

## Znaczenie ekspresji receptorów estrogenowych alfa i beta w przebiegu różnego rodzaju starzenia się skóry

### *Significance of expression of estrogenic receptors alpha and beta during the course of various types of skin ageing*

Barbara Zegarska<sup>1</sup>, Wojciech Józwicki<sup>2</sup>, Wojciech Zegarski<sup>3</sup>, Rafał Czajkowski<sup>4</sup>, Marta Pokrywczyńska<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Zakład Kosmetologii *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu; kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Barbara Zegarska

<sup>2</sup>Zakład Patologii Nowotworów i Patomorfologii *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, Centrum Onkologii im. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy; kierownik Zakładu: dr n. med. Wojciech Józwicki

<sup>3</sup>Klinika Chirurgii Onkologicznej *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, Centrum Onkologii w Bydgoszczy; kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Wojciech Zegarski, prof. Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika

<sup>4</sup>Zakład Inżynierii Tkankowej Katedry Biologii Medycznej *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu; kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Gerard Drewa

Przeгляд Menopauzalny 2011; 3: 241–248

### Streszczenie

**Wstęp:** Starzenie się skóry jest procesem złożonym o różnych mechanizmach biologicznych, biochemicznych i molekularnych. U kobiet dużą rolę w procesie starzenia odgrywa brak pobudzenia receptorów estrogenowych (*estrogen receptor – ER*).

**Cel badań:** Ocena różnicy stopnia ekspresji receptorów estrogenowych alfa ( $ER\alpha$ ) i beta ( $ER\beta$ ) w naskórku i w skórze właściwej w przebiegu różnego rodzaju starzenia się skóry.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto grupę 60 zdrowych kobiet z różnymi objawami starzenia skóry w wieku 26–62 lat, a następnie wyodrębniono trzy niezależne grupy – każda licząca po 20 osób. Do grupy I zaliczono kobiety z objawami starzenia menopauzalnego skóry, grupę II stanowiły kobiety z objawami fotostarzenia, a grupę III z objawami starzenia chronologicznego. Od wszystkich badanych pobierano wycinki do badań immunohistochemicznych z okolicy przedusznej. Oznaczenia ekspresji  $ER\alpha$  i  $ER\beta$  dokonano przy użyciu monoklonalnych przeciwciał mysich przeciw ludzkiemu receptorowi (*monoclonal mouse anti-human estrogen receptor*), odpowiednio:  $\alpha$  – klon 1D5 o izotypie IgG1 kappa i  $\beta$  – klon PPG5/10.

**Wyniki:** U większości badanych we wszystkich grupach, zarówno w naskórku, jak i w skórze właściwej nie obserwowano ekspresji  $ER\alpha$ , a jeśli była stwierdzana, to o słabej intensywności i rozległości. Ekspresja  $ER\beta$  występowała u wszystkich badanych zarówno w naskórku, jak i skórze właściwej o różnej intensywności i rozległości, przy czym najsilniejsza była w grupie I.

#### Wnioski:

1. Nie ma znamienych różnic w intensywności i rozległości ekspresji  $ER\alpha$  w grupach starzenia chronologicznego, menopauzalnego i fotostarzenia.
2. Istnieje znamienne większa intensywność i rozległość ekspresji  $ER\beta$  w przebiegu starzenia menopauzalnego.

**Słowa kluczowe:** starzenie się skóry, receptory estrogenowe, menopauza.

Adres do korespondencji:

Barbara Zegarska, Zakład Kosmetologii *Collegium Medicum* w Bydgoszczy, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Jagiellońska 13-15, 85-067 Bydgoszcz, e-mail: baskazegarska@op.pl

## Summary

**Background:** Skin ageing is a complicated process of various biological, biochemical and molecular mechanisms. It seems that a significant role in the ageing process in women is played by lack of stimulation of oestrogenic receptors (ER).

**Aim of the study:** To assess differences in the degree of expression of ER $\alpha$  and ER $\beta$  receptors in the epidermis and in the corium during the course of various types of skin ageing.

**Material and methods:** The study included a group of 60 healthy women with various symptoms of skin ageing, from 26 to 62 years old. Three independent groups were distinguished; each group contained 20 persons. Group I consisted of women with symptoms of menopausal skin ageing, group II comprised women with symptoms of photoageing, and group III included women with symptoms of chronological ageing. Biopsy specimens were taken in all women from the pre-auricular region for immunohistochemical examinations. Measurements concerning expression of ER $\alpha$  and ER $\beta$ 1 receptors were performed using monoclonal mouse antibodies against human receptor  $\alpha$  (Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor  $\alpha$ , clone 1D5, of IgG1 kappa isotype) and  $\beta$ 1 (Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor  $\beta$ 1, clone PPG5/10), respectively.

**Results:** ER $\alpha$  expression was not observed in the majority of studied women in all groups both in the epidermis and in the corium, and even if expression was found, its intensity and extent were small. ER $\beta$ 1 expression occurred in all analysed women both in the epidermis and in the corium with various intensity and extent, but was the strongest in group I.

### Conclusions:

1. There are no statistically significant differences in intensity and extent of ER $\alpha$  expression in groups of chronological and menopausal ageing and photoageing women.
2. There is significantly higher intensity and extent of ER $\beta$ 1 expression during menopausal ageing.

**Key words:** skin aging, oestrogenic receptors, menopause.

## Wstęp

Proces starzenia się skóry jest złożony i zależny od różnych mechanizmów biologicznych, biochemicznych i molekularnych. Wyróżnia się kilka typów starzenia skóry:

- starzenie wewnątrzpochodne – związane z wiekiem (chronologiczne) i hormonalne (menopauzalne);
- starzenie zewnątrzpochodne – powstające pod wpływem czynników zewnętrznych, związane z nadmierną ekspozycją na promieniowanie UV (fotostarzenie) oraz związane z dymem papierosowym (skóra palacza);
- starzenie mimiczne (miostarzenie) [1–3].

