



The polymorphism of oestrogen receptor alpha is important for metabolic consequences associated with menopause

Polimorfizm receptora estrogenowego alfa jest istotny dla metabolicznych konsekwencji menopauzy

Jarosław Pinkas¹, Mariusz Gujski², Anna Wierzińska-Stępnia³, Alfred Owoc⁴, Iwona Bojar³

¹School of Public Health, Centre of Postgraduate Medical Education, Warsaw, Poland

²Department of Prevention of Environmental Hazards and Allergology, Medical University of Warsaw, Poland

³Department for Women Health, Institute of Rural Health in Lublin, Poland

⁴Center for Public Health and Health Promotion, Institute of Rural Health in Lublin, Poland

Abstract

The menopause is associated with multiple health and metabolic consequences resulting from the decrease in oestrogen levels. Women at postmenopausal age are burdened with a higher risk of cardiovascular diseases, and the main cause of mortality in this group is ischaemic heart disease. Oestrogen deficiency is related, among other things, with frequent occurrence of dyslipidaemia, cessation of the beneficial effect of oestrogens on the vascular wall, and increase in body weight characterised by unfavourable redistribution of fatty tissue, with an increased amount of visceral fat and reduction of so-called non-fatty body mass.

Oestrogens exert an effect on the metabolism, mainly through the genomic mechanism. The presence of α and β oestrogen receptors was found in many tissues and organs. Recently, attention has been paid to the fact that the effect of oestrogen action on tissues and organs may depend not only on their distribution, but also on their polymorphic types. This article presents the latest approach to the problem of metabolic consequences resulting from menopause, according to the possessed α oestrogen receptor polymorphism (ER α).

Genes encoding for ER α have many polymorphic variants, the most important of which from the clinical aspect are two single nucleotide polymorphisms (SNPs): XbaI and PvuII.

The review of literature indicates that ER α polymorphisms are of great importance with respect to the effect of oestrogens on the functioning of the body of a woman after menopause, and may imply the development of many pathological states, including the prevention or development of metabolic disorders. Identifying ER α polymorphisms may be useful in oestrogen therapy for menopausal women who may benefit from it. (*Endokrynol Pol* 2016; 67 (6): 608–614)

Key words: menopause; oestrogen receptor; metabolic disorders

Streszczenie

Menopauza związana jest z wieloma zdrowotnymi i metabolicznymi konsekwencjami wynikającymi ze spadku poziomu estrogenów. Kobiety w wieku pomenopauzalnym są obciążone wyższym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych, a główną przyczyną śmiertelności w tej grupie jest choroba niedokrwienna serca. Niedobór estrogenów związany jest między innymi z częstym występowaniem dyslipidemii, przerwaniem korzystnego oddziaływania estrogenów na ściany naczyń, zwiększeniem masy ciała charakteryzującym się niekorzystnym rozmieszczeniem tkanki tłuszczowej o zwiększonej ilości tłuszczu trzewnego i redukcji tak zwanej beztłuszczowej masy ciała.

Estrogeny wywierają wpływ na metabolizm głównie poprzez mechanizm genomowy. Obecność receptorów estrogenowych α i β została stwierdzona w wielu tkankach i narządach. Ostatnio zwrócono uwagę na fakt, że efekt działania estrogenów na tkanki i narządy może zależeć nie tylko od rozkładu, ale również od rodzaju ich typów polimorficznych. W artykule przedstawiono najnowsze podejście do problemu metabolicznych następstw wynikających z menopauzy, w zależności od posiadanego polimorfizmu receptora estrogenowego alfa (ER α).

Geny kodujące ER α mają wiele wariantów polimorficznych, z których — z punktu widzenia klinicznego — najbardziej istotne są dwa polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNP): XbaI i PvuII.

Przegląd literatury wskazuje, że polimorfizmy ER α mają istotne znaczenie dla wpływu estrogenów na funkcjonowanie organizmu kobiety po menopauzie i mogą implikować rozwój licznych stanów patologicznych, w tym zapobieganie lub rozwój zaburzeń metabolicznych. (*Endokrynol Pol* 2016; 67 (6): 608–614)

Słowa kluczowe: menopauza; receptor estrogenowy; zaburzenia metaboliczne

Menopause — metabolic and health effects of decline of oestrogen levels

In Poland, similar to other developed countries, the age at occurrence of menopause is approximately 50 years.

In 2012, the average lifespan for Polish women was 81 years, and compared to the beginning of 1990s it increased by approximately six years, while compared to 2000 — by nearly three years [1]. While comparing the average age at menopause and the average



Iwona Bojar M.D., Department for Women's Health, Institute of Rural Health in Lublin, Jaczewskiego 2, 20-090 Lublin, Poland, phone: +48 81 718 44 10, fax: +48 81 747 86 46, e-mail: iwonabojar75@gmail.com

lifespan, the postmenopausal period represents 1/3 of a woman's lifetime. It is estimated that in Poland, health, economic, psychological, and demographic problems related with menopause concern 5 million women aged over 50 years. Demographic data show that annually, 25 million women worldwide undergo menopause [2, 3]. The World Bank in the document 'World Development Report 1993: Investing in Health', while referring to the future as well as to the demographic prognoses concerning women at menopausal age until the year 2030, paid attention to the clear tendency towards an increase in the number of women aged 50 years and over in all regions [4]. The annual increase in the number of women aged over 50 years will be 2.65%. Also, the WHO European Health Report 2012 provides alarming information concerning the ageing of the European population. According to prognoses, by 2030 there will be 1.2 billion postmenopausal women worldwide [4].

The menopause in women is a natural process related with the loss of generative ovarian function, and with it, the loss of fertility and many somatic and psychological problems. The loss of primary ovarian follicles begins as early as in the foetal period, and takes place in a regular way to accelerate by as much as six-fold in women aged over 39 years [5]. The ovarian hormone loss, mainly oestrogen deficiency, is related with the occurrence of psychological, vasomotor, and atrophic symptoms typical of this period. In addition, during this period, health problems reveal themselves and accelerate, such as cardiovascular disorders, osteoporosis, and according to recent reports, a decrease in the cognitive processes [2].

Women at postmenopausal age are burdened with an increased risk of cardiovascular diseases, and the primary cause of mortality in this group is ischaemic heart disease (IHD). In the Framingham Heart Study, it was confirmed that females aged under 50 years contract and die of cardiovascular diseases six times less frequently than males in analogous age groups [6]. However, morbidity and mortality due to ischaemic heart disease rapidly increase after menopause, and the cause of this is sought in a decrease in the level of oestrogen, which exerts a protective effect [7]. While considering the protective effect of oestrogen on the development of cardiovascular diseases, the length of exposure to oestrogen during the entire lifetime is important. It was found that women, who during the reproductive period were characterised by low levels of oestrogen at the follicular phase of the menstrual cycle, are at higher risk of cardiovascular system diseases [8]. Early menopause is also related with an increased risk, irrespective of the classic risk factors, such as arterial hypertension, lipid disorders, obesity, and tobacco smoking. Moreover, the shorter the lifetime exposure

to estradiol, the higher the exposure of postmenopausal women to the risk of myocardial infarction [8]. A higher risk of cardiovascular diseases after menopause additionally results from more frequent occurrence of the major risk factors of coronary disease: an increase in the frequency of lipid metabolism disorders, thrombotic risk, and an increase in the contribution of inflammatory markers to the development of atheromatous changes, while the beneficial effect of oestrogen on the vascular wall, and consequently the susceptibility of the vessels, decreases.

Menopause in itself does not affect the fasting glucose level; however, it is associated with a progressive reduction in glucose-stimulated insulin secretion. In addition, an increase in insulin resistance in tissues is observed, as well as an increased risk of development of type 2 diabetes [6]. Diabetes is the most common chronic disease in developed countries. Its prevalence among females in North America and Europe is estimated at 7–8%, and this disease concerns approximately 100 million women worldwide [9].

