

## Physiological significance of estrogens in men - breakthrough in endocrinology

Krzysztof Kula<sup>1</sup>, Jolanta Słowikowska-Hilczer<sup>1</sup>, Renata Walczak-Jędrzejowska<sup>1</sup>, Piotr Kula<sup>2</sup>, Elżbieta Oszukowska<sup>1</sup>, Katarzyna Marchlewska<sup>1</sup>, Jerzy Krzysztof Wranicz<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Andrology and Endocrinology of Fertility, Institute of Endocrinology, Medical University, Łódź,

<sup>2</sup> Department of Cardiac Surgery, Medical University, Łódź,

<sup>3</sup> Department of Cardiology, Medical University, Łódź

### Summary

Estradiol ( $E_2$ ) is traditionally recognised as the female sex hormone. It has been believed for 40 years, that  $E_2$  didn't exert any influence or caused impairment of the gonadal function in men. The main source of  $E_2$  in men is adipose tissue and the brain.  $E_2$  is also produced in adrenals, liver, mammary glands, hair and in male gonad. Daily production and the level of  $E_2$  in the blood in men are higher than those in postmenopausal women. At the end of the 80-ties we were first reporting that during sexual maturation  $E_2$  can be the important hormonal signal for the initiation of spermatogenesis. The traditional view about unimportant or inhibitory role of  $E_2$  in male physiology was finally refuted thanks to discovering estrogen receptors in males. In the 90-ties, transgenic mice

with the lack of estrogen receptor (ER) or gene encoding enzyme aromatase, that enable the conversion of testosterone into  $E_2$ , were also produced. Observations of men with inherited mutations of these genes, considerably extended our knowledge about  $E_2$  in men in stroma bones formation, inhibition of their growing, lipids metabolism and sexual maturation, the effects that were attributed to testosterone action until today. New data also points at important role of estrogens and ER in the function of the cardio-vascular system and in counteracting coronary disease in men.

**Key words:** aromatase, estradiol, testes, spermatogenesis, bones, metabolism of lipids, cardio-vascular system

## Znaczenie fizjologiczne estrogenów u mężczyzn - przełom w endokrynologii

Krzysztof Kula<sup>1</sup>, Jolanta Słowikowska-Hilczer<sup>1</sup>, Renata Walczak-Jędrzejowska<sup>1</sup>, Piotr Kula<sup>2</sup>, Elżbieta Oszukowska<sup>1</sup>, Katarzyna Marchlewska<sup>1</sup>, Jerzy Krzysztof Wranicz<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Zakład Andrologii i Endokrynologii Płodności, Instytut Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

<sup>2</sup> Klinika Kardiologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

<sup>3</sup> Klinika Kardiologii, I Katedra Kardiologii i Kardiologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

### Streszczenie

Estradiol ( $E_2$ ) jest tradycyjnie uznanym żeńskim hormonem płciowym. Przez 40 lat wierzono, że u mężczyzn  $E_2$  nie wywiera żadnego wpływu lub wywołuje uszkodzenie czynności gonady. Głównym źródłem  $E_2$  u mężczyzn jest tkanka tłuszczowa i mózg.  $E_2$  jest również wytwarzany w nadnerczach, wątrobie, gruczołach sutkowych i włosach oraz w gonadzie męskiej. Dzielne wytwarzanie i stężenie  $E_2$  we krwi u mężczyzn są wyższe niż u kobiet w okresie pomenopauzalnym. W końcu lat 80-tych wykazaliśmy po raz pierwszy, że w okresie dojrzewania płciowego  $E_2$  jest istotnym sygnałem hormonalnym dla zapoczątkowania spermatogenezy. Tradycyjny pogląd o braku lub hamującej roli  $E_2$  u płci męskiej został ostatecznie obalony dzięki odkryciu receptorów estrogenowych u samców zwierząt. W latach 90-tych wytworzono też samce myszy transgenicznych pozbawione receptora estrogenowego (ER), a także genu kodującego enzym aromatazę, umożliwiającego konwersję testosteronu do  $E_2$ . Obserwacje dorosłych mężczyzn z wrodzonymi mutacjami tych genów, znacznie poszerzyły naszą wiedzę na temat roli  $E_2$  u mężczyzn przy tworzeniu zrębu kości, hamowaniu ich wzrostu,

metabolizmie lipidów i dojrzewaniu płciowym, efektem przypisywanym dotychczas działaniu testosteronu. Nowe dane wskazują także na ważną rolę estrogenów i ER w czynności układu sercowo-naczyniowego i w przeciwdziałaniu chorobie wieńcowej u mężczyzn.

**Słowa kluczowe:** aromataza, estradiol, jądra, spermatogeneza, kości, metabolizm lipidów, układ sercowo-naczyniowy

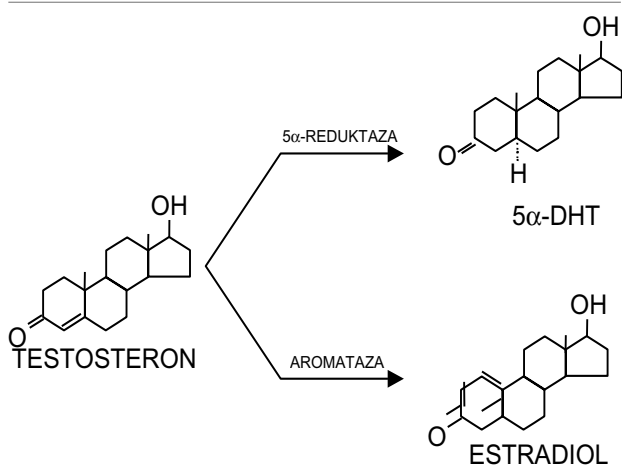


Prof. dr hab. med. Krzysztof Kula  
Kierownik Zakładu Andrologii  
i Endokrynologii Płodności  
Instytut Endokrynologii UM w Łodzi  
ul. Dr Sterlinga 5  
91-425 Łódź,  
e-mail: kkula@csk.am.lodz.pl

### Steroidy płciowe u mężczyzn

W tradycyjnym pojęciu androgeny wywołują: 1) organogenezę układu płciowego w życiu płodowym tj. różnicowanie kanałów Wolffa w wewnętrzne narządy płciowe męskie (działanie testosteronu – T) i różnicowanie płodowej zatoki moczowo-płciowej w zewnętrzne narządy płciowe męskie (działanie dihydrotestosteronu – DHT), 2) różnicowanie płciowe mózgu tj. rozwój męskiej identyfikacji płciowej w okresie płodowym i rozwój popędu płciowego od okresu dojrzewania płciowego, 3) somatyczne objawy dojrzewania płciowego u chłopców, 4) współdziałanie z FSH w regulacji spermatogenezy, 5) męski typ rozwoju kości i zakończenie wzrostu chrząstek nasad kości długich, 6) rozwój mięśni szkieletowych, 7) pobudzenie czynności krwiotwórczej szpiku, i 8) regulację czynności układu immunologicznego.