Estrogeny produkowane w komórkach ziarnistych pęcherzyków jajnikowych wywierają silny wpływ zarówno na procesy biologiczne przebiegające w skórze, jak i na jej skład. Istnieją dwie drogi działania estrogenów – pierwsza i główna przez receptory dla steroidów płciowych oraz druga poprzez błonową drogę wiązania z komórką docelową [4, 5]. Receptory steroidowe zidentyfikowane w 1976 r. na fibroblastach przez Strumpfa należą do wspólnej grupy receptorów jądrowych dla hormonów tarczycy, witaminy D<sub>3</sub> oraz witaminy A. Ich rozmieszczenie oraz liczba uzależnione są od obszaru skóry, przy czym największe nagromadzenie stwierdzono w skórze twarzy, okolicy narządów płciowych i kończyn dolnych. Receptory estrogenowe występują w tkance mózgowej, gruczołach piersiowych, kościach, układzie sercowo-naczyniowym oraz w narządach moczowo-płciowych [6].

Wyróżnia się dwa typy ER, które są odrębnymi białkami – receptor estrogenowy alfa (ER $\alpha$ ) i receptor

estrogenowy beta (ER $\beta$ ). Receptor estrogenowy alfa został zidentyfikowany w 1986 r., kodowany jest na chromosomie 6. i zlokalizowany na fibroblastach oraz makrofagach. Receptor estrogenowy beta został zidentyfikowany w 1996 r., a kodowany jest na chromosomie 14., występuje na keratynocytach warstwy podstawnej naskórka, melanocytach, komórkach dendrytycznych oraz śródbłonku naczyń [4, 7, 8]. W syntezie estrogenów znaczną rolę odgrywa również aromataza występująca na fibroblastach, adypocytach, mieszkach włosowych i gruczołach łojowych. Przekształca ona androstendion do estronu, który z kolei pod wpływem dehydrogenazy 17 $\beta$ -hydroksysteroidowej przekształcany jest w estradiol (E<sub>2</sub>) [9].

## Cel pracy

Celem pracy była ocena różnicy stopnia ekspresji ER $\alpha$  i ER $\beta$  w naskórku i w skórze właściwej w przebiegu różnego rodzaju starzenia się skóry.

## Materiał i metody

Badaniem objęto grupę 60 zdrowych kobiet z różnymi objawami starzenia skóry w wieku 26–62 lat, a następnie wyodrębniono trzy niezależne grupy – każda licząca po 20 osób.

Do grupy I zaliczono kobiety z objawami starzenia menopauzalnego skóry w wieku 45–62 lat, średnia wieku 52,70  $\pm$  4,73 roku, niepalące, niemiesiączkujące, niestosujące hormonalnej terapii zastępczej (HTZ), nie-

korzystające z solarium i kąpeli słonecznych oraz stosujące fotoprotekcję.

Grupę II (fotostarzenie) stanowiło 20 kobiet w wieku 26–49 lat, średnia wieku wynosiła  $38,3 \pm 7,46$  roku. W grupie tej 11 (55%) badanych paliło papierosy – od kilkunastu do kilkudziesięciu dziennie. Do grupy tej zaliczono kobiety miesiączkujące, niestosujące HTZ oraz antykoncepcji hormonalnej. Badane często korzystały z kąpeli słonecznych, korzystały z solarium 2–12 razy w miesiącu oraz nie stosowały fotoprotekcji.

Trzecia grupa to kobiety z objawami starzenia chronologicznego skóry w wieku 49–62 lat – średnia  $55 \pm 3,78$  roku. Wszystkie kobiety zaliczone do tej grupy nie paliły, stosowały HTZ w trakcie badania, nie korzystały z solarium, nie opalały się na słońcu oraz stosowały na co dzień fotoprotekcję.

### Badanie immunohistochemiczne

Wycinki do badań immunohistochemicznych pobierano w znieczuleniu miejscowym 2-procentowym roztworem lignokainy (bez adrenaliny) z okolicy przedusznej, za pomocą Biopsy punch i utrwalano w 10-procentowej buforowanej formalinie. Następnie rutynowo przeprowadzano wycinki tkankowe i zatapiano w kostki parafinowe, z których skrawano skrawki tkankowe grubości 5  $\mu\text{m}$ .

Oznaczenia ekspresji ER $\alpha$  i ER $\beta$ 1 dokonano przy użyciu monoklonalnych przeciwciał mysich przeciw ludzkiemu receptorowi (*monoclonal mouse anti-human estrogen receptor*), odpowiednio  $\alpha$  – klon 1D5 o izotypie IgG1 kappa – i  $\beta$ 1 – klon PPG5/10.

Determinanty antygenowe, po odparafinowaniu i uwodnieniu skrawków tkankowych, przez 20 min poddawano działaniu mikrofali (kuchenka mikrofalowa 650 Watt) w środowisku buforu TRIS/EDTA o pH 9,0. Endogenną peroksydazę blokowano 3-procentowym nadtlenkiem wodoru. Reakcję z właściwym pierwotnym przeciwciałem przeprowadzano w komorze wilgotnej przez okres 30 min, w rozcieńczeniu 1 : 100 dla ER $\alpha$  i 1 : 10 dla ER $\beta$ 1. Wizualizację wykonywano metodą *en vision* (DAKO system).