Menopause is associated with the more frequent occurrence of dyslipidaemias, which are the subsequent risk factor for the development of cardiovascular diseases. Oestrogens exert a positive effect on lipid profile parameters, acting through apolipoprotein gene expression. They decrease the level of total cholesterol, LDL cholesterol fraction, and apolipoprotein Lp(a), and elevate the concentration of HDL cholesterol fraction and triglycerides (TG) [6]. After menopause, an increase is noted in the level of total cholesterol, LDL cholesterol, and apolipoprotein A, while the level of HDL cholesterol decreases. This high level of LDL and low level of HDL are independent risk factors for ischaemic heart disease. Additionally, it is considered that individuals with a high concentration of total cholesterol and low-density lipoprotein, at the end of life, are at an increased risk of cognitive disorders and dementia.

After menopause, the beneficial effect of oestrogens on the vascular wall decreases. Oestrogens, directly and indirectly, regulate vasomotor tone by blocking the calcium channel in the blood vessel wall, and by increasing the secretion of NO and prostacyclin. Oestrogens cause an increased NO release through a genomic mechanism — NO synthase gene expression, and a non-genomic mechanism (instant effect) through the stimulation of nitric oxide (NO) secretion, without the participation of receptors, and a direct effect on type L calcium ion channels and potassium channels. They block calcium channels in the vessel wall showing a vasodilating effect. After menopause, irrespective of body weight and glucose metabolism, in the autonomic control of the cardiovascular system an increase in the sympathetic system tone begins to dominate. This tone caused by

oestrogen deficiency results in the constriction of small vessels, an increased level of angiotensin II, and consequently the development of arterial hypertension. Hypertension is the most serious risk factor of the development of all types of stroke, both in males and females [10]. Moreover, in several observation studies it was confirmed that in individuals with arterial hypertension at middle age there occurs an increased risk of Alzheimer's disease and other types of dementia [11].

Oestrogens show a multidirectional neuroprotective effect with respect to the risk of development of stroke, Parkinson's disease (PD), and Alzheimer's disease (AD) [10]. Premenopausal women are at a lower risk of cerebral stroke, compared to males; however, this difference disappears after menopause.

In postmenopausal women, an increase in body weight is observed, characterised by an unfavourable redistribution of fatty tissue, with an increased amount of visceral fat, and a decreased so-called non-fat body mass. In approximately 60% of Polish women at postmenopausal age, abdominal obesity is noted - an independent risk factor of cardiovascular diseases and cancer: endometrial cancer and breast cancer [5]. The development of obesity may result from both a slowed rate of basal metabolism, poor eating habits, use of high calorie diet, and lack of physical activity [12]. In the aetiology of obesity at perimenopausal age, oestrogen and progesterone deficiency is also considered as well as decreased (at this age) levels of growth hormone, leptin, galanin, ghrelin, and neuropeptide Y [9].

It was found that the metabolic syndrome, which frequently develops in postmenopausal women, which covers the following: abdominal obesity, hypertriglyceridaemia, low HDL values, arterial hypertension, and/or hyperglycaemia, is also related with an increased risk of dementia and deterioration of cognitive functions. Several clinical studies, supported by histopathologic examinations, confirmed the vascular hypothesis of the development of dementia. Vascular changes leading to damage of the white matter are related with the deterioration of the function of the frontal lobe, including attention, memory, executive functions, cognitive flexibility, emotional processes, and processing speed. The results of the study confirmed that type 2 diabetes, arterial hypertension, dyslipidaemia, and obesity are related with deterioration of cognitive functions, such as: processing speed, cognitive flexibility, and memory, in populations without symptoms of dementia [11, 13]. Nilsson et al., in their studies, clearly stated that the more criteria of metabolic syndrome are satisfied, the higher the risk of development of cognitive disorders at older age (in individuals currently without features of dementia). Considering the growing epidemics of obesity, type 2 diabetes, arterial hypertension, etc., and

taking into account the ageing of society, we are also threatened by epidemics of various forms of dementia, including AD [13].

Oestrogens — biological and metabolic effect

Oestrogens belong to C-18 steroids. The production of oestrogens is tissue-specific. Oestrone is produced mostly in the peripheral tissues, 17-beta-estradiol — mainly in the ovaries, while estriol is secreted primarily by the placenta. In the process of oestrogen biosynthesis, especially during the period of menopause, aromatase plays an important role, which is a complex of cytochrome P450 enzymes responsible for the conversion of androgens — testosterone and androstenedione to estradiol and oestrone. Aromatase is present not only in the ovarian cells, in the placenta, and the uterus but also in neurons and astrocytes of the brain, in osteoblasts, fibroblasts and chondrocytes in bones, in fibroblasts of the skin and subcutaneous tissue, and in adipocytes — due to which these tissues may convert androgens into oestrogens [9]. The product of aromatase is oestrone — which is further converted into estradiol under the effect of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase, the activity of which is regulated, among others, by the concentration of leptin. In menopausal women, an increase is observed in aromatase activity, which considerably modifies oestrogen deficiency. In blood, oestrogens are non-specifically (with low affinity) bound to albumin, and specifically (with high affinity) bound to SHBG (sex hormone binding globulin) and to CBG (corticosteroid-binding globulin). They are excreted mainly in urine, in small amounts in faeces, after previous conjugation with glucuronate and sulphate.

Oestrogens show many biological and metabolic effects [9]. The well-recognised biological effects of oestrogen are: conditioning of the development of secondary and tertiary sexual characteristics; proliferative effect on the uterine mucosa, and preparation for the activity of progesterone; an increase in the uterine muscle mass and oviduct motility; relaxation effect on the circular muscles of the cervix and an increase in the amount of clear cervical mucus facilitating sperm penetration; stimulation of growth and exfoliation of vaginal endometrial cells; and stimulation of epithelial cell growth in channels and alveoli in the mammary gland and an increase of libido.

A metabolic, slightly more poorly recognised effect of oestrogens, is related with the beneficial influence on the psychoemotional status; inhibition of the development of osteoclasts that cause the breakdown of osseous tissue by inhibiting IL-6 gene expression (genomic and non-genomic mechanism); and effect on

the biosynthesis of fat, proteins, purine, and pyrimidine bases. Oestrogens exert an effect on an increase in HDL cholesterol and cause a decrease in the level of triglycerides (TG), LDL cholesterol, homocysteine, and atherogenic Lp(a). They increase the synthesis of proteins in the liver, including sex hormone binding globulin (SHBG) and transcortin (thyroxine binding globulin), as well as renin and fibrinogen substrate. Oestrogens affect the levels of glucose and insulin by a change in beta-cell function, an increase in sensitivity of cells to insulin, and a reduction of insulin resistance. They also exert an effect on the central (improvement in cognitive functions) and autonomous nervous systems, and stimulate the growth of nerve cells and the creation of synapses. Oestrogens increase blood flow through the CNS, inhibit the formation of amyloid deposits, and stimulate synthesis of acetylcholine and other neurotransmitters. They are responsible for water retention in the body, improvement in tissue elasticity — including the skin, through an increase in the contents of glycosaminoglycans and collagen, they prevent dryness of the skin and formation of wrinkles, increase the thickness of the skin, and accelerate the healing of wounds. Oestrogens have an effect on the distribution of the female type of adipose tissue, they act as antioxidants, inhibit free radicals, and directly affect lymphocyte precursor cells, thus exerting an effect on the immune system. Oestrogen deficiency causes ophthalmologic problems, such as keratoconjunctivitis sicca. In addition, oestrogens cause an increase in the levels of Factors II, VII, IX, and X and reduce the concentration of fibrinogen and antithrombin. Oestrogens regulate hepatic protein expression, responsible for coagulation and fibrinolysis. They show an antithrombotic effect by decreasing fibrinogen levels, the concentration of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), and tissue plasminogen activator (tPA); however, they may also have a prothrombotic effect by decreasing antithrombin III and protein S levels [6].