W komórkach Leydiga wytwarzane są T i androstendion, natomiast w wielu tkankach obwodowych T jest przekształcany do aktywniejszego biologicznie androgeny, tj. DHT i estradiolu ( $E_2$ ). W DHT pierścień A rdzenia steroidowego ulega tzw.  $5\alpha$ -redukcji pod wpływem enzymu  $5\alpha$ -reduktazy. W  $E_2$  pierścień A ulega aromatyzacji pod wpływem enzymu aromatazy (ryc. 1), kodowanego przez pojedynczy gen CYP19. T i DHT mają wspólny receptor androgenowy, a  $E_2$  – osobny, estrogenowy.  $E_2$  wytwarzany jest też przez komórki Leydiga, komórki Sertoliego i komórki plemnikotwórcze [4]. Podczas gdy cały T krążący we krwi mężczyzny jest wytwarzany w jądrze, większość krążącego DHT i  $E_2$  pochodzi z przemian T w tkankach obwodowych.



Rycina 1. Konwersja testosteronu do  $5\alpha$ -dihydrotestosteronu ( $5\alpha$ -DHT) i estradiolu.

Figure 1. Testosterone conversion into  $5\alpha$ -dihydrotestosterone ( $5\alpha$ -DHT) and estradiol.

O ile w okresie przeddojrzewaniowym u zwierząt miejscem wytwarzania  $E_2$  są komórki Sertoliego, to w okresie dojrzałości płciowej są nimi komórki

Leydiga gruczołu śródmiąższowego [44, 45, 63].  $E_2$  uważany jest za czynnik regulujący lokalnie czynność jądra. Ma on wpływ na namnażanie komórek Sertoliego i Leydiga [45]. Jego parakryne i/lub autokryne działanie polega na hamowaniu wytwarzania T w jądrze [39].

Biosynteza LH w przysadce i pośrednio wydzielanie T w jądrze są zależne od gonadoliberyny (GnRH), hormonu wytwarzanego przez podwzgórze. Odpowiednio wysokie stężenie T i jego pochodnych (DHT i  $E_2$ ) we krwi powoduje zahamowanie wydzielania GnRH (ujemne sprzężenie zwrotne) oraz zmianę częstotliwości i amplitudy pulsów wydzielania GnRH [12]. T i DHT zmniejszają ich częstotliwość. Natomiast  $E_2$  obniża amplitudę pulsów LH oraz FSH [69].

### Wydzielanie T i $E_2$ u mężczyzn

T w surowicy krąży w formie związanej głównie z białkiem wiążącym steroidy płciowe - sex hormone binding globulin (SHBG) - z grupy globulin, a także z albuminami. Aktywna biologicznie jest tylko postać wolna T, nie związana z SHBG. W praktyce oznacza się stężenie całkowitego T, który u zdrowego dorosłego mężczyzny ma szeroki zakres od 12 do 40 nmol/l (300 do 1200 ng/dl) w surowicy. Dolna granica normy nie jest jednoznacznie określona i podawana często jako 7 nmol/l (200 ng/dl) [18]. Stężenie wolnego T u mężczyzny wynosi 5,6-10,2 ng/dl w surowicy. Stężenie androstendionu wynosi 0,3 – 3,1 ng/ml. Stężenie całkowitego  $E_2$  u mężczyzny wynosi 13,6 – 44,9 pg/ml.

Głównym źródłem  $E_2$  u mężczyzny jest tkanka tłuszczowa i mózg.  $E_2$  u mężczyzny jest również wytwarzany w nadnerczach, wątrobie, gruczołach sutkowych i włosach. Najmniejszą rolę w wytwarzaniu  $E_2$  przypisuje się natomiast gonadzie męskiej (5%). Dzielne wytwarzanie i stężenie  $E_2$  we krwi u mężczyzny są wyższe niż u kobiet w okresie pomenopauzalnym [19].

Ludzka gonadotropina kosmówkowa (hCG), która pobudza steroidogenezę jąder płodowych, jest uzyskiwana z moczu kobiet ciężarnych i ma aktywność biologiczną taką samą jak LH, a więc pobudza biosyntezę i wydzielanie T z komórek Leydiga. hCG stosowana jest w teście diagnostycznym przy wnetrostwie dla zbadania czy obecne są jądra. U zdrowych dorosłych mężczyzn stwierdziliśmy, że po jednorazowym podaniu domięśniowym hCG (5000 j.m.), stężenie  $E_2$  we krwi osiąga najwyższy poziom już po upływie 24 godz. od podania, wyprzedzając znacznie maksymalną odpowiedź T, która pojawia się dopiero po 72 godz. Wskazuje to, że  $E_2$  jest syntetyzowany w jądrze i tam akumulowany, a jego gotowość wydzielnicza przewyższa gotowość wydzielniczą T lub, że hCG pobudza aromatyzację T do  $E_2$  w krótkim czasie po podaniu (działanie pozagenomiczne?) [43].

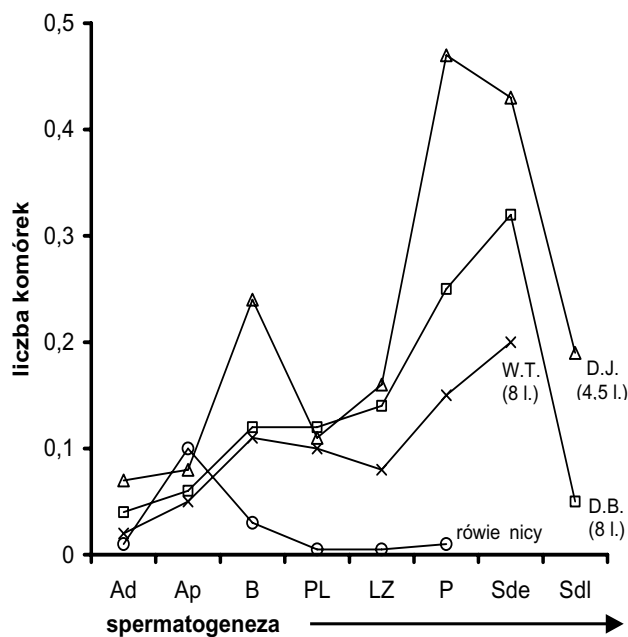
### Wykazanie dodatniej roli „żeńskiego hormonu” w fizjologii jąder

$E_2$  jest tradycyjnie uznanym żeńskim hormonem płciowym, bo wytwarzany jest w jajniku i spełnia kluczową rolę w dojrzewaniu płciowym i regulacji procesów rozrodczych u kobiety. Przez 40 lat wierzono, że u mężczyzn  $E_2$  nie wywiera żadnego wpływu lub wywołuje uszkodzenie czynności gonady.

