

POLIMORFIZM GENETYCZNY KLUCZOWYCH ENZYMÓW SZLAKU BIOSYNTETY ESTROGENÓW U KOBIET*

GENETIC POLYMORPHISM OF THE ESTROGEN BIOSYNTHESIS
PATHWAY KEY ENZYMES IN WOMEN

Bogdan RUMIANOWSKI¹, Maria LASZCZYŃSKA¹,
Agnieszka BRODOWSKA², Małgorzata PIASECKA¹, Beata KARAKIEWICZ³

¹Samodzielna Pracownia Histologii i Biologii Rozwoju,
²Klinika Ginekologii i Uroginekologii oraz ³Zakład Zdrowia Publicznego,
Pomorska Akademia Medyczna, Szczecin

Streszczenie: Endogenne estrogeny pełnią wiele istotnych funkcji w organizmie kobiet: regulują cykl miesięczkowy przez wpływ na proces folikulogenezy, steroidogenezę jajnikową oraz wzrost i przemiany w endometrium. Jednak ich rola nie ogranicza się jedynie do działania w obrębie narządu rodne. Liczne badania donoszą o ogólnoustrojowej roli tych hormonów u kobiet. Biorą one udział m.in. w przemianach metabolicznych lipidów, węglowodanów, procesie mineralizacji kości, funkcjonowaniu układu naczyniowego. Synteza estrogenów odbywa się nie tylko w gonadach, lecz również w komórkach tłuszczowych, kościach, mózgu, ścianach naczyń krwionośnych i korze nadnerczy. Bierze w niej udział szereg enzymów. Do najważniejszych należą kompleksy aromatazy cytochromu P450 (*CYP19*), 17 α -hydroksylazy i 17,20-liazy (*CYP17*). Są one produktami genów *CYP19* oraz *CYP17*. Gen *CYP19* koduje aromatazę cytochromu P450, która uczestniczy w końcowych etapach szlaku biosyntezy estrogenów. Gen *CYP17* koduje natomiast kompleks enzymów 17 α -hydroksylazy i 17,20-liazy, które odpowiedzialne są za przemiany prekursorów estrogenów. Liczne publikacje donoszą o wpływie polimorfizmu tych genów na funkcjonowanie układu rozrodczego, w tym na stężenie hormonów płciowych, wiek wystąpienia naturalnej menopauzy, jak również na procesy mineralizacji kości, ryzyko wystąpienia raka piersi i raka endometrium u kobiet.

Słowa kluczowe: estrogeny, polimorfizm genetyczny, aromataza, *CYP17*, *CYP19*.

Summary: Endogenous estrogens play an important role in women's organism: they control menstrual cycle through the influence on folliculogenesis, ovary's steroidogenesis and growth, and endometrium transformations. But their role is not only confined to ovaries and testis action. Number of researches report about systemic role of these hormones in women. They are involved in lipids and carbohydrates metabolism, bone mineralization, vascular functions. Estrogens are synthesized not only in gonads, but also in adipose cells, bones, brain, vasculature and adrenal cortex. Many enzymes are involved in estrogen

*Praca finansowana z grantu nr N N401 074137.

biosynthesis pathway. It seems that two of them are one of the most important – aromatase cytochrome P450, complex of the 17α -hydroxylase and $17,20$ -lyase. They are products of the *CYP19* and *CYP17* genes respectively. The *CYP19* gene encodes the aromatase cytochrome P450 enzyme, which is responsible for final steps in biosynthesis of estrogens. The *CYP17* gene encodes complex of the 17α -hydroxylase and $17,20$ -lyase enzymes, which catalyze transformation from pregnenolone and progesterone to DHEA and androstendione respectively, which are major precursors of the estrogens. A number of publications report about influence of the genetic variation across these genes on reproductive system functions such as estrogen concentration, age at the natural menopause, breast and endometrial cancer risk in women.

Key words: estrogens, genetic polymorphism, aromatase, *CYP17*, *CYP19*.