Oestrogen receptors — division and role in the female body

Oestrogens act through two independent steroid receptors — ER α and ER β , which are structurally and functionally distinct. Both these receptors are encoded by different genes, play a different signalling role, and their localisation in tissues differs. The ER α gene is located on the long arm of chromosome 6 (6q24-27), whereas the ER β gene is located on the long arm of chromosome 14 (14q22-24).

Oestrogen receptors may be activated by oestrogens, and in the absence of oestrogens — also by tissue growth factors. Both receptors, in combination with

ligand, may form homo- and heterodimers [8]. Steroid receptors are proteins located in cytoplasm, which, after binding the hormone, translocates to the nucleus. The binding of the hormone to the receptor protein results in biochemical and structural changes called receptor transformation. Additionally, a subfraction of oestrogen receptors (ER) in the cell wall has been discovered, which may be responsible for non-nuclear, non-genomic, and non-transcriptional actions of oestrogens. Non-genomic action of oestrogens (instant effect) consists of the stimulation of secretion of nitric oxide (NO) without the participation of receptors, a direct effect on ion channels — L-type calcium channels, and potassium channels. By blocking the calcium channels in the vessel wall, oestrogens show a vasodilatory effect. The mechanism of the instant effect of oestrogens has not been unequivocally recognised [6].

Activation of the steroid receptor depends on the plasma concentration of the free hormone, its affinity to the receptor, and the total number of receptors, as well as the changes that occurred after the previous activation of the receptor. The biological effect of steroid action depends on its concentration. A positive correlation is observed at low concentrations, while a negative correlation — at high concentrations. Receptor response also depends on the duration of exposure. A long-lasting exposure to a high concentration of hormone results in decreased receptor sensitivity. The steroid-receptor complex has the ability to change the biological effect by exerting an influence on the number of receptors and changes in the affinity of ligands.

The presence of oestrogen receptors has been found in many tissues and organs. The prevalence of these receptors in organs that, to-date, have been considered as non-typical of oestrogens confirms their great systemic importance. Oestrogen receptors are present in the hypothalamus, olfactory lobe, amygdala, hippocampus, cerebral cortex, cerebellum, pituitary gland, bone tissue (osteoblasts and osteoclasts), the cardiovascular system, and the liver. A high ER α expression was observed in: endometrial glandular epithelium, mammary glands, pituitary gland, adrenal glands, endothelium, and vascular smooth muscle (ER α plays a more important role in cardioprotection than ER β , considering the participation in vasodilatation, neovascularisation, and weakening cell apoptosis in the cardiac muscle [7]), as well as the liver and testis.

However, a high ER β expression was found in the kidneys, gastric and duodenal mucosa, small intestine, colon, rectum, lungs, spleen, peripheral blood leukocytes, bone marrow, prostate, urinary bladder, and ovary: in granular cells, in the cells of areola and in the corpus luteum. The ER α expression in ovarian granular cells is considerably lower, but it does not occur at all in the thecal cells.

The presence of both types of oestrogen receptors was observed in the fallopian tubes, vagina, thyroid gland, bones, and brain [14, 15].

The genes encoding ER α have many polymorphic variants, the most important of which, from the clinical aspect, are two single nucleotide polymorphisms (SNPs) — Xba1 and PvuII. The Xba1 polymorphism (A/G rs9340799) is located in intron 1 of the ER α gene, 5' end at 351 bp upstream of exon 2; hence, it is described as IVS1-351. It is caused by the A/G transition [16]. Approximately 50 bp away from the Xba1 polymorphism site is positioned PvuII polymorphism (T/C, rs2234693), also known as IVS1-397T/C [8]. This is caused by T/C transition in the intron 1, 5' end at 397 bp upstream of exon 2. Despite the localisation in the intron, PvuII polymorphism plays a superior role in the regulation of ER α protein expression. Due to the presence of C allele at position 397, the restriction enzyme PvuII does not recognise the restriction site, and does not cut the DNA strand at the position between 399 and 398, which takes place in the presence of the T allele in this position. Most probably, the C allele is related with the presence of the functional site binding the B-myb transcription factor, which may enhance transcription, and also exerts an effect on the structure and stability of the ER α transcript [17].

Enhanced ER α transcription encoded by C allele leads to its stronger expression on the cell surface, which may result in the stronger binding of oestradiol by ER α in women, homozygous for IVS1-397CC and its stronger effect. The results of many studies of ER α gene polymorphism indicate that women homozygous for IVS1-397CC more effectively respond to oestradiol than carriers of the T allele. Moreover, it was confirmed that among menopausal women, the lowest level of endogenous oestradiol is observed among carriers of the T allele, while the highest is in CC homozygous women [18, 8], although the mechanism of the development of this relationship has not been finally recognised.

Consequences of oestrogen deficiency and oestrogen receptor α polymorphism

The above-mentioned ER α polymorphisms, Xba1 and PvuII, seem to be markers of many clinical states in women, having an effect on mineral bone density [19], the cardiovascular system [17], and complicating many oestrogen-related diseases, such as: endometriosis [20], breast cancer [21], osteoporosis, and familial premature ovarian failure (POF) [22]. The relationships between polymorphisms and various clinical states are controversial because of unequivocal results of the studies conducted. It is difficult to say which alleles are responsible for individual pathological states. The results of

the majority of studies show only that the presence of the A allele of the Xba1 and/or PvuII T is related with a higher risk of breast cancer and osteoporosis, but a lower risk of endometriosis. In addition, the relationship between the carrier state of particular alleles, and related pathological states, seems to be ethnically (race) dependent [23]. The results of recent studies indicate that there is a relationship between genotypes Xba1 AA and PvuII CC, and an increased risk of osteoporosis in the Asian population, while among the Caucasian population an increased risk of osteoporosis is associated with genotypes Xba1 AA and PvuII TT [24]. In addition, the prevalence of haplotype CA is typical of Asian, compared to the Caucasian population.

In many studies, a relationship was confirmed between PvuII polymorphism carrier state and many abnormalities [7], such as: breast cancer [10], atherogenic lipid profile changes, hypertension, and coronary atherosclerosis [25]. A controversial issue in many studies is the relationship between PvuII polymorphism and the risk of development of ischaemic heart disease (IHD) [7]. In the Victorian Family Heart Study, PvuII polymorphism was related with an increase in systolic RR in males. Shen reported that the presence of PvuII increases the risk of IHD in Chinese males [26], whereas Matsubara did not observe any relationship between PvuII and the occurrence of IHD among a Japanese population [27]. Similarly, in a comprehensive study concerning a European population, in which participated 3657 patients with IHD and 1211 individuals from the control group, the lack of difference was confirmed in the distribution of PvuII genes between the ill and the healthy. The Rotterdam Study, which covered approximately 4000 women, showed that those with the genotype IVS1-397TT are at higher risk of the development of cardiovascular diseases, and these diseases take a more severe and more complicated course. This increased risk resulting from the sole possession of the PvuII TT genotype is independent of other risk factors of cardiovascular diseases, such as body weight ratio, concentration of lipids, hypertension, and diabetes [28, 8]. Additionally, it was found that the complex haplotype 1, composed of the PvuII T allele and the Xba1 A allele, creates a similar risk of cardiovascular diseases and their severe course, to a single PvuII polymorphism [8]. It was discovered that the more copies of the PvuII T allele and haplotype 1 are present, the higher the cardiovascular risk. Apart from myocardial infarction, cardiovascular events also covered revascularisation procedures (percutaneous transluminal coronary angioplasty [PTCA], coronary artery bypass grafting (CABG), and mortality due to cardiovascular causes). Women with haplotype 1 showed a twice the mortality and twice the necessity to apply revascularisation

procedures. In a study in which participated 858 women with a stent inserted into one of the coronary arteries, a more unfavourable prognosis was noted for the women possessing T allele, with respect to the occurrence of restenosis six months after the PTCA procedure [29]. In women who were homozygotes for PvuII CC, the risk of cardiovascular events and severe myocardial infarction is the lowest, whereas in those with PvuII CT this risk is twice as high, and in PvuII TT homozygotes a 2.4-fold increased risk of cardiovascular events is observed, and a 6-fold increase in the risk of myocardial infarction [8].