Tymczasem w 1988 roku wykazaliśmy po raz pierwszy, że w okresie dojrzewania pod wpływem  $E_2$  zwiększeniu ulega liczebność macierzystych komórek plemnikotwórczych – spermatogonii typu A, komórek zapoczątkowujących spermatogenezę [29]. 12 lat później Ebling i wsp. [9] wywołali pełną spermatogenezę do plemników włącznie u myszy transgenicznym z wrodzonym hipogonadyzmem, pozbawionych genu kodującego GnRH, poprzez implantację peletki wydzielającej  $E_2$  i w ten sposób znormalizowanie poziomu  $E_2$  we krwi.  $E_2$  wywołał jednak wydzielanie FSH, przez co nie można było wykluczyć współdziałania FSH w wywołaniu spermatogenezy. W latach 1999 - 2001 stwierdziliśmy, że chociaż  $E_2$  zastosowany w niższych dawkach niż poprzednio [29] hamuje biosyntezę T i wzrost jądra, to we współdziałaniu z FSH nasila 30-to krotnie pobudzający wpływ FSH na dojrzewanie gonady męskiej i przedwcześnie wywołuje pierwszą spermatogenezę [66, 33]. Wydaje się więc, że w okresie rozwojowym  $E_2$  jest istotnym sygnałem hormonalnym dla dojrzewania jąder i zapoczątkowania spermatogenezy.

W badaniach klinicznych potwierdziliśmy, że w okresie rozwojowym  $E_2$  może współdziałać z T przy rozpoczęciu spermatogenezy. Mianowicie u chłopców w wieku 5-8 lat z przedwczesnym dojrzewaniem płciowym rzekomym (guz komórek Leydiga lub testotoksykoza), przy znacznie zwiększonym wydzielaniu T i  $E_2$  przez jądro, pojawia się pełna spermatogeneza do plemników włącznie (ryc. 2) [30, 50, 56]. Ochronne działanie  $E_2$  w stosunku do ludzkich komórek plemnikotwórczych, poprzez hamowanie ich apoptozy in vitro, wykazali w 2000 r. Pentikäinen i wsp. [46].  $E_2$  bezpośrednio pobudza namnażanie płodowych komórek płciowych – gonocytów u samców in vitro, przez co uczestniczy w płodowym rozwoju jądra [36].

Wyniki te całkowicie zmieniły dotychczasowy pogląd o uszkadzającym działaniu  $E_2$  w męskim układzie płciowym. Istniały bowiem dane, że okołourodzeniowa ekspozycja na podawane z zewnątrz substancje estrogenopodobne powoduje zahamowanie wzrostu gonady męskiej, a u dojrziałych zwierząt prowadzi do trwałej niepłodności [61]. Rzeczywiście,  $E_2$  w dawkach farmakologicznych powoduje zarówno hamowanie wydzielania FSH i LH [6] jak i hamowanie dojrzewania komórek Sertoliego, które uczestniczą w regulacji wytwarzania plemników [55].



Inicjały (wiek)	FSH (IU/l)	LH (IU/l)	T (ng/ml)	$E_2$ (pg/ml)
D.J. (4,5 l.)	0,9	2,6	4,4	145,5
D.B. (8 l.)	00,8	11,1	7,3	14,8
W.T. (8 l.)	-	-	12,0	20,1
rówieśnicy	1,4 ±1,0	0,9±0,5	0,9±0,1	≤1,0

#### Rycina 2.

Średnie liczebności komórek plemnikotwórczych w przekroju poprzecznym kanalika jądra, reprezentujących kolejne etapy spermatogenezy (od lewej do prawej) u chłopców z przedwczesnym dojrzewaniem płciowym rzekomym w wieku 4,5- 8 lat, w porównaniu z grupą rówieśników ( $n=5$ ). Przedwczesnej spermatogenezie towarzyszyło nadmierne wydzielanie estradiolu i testosteronu. W tabeli poziomy gonadotropin (FSH i LH) i steroidów płciowych (T- testosteron,  $E_2$  - estradiol). [wg. Kula i Słowikowska-Hilczer, 1996, uzupełnione]

Ad – spermatogonie ciemne, Ap – spermatogonie jasne, B – spermatogonie typu B, PL – spermatocyty preleptotenu, LZ – spermatocyty zygotenu, P – spermatocyty pachytenu, Sde – spermatydy wczesne, Sdl – spermatydy późne wraz z dojrzałymi plemnikami.

#### Figure 2.

Mean numbers of spermatogenic cells per seminaltubule cross-section representing subsequent steps of spermatogenesis (from the left to the right) in boys 4,5 to 8 years old with precocious pseudo-puberty compared with age-matched group ( $n=5$ ). Precociously complete spermatogenesis was accompanied by excessive secretion of estradiol and testosterone. The levels of gonadotropins (FSH and LH) and sex hormones (T – testosterone,  $E_2$  - estradiol) in the table. [according to Kula and Słowikowska-Hilczer, 1996, supplemented]

Ad – dark spermatogonia, Ap- pale spermatogonia, B- type B spermatogonia, PL- preleptotene spermatocytes, LZ – zygotene spermatocytes, P – pachytene spermatocytes, Sde – early spermatids, Sdl – late spermatids with spermatozoa.

Kliniczna wiedza o szkodliwym oddziaływaniu  $E_2$  u mężczyzn powstała z obserwacji, gdzie związki chemiczne estrogenopodobne (np. dietylstilbestrol), podawano mężczyznom z rakiem stercza. Mianowicie, rozwój raka stercza ulega promocji pod wpływem T. Przy leczeniu tego nowotworu stosuje się między innymi tzw. kastrację farmakologiczną. W tym celu podawano mężczyznom wysokie dawki substancji o działaniu estrogenopodobnym, które hamowały wydzielanie FSH, LH i T. Hamowanie procesu nowotworowego łączy się nie tylko z obniżeniem wydzielania LH i T, ale i z atrofią jąder [20, 53]. Podobnie, stosując wysokie farmakologiczne dawki dietylstilbestrolu, wysnuto pogląd o uszkadzającym wpływie estrogenów na rozwój męskiego układu płciowego u myszy [1, 37]. W obliczu przedstawionych tutaj danych pogląd ten wydaje się być nieprawdziwy i dotyczyć może tylko dietylstilbestrolu, a nie  $E_2$ .