Oceny badań dokonywano z użyciem mikroskopu świetlnego OLYMPUS BX50, przy powiększeniu 200  $\times$ . Oceniano intensywność i rozległość reakcji w naskórku oraz w skórze właściwej. Intensywność reakcji barwnej w naskórku i skórze właściwej oceniano w 4-stopniowej, subiektywnej skali, gdzie: 0 – całkowity brak reakcji, 1 – słaba reakcja, 2 – średnia reakcja i 3 – silna reakcja. Rozległość reakcji w naskórku mierzono odsetkiem wybarwionych komórek warstwy podstawnej: 0 – brak komórek, 1 – do 25% komórek, 2 – 26–50% komórek, 3 – 51–75% komórek i 4 – 76–100% komórek. Rozległość reakcji w skórze właściwej mierzono bezwzględną liczbą wybarwionych fibroblastów: 0 – brak komórek, 1 – kilka fibroblastów, 2 – kilkanaście fibroblastów, 3 – kilkadziesiąt fibroblastów i 4 – kilkaset fibroblastów.

### Analiza statystyczna

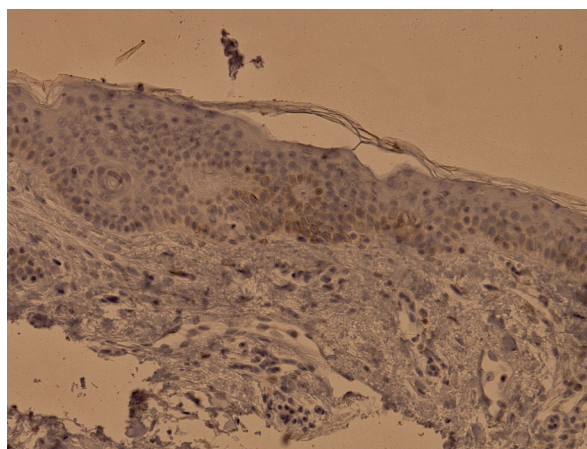
Interpretację otrzymanych wyników oparto na standardowych metodach statystycznych. Wybór testu statystycznego w przypadku rozkładu normalnego uzależniono od wyniku porównania wariancji. W przypadku braku podstaw do odrzucenia hipotezy o równości wariancji stosowano klasyczny test t-Studenta, natomiast w wypadkach uzasadniających odrzucenie tej hipotezy wykorzystano uogólniony test t-Studenta (test Cochana-Coxa).

### Wyniki badań

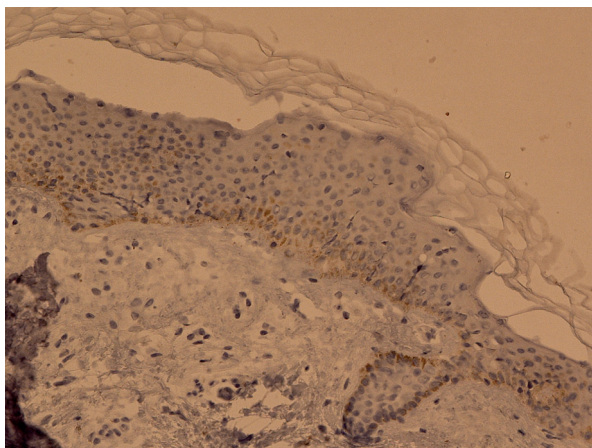
W grupie I u większości kobiet nie stwierdzano ekspresji ER $\alpha$  zarówno w obrębie naskórka u 13 (65%), jak i w skórze właściwej u 14 (70%) badanych. Ekspresję ER $\alpha$  o słabej intensywności w naskórku obserwowano u 7 (35%) badanych kobiet, a w skórze właściwej u 6 (30%; ryc. 1.). Notowano rozległość ekspresji w naskórku i w skórze właściwej 1. i 2. stopnia. W grupie II w naskórku ER $\alpha$  stwierdzono tylko u 6 (30%) badanych, a w skórze właściwej u 2 (10%) kobiet. Stopień ekspresji i rozległości zarówno w naskórku, jak i w skórze właściwej był 1. lub 2. stopnia (ryc. 2.). W grupie III tylko u 5 (25%) badanych kobiet obserwowano obecność ekspresji ER $\alpha$  w naskórku i u 3 w skórze właściwej o intensywności 1. lub 2. stopnia. Podobnie rozległość ekspresji stwierdzana w naskórku i w skórze właściwej była 1. lub 2. stopnia (ryc. 3.). Wyniki badań przedstawiono w tabeli I.

Porównując stopień intensywności ekspresji (ryc. 4.) i rozległości (ryc. 5.) ER $\alpha$  w naskórku pomiędzy wszystkimi badanymi grupami, stwierdzono, że nie różniły się one znamienne statystycznie ( $p > 0,05$ ).

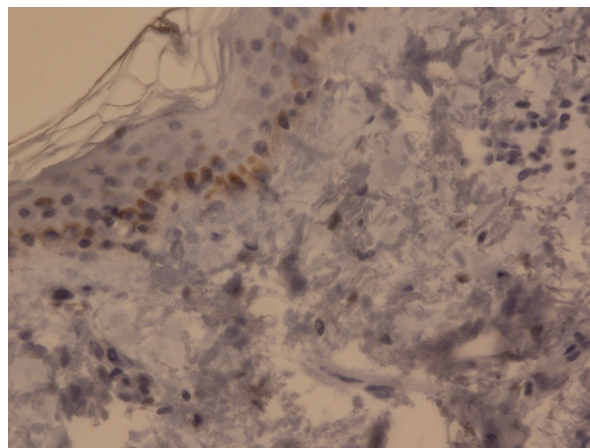
Podczas analizy poziomu intensywności i rozległości ekspresji ER $\alpha$  w skórze właściwej pomiędzy wszystkimi



Ryc. 1. Widoczne pojedyncze receptory estrogenowe alfa o słabej intensywności (1. stopnia) w naskórku i w skórze właściwej; powiększenie 200  $\times$  (grupa I)



Ryc. 2. Widoczne receptory estrogenowe alfa w naskórku o słabej intensywności (1. stopnia) i rozległości (2. stopnia); powiększenie 200 × (grupa II)