The evidence for the previously-mentioned statement, that women homozygous for PvuII CC more effectively respond to the effect of oestradiol than the carriers of the T allele of the PvuII, is also provided by studies of postmenopausal women using HRT. In women homozygous for PvuII CC, HRT had a beneficial effect on vascular function, leading to an increase in their diameter. In addition, it decreased the concentration of LDL cholesterol fraction and elevated the level of HDL and apolipoprotein A-1. Also, HRT turned out to be beneficial in women homozygous for PvuII CC with respect to the protection of the skeleton against osteoporosis of both the spine and neck of the femur [8]. For comparison, women with PvuII CT and TT genotypes did not respond or responded very poorly to HRT. In relation with the fact that among Caucasian women homozygotes PvuII CC constitute 20%, homozygotes TT slightly more than 20%, and the remaining women are heterozygotes PvuII TC, only a small group of women with homozygotes PvuII CC have a chance for improvement in the function of the cardiovascular and skeletal systems under the effect of HRT [8].

In the Framingham Heart Study, which included 1739 males and females, it was noted that men homozygotes CC are at a three-fold higher risk of myocardial infarction, compared to females who are carriers of the remaining genotypes. Similar results were obtained for stroke in the Second Northwick Park Heart Study, where the risk increased in males with PvuII CC genotype [30]. All the above-mentioned studies resulted in the conclusion that males with PvuII C allele are at higher cardiovascular risk. These entirely different results for males and females may be explained by the fact that in males inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis does not occur, which leads to maintenance of a sufficient concentration of oestradiol, exerting a protective effect with respect to PvuII T allele in males [28]. In women, a low level of oestrogens after menopause in combination with the presence of T allele decreases ER α expression, which leads to dangerous cardiovascular consequences in females [28, 30].

Summing up, ER α polymorphisms are important with respect to the effect of oestrogens on the function-

ing of a woman's body after menopause, and may imply the development of many pathological states, including the prevention or development of metabolic disorders.

Identifying ER α polymorphisms may be useful in case of oestrogen therapy for menopausal women who may benefit from it.

Acknowledgments

The study was elaborated based on the results of the 3rd stage of the many-year programme 'Improvement of safety and work conditions', financed during 2014–2016 within the scope of scientific studies, research, and development from the resources of the Ministry of Science and Higher Education/National Centre for Research and Development.

Coordinator of the programme: Central Institute of Labour Protection — National Research Institute.

References

- Iwanowicz-Palus GJ, Stadnicka G, Bień A. Determinant factors of health in rural women in their perimenopausal period. *Ann Agric Environ Med* 2013; 20: 96–100.
- Jasińska M, Mroczek B, Kotwas A et al. Stężenie cynku w surowicy krwi kobiet w wieku postmenopauzalnym. *Ginekol Pol* 2014; 85: 838–842.
- Robak-Cholubek D, Wdowiak A, Makara-Studzińska M et al. Perception and degree of acceptance of menopause-related changes in various spheres of life by postmenopausal women. *Ann Agric Environ Med* 2014; 21: 666–669.
- Jędrzejuk D. Wiek menopauzy uwarunkowania demograficzne. W: *Endokrynologia kliniczna*. Milewicz A (red.). Polskie Towarzystwo Endokrynologiczne, Wrocław 2012; 3: 68.
- Bojar I, Raczkiewicz D, Wdowiak A et al. Poziom prolaktyny i polimorfizm genu apolipoproteiny E a funkcje poznawcze kobiet po menopauzie. *Ginekol Pol* 2014; 85: 131–139.
- Kozakiewicz K, Wycisk A. Hormonalna terapia zastępcza i modulatory receptorów estrogenowych w prewencji chorób układu krążenia. *Wiad Lek* 2006; 59: 377–382.
- Ding J, Xu H, Yin X et al. Estrogen receptor α gene PvuII polymorphism and coronary artery disease: a meta-analysis of 21 studies. *Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)* 2014; 15: 243–255.
- Myśliwska J. Hormonalna terapia zastępcza a choroby układu sercowo-naczyniowego u kobiet. O krok do przodu. *Forum Medycyny Rodzinnej* 2009; 3: 1–9.
- Grycewicz J, Cypryk K. Wpływ hormonów płciowych na występowanie zaburzeń metabolicznych u kobiet w okresie menopauzy. *Prz Menopauz* 2008; 1: 29–37.
- Deroo B, Korach K. Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest* 2006; 116: 561–570.
- Nilsson A, Tovar J, Johansson M et al. A diet based on multiple functional concepts improves cognitive performance in healthy subjects. *Nutrition & Metabolism* 2013; 10: 49.
- Bojar I, Owoc J, Wojcik-Fatla A et al. Cognitive functions, lipid profile, and Apolipoprotein E gene polymorphism in postmenopausal women. *Ann Agric Environ Med* 2015; 22: 318–324.
- Bojar I, Gujski M, Raczkiewicz D et al. Cognitive functions, apolipoprotein E genotype and hormonal replacement therapy of postmenopausal women. *Neuro Endocrinol Lett* 2013; 34: 635–42.
- Wend K, Wend P, Krum SA. Tissue-Specific Effects of Loss of Estrogen during Menopause and Aging. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012; 3: 19.
- Gillies GE, McArthur S. Estrogen Actions in the Brain and the Basis for Differential Action in Men and Women: A Case for Sex-Specific Medicines. *Pharmacol Rev* 2010; 62: 155–198.
- Mansur AP, Nogueira CCM, Strunz CMC, et al. Genetic polymorphisms of estrogen receptors in patients with premature coronary artery disease. *Arch Med Res* 2005; 36: 511–517.
- Herrington DM, Howard TD, Hawkins GA et al. Estrogen-receptor polymorphisms and effects of estrogen replacement on high-density lipoprotein cholesterol in women with coronary disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 967–74.