Tradycyjny pogląd, że estrogeny są tylko „żeńskimi”, a androgeny, tylko „męskimi” hormonami płciowymi uległ zachwianiu. Wiara, że skoro estrogeny wytwarzane są w jajnikach, a androgeny w jądrach, to są one odpowiedzialne za odrębność cech płciowych żeńskich i męskich, uległa znacznym modyfikacjom.

### Odkrycie receptorów estrogenowych u płci męskiej

Tradycyjny pogląd o nieistotnej lub hamującej roli  $E_2$  w fizjologii osobników płci męskiej został ostatecznie obalony dzięki badaniom molekularnym.

Badania na myszach transgenicznym pozbawionych eksperymentalnie receptora estrogenowego (ER) (myszy ERKO) umożliwiły poznanie wielu miejsc działania  $E_2$  u samców [10, 35]. Myszy te mają prawidłowo zróżnicowane jądra i męski układ płciowy. W okresie dojrzewania w jądrach powstają komórki plemnikotwórcze, ale w okresie dojrzałości płciowej (od 8 tyg. życia) wytwarzanie plemników maleje i ustaje. W tym czasie obserwuje się postępujące poszerzanie światła kanalików jądra i dróg wyprowadzających plemniki. Należy więc przypuszczać, że niedobór  $E_2$  przy zapoczątkowaniu spermatogenezy jest kompensowany przez inne lokalne czynniki (np. FSH lub T). Zagadnienie to jest przedmiotem naszych badań. Przypuszcza się też, że przyczyną tak późnego zaburzenia płodności zwierząt jest brak wtórnego wchłaniania płynu kanalikowego w najądrzu, co jest skutkiem wzmożonego ciśnienia wewnątrzkanalikowego i stąd „mechanicznej”, uciskowej przyczyny zaburzeń wytwarzania plemników [22].

U osobników płci męskiej obecne są dwa rodzaje receptorów dla  $E_2$ : ER $\alpha$  (estrogen receptor  $\alpha$ ) i ER $\beta$  (estrogen receptor  $\beta$ ) [28, 42, 62], a ostatnio wykryto u mężczyzn dodatkowo ER $\gamma$  [21]. Obecnie wiadomo, że ER znajdują się nie tylko w układzie rozrodczym,

ale i w wielu innych narządach samców zwierząt i mężczyzn, włącznie z układem sercowo-naczyniowym, mózgiem i kośćmi. W sąsiedztwie ER stwierdzono obecność receptorów androgenowych, a także aromatazę, enzym konwertujący T do  $E_2$ , co wskazuje, że lokalna równowaga między obecnością i działaniem T i  $E_2$  ostatecznie odpowiada za efekty działania obu hormonów płciowych u mężczyzn. Rola  $E_2$  w hamowaniu wydzielania gonadotropin została potwierdzona u mężczyzn z naturalnym brakiem aromatazy, bo zaburzenie to współistnieje z nadmiernym wydzielaniem FSH i LH. Nadmiar LH wywołuje zaś nadmierną biosyntezę T (tabela I). Podobne zmiany występują u zwierząt transgenicznych pozbawionych aromatazy (ArKO – aromatase knockout).

**Tabela I.** Poziomy hormonów we krwi u mężczyzn z brakiem aromatazy i brakiem receptora estrogenowego  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) [wg. Grumbach i Auchus, 1999]

**Table I.** Hormone levels in the blood in men with the lack of aromatase and with the lack of estrogen receptor  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) [according to Grumbach and Auchus, 1999]

Hormony	Aromataza (-)	ER $\alpha$ (-)	Norma
Testosteron (ng/dl)	2015	445	200-1200
Estron (pg/ml)	<7	145	30-85
Estradiol (pg/ml)	<7	142	10-50
FSH (mIU/ml)	28	33	5,0-9,9
LH (mIU/ml)	26	37	2,0-9,9

### Rola $E_2$ w rozwoju płciowym mózgu

W okresie okołourodzeniowym, pod wpływem androgenów, następuje ustalenie charakterystycznego dla płci męskiej acyklicznego typu wydzielania gonadoliberyny przez podwzgórze oraz samczy typ zachowania przy kopulacji (odruch krycia) [47]. Wykryto także, że podwzgórze i układ limbiczny, które kontrolują zachowania płciowe u kręgowców, zawierają receptory dla T i  $E_2$  oraz aromatazę metabolizującą T do  $E_2$  [41]. T wywołuje zarówno wzrost jądra przedwzrostowego przyśrodkowego podwzgórza w mózgu jak i męskie zachowania płciowe [24]. Wcześniej postulowano, że T działa po przekształceniu do  $E_2$  w tych okolicach mózgu zwierząt [51]. W mózgu dorosłych mężczyzn aktywność aromatazy jest trzykrotnie wyższa niż u kobiet [52]. Brak maskulinizacji mózgu u płodów żeńskich zwierząt tłumaczono brakiem wydzielania  $E_2$  przez płodowy jajnik. Tymczasem  $E_2$  pochodzący z łożyska ulega całkowitemu związaniu przez alfa-fetoproteinę płodu (AFP). AFP nie łączy się z T u płodów samczych [31, 32]. Okazało się jednak, że u mężczyzn z naturalną mutacją genu CYP19 kodującego aromatazę identyfikacja płciowa jest prawidłowa, stąd wydaje się, że  $E_2$  nie uczestniczy w zależnej od T maskulinizacji mózgu człowieka [7, 40, 57]. Podobnie zwierzęta ERKO $\alpha$  i ArKO wykazują heteroseksualny popęd

płciowy. Maja one jednak mniejszą agresywność i niższą częstotliwość kopulacji. Kopulacja odbywa się bez penetracji i ejakulacji [8].

### E<sub>2</sub> a gęstość kości

U myszy ERKO stwierdzono o 10% zmniejszoną gęstość mineralną kośćca niż u normalnych myszy. Obserwacje te zostały potwierdzone wkrótce u ludzi dzięki pierwszym obserwacjom u dorosłych mężczyzn z wrodzonymi mutacjami genu kodującego ER [57] lub genu kodującego aromatazę [5, 40]. Pacjenci ci charakteryzują się wysokim i ciągle postępującym wzrostem, bez charakterystycznego „skoku” pokwitaniowego oraz brakiem fizjologicznego zamknięcia wzrostu chrząstek nasadowych kości długich. Rozwijają się u nich koślawość kolan, opóźniony wiek kostny, osteoporoza i eunuchoidalne proporcje ciała. Wskazało to po raz pierwszy na znaczącą lub wyłączną rolę E<sub>2</sub> w zamykaniu przynasad kości długich (zakończeniu wzrostu ciała) oraz w mineralizacji kośćca u mężczyzn, przypisywanych jak dotychczas u mężczyzn wyłącznie T [5].