Ryc. 3. Widoczne pojedyncze receptory estrogenowe alfa o średniej intensywności (2. stopnia) w naskórku; powiększenie 400 × (grupa III)

Tab. I. Ocena ekspresji receptorów estrogenowych alfa i beta jeden – grupy I, II, III

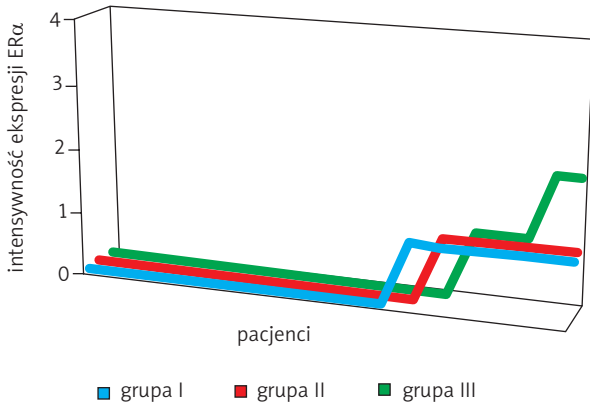
Lp.	Intensywność ekspresji						Rozległość ekspresji					
	naskórek			skóra właściwa			naskórek			skóra właściwa		
	gr. I $\alpha/\beta 1$	gr. II $\alpha/\beta 1$	gr. III $\alpha/\beta 1$	gr. I $\alpha/\beta 1$	gr. II $\alpha/\beta 1$	gr. III $\alpha/\beta 1$	gr. I $\alpha/\beta 1$	gr. II $\alpha/\beta 1$	gr. III $\alpha/\beta 1$	gr. I $\alpha/\beta 1$	gr. II $\alpha/\beta 1$	gr. III $\alpha/\beta 1$
1.	1/2	0/2	0/2	0/1	2/2	0/1	4/3	0/4	0/4	0/2	1/2	0/2
2.	1/2	1/1	0/2	0/1	0/1	0/1	2/4	1/1	0/1	0/2	0/1	0/2
3.	0/3	1/2	0/2	1/2	0/2	0/2	0/4	1/4	0/4	1/3	0/3	0/2
4.	1/2	0/2	1/2	1/2	0/2	0/2	1/3	0/2	1/2	1/3	0/2	0/1
5.	1/2	0/1	2/2	0/1	0/1	2/2	1/3	0/1	1/4	0/1	0/1	2/1
6.	0/2	1/2	2/2	0/2	1/2	2/1	0/3	2/4	1/1	0/3	1/3	1/1
7.	0/2	0/1	1/1	0/2	0/1	0/1	0/3	0/4	1/1	0/2	0/2	0/1
8.	1/1	0/1	0/2	0/1	0/1	2/1	1/3	0/4	0/3	0/2	0/1	1/1
9.	0/2	1/2	0/1	0/2	0/2	0/1	0/3	2/3	0/2	0/2	0/2	0/3
10.	0/2	1/1	1/1	0/2	0/1	0/1	0/1	2/2	1/2	0/1	0/1	0/1
11.	0/2	0/1	0/1	2/2	0/2	0/2	0/2	0/4	0/4	1/2	0/3	0/2
12.	0/2	0/1	0/2	2/2	0/1	0/1	0/2	0/3	0/3	2/2	0/2	0/2
13.	0/2	1/1	0/1	1/3	0/1	0/1	0/2	1/3	0/1	1/2	0/1	0/2
14.	1/2	0/1	0/1	1/2	0/1	0/1	1/2	0/3	0/1	1/2	0/1	0/1
15.	1/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/4	0/3	0/1	0/1	0/1	0/1
16.	0/1	0/1	0/1	0/2	0/2	0/1	0/1	0/2	0/1	0/1	0/2	0/1
17.	0/1	0/1	0/1	0/2	0/2	0/1	0/4	0/2	0/4	0/2	0/2	0/1
18.	0/2	0/2	0/2	0/2	0/1	0/2	0/2	0/2	0/2	0/1	0/1	0/1
19.	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/2	0/2	0/1	0/1
20.	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/2	0/2	0/1	0/2	0/2

grupami zaznaczały się pewne różnice, ale nie były one istotne statystycznie (ryc. 6. i 7.).

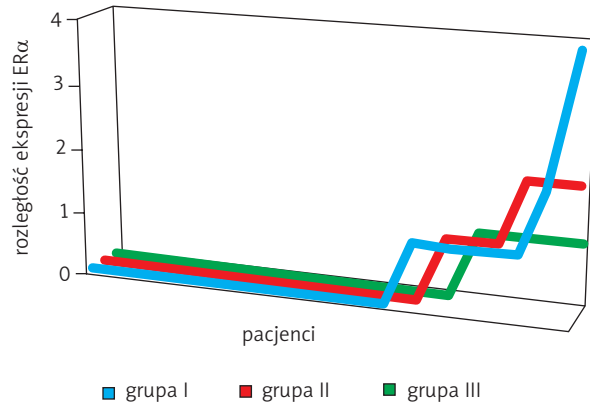
Oceniając stopień ekspresji ER $\beta$ 1 w badanych grupach, stwierdzono w grupie I u wszystkich badanych ekspresję ER $\beta$ 1 w naskórku i w skórze właściwej (ryc. 8.). Najczęściej, bo aż u 15 (75%) badanych stwierdzono

w naskórku ekspresję o średniej intensywności (2. stopnia), a u 1 osoby – 3. stopnia. W skórze właściwej również najczęściej występowała ekspresja o intensywności 2. stopnia. Rozległość ekspresji była zróżnicowana od 1. do 4. stopnia w naskórku i od 1. do 3. stopnia w skórze właściwej. W grupie II u 14 (70%) badanych kobiet