18. Schuit SCE, de Jong FH, Stolk L et al. Estrogen receptor alpha gene polymorphisms are associated with estradiol levels in postmenopausal women. *Eur J Endocrinol* 2005; 153: 327–334.
19. Albagha OM, Pettersson U, Stewart A et al. Association of oestrogen receptor alpha gene polymorphisms with postmenopausal bone loss, bonemass, and quantitative ultrasound properties of bone. *J Med Genet* 2005; 42: 240–246.
20. Kim SH, Choi YM, Jun JK et al. Estrogen receptor dinucleotide repeat-polymorphism is associated with minimal or mild endometriosis. *Fertil Steril* 2005; 84: 774–777.
21. Shin A, Kang D, Nishio H et al. Estrogen receptor alpha gene polymorphisms and breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 80: 127–131.
22. Syrrou M, Georgiou I, Patsalis PC et al. Fragile X permutations and (TA)_n estrogen receptor polymorphism in women with ovarian dysfunction. *Am J Med Genet* 1999; 84: 306–308.
23. Sunderman EE, Maki PM, Bishop JR. A review of estrogen receptor alpha gene (ESR1) polymorphisms, mood, and cognition. *Menopause* 2010; 17: 874–886.
24. Gennari L, Merlotti D, De Paola V et al. Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2005; 161: 307–320.
25. Figtree GA, Noonan JE, Bhindi R et al. Estrogen receptor polymorphisms: significance to human physiology, disease and therapy. *Recent Pat. DNA Gene Seq* 2009; 3: 164–171.
26. Shen C, Chen J, Fan S et al. Association between the polymorphism of estrogen receptor α and coronary artery disease in a Chinese population. *Eur J Intern Med* 2012; 23: 175–178.
27. Matsubara Y, Murata M, Kawano K et al. Genotype distribution of estrogen receptor polymorphisms in men and postmenopausal women from healthy and coronary populations and its relation to serum lipid levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 3006–3012.
28. Schuit SCE, Oei HH, Witteman JCM et al. Estrogen receptor α gene polymorphisms and risk of myocardial infarction. *JAMA* 2004; 291: 2969–2977.
29. Ferrero V, Ribichini F, Matullo G et al. Estrogen receptor-alpha polymorphisms and angiographic outcome after coronary artery stenting. *ATVB* 2003; 23: 2223–2228.
30. Sai AJ, Gallagher C, Fang X. Effect of hormone therapy and calcitriol on serum lipid profile in postmenopausal elderly women: Association with estrogen receptor alpha genotypes. *Menopause* 2011; 18: 1101–1112.

Polish version

Menopauza — następstwa metaboliczne i zdrowotne spadku stężenia estrogenów

Wiek wystąpienia menopauzy u kobiet w Polsce, podobnie jak w innych krajach rozwiniętych, to około 50. rok życia. W 2012 roku przeciętne trwanie życia dla kobiet w Polsce wynosiło 81 lat i w porównaniu do początku lat 90. XX wieku wydłużyło się o około 6 lat, zaś w porównaniu do 2000 roku — o blisko 3 lata [1]. Porównując średni wiek wystąpienia menopauzy i przeciętne trwanie życia kobiety, 1/3 jej życia przypada na okres pomenopauzalny. Ocenia się, że w Polsce problemy zdrowotne, ekonomiczne i psychologiczne związane z menopauzą dotyczą 5 mln kobiet po 50. roku życia. Dane demograficzne wskazują, że co roku 25 mln kobiet na świecie przechodzi menopauzę [2, 3]. Bank Światowy w dokumencie „World Development Report 1993: Investing in Health”, odnosząc się do przeszłości, a także do prognoz demograficznych kobiet w okresie menopauzy aż do 2030 roku, zwraca uwagę na wyraźną tendencję do zwiększania się liczby kobiet w wieku 50 i więcej lat we wszystkich regionach [4]. Coroczny wzrost liczby kobiet powyżej 50. roku życia ma wynosić 2,65%. Również Europejski Raport Zdrowia Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) z 2012 roku alarmuje o starzeniu się populacji europejskiej. Prognozy przewidują, że w roku 2030 będzie żyło na świecie 1,2 mld kobiet po menopauzie [4].

Przekwitanie u kobiet jest naturalnym procesem związanym z utratą funkcji generatywnej jajników, a więc z utratą płodności i wieloma zaburzeniami somatycznymi i psychicznymi. Utrata pierwotnych pęcherzyków w jajniku rozpoczyna się już w okresie płodowym i zachodzi w sposób równomierny, by przyspieszyć nawet sześciokrotnie u kobiet po

39. roku życia [5]. Z wygasaniem czynności hormonalnej jajników, głównie z niedoborem estrogenów, związane jest występowanie charakterystycznych dla tego okresu objawów psychicznych, naczynioruchowych i zanikowych. Dodatkowo dochodzi w tym czasie do ujawnienia się lub przyspieszenia rozwoju problemów zdrowotnych, takich jak schorzenia sercowo-naczyniowe, osteoporoza, a według ostatnich doniesień — także obniżania procesów poznawczych [2].

Kobiety w wieku pomenopauzalnym obciążone są większym ryzykiem chorób układu sercowo-naczyniowego, a główną przyczyną śmiertelności w tej grupie jest choroba niedokrwienna serca (ChNS). W badaniu *Framingham Heart Study* wykazano, że kobiety przed 50. rokiem życia zapadają i umierają na choroby układu krążenia sześciokrotnie rzadziej niż mężczyźni w analogicznych grupach wiekowych [6]. Jednak zachorowalność i śmiertelność z powodu ChNS gwałtownie rośnie po menopauzie, czego przyczyną upatruje się w spadku poziomu estrogenów, które wywierają efekt ochronny [7]. Odnosząc się do ochronnego wpływu estrogenów na rozwój chorób układu krążenia, istotna jest długość ekspozycji na estrogeny w ciągu całego życia. Wyższe ryzyko zachorowania na schorzenia układu sercowo-naczyniowego stwierdzono u kobiet, które w okresie rozrodczym charakteryzowały się niskim stężeniem estrogenów w fazie folikularnej cyklu miesięczkowego [8]. Wcześniejsze wystąpienie menopauzy również wiąże się ze zwiększeniem tego ryzyka, które jest niezależne od klasycznych czynników ryzyka, takich jak nadciśnienie tętnicze (AH, *arterial hypertension*), zaburzenia lipidowe, otyłość i palenie tytoniu. Co więcej, im krótsza życiowa ekspozycja na estradiol, tym bardziej kobiety po menopauzie narażone są na wystąpienie zawału serca [8]. Większe ryzyko chorób układu

sercowo-naczyniowego po menopauzie dodatkowo wynika z częstszego występowania głównych czynników ryzyka choroby wieńcowej: wzrasta częstość zaburzeń gospodarki lipidowej, ryzyko zakrzepowe, opór naczyniowy, rośnie udział markerów zapalnych w powstawaniu zmian miażdżycowych, a zmniejsza się korzystne działanie estrogenów na ścianę naczyniową, przez co maleje podatność naczyń.

Menopauza sama w sobie nie wpływa na poziom glukozy na czczo, lecz wiąże się z postępującym zmniejszeniem wydzielania insuliny po stymulacji glukozą. Dodatkowo dochodzi jeszcze wzrost oporności tkankowej na insulinę i wzrost ryzyka rozwoju cukrzycy typu II [6]. Cukrzyca jest najczęstszym przewlekłym schorzeniem w krajach rozwiniętych. Jej występowanie u kobiet w Ameryce Północnej oraz w Europie szacuje się na 7–8%, a na całym świecie schorzenie to dotyczy około 100 mln kobiet [9].

Menopauza wiąże się z częstszym występowaniem dyslipidemii, które są kolejnymi czynnikami ryzyka rozwoju chorób układu krążenia. Estrogeny wywierają korzystny wpływ na parametry profilu lipidowego, działając poprzez ekspresję genów apolipoprotein. Obniżają poziom cholesterolu całkowitego, frakcji LDL (*low-density lipoprotein*) cholesterolu oraz apolipoproteiny Lp(a), podwyższają stężenie frakcji HDL (*high-density lipoprotein*) cholesterolu i trójglicerydów (TG) [6]. Po menopauzie dochodzi do wzrostu stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL i apolipoproteiny A oraz do obniżenia stężenia cholesterolu HDL. To właśnie wysoki poziom LDL, a niski poziom HDL są niezależnymi czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Dodatkowo uważa się, że osoby z wysokim stężeniem cholesterolu całkowitego i lipoprotein o niskiej gęstości pod koniec życia mają zwiększone ryzyko zaburzeń poznawczych oraz otępienia.