W 2003 roku van Pottelbergh i wsp. [65] opublikowali pracę, w której badali corocznie, w ciągu 4 kolejnych lat, związek pomiędzy poziomem biodostępnego (niezwiązanego z SHBG) E<sub>2</sub> i biodostępnego T z gęstością mineralną kości u 214 mężczyzn w wieku 71-86 lat. Badali też możliwość modulacji działania E<sub>2</sub> w kościach poprzez badanie polimorfizmu tetranukleotydu (TTTA)<sub>n</sub> genu CYP19, odpowiedzialnego za konwersję T do E<sub>2</sub>. Wykazali oni, że wyższy poziom biodostępnego E<sub>2</sub>, a nie biodostępnego T, ma związek z mniejszą utratą mineralną kości. Podobnie osoby homozygotyczne dla skrócenia allelu (TTTA)<sub>n</sub> genu CYP19 wykazywały wyższy stopień utraty mineralnej kości na przestrzeni 4 lat obserwacji niż osoby heterozygotyczne. Autorzy konkludują, że biodostępny E<sub>2</sub>, a nie T, jest determinantem zmian gęstości kości u mężczyzn w wieku starszym i że aromataza może u nich wykazywać bezpośrednie działanie modulatoryjne na poziomie tkankowym. Badania te potwierdzają teorię, że u mężczyzn E<sub>2</sub> jest odpowiedzialny za regulację wzrostu i gęstości mineralnej kości. Chociaż usuwa to w cień rolę T, to okazało się, że T odpowiedzialny jest za dymorfizm płciowy kośćca oraz że w działaniu bezpośrednim T pobudza wzrost części korowej kości u mężczyzn (ich grubość) [54].

### E<sub>2</sub> a gospodarka lipidowa

Przyjęto powszechnie, że u kobiet E<sub>2</sub> ma korzystny wpływ na układ krążenia. Choroba wieńcowa występuje częściej u mężczyzn niż u kobiet do okresu menopauzy i wydaje się, że jest to związane z niekorzystnym wpływem T, a korzystnym E<sub>2</sub> w oddziaływaniu na profil lipidowy. Wykazano, że podawanie mężczyznom androgenów, które nie ulegają aromatyzacji do E<sub>2</sub> prowadzi do wzrostu

stężenia lipidów frakcji LDL i trójglicerydów, a do zmniejszenia stężenia lipidów frakcji HDL. Podawanie zaś androgenów ulegających aromatyzacji do E<sub>2</sub> tylko nieznacznie wpływa na profil lipidowy krwi [59, 14].

Badania nad rozkładem tkanki tłuszczowej u ludzi i zwierząt wydają się odrębnym przyczynkiem do tych spostrzeżeń. Rozkład tkanki tłuszczowej u ludzi wykazuje dymorfizm płciowy. Podczas gdy kobiety w okresie rozrodczym wykazują tendencje do gynoidalnego rozkładu tkanki tłuszczowej w dolnych partiach ciała (biodra, pośladki), to mężczyźni i kobiety po menopauzie wykazują androidalny typ rozkładu, z lokalizacją w górnych partiach ciała (brzuch, klatka piersiowa). Ten fenotyp z dominacją otyłości tułowia jest związany z wyższym ryzykiem rozwoju cukrzycy z insulinoopornością, choroby wieńcowej i raka piersi. Podejrzenie o roli estrogenów w rozwoju otyłości brzusznej u obu płci może wynikać z faktu, że zarówno u kobiet jak i mężczyzn z naturalną mutacją genu kodującego aromatazę, występuje otyłość androidalna (tułowia), a współlistnieją z nią insulinooporność, hipercholesterolemia i hipertriglicerydemia [3, 5, 7, 40]. Ponadto, u mężczyzn z mutacją genu kodującego aromatazę stwierdzono podwyższenie poziomu lipoprotein niskiej gęstości (LDL), a obniżenie poziomu lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) (tabela II) [5]. Podawanie E<sub>2</sub> u tych mężczyzn doprowadziło do normalizacji tych parametrów [5, 3].

Dane te zostały potwierdzone u obu płci myszy transgenicznych, pozbawionych genu kodującego aromatazę. Występująca u nich otyłość brzuszna nie była związana z hiperfagią lub podwyższonym spoczynkowym zużyciem energii. Była ona natomiast związana z obniżoną spontaniczną aktywnością ruchową. Może to sugerować, że niedobór estrogenów w obrębie centralnego układu nerwowego odpowiadał za obniżenie spontanicznej aktywności ruchowej. Obecność u otyłych

**Tabela II.** Parametry metabolizmu glukozy i lipidów u mężczyzn z brakiem genu aromatazy i brakiem receptora estrogenowego  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) [wg. Morishima i wsp., 1995].

**Table II.** The parameters of metabolism of glucose and lipids in men with the lack of the aromatase gene and with the lack of the estrogen receptor  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) [according to Morishima et al. 1995]

	Aromataza (-)	ER $\alpha$ (-)	Norma
Insulina ( $\mu$ U/ml)	52	50	5-25
Glukoza (mg/dl)	70	135	70-105
Hb glikozylowana (%)	7,4	9,5	5,1-8,5
Cholesterol całkowity (mg/dl)	238	130	<200
Cholesterol HDL (mg/dl)	36	34	>45
Cholesterol LDL (mg/dl)	139	97	<130
Triglicerydy (mg/dl)	317	97	30-200

myszki ArKO podwyższenia poziomu leptyny – hormonu sytości (z tkanki tłuszczowej) wskazuje, że sygnał o sytości był poprawnie wytwarzany [25]. Wskazuje to na ważną rolę estrogenów w homeostazie lipidowej zarówno u samców jak i u samic. Dalszych badań wymaga wyjaśnienie, czy wpływ niedoboru estrogenów na otyłość i rozkład tkanki tłuszczowej jest czynnikiem niezależnym, czy też wtórnym, zależnym od zaburzeń metabolizmu lipidów, obserwowanych u ludzi i myszy z brakiem aromatazy. W tabeli III zestawiono dane kliniczne u mężczyzny z wrodzonym, naturalnym brakiem ER $\alpha$  z danymi u mężczyzny z wrodzonym brakiem aromatazy.

