrogen receptor alfa and its function in ovaries of postmenopausal women. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 2007; 45 (4): 325-330.
11. Słomczyńska M.: Receptory hormonów steroidowych – budowa i funkcja. *Postępy Biologii Komórki*, 1995; 22 (1): 3-21.
12. Taylor A. H., Al-Azzawi F.: Immunolocalisation of oestrogen receptor beta in human tissues. *J. Mol. Endocrinol.*, 2000; 24: 145-155.
13. Skatba P.: Hormonalna terapia zastępcza; PZWL, 2005.
14. Swartz D. P.: Human reproduction. The menopause in practical points in gynecology. Medical Examination Publishing Co. New Hyde Park New York, 1984: 85-94.
15. Genazzani A., Gambacciani M.: HRT in the third millennium. *Maturitas*, 2001; 38 (1) Supl: 49-55.
16. Bilj P., Armored D., Ivor O.: Permeation of 17β-estradiol through human vaginal and buccal mucosa. *Oral Surg. Oral Med. Oral Patrol.*, 1998; 85: 393-398.
17. Taylor A. H., Al-Azzawi F.: Immunolocalisation of oestrogen receptor beta in human tissues. *J. Mol. Endocrinol.*, 2000; 24: 145-155.
18. Mosselman S., Pohlman J., Dijkema R.: Er beta: identification and characterisation of novel human estrogen receptor. *FEBS Lett.*, 1996; 392: 49-53.
19. Ojanoko-Harri A., Forssell H., Laine M.: Immunohistochemical detection of androgen receptors in human oral mucosa. *Archs. Oral Biol.*, 1992; 37(6): 511-514.
20. Leimola-Virtanen R., Pennanen R., Syrjanen K.: Estrogen response in buccal mucosa– a cytological and immunohistological assay. *Maturitas*, 1997; 27: 41-45.
21. Valimaa H., Savolainen S., Soukka T.: Estrogen receptor beta is the predominant estrogen receptor subtype in human oral epithelium and salivary glands. *J. Endocrinol.*, 2004; 180: 55-62.
22. Forabosco A., Criscuolo M., Coukos G.: Efficacy of hormone replacement therapy in postmenopausal women with oral discomfort. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 1992; 73: 570-574.
23. Cavallini A., Dinario E., Giocolano A.: Estrogen receptor and Er-related receptor expression in normal and atrophic human vagina. *Maturitas*, 2008; 59: 219-225.
24. Gebhart J., Rickard D., Barrett T.: Expression of estrogen receptor isiforms α and β messenger RNA in vaginal tissue of premenopausal and postmenopausal women. *Am. J. Obsert. Gynecol.*, 2001; 185: 1325-1331.

Zaakceptowano do druku: 1.VI.2012 r.

Adres autorów: 15-276 Białystok, ul. M. C. Skłodowskiej 24a.

© Zarząd Główny PTS 2012.