Po menopauzie zmniejsza się korzystne oddziaływanie estrogenów na ścianę naczyniową. Estrogeny bezpośrednio i pośrednio regulują napięcie naczynioruchowe, blokując kanał wapniowy w ścianie naczynia, a także zwiększając wydzielanie tlenku azotu (NO) i prostacykliny. Estrogeny powodują wzrost wydzielania NO w mechanizmie genomowym przez ekspresję genu syntazy NO oraz niegenomowym (efekt natychmiastowy) poprzez stymulację wydzielania NO bez udziału receptorów oraz bezpośredni wpływ na jonowe kanały wapniowe typu L i kanały potasowe. Blokując kanały wapniowe w ścianie naczynia, wykazują działanie naczyniorozszerzające. Po menopauzie, niezależnie od masy ciała i metabolizmu glukozy, w autonomicznej kontroli układu sercowo-naczyniowego zaczyna dominować wzrost napięcia układu współczulnego. Napięcie to, spowodowane niedoborem estrogenów, powoduje skurcz drobnych naczyń, wzrost poziomu

angiotensyny II, a w konsekwencji rozwój AH. Nadciśnienie jest najpoważniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju wszystkich typów udarów, zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn [10]. Dodatkowo, w kilku badaniach obserwacyjnych wykazano, że u osób z AH w wieku średnim występuje zwiększone ryzyko choroby Alzheimera (AD, *Alzheimer's disease*) i innych rodzajów demencji [11].

Estrogeny wykazują wielokierunkowe działania neuroprotektcyjne w stosunku do ryzyka rozwoju udarów, choroby Parkinsona (PD, *Parkinson's disease*) i AD [10]. Kobiety przed menopauzą mają mniejsze ryzyko udaru mózgu w porównaniu z mężczyznami. Różnica ta zacierza się jednak po menopauzie.

U kobiet po menopauzie obserwuje się przyrost masy ciała, charakteryzujący się niekorzystną redystrybucją tkanki tłuszczowej ze zwiększeniem ilości tłuszczu wisceralnego oraz zmniejszeniem tak zwanej beztłuszczowej masy ciała. U około 60% Polek w wieku pomenopauzalnym stwierdza się otyłość brzuszna, która jest niezależnym czynnikiem ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego oraz nowotworów: raka endometrium i raka sutka [5]. Rozwój otyłości może wynikać zarówno ze spowolnienia tempa podstawowej przemiany materii, nieprawidłowych nawyków żywieniowych, stosowania wysokokalorycznej diety, jak i z braku aktywności fizycznej [12]. W etiologii otyłości wieku okołomenopauzalnego bierze się również pod uwagę fakt niedoboru estrogenów, progesteronu oraz obniżonego w tym wieku stężenia hormonu wzrostu, leptyny, galaniny, greliny oraz neuropeptydu Y [9].

Wykazano, że zespół metaboliczny, który często rozwija się u kobiet po menopauzie, a który obejmuje opisane powyżej: otyłość brzuszna, hipertriglicydemie, niskie wartości HDL, AH i/lub hiperglikemię, również jest związany ze zwiększonym ryzykiem demencji i spadkiem poziomu funkcji poznawczych. Kilka badań klinicznych wspartych badaniami histopatologicznymi potwierdziło naczyniową hipotezę powstawania demencji. Zmiany naczyniowe, prowadzące do uszkodzenia istoty białej, były związane z pogorszeniem funkcji przedniego płata, w tym funkcji uwagi, pamięci, funkcji wykonawczych, plastyczności poznawczej, procesów emocjonalnych i szybkości przetwarzania. Potwierdzeniem tego są wyniki badań, w których stwierdzono, że cukrzyca typu 2, AH, dyslipidemia i otyłość są związane ze spadkiem funkcji poznawczych, takich jak: szybkość przetwarzania, elastyczność poznawcza i pamięć w populacjach niemających objawów demencji [11, 13]. Nilsson i wsp. w swoich badaniach wręcz stwierdzają, że im więcej kryteriów zespołu metabolicznego jest spełnionych, tym większe ryzyko rozwoju zaburzeń poznawczych w późniejszym wieku (u osób aktualnie bez cech demencji). A biorąc pod uwagę narastającą

epidemię otyłości, cukrzycy typu 2, AH etc. oraz fakt starzenia się społeczeństwa, grozi nam również epidemia różnych postaci demencji z AD włącznie [13].

Estrogeny — działanie biologiczne i metaboliczne

Estrogeny należą do C-18 steroidów. Produkcja estrogenów jest specyficzna tkankowo. Estron powstaje głównie w tkankach obwodowych, 17β -estradiol — głównie w jajniku, a estriol przede wszystkim w łożysku. W procesie biosyntezy estrogenów istotną rolę odgrywa — zwłaszcza w okresie menopauzy — aromataza będąca kompleksem enzymów cytochromu P-450 odpowiedzialnych za konwersję androgenów — testosteronu i androstendionu — do estradiolu i estronu. Aromataza jest obecna nie tylko w komórkach jajnika, łożysku i macicy, lecz również w neuronach i astrocytach w mózgu, w osteoblastach, fibroblastach i chondrocytach kości, w fibroblastach skóry i tkanki podskórnej oraz w adipocytach — dzięki czemu tkanki te mogą przekształcać androgeny w estrogeny [9]. Produktem aromatazy jest estron ulegający dalszemu przekształceniu w estradiol pod wpływem dehydrogenazy 17β -hydroksysteroidowej, której aktywność jest regulowana między innymi przez stężenie leptyny. U kobiet w okresie menopauzy obserwuje się wzrost aktywności aromatazy, co znacznie modyfikuje niedobór estrogenów. We krwi estrogeny są niespecyficznie (z niskim powinowactwem) związane z albuminami oraz specyficznie (z wysokim powinowactwem) z SHBG (globuliną wiążącą hormony płciowe) i CBG (globuliną wiążącą kortykosteroidy). Wydalane są głównie z moczem, w niewielkich ilościach z kałem po uprzednim sprzężeniu z glukuronianem i siarczanem.

Estrogeny wykazują liczne działania biologiczne i metaboliczne [9]. Dobrze poznane biologiczne działanie estrogenów to: warunkowanie rozwoju II- i III-rzędowych cech płciowych, działanie proliferacyjne na błonę śluzową macicy i przygotowanie do działania progesteronu, zwiększanie masy mięśniowej macicy oraz perystaltyki jajowodów, działanie rozluźniające na mięśnie okrężne szyjki macicy i zwiększenie ilości przezroczystego śluzu ułatwiającego penetrację plemników, pobudzanie wzrostu i złuszczenia komórek nabłonkowych pochwy, pobudzanie wzrostu nabłonka kanalików i pęcherzyków w gruczole sutkowym oraz zwiększanie libido.