### Działanie estrogenów w układzie sercowo-naczyniowym u mężczyzn

Szczegółowe badania doświadczalne wskazują jednak, że estrogeny wykazują wpływ kardioprotekcyjny. Zależy on od dwóch różnych mechanizmów: 1) wpływ na lipidy surowicy [2, 60, 67, 68] i 2) bezpośrednie działanie na endotelium naczyń krwionośnych, mięśnie gładkie naczyń oraz miocyty i fibroblasty serca [38]. W układzie sercowo-naczyniowym u mężczyzn szeroko rozpowszechnione są ER $\alpha$  i ER $\beta$  [13, 15, 16, 23, 26, 27, 34, 64]. Ponadto, estrogeny wykazują szybkie pozagenomiczne działanie na układ sercowo-naczyniowy [11, 15, 70]. W układzie sercowo-naczyniowym mężczyzn obecna jest aromataza [17]. U mężczyzny z mutacją ER $\alpha$  zachowany jest szybki (w ciągu 5 min.) wazodilatacyjny wpływ podania E $_2$  na tętnicę ramienną (działanie pozagenomiczne związane z aktywacją zależnych od wapnia kanałów potasowych w mięśniówce gładkiej), ale występuje brak wazodilatacji zależnej od tlenu azotu wydzielanego przez endotelium [58]. Ten ostatni mechanizm jest również pozagenomiczny,

ale może być mediowany przez receptor estrogenowy błony komórkowej, kodowany przez ten sam transkrypt, co jądrowy ER $\alpha$  [48]. W przypadku 31-letniego mężczyzny z brakiem ER $\alpha$  wykazano przedwczesne zmiany miażdżycowe w naczyniach wieńcowych [58]. Podsumowując, dane te wskazują na ważną rolę estrogenów i ER $\alpha$  w czynności układu sercowo-naczyniowego i w przeciwdziałaniu chorobie wieńcowej.

### Ksenoestrogeny i fitoestrogeny

Poznanie roli E $_2$  w fizjologii mężczyzny nabiera wielkiego znaczenia w obliczu coraz większego zanieczyszczenia środowiska substancjami, które mają działanie estrogenopodobne, tzw. ksenoestrogenami. Powszechnie przyjęto, że są one odpowiedzialne za zaburzenia rozwoju jąder i męskich narządów płciowych u chłopców, rozwój raka jądra i, stwierdzone w niektórych krajach, zmniejszenie liczebności plemników w nasieniu [61]. Dane te należy jednak traktować z zastrzeżeniem, że ksenoestrogeny to nie naturalny E $_2$ , a tylko związki o niektórych cechach jego działania. Związki te mogą działać też jako antyestrogeny i jak wszystkie antyhormony, kompetytywnie blokować działanie E $_2$  na poziomie ER $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ . Paradoksalnie więc należy przypuszczać, że to nie działanie estrogenne, ale wręcz przeciwnie, brak tego działania, wywoływać może niekorzystny wpływ na męski układ płciowy.

Hipotezę tą potwierdzają wyniki badań nad wpływem estrogenów roślinnych (fitoestrogenów) na czynność jąder u myszy ArKO. U myszy ArKO i myszy nie pozbawionych aromatazy badano spermatogenezę. Zwierzęta hodowano zarówno na diecie zawierającej soję, która jest źródłem fitoestrogenów, jak i na diecie pozbawionej soi. U myszy ArKO fitoestrogeny dostarczone w żywieniu zapobiegły częściowo uszkodzeniu

**Tabela III.** Dane kliniczne u mężczyzny przy braku receptora estrogenowego  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) i przy braku aromatazy [wg. Grumbach i Auchus, 1999]

**Table III.** Clinical data in men with the lack of estrogen receptor  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) and with the lack of aromatase [according to Grumbach and Auchus, 1999]

28-letni mężczyzna - ER $\alpha$ (-)	24-letni mężczyzna - aromataza (-)
Wzrost 204 cm, ciężar ciała 127 kg	Wzrost 204,7 cm, ciężar ciała 135,1 kg
Brak cech typowych dla akromegalii	Brak cech typowych dla akromegalii
<u>Kolana koślawe</u> , eunuchoidalna budowa ciała	Eunuchoidalna budowa ciała
Wiek rozpoczęcia dojrzewania płciowego prawidłowy	Wiek rozpoczęcia dojrzewania płciowego prawidłowy
Maskulinizacja i wielkość jąder prawidłowe	Maskulinizacja prawidłowa
Wiek kostny - 15 lat	<u>objętość jąder - 34 ml (zwiększona)</u>
Ciężka osteoporoza, zwiększony obrót metaboliczny kości	Wiek kostny - 14 lat
Orientacja psychoseksualna: heteroseksualna	Ciężka osteoporoza, zwiększony obrót metaboliczny kości
<u>Brak wirylizacji u matki</u> w czasie ciąży	Orientacja psychoseksualna: heteroseksualna
Insulinooporność, akantozja	<u>Wirylizacja u matki</u> w czasie ciąży
<u>Brak odpowiedzi</u> na podawanie wysokich dawek estrogenów	Insulinooporność
Dziedziczenie: recesywne autosomalne	<u>Barczo dobra odpowiedź</u> na niskie dawki estrogenów
Mutacja: Arg157X (Ekson 2) w genie ER $\alpha$	Dziedziczenie: recesywne autosomalne
	Mutacja: Arg376Cys (Ekson IX) w genie CYP19

spermatogenezy poprzez zahamowanie obniżenia liczby komórek plemnikotwórczych. Oprócz tego fitoestrogeny pobudzały czynność komórek Sertoliego. Uszkodzenie spermatogenezy obserwowane u myszy ArKO hodowanych na diecie pozbawionej soi wystąpiło przy baraku obniżenia poziomu FSH, co wskazywało, że działanie fitoestrogenów było niezależne od zmian w wydzielaniu hormonów przysadki. Badania te potwierdzają dodatnią rolę estrogenów w spermatogenezie i wykazują, że fitoestrogeny pochodzące z diety wykazują działanie biologiczne w jądrze [49].

### Podsumowanie

W uzupełnieniu dotychczasowych poglądów, że androgeny u mężczyzn i samców zwierząt są niezbędne do różnicowania (w życiu płodowym) wewnętrznych i zewnętrznych narządów płciowych męskich, należy dodać, że niektóre efekty działania T zależą od jego przemian do  $E_2$ . Działanie  $E_2$  w okresie dojrzewania płciowego i w życiu dorosłym polega na: 1) współdziałaniu z FSH przy dojrzewaniu kanalików jądra oraz zapoczątkowaniu spermatogenezy, 2) pobudzaniu wzrostu i mineralizacji kości, 3) hamowaniu wzrostu kości długich w końcowym okresie dojrzewania płciowego, 4) przeciwdziałaniu rozwojowi otyłości brzusznej i rozwojowi zaburzeń lipidowych, 5) działaniu kardioprotekcyjnemu. Dalszych badań wymaga wyjaśnienie, czy  $E_2$  współdziała z T przy innych efektach androgenicznych, takich jak pobudzanie czynności krwiotwórczej szpiku, wytwarzaniu erytropoetyny w nerce, pobudzaniu układu immunologicznego oraz przy anabolicznym wpływie na tkanki wątroby i mięśni. Dalszych badań wymaga też ocena roli  $E_2$  we współdziałaniu z T w patogenezie miażdżycy.