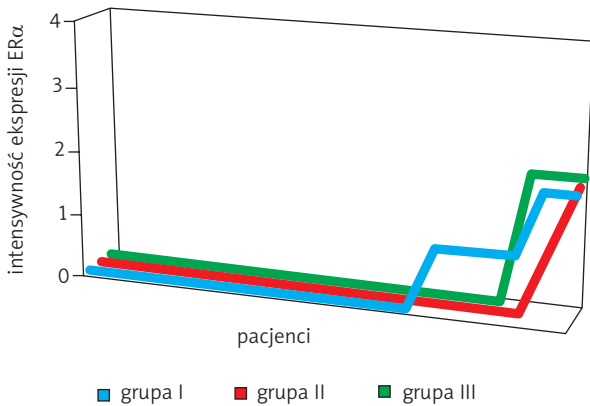




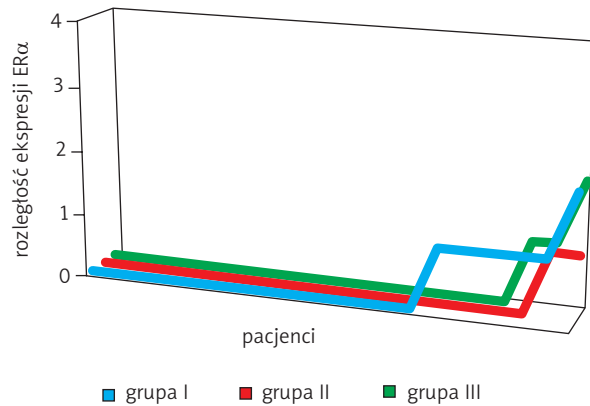
Ryc. 4. Porównanie stopnia intensywności ekspresji receptorów estrogenowych alfa w naskórku



Ryc. 5. Porównanie rozległości ekspresji receptorów estrogenowych alfa w naskórku

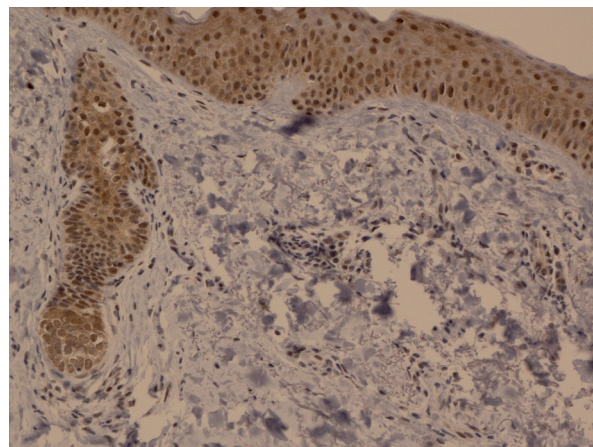


Ryc. 6. Porównanie stopnia intensywności ekspresji receptorów estrogenowych alfa w skórze właściwej

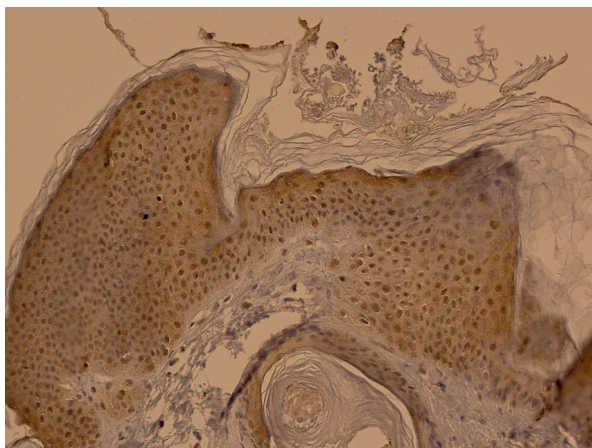


Ryc. 7. Porównanie rozległości ekspresji receptorów estrogenowych alfa w skórze właściwej

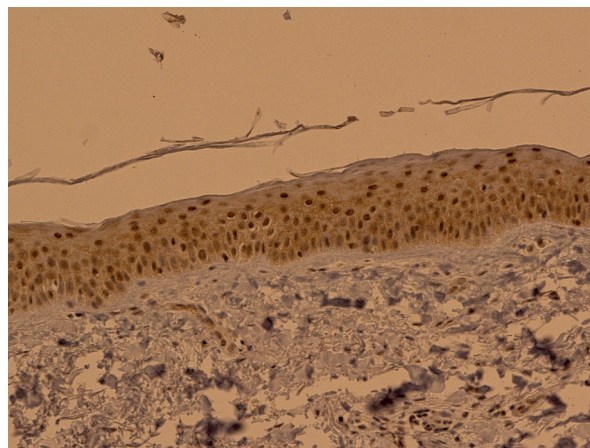
ekspresję ERβ1 w naskórku oceniano jako 1. stopnia, a u 6 (30%) badanych 2. stopnia. W skórze właściwej również u wszystkich kobiet obserwowano ekspresję ERβ1 o różnej intensywności, zarówno 1. stopnia u 12 (60%) badanych, jak i 2. stopnia u 8 (40%) badanych. Rozległość w naskórku i w skórze właściwej u 11 (55%) badanych osób była 3. lub 4. stopnia (ryc. 9.). W grupie III w naskórku ekspresja ERβ1 1. stopnia występowała u 11 (55%) badanych, natomiast w skórze właściwej u 14 (70%) kobiet. Ekspresję tego receptora o 2. stopniu intensywności stwierdzono u 9 (45%) badanych w naskórku i u 6 (30%) w skórze właściwej (ryc. 10.). Rozległość ekspresji w naskórku i w skórze właściwej była zróżnicowana. W naskórku rozległość 1. stopnia stwierdzono u 6 (30%), 2. u 7 (35%), a 3. u 3 (15%) oraz 4. stopnia u 4 (20%) badanych. W skórze właściwej rozległość ERβ1 była najczęściej 1. stopnia (12 badanych,