Metaboliczne, nieco mniej poznane, działanie estrogenów związane jest z korzystnym wpływem na stan psychoemocjonalny, hamowaniem rozwoju osteoklastów niszczących kość poprzez hamowanie ekspresji genu IL-6 (mechanizm genomowy i niegenomowy) oraz wpływem na biosyntezę tłuszczów, białek, zasad

purynowych i pirymidynowych. Estrogeny oddziałują na wzrost stężenia HDL cholesterolu, powodują obniżenie stężenia TG, LDL cholesterolu, homocysteiny i działającej aterogennie Lp(a). Zwiększają syntezę białek w wątrobie, w tym SHBG, oraz transkortyny (globuliny wiążącej tyroksynę), a także substratu reniny i fibrynogenu. Estrogeny wpływają na stężenie glukozy i insuliny przez zmianę funkcjonowania komórek β oraz wzrost wrażliwości komórek na insulinę i zmniejszenie insulinooporności. Mają również wpływ na centralny (poprawa funkcji poznawczych) i autonomiczny układ nerwowy. Pobudzają wzrost komórek nerwowych i tworzenie synaps. Zwiększają przepływ krwi przez ośrodkowy układ nerwowy (OUN). Hamują tworzenie złogów amyloidu. Pobudzają syntezę acetylocholin i innych neurotransmiterów. Estrogeny odpowiedzialne są za zatrzymywanie wody w ustroju, poprawę elastyczności tkanek, w tym skóry, poprzez zwiększanie zawartości glikozoaminoglikanów i kolagenu. Zapobiegają wysuszeniu skóry i powstawaniu zmarszczek, zwiększają grubość skóry, przyspieszają gojenie ran. Estrogeny mają wpływ na rozmieszczenie tkanki tłuszczowej o typie kobiecym, działają jako antyoksydanty, hamują wolne rodniki, działają bezpośrednio na komórki będące prekursorami limfocytów, wpływając w ten sposób na układ immunologiczny. Niedobór estrogenów powoduje problemy okulistyczne: *keratoconjunctivitis sicca*. Ich działanie to ponadto zwiększanie stężenia czynników krzepnięcia II, VII, IX, X, a zmniejszenie stężenia fibrynogenu i antytrombiny. Estrogeny regulują wątrobową ekspresję genów białek wątrobowych odpowiedzialnych za krzepnięcie i fibrylizację. Obniżając stężenie fibrynogenu, inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1) i tkankowego aktywatora plazminogenu (tPA), działają przeciwzakrzepowo, ale mogą także wykazywać wpływ prozakrzepowy, obniżając stężenie antytrombiny III i białka S [6].

Receptory estrogenowe — podział i rola w organizmie kobiety

Estrogeny działają poprzez dwa niezależne receptory steroidowe: ER α i ER β , różniące się strukturalnie i funkcjonalnie. Oba receptory są kodowane przez różne geny, pełnią odmienną funkcję sygnalizacyjną i ich lokalizacja tkankowa jest różna. Gen ER α umiejscowiony jest na długim ramieniu chromosomu 6 (6q24-27), a gen ER β na długim ramieniu 14 chromosomu (14q22-24).

Receptory estrogenowe mogą być uaktywnione przez estrogeny, a przy nieobecności estrogenów także przez czynniki wzrostu tkanek. Oba receptory po połączeniu z ligandem mogą tworzyć formy homo- lub heterodimeryczne [8]. Receptory steroidowe to białka

zlokalizowane w cytoplazmie, które po połączeniu się z hormonem przemieszczają się do jądra komórkowego. Związanie hormonu z białkiem receptorowym wywołuje w nim zmiany biochemiczne i strukturalne zwane transformacją receptora. Odkryto dodatkowo subfrakcję receptorów estrogenowych (ER) na błonie komórkowej, które mogą być odpowiedzialne za pozajądrowe, niegenomowe, nietranskrypcyjne działanie estrogenów. Niegenomowe działanie estrogenów (efekt natychmiastowy) polega na stymulacji wydzielania NO bez udziału receptorów oraz na bezpośrednim wpływie na kanały jonowo-wapniowe typu L i kanały potasowe. Blokując kanały wapniowe w ścianie naczynia, wykazują działanie naczyniorozszerzające. Mechanizm natychmiastowego działania estrogenów nie został do końca poznany [6].

Aktywacja receptora steroidowego zależy od stężenia wolnego hormonu w osoczu, jego powinowactwa do receptora, całkowitej liczby receptorów, a także od zmian, które powstały po uprzedniej aktywacji receptora. Skutek biologiczny działania steroidu zależy od jego stężenia. Istnieje dodatnia korelacja przy niewielkich stężeniach i ujemna przy dużych. Odpowiedź receptora zależy również od czasu ekspozycji. Przewlekła ekspozycja na wysokie stężenie hormonu powoduje zmniejszenie wrażliwości receptora. Kompleks steroid – receptor ma zdolność zmian efektu biologicznego przez wpływ na liczbę receptorów i zmian w powinowactwie ligandów.

Obecność receptorów estrogenowych stwierdzono w wielu tkankach i narządach. To rozpowszechnienie ich w narządach, które do tej pory uważane były za nietypowe dla estrogenów, dowodzi ich dużego, ogólnoustrojowego znaczenia. Receptory estrogenowe występują w podwzgórzcu, płacie węchowym, ciele migdałowatym, hipokampie, korze mózgu, mózdzku, przysadce, tkance kostnej (osteoblastach i osteoklastach), w układzie sercowo-naczyniowym i wątrobie. Wysoką ekspresję ER α stwierdzono w: nabłonku gruczołowym endometrium, gruczołach piersiowych, przysadce mózgowej, nadnerczach, śródbłonku i mięśniówce gładkiej naczyń (ER α odgrywa ważniejszą rolę w kardioprotekcji niż ER β , biorąc udział w wazodylatacji, neowaskularyzacji i osłabieniu apoptozy komórek mięśnia sercowego [7]), wątrobie i jądrach.

Wysoką ekspresję ER α stwierdzono natomiast w: nerkach, śluzówce żołądka i dwunastnicy, jelicie cienkim, okrężnicy, odbytnicy, płucach, śledzionie, leukocytach krwi obwodowej i w szpiku kostnym, gruczole krokowym, pęcherzu moczowym oraz jajniku — w komórkach ziarnistych, komórkach otoczkowych i w ciałku żółtym. Ekspresja ER α w komórkach ziarnistych jajnika jest znacząco mniejsza, a w komórkach tekalnych nie występuje.

Obecność obu typów receptorów estrogenowych stwierdzono w jajowodach, pochwie, gruczole tarczycy, kościach i mózgu [14, 15].

Geny kodujące ER α mają liczne warianty polimorficzne, spośród których najważniejszymi z punktu widzenia klinicznego są dwa polimorfizmy typu SNP (*single nucleotide polymorphism*) — XbaI i PvuII. Polimorfizm XbaI (A/G rs9340799) umiejscowiony jest w intronie 1 genu ER α , 351 pz przed końcem 5' egzonu 2, stąd jego nazwa IVS1-351. Jest on spowodowany tranzycją A/G [16]. Około 50 pz za miejscem polimorficznym XbaI zlokalizowany jest polimorfizm PvuII (T/C, rs2234693), określane jako IVS1-397T/C [8]. Jest on spowodowany tranzycją T/C w intronie 1, 397 pz przed końcem 5' egzonu 2. Mimo lokalizacji w intronie, polimorfizm PvuII odgrywa nadrzędną rolę w regulacji ekspresji białka ER α . Obecność allelu C w pozycji 397 sprawia, że enzym restrykcyjny PvuII nie rozpoznaje miejsca restrykcyjnego i nie przecina nici DNA w pozycji między 399 a 398, co ma miejsce w obecności allelu T w tej pozycji. Najprawdopodobniej allel C jest związany z obecnością funkcjonalnego miejsca wiążącego czynnik transkrypcyjny B-myb, który może wzmacniać transkrypcję, a także wywierać wpływ na strukturę i stabilność transkryptu ER α [17].

Wzmocniona transkrypcja ER α kodowanego przez allel C prowadzi do jego silniejszej ekspresji na powierzchni komórek, czego wynikiem może być silniejsze wiązanie estradiolu przez ER α u kobiet homozygot IVS1-397CC i silniejszy efekt jego działania. Wyniki wielu badań nad polimorfizmem genów ER α wskazują na fakt, że kobiety homozygoty IVS1-397CC skuteczniej reagują na działanie estradiolu niż nosicielki allelu T. Co więcej, wykazano, że wśród kobiet po menopauzie najniższe stężenie endogennej estradiolu jest u nosicielek allelu T, a najwyższe u kobiet homozygot CC [8, 18], choć mechanizm powstania tej zależności nie został do końca poznany.