### Piśmiennictwo

1. Arai Y, Mori T, Suzuki Y, Bern HA: Long effects of perinatal exposure to sex steroids and diethylstilbestrol on the reproductive system of male mammals. *Int. Rev. Cytol.* 1983, 84:235-268.
2. Bagatell CJ, Knopp RH, Rivier JE, Bremner WJ: Physiological levels of estradiol stimulate plasma high density lipoprotein, cholesterol levels in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994, 78:855-861.
3. Bilezikian JP, Morishima A, Bell J, Grumbach MM: Increased bone mass as a result of estrogen therapy in a man with aromatase deficiency. *N. Engl. J. Med.* 1998, 339:599-603.
4. Bilińska B., Carreau S.: Rat testicular germ cells as a new source of estrogens. *Gin. Pol.* 1998, 69:394-400.
5. Carani C, Qin K, Simoni M et al.: Effect of testosterone and estradiol in a man with aromatase deficiency. *New. Engl. J. Med.* 1997; 337:91-95.
6. Chowdhury M, Steinberger E: Pituitary and plasma levels of gonadotropins in foetal and newborn male and female rats. *J. Endocrinol.* 1976; 69:381-385.
7. Conte FA, Grumbach MM, Ito Y et al. A syndrome of female pseudohermaphroditism, hypergonadotropic hypogonadism, and multicystic ovaries associated with missense mutations in the gene encoding aromatase (P450arom). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994, 78:1287-1292.
8. Couse JF, Korach KS: Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocr. Rev.* 1999, 20(3): 358-417.
9. Ebling FJP, Brooks AN, Cronin A.S. et al.: Estrogenic induction of spermatogenesis in the hypogonadal mouse. *Endocrinology* 2000, 141:2861-2869.
10. Eddy H, Washburn TF, Bunch DO et al.: Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and fertility. *Endocrinology* 1996, 137: 4796-4805.
11. Farhat MY, Lavigne MC, Ramwell PW: The vascular protective effects of estrogen. *FASEB J.* 1996, 10:615-624.
12. Finkelstein JS, O'Dea LSL, Whitcomb RW, Crowley WF: Sex steroid control of gonadotropin secretion in the human male. Effects of estradiol administration in normal and gonadotropin-releasing hormone deficient men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1991; 70:621-628.
13. Foegh ML, Ramwell PW: Cardiovascular effects of estrogen: implications of the discovery of the estrogen receptor subtype  $\beta$ . *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 1998, 7:83-89.
14. Friedl KE, Hannan CJ, Jones RE et al.: High-density lipoprotein is not decreased if an aromatizable androgen is administered. *Metabolism* 1990; 39:69-77.
15. Goetz RM, Thatté HS, Prabhakar P et al.: estradiol induces the calcium-dependent translocation of endothelial nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa* 1999, 96:2788-2793.
16. Grohe C, Kahlert S, Löbber K et al.: Cardiac myocytes and fibroblasts contain functional estrogen receptors. *FEBS Lett.* 1997, 416:107-112.
17. Grohe C, Kahlert S, Löbber K, Vetter H: Expression of oestrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  in rat heart: role of local oestrogen synthesis. *J. Endocrinol.* 1998, 156:R1-R7.
18. Grumbach MM, Auchus RJ: Estrogen: Consequences and implications of human mutations in synthesis and action. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, 84:4677-4694.
19. Habenicht UF: Estrogens for men: good or bad news. *The Aging Male* 1998; 1:73-79.
20. Hasui Y, Marutsuka K, Nishi S et al.: The relationship between cardiovascular complications of estrogen therapy and fibrinolysis in patients with prostatic cancer. *The Prostate* 1992; 21:35-39.
21. Heard DJ, Norby PL, Holloway J, Vissing H: Human ERR $\gamma$ , a third member of the estrogen receptor-related receptor (ERR) subfamily of Orphan nuclear receptors: tissue-specific isoforms are expressed during development and in the adult. *Mol. Endocrinol.* 200, 14:382-392.
22. Hess RA, Bunick D, Lee KH et al.: A role of oestrogens in the male reproductive system. *Nature* 1997; 390:509-512.
23. Iafrafi MD, Karas RH, Aronovitz M et al.: Estrogen inhibits the vascular injury response in estrogen receptor  $\alpha$ -deficient mice. *Nature Med.* 1997, 3:545-548.
24. Jarzab B, Gubala E, Achtelek W, Lindner G, et al.: Postnatal treatment of rats with beta-adrenergic agonist or antagonist influences differentiation of sexual brain function. *Exp. Clin. Endocrinol.* 1989, 94:61-67
25. Jones MEE, Thorburn AW, Britt KL, et al.: Aromatase-deficient (ArKO) mice have a phenotype of increased adiposity. *Proc. N.Y. Acad. Sci.* 2000, 97, 23:12735-12740.
26. Karas RH, Patterson BL, Mendelsohn ME: Human vascular smooth muscle cells contain functional estrogen receptor. *Circulation* 1984, 89:1943-1950.
27. Kim-Schulze S, McGowan KA, Hubchak SC et al.: Expression of an estrogen receptor by human coronary artery and umbilical vein endothelial cells. *Circulation* 1996, 94:1402-1407.
28. Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M Et al.: Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996, 93: 5925-5930
29. Kula K: Induction of precocious maturation of spermatogenesis in infant rats by human menopausal gonadotropin and inhibition by simultaneous administration of gonadotropins and testosterone. *Endocrinology* 1988; 122: 32-39.