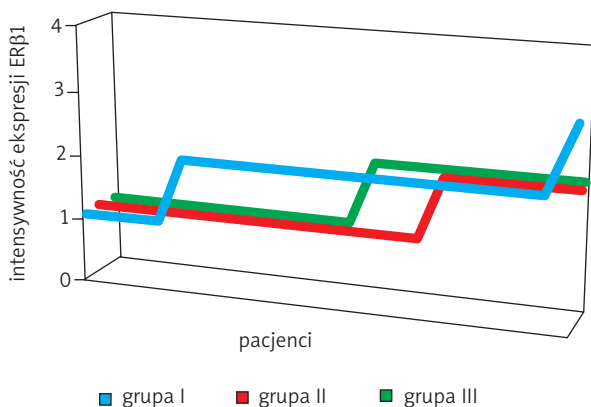
Ryc. 8. Widoczne liczne receptory estrogenowe beta jeden w naskórku i skórze właściwej o silnej intensywności (3. stopnia); powiększenie 200 × (grupa I)



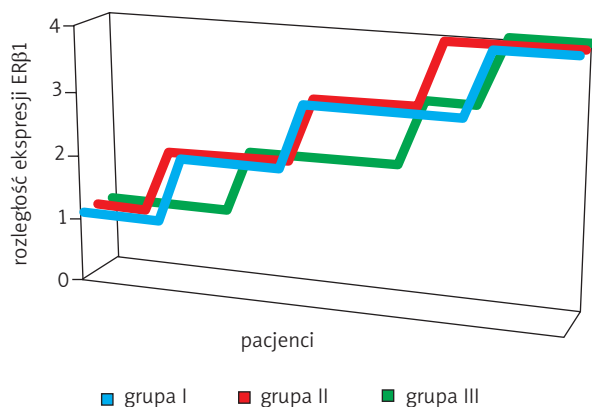
**Ryc. 9.** Widoczne receptory estrogenowe beta jeden o średniej intensywności (2. stopnia) i rozległości (4. stopnia) w naskórku oraz o średniej intensywności (2. stopnia) i rozległości (2. stopnia) w skórze właściwej; powiększenie 200 × (grupa II)



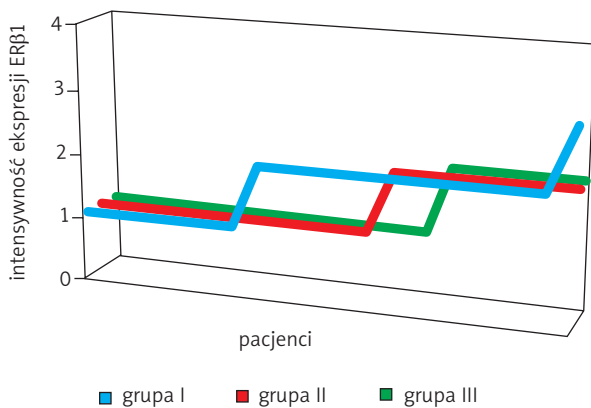
**Ryc. 10.** Widoczne liczne receptory estrogenowe beta jeden o średniej intensywności (2. stopnia) w naskórku oraz pojedyncze w skórze właściwej; powiększenie 200 × (grupa III)



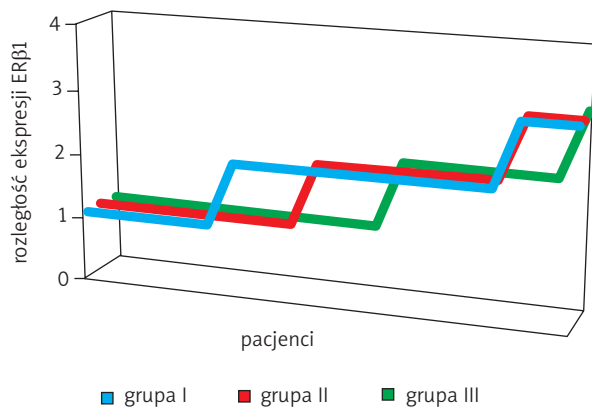
**Ryc. 11.** Porównanie intensywności ekspresji receptorów estrogenowych beta jeden w naskórku



**Ryc. 12.** Porównanie rozległości ekspresji receptorów estrogenowych beta jeden w naskórku



**Ryc. 13.** Porównanie intensywności ekspresji receptorów estrogenowych beta jeden w skórze właściwej



**Ryc. 14.** Porównanie rozległości ekspresji receptorów estrogenowych beta jeden w skórze właściwej

tj. 60%) oraz 2. stopnia. Dokładne dane przedstawiono w tabeli I.

Porównując nasilenie ekspresji ERβ1 w naskórku pomiędzy grupami I i III oraz II i III stwierdzono, że nie różniły się znamienne statystycznie, ale różniły się istotnie pomiędzy grupą I i II przy  $p = 0,0015$  (ryc. 11.). Rozległość ekspresji ERβ1 w naskórku pomiędzy grupami I i II oraz II i III nie różniła się znamienne statystycznie, natomiast istotna statystycznie różnica występowała przy porównaniu grupy I z III ( $p = 0,01$ ; ryc. 12.).

Analizując stopień intensywności i rozległości ekspresji ERβ1 w skórze właściwej pomiędzy grupami I i II oraz II i III, stwierdzono pewne różnice, ale nie były one znamienne statystycznie ( $p > 0,05$ ). Istotnie statystyczna różnica w stopniu ekspresji ERβ1 w skórze właściwej występowała pomiędzy grupami I i III, przy  $p = 0,027$  oraz bliska istotności statystycznej ( $p = 0,056$ ) była różnica rozległości pomiędzy grupami I i III (ryc. 13. i 14.).