Następstwa niedoboru estrogenów a polimorfizm receptorów estrogenowych α

Wymienione wyżej polimorfizmy ER α — XbaI i PvuII wydają się być markerami wielu klinicznych stanów u kobiet, wpływając na gęstość mineralną kości [19], układ sercowo-naczyniowy [17] i wnikając liczne, zależne od estrogenów choroby, takie jak: endometrioza [20], rak piersi [21], osteoporoza, rodzinne przedwczesne wygasanie czynności jajników (POF) [22]. Związki polimorfizmów tych genów z różnymi stanami klinicznymi są kontrowersyjne z powodu niejednoznacznych wyników przeprowadzonych badań. Jest mianowicie trudne do stwierdzenia, które allele są odpowiedzialne za poszczególne stany chorobowe. Wyniki większości

badania wskazują jedynie, że obecność allelu A Xba1 i/lub T PvuII jest związana z większym ryzykiem raka piersi i osteoporozy, a zmniejsza ryzyko endometriozy. Co więcej, związek nosicielstwa poszczególnych alleli i związanych z nimi stanów chorobowych wydaje się być etniczno (rasowo) zależny [23]. Wyniki ostatnich badań wskazują na związek między genotypami AA Xba1 i CC PvuII a wzrostem ryzyka osteoporozy w populacji azjatyckiej, podczas gdy w populacji kaukaskiej z większym ryzykiem osteoporozy związane są genotypy AA Xba1 i TT PvuII [24]. Dodatkowo charakterystyczna dla populacji azjatyckiej, w porównaniu z populacją kaukaską, jest przewaga haplotypu CA.

W wielu badaniach wykazano związek między nosicielstwem polimorfizmu PvuII a licznymi nieprawidłowościami [7], jak: rak piersi [10], aterogenne zmiany profilu lipidowego, nadciśnienie, miażdżyca naczyń wieńcowych [25]. Kwestią wzbudzającą kontrowersje w licznych badaniach jest związek pomiędzy polimorfizmem PvuII a ryzykiem rozwoju choroby niedokrwiennej serca [7]. W badaniu Victorian Family Heart Study polimorfizm PvuII był związany ze wzrostem skurczowego RR u mężczyzn. Shen w swoim badaniu podaje, że obecność PvuII zwiększa ryzyko ChNS u mężczyzn pochodzenia chińskiego [26], natomiast Matsubara nie obserwuje związku między PvuII a występowaniem ChNS w populacji japońskiej [27]. Podobnie, w dużym badaniu dotyczącym populacji europejskiej, w którym brało udział 3657 chorych na ChNS i 1211 osób z grupy kontrolnej, wykazano brak różnicy w rozkładzie genów PvuII między osobami chorymi i zdrowymi. W badaniu Rotterdam Study — obejmującym około 4000 kobiet — wykazano, że u kobiet o genotypie IVS1-397TT występuje większe ryzyko rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego, a choroby te mają cięższy i bardziej powikłany przebieg. To zwiększone ryzyko wynikające z samego posiadania genotypu TT PvuII jest niezależne od innych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego, takich jak wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*), stężenie lipidów, nadciśnienie i cukrzyca [8, 28]. Co więcej, wykazano, że złożony „haplotyp 1” utworzony przez allel T genu PvuII oraz allel A genu Xba1 stwarza podobne ryzyko chorób układu sercowo-naczyniowego i ich ciężkiego przebiegu, jak w przypadku pojedynczego polimorfizmu PvuII [8]. Stwierdzono, że im więcej jest obecnych kopii allelu T genu PvuII oraz „haplotypu 1”, tym większe zagrożenie sercowo-naczyniowe. Incydenty sercowo-naczyniowe — oprócz zawałów serca — obejmowały także procedury rewaskularyzacyjne (przezskórna wewnątrznacyniowa angioplastyka wieńcowa [PTCA, *percutaneous transluminal coronary angioplasty*], pomostowanie aortalno wieńcowe [CABG, *coronary artery bypass*

grafting]) oraz śmiertelność z powodów sercowo-naczyniowych. Kobiety z „haplotypem 1” wykazywały dwukrotnie większą śmiertelność oraz dwukrotnie zwiększoną konieczność stosowania procedur rewaskularyzacyjnych. W badaniu z udziałem 858 kobiet z założonym stentem w jednej z tętnic wieńcowych stwierdzono gorsze rokowanie dla posiadaczek allelu T, co do wystąpienia restenozy po 6 miesiącach od zabiegu PTCA [29]. U kobiet homozygot CC PvuII istnieje najniższe ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych i ciężkich zawałów serca, u kobiet CT PvuII to ryzyko jest dwukrotnie podwyższone, a u homozygot TT PvuII wsyępuje 2,4-krotny wzrost ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych i sześciokrotny wzrost ryzyka zawału serca [8].

Dowodów na wcześniej podane stwierdzenie, że kobiety homozygoty CC PvuII skuteczniej reagują na działanie estradiolu niż nosicielki allelu T PvuII dostarczają również badania z udziałem kobiet po menopauzie stosujących hormonalną terapię (HT). U kobiet homozygot CC PvuII HT wpływała korzystnie na funkcję naczyń, prowadząc do zwiększenia się ich średnicy. Co więcej, obniżała stężenie cholesterolu frakcji LDL, podwyższała stężenie HDL oraz apolipoproteiny A-1. Ponadto HT okazała się korzystna u kobiet homozygot CC PvuII dla ochrony kośćca przed osteoporozą zarówno kręgosłupa, jak i szyjki kości udowej [8]. Dla porównania, kobiety o genotypach CT oraz TT PvuII nie reagowały lub bardzo słabo reagowały na HT. W związku z faktem, że wśród kobiet rasy białej 20% stanowią homozygoty CC PvuII, nieco ponad 20% homozygoty TT, a pozostałe kobiety są heterozygotami TC PvuII tylko niewielka grupa kobiet — homozygot CC PvuII — ma szansę na poprawę pod wpływem HT funkcji układu sercowo-naczyniowego oraz kostnego [8].

W badaniu *Framingham Heart Study* obejmującym 1739 kobiet i mężczyzn zauważono, że mężczyźni homozygoty CC mają trzykrotnie większe ryzyko zawału serca w porównaniu z kobietami i nosicielkami pozostałych genotypów. Podobne rezultaty otrzymano dla udarów w badaniu *Second Northwick Park Heart Study*, gdzie ryzyko rosło u mężczyzn z genotypem CC PvuII [30]. Wszystkie te badania niosą za sobą konkluzję, że mężczyźni z allelem C PvuII mają większe ryzyko sercowo-naczyniowe. Te zupełnie różne dla kobiet i mężczyzn wyniki mogą być wytłumaczone tym, że u mężczyzn nie dochodzi do zahamowania osi podwzgórzowo-przysadkowej, co prowadzi do utrzymania wystarczającego stężenia estradiolu mającego ochronne działanie wobec allelu T PvuII u mężczyzn [28]. U kobiet niski poziom estrogenów po menopauzie połączony z obecnością allelu T zmniejsza ekspresję ER α ,

co prowadzi do niebezpiecznych konsekwencji sercowo-naczyniowych [28, 30].

Podsumowując, polimorfizmy ER α mają istotne znaczenie dla wpływu estrogenów na funkcjonowanie organizmu kobiety po menopauzie i mogą implikować rozwój licznych stanów patologicznych, w tym zapobieganie lub rozwój zaburzeń metabolicznych.

Identyfikacja polimorfizmów ER α może być użyteczna w planowaniu terapii estrogenowej u kobiet, które mogą odnieść z niej korzyści.

Podziękowania

Opracowano na podstawie wyników III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2014–2016 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowego Centrum Badań i Rozwoju.

Koordinator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy — Państwowy Instytut Badawczy.