30. Kula K, Słowikowska-Hilczler J: Przedwczesne dojrzewanie jądra przy nadmiernym wydzielaniu estradiolu i testosteronu przez komórki Leydiga. *Ped. Pol.* 1996; 3:269-273.
31. Kula K, Słowikowska-Hilczler J: Biologiczny charakter identyfikacji, roli i psychoorientacji płciowej. *Kosmos* 2003a, 52, 1:11-19.
32. Kula K, Słowikowska-Hilczler J: Konsekwencje zaburzeń działania hormonów płciowych w obrębie ośrodkowego układu nerwowego: zmiany behawioralne, anatomiczne i czynnościowe. *Neurol. Neurochir. Pol.* 2003b, supl.: 379-92.
33. Kula K, Walczak-Jędrzejowska R, Słowikowska-Hilczler J, Oszukowska E: Estradiol enhances the stimulatory effect of FSH on testicular maturation and contributes to precocious initiation of spermatogenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2001, 178:89-97.
34. Lindner V, Kim SK, Karas RH et al.: Increased expression of estrogen receptor  $\beta$  mRNA in male blood vessels after vascular injury. *Circ. Res.* 1994, 83:224-229.
35. Lindzey J, Korach KS: Developmental and physiological effects of estrogen receptor gene disruption in mice. *Trends Endocrinol. Metab.* 1997; 8:137-145.
36. Lio H, Papadopoulos V, Vidic B et al.: Regulation of rat testis gonocyte proliferation by platelet-derived growth factor and estradiol: identification of signalling mechanisms involved. *Endocrinology* 1997; 138:1289-1298.
37. McLachlan JA: Transplacental effects of diethylstilbestrol in mice. *Natl. Cancer Inst Monogr.* 1979, (51):67-72.
38. Mendelsohn ME m Karas R.H.: The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N. Engl. J. Med.* 1999, 340:1801-1811.
39. Moger WH; Direct effects of estrogens on the endocrine function of the mammalian testis. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* 1980; 58:1011-1017.
40. Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER et al.: Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1995, 0:3689-3698.
41. Morrell JI, Pfaff DW: A neuroendocrine approach to brain function: Localization of sex steroid concentrating cells in vertebrate brains. *Amer. Zool.* 1978; 18: 447.
42. Mosselman S, Polman J, Dijkema R: ER $\beta$ : identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett*, 1996, 392:49-53
43. Oszukowska E, Słowikowska-Hilczler J, Lipiński M, Kula K: Zmiany w wydzielaniu estradiolu i testosteronu przy leydigoma i po usunięciu jądra z guzem. *Urol. Pol.* 2003, 56, 2:57-60.
44. Papadopolous V, Carreau S, Szerman-Joly E et al.: R. Rat testis 17- $\beta$ -estradiol: identification by gas chromatography-mass spectrometry and age related cellular distribution. *J. Steroid. Biochem.*, 1986, 24:1211-1216.
45. Payne AH, Perkins LM, Georgiou M, Quinn PG: Intratesticular site of aromataase activity and possible function of testicular estradiol. *Steroids* 1987; 50:437-438.
46. Pentikäinen V, Erkkilä K, Suomalainen L et al.: Estradiol acts as a germ cell survival factor in the human testis in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000, 85:2057-2067.
47. Pfaff DW, Zigmond RE: Neonatal androgen effects on sexual and non-sexual behaviour of adult rats tested under various hormone regims. *Neuroendo.*, 1971; 7:129.
48. Razandi M, Pedram A, Green G.L, Levin ER: Cell membrane and nuclear receptors derive from a single transcript: studies of ER $\alpha$  and ER $\beta$  expressed in CHO cells. *Mol. Endocrinol.* 1999, 13:307-319
49. Robertson KM, O'Donnell L, Simpson ER, Jones MEE: The phenotype of the aromatase knockout mouse reveals dietary phytoestrogens impact significantly on testis function. *Endocrinol.*, 2002, 143:2913-2921.
50. Romer TE, Sachnowska K, Kula K i wsp. Luteinizing hormone secreting adrenal tumour as a cause of precocious puberty. *Clin. Endocrinol.* 1998; 48: 367-372.
51. Roselli CE, Klosterman SA, Fasasi TA: Sex differences in androgen responsiveness in the rat brain: regional differences in the induction of aromatase activity. *Neuroendocrinol.* 1996; 64: 139.
52. Roselli CE, Resko JA: The distribution and regulation of aromatase activity in the central nervous system. *Steroids* 1987; 50:495-508.
53. Santen RJ: Endocrine treatment of prostate cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1992; 3:685-689.
54. Seeman E: From density to structure: growing up and growing old on the surfaces of bone. *J. Bone. Miner. Res.* 1997, 12:509-521.
55. Sharpe RM: The roles of oestrogen in the male. *Trends in Endocrinol. Metab.* 1998; 9:371-377.
56. Słowikowska-Hilczler J, Metera M, Walczak R i wsp. Spermatogeneza u chłopców z przedwczesnym dojrzewaniem płciowym przy nadmiarze testosteronu i estradiolu. *Gin. Pol.* 1995; 66, supl. 2:71-75.
57. Smith EP, Boyd J, Frank GR et al.: Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *New. Engl. J. Med.* 1994; 331:1056-1061.
58. Sudhir K, Chou TM, Chatterjee K et al. Premature coronary artery disease associated with a disruptive mutation in the estrogen receptor gene in man. *Circulation* 1997, 96:3774-3777.
59. Sudhir K, Chou TM, Messina LM et al.: Endothelial dysfunction in a man with disruptive mutation in oestrogen-receptor gene. *Lancet* 1997; 349:1146-1147.
60. The Writing Group for the PEPI Trial.: Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risc factors in postmenopausal women. *JAMA* 1995, 273:199-208.
61. Toppari J, Larsen JC, Christiansen P et al.: Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ. Health. Perspect.* 1996; 104, supl. 4:741-803.
62. Tremblay GB, Tremblay A, Copeland NG et al.: Cloning, chromosomal localization, and functional analysis of the murine estrogen receptor- $\beta$ . *Mol. Endocrinol.* 1997, 11:353-365.
63. Tsai -Morris CH, Aquilano DR, Dufau ML: Cellular localization of rat testicular aromatase activity during development. *Endocrinology* 1985, 116:388-46.
64. Venkov CD, Rankin AB, Vaughan DE: Identification of authentic estrogen receptor in cultured endothelial cells: a potential mechanism for steroid hormone regulation of endothelial function. *Circulation* 1996, 94:727-733.
65. Von Pottelbergh I, Goemaere S, Kaufman JM: Bioavailable estradiol and aromatase gene polymorphism are determinants of bone mineral density changes in men over 70 years of age. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003, 88:3075-3081.
66. Walczak-Jędrzejowska R, Kula K: Podawanie estradiolu łącznie z FSH potęguje wpływ FSH na rozpoczęcie dojrzewania jądra przy wzmożonym wydzielaniu prolaktyny. *Post. Biol. Kom.* 1999, 26, 12:103-108.
67. Walsh BW, Schiff I, Rosner B et al.: Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N. Engl. J. Med.* 1991, 325:1196-1204.
68. Walsh BW, Spiegelman D, Morrissey M, Sacks FM: Relationship between serum estradiol levels and the increases in high-density lipoprotein levels in postmenopausal women treated with oral estradiol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, 84:985-989.
69. Weinbauer GF, Nieschlag E: Hormonal regulation of reproductive organs. W: *Comprehensive human physiology - from cellular mechanism to integration.* (pod red. Greger R, Windhorst U). Springer, Berlin Heidelberg New York 1996; 2231-2252.
70. White MM, Zamudio S, Stevens T et al.: Estrogen, progesterone and vascular reactivity: potential cellular mechanisms. *Endocr. Rev.* 1995, 16:739-751.