## Dyskusja

Na podstawie badań wielu autorów stwierdzono, że zmiany w obrębie ERα i ERβ odgrywają znaczącą rolę we wszystkich rodzajach starzenia się skóry. Rozmieszczenie ERα i ERβ w skórze jest nieco odmienne, ale zarówno ERα, jak i ERβ wykazują wysokie powinowactwo i swoistość do swoich ligandów oraz wysoki stopień podobieństwa w zakresie wiązań DNA. Mogą tworzyć formy homodimeryczne i heterodimeryczne. Każdy z badanych receptorów (ERα i ERβ) sygnalizuje to w całkiem odmienny sposób. Receptor estrogenowy alfa wzmacnia czynnik transkrypcji jądrowej AP-1 podczas tworzenia kompleksu z E<sub>2</sub>, czego nie zaobserwowano w przypadku ERβ. Prawdopodobnie ERα i ERβ odgrywają różną rolę w regulacji genów, a wartość ich stężenia w tkankach może mieć wpływ na estrogenową reaktywność komórek. Największe nagromadzenie ER występuje w obrębie skóry twarzy, dlatego też proces starzenia skóry najbardziej nasilony jest w tej okolicy [6, 8, 10–12].

Autorzy zajmujący się problemem starzenia skóry, zwłaszcza znaczeniem zaburzeń hormonalnych w okresie menopauzalnym, zwracają uwagę na wpływ zmniejszenie stężenia estrogenów na kliniczny i histopatologiczny obraz skóry twarzy. Z danych piśmiennictwa wiadomo, że zmniejszenie stężenia estrogenów w okresie menopauzy nasila procesy starzenia się skóry u kobiet [13, 14]. Terapia hormonalna stosowana w tym okresie (HTZ) polegająca na ciągłym lub cyklicznym przyjmowaniu preparatów złożonych znacznie poprawia wygląd skóry, wywołując efekt jej nawilżenia, zwiększenia jej elastyczności i zmniejszenia skali atrofii naskórka [15–17]. Według innych autorów, stosowanie HTZ ma niewielki wpływ na poprawę kondycji skóry [18]. Ostatnio duże nadzieje związane są z zastosowaniem nowych preparatów, pobudzających w sposób selektywny ER (*selective estrogen receptor modulators* – SERM). Leki te działają

wybiórczo na ER nie tylko w skórze, ale także w innych tkankach, takich jak kości czy mózg. W skórze pobudzają produkcję kolagenu poprzez pobudzenie fibroblastów i działają silniej niż E<sub>2</sub> [19].

W opisywanym badaniu nie zaobserwowano statystycznie znamiennego wpływu stosowania HTZ na intensywność i rozległość ekspresji ERα i ERβ. Być może sugerowane przez innych autorów odpowiednio duże dawki estrogenów spowodowałyby stosowną poprawę stanu skóry [8, 12].

W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych dotyczących oceny ekspresji ERα i ERβ w skórze w zależności od okresu życia, typu i zaawansowania procesu starzenia skóry. Spadek aktywności estrogenów powoduje brak stymulacji ERα i ERβ, co prowadzi do zaburzenia wytwarzania kolagenu, kwasu hialuronowego, glikozaminoglikanów (GAG) i proteoglikanów (PG) [8, 12].

W badanych grupach tylko w pojedynczych przypadkach stwierdzono ekspresję ERα o słabej lub średniej ekspresji. W grupie I, w naskórku, obserwowano ekspresję receptora u 35%, a w skórze właściwej u 30% kobiet. Rozległość ERα w naskórku i w skórze właściwej była niewielka. W grupie II tylko u niektórych badanych obecna była słaba ekspresja ERα o niewielkiej rozległości, zarówno w naskórku, jak i w skórze właściwej, podczas gdy u większości nie było jej wcale. W grupie III tylko u 25% badanych kobiet obserwowano obecność ekspresji w naskórku i tylko u 15% w skórze właściwej. Nie stwierdzono statystycznie znamienych różnic w intensywności oraz rozległości ekspresji ERα w naskórku i w skórze właściwej pomiędzy grupami. W zdrowych tkankach na ogół nie obserwuje się ekspresji tego receptora. Receptor estrogenowy alfa w warunkach fizjologicznych jest obecny w tkankach macicy, zarówno w tkance mięśniowej ściany, jak i w błonie śluzowej, a także w komórkach ziarnistych jajnika i komórkach prostaty. Wysoką ekspresję ERα stwierdza się przeważnie w tkankach patologicznych, np. w raku sutka [20].

W skórze i jej strukturach obecne są głównie receptory ERβ. Występują we wszystkich warstwach naskórka oraz w warstwie brodawkowej skóry właściwej, w mieszkach włosowych i w gruczołach łojowych. W analizowanym badaniu we wszystkich grupach u wszystkich badanych stwierdzono ekspresję ERβ1 o różnej intensywności i rozległości. W naskórku najsilniejsza ekspresja na poziomie stopnia 2. występowała u 75% badanych grupy I, a u 1 badanej tej grupy stwierdzono 3. stopień intensywności, podczas gdy w grupie II i III przeważał 1. stopień ekspresji, który był znamienne dla grupy II. Intensywność ekspresji różniła się istotnie pomiędzy grupą I i II przy  $p = 0,0015$ . Również w skórze właściwej ekspresja ERβ1 była największa w grupie I i w odniesieniu do grupy III statystycznie znamienne. Chociaż nie obserwowano statystycznie znamiennej różnicy w intensywności ekspresji ERβ1 w skórze właściwej w grupach I i II oraz II i III, zauważono tendencję

do występowania słabszej reakcji (1. stopień) w grupach II i III. W skórze właściwej I grupy intensywność i rozległość ekspresji ER $\beta$ 1 była największa i w porównaniu z grupą III różniła się znamienne zarówno w naskórku, jak i w skórze właściwej.

Receptor estrogenowy beta jeden występuje w prawidłowych tkankach gruczołów sutkowych, adypocytach, mięśniówce gładkiej naczyń, komórkach ziarnistych jajnika, a także w tkankach macicy [8, 9, 21]. W badaniach Jakimiuka i wsp. dotyczących ekspresji receptorów estrogenowych ER $\alpha$  i ER $\beta$  w okresie menopauzalnym autorzy nie stwierdzili różnicy pomiędzy ekspresją w mięśniach gładkich ściany i w błonie śluzowej w macicy u zdrowych kobiet. Inni autorzy zwracają uwagę na utratę lub zmniejszenie ekspresji ER $\beta$  w raku sutka, jajników i okrężnicy, w porównaniu z ekspresją receptora w zdrowych tkankach [20, 22]. Bardzo interesujące badania przeprowadzili Brincat i wsp. u kobiet w okresie menopauzalnym z czerniakiem skóry. Autorzy stwierdzili wzmożoną ekspresję ER w obrębie zmian nowotworowych, sugerując wpływ zmian hormonalnych na rozwój tej choroby [8, 22].

W opisywanych badaniach obserwowano nieznacznie większą ekspresję ER $\alpha$  i ER $\beta$ 1 w grupie kobiet z objawami starzenia menopauzalnego. Większa ekspresja, zwłaszcza ER $\beta$ 1 w tej grupie, może być wynikiem zwiększenia liczby receptorów spowodowanego biologicznym efektem wzrostu ekspresji receptora w obecności niedoboru stymulatora. Nie można wykluczyć, że oznaczenie poziomu ekspresji ER może być przydatne przy ocenie zmian w skórze właściwej w przebiegu starzenia.

## Wnioski

1. Nie ma znamienych różnic w intensywności i rozległości ekspresji ER $\alpha$  w grupach starzenia chronologicznego, menopauzalnego i fotostarzenia.
2. Istnieje znamienne większa intensywność i rozległość ekspresji ER $\beta$ 1 w przebiegu starzenia menopauzalnego.

## Piśmiennictwo

1. Gilchrist BA. Skin aging 2003: recent advances and current concepts. *Cutis* 2003; 72 (Suppl): 5-10.
2. Yaar M. Skin aging. Molecular mechanisms, structural and functional decrements. *Advances in healthy skin*, 2001.

3. Yaar M, Gilchrist BA. Skin aging: postulated mechanisms and consequent changes in structure and function. *Clin Geriatr Med* 2001; 17: 617-30.
4. Trznadel-Budżko E, Rotsztejn H. Wpływ hormonów na hamowanie procesu starzenia się skóry. *Przeł Menopauz* 2007; 6: 381-3.
5. Kanda N, Watanabe S. Regulatory roles of sex hormones in cutaneous biology and immunology. *J Dermatol Sci* 2005; 38: 1-7.
6. Strupmf WE, Sur M, Joshi S. Oestrogen target cells in the skin. *Experientia* 1976; 30: 176-7.
7. Shah MG, Maibach HI. Estrogen and skin. An overview. *Am J Clin Dermatol* 2001; 2: 143-50.
8. Brincat MP, Baron YM, Galea R. Estrogens and the skin. *Climacteric* 2005; 8: 110-23.
9. Quatresooz P, Piérard-Franchimont C, Gaspard U, Piérard GE. Skin climacteric aging and hormone replacement therapy. *J Cosmet Dermatol* 2006; 5: 3-8.
10. Broniarczyk-Dyla G, Joss-Wichman E. Ageing of the skin during menopause. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; 15: 494-5.
11. Calleja-Agius J, Muscat-Baron Y, Brincat MP. Skin ageing. *Menopause Int* 2007; 13: 60-4.
12. Yaar M, Eller MS, Gilchrist BA. Fifty years of skin aging. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2002; 7: 51-8.
13. Raine-Fenning NJ, Brincat MP, Muscat-Baron Y. Skin aging and menopause: implications for treatment. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4: 371-8.
14. Thornton MJ. The biological actions of estrogens on skin. *Exp Dermatol* 2002; 11: 487-502.
15. Piérard-Franchimont C, Letawe C, Goffin V, Piérard GE. Skin water-holding capacity and transdermal estrogen therapy for menopause: a pilot study. *Maturitas* 1995; 22: 151-4.
16. Verdier-Sévrain S, Bonté F, Gilchrist B. Biology of estrogens in skin: implications for skin aging. *Exp Dermatol* 2006; 15: 83-94.
17. Hall G, Phillips TJ. Estrogen and skin: the effects of estrogen, menopause, and hormone replacement therapy on the skin. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: 555-68.
18. Phillips TJ, Symons J, Menon S; HT Study Group. Does hormone therapy improve age-related skin changes in postmenopausal women? A randomized, double-blind, double-dummy, placebo-controlled multicenter study assessing the effects of norethindrone acetate and ethinyl estradiol in the improvement of mild to moderate age-related skin changes in postmenopausal women. *J Am Acad Dermatol* 2008; 59: 397-404.
19. Verdier-Sévrain S. Effect of estrogens on skin aging and the potential role of selective estrogen receptor modulators. *Climacteric* 2007; 10: 289-97.
20. Dżiduch P, Bogusiewicz M, Haczyński J i wsp. Ekspresja receptora estrogenowego alfa i beta w prawidłowych tkankach macicy u kobiet przed menopauzą. *Przeł Menopauz* 2003; 6: 12-17.
21. Zegarska B, Woźniak M. Wpływ estrogeny na zmiany zachodzące w skórze. *Przeł Menopauz* 2007; 4: 233-8.
22. Brincat M, Moniz CF, Studd JW, et al. Sex hormones and skin collagen content in postmenopausal women. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983; 287: 1337-8.

*Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Collegium Medicum w dniu 09.10.2007 r. KB/581/2007*