Wykaz skrótów: E_1 – estron; E_2 – estradiol; T – testosteron; DHT – 5α -dihydrotestosteron; DHEA – dehydroepiandrosteron; DHEAS – siarczan dehydroepiandrosteronu; HSD (*hydroxysteroid dehydrogenase*) – dehydrogenaza hydroksysteroidowa; LH – lutropina; FSH – folikulotropina; SNP (*single nucleotide polymorphism*) – polimorfizm pojedynczych nukleotydów; HDL (*high density lipids*) – lipidy o wysokiej gęstości; HTZ – hormonalna terapia zastępcza; 5'-UTR (3'-UTR) (*untranslated*) – końce 5' (3'), nieulegające translacji części mRNA; COMT – O-metylotransferaza katecholowa; HSD17B – 17β -dehydrogenaza hydroksysteroidowa; HSD3B – 3β -dehydrogenaza hydroksysteroidowa

1. ŹRÓDŁA ESTROGENÓW ORAZ WYBRANYCH HORMONÓW STEROIDOWYCH U CZŁOWIEKA

Z literatury wiadomo, że u kobiet w wieku rozrodczym około 70% estronu (E_1) oraz ponad 95% estradiolu (E_2) krążących w surowicy powstaje w jajniku. Pozostała część znajdujących się w surowicy estrogenów pochodzi z konwersji obwodowej androgenów, głównie androstendionu. U kobiet po menopauzie obwodowa aromatyzacja androgenów do estrogenów jest głównym źródłem estrogenów [48, 64].

Analizując powstawanie androgenów wykazano, że podstawą androgeny u mężczyzn w każdym wieku jest ich synteza w jądrach, gdzie powstaje ponad 95% całkowitego, krążącego w surowicy krwi testosteronu (T) (steroid C19). Inaczej androgeny przedstawia się u kobiet, u których w wieku rozrodczym około 25% całkowitego krążącego we krwi T powstaje w jajnikach, 25% pochodzi z sekrecji nadnerczowej oraz około 50% z konwersji obwodowej. Natomiast dane dotyczące syntezy androgenów u kobiet po menopauzie są sprzeczne. Według części badaczy jajniki są nadal istotnym źródłem produkcji androgenów (około 25% ogólnej ilości), natomiast według innych autorów androgeny po menopauzie powstają przede wszystkim w nadnerczach i w wyniku aromatyzacji obwodowej [8, 64, 74]. Najsilniejsze działanie biologiczne w wielu tkankach docelowych wykazuje 5α -dihydrotestosteron (DHT), który przekształcany jest z testosteronu przez enzym 5α -reduktazę [64, 73]. Prawie cały krążący w surowicy DHT pochodzi głównie z konwersji pozagonadalnej. Dodatkowo kora nadnerczy oraz w mniejszym stopniu gonady wydzielają dużą ilość innych androgenów (C19), głównie dehydroepiandrosteronu (DHEA) i jego siarczanu (DHEAS), a także Δ^4 -androstendionu. Mimo że te hormony same nie są ważnymi funkcjonalnie hormonami płciowymi, to są istotnym źródłem substratów do produkcji pozagonadalnej innych hormonów steroidowych [8, 9, 10, 65].

Stężenie znajdujących się w surowicy aktywnych płciowych steroidów jest funkcją wielkości ich produkcji oraz szybkości wydalania. W tkankach obwodowych E_1 powstaje ze steroidów C19, a E_2 oraz DHT mogą być syntetyzowane bezpośrednio z T [47, 74]. Natężenie biosyntezy estrogenów w tkankach obwodowych może ulec znacznemu zwiększeniu u osób otyłych oraz u starzejących się kobiet po menopauzie [47, 71].

W najważniejsze szlaki metaboliczne hydroksylacji estrogenów zaangażowane są reakcje 2-hydroksylacji oraz 16α -hydroksylacji. Estrogeny 2-hydroksylowane są nieaktywne, podczas gdy 16α -hydroksylowane utrzymują aktywność estrogenów. Najistotniejszą drogą degradacji testosteronu w surowicy jest jego oksydacja prowadząca do powstania 17-ketosteroidów [83].

Synteza steroidów, m.in. estrogenów, odbywająca się zarówno w gonadach, jak i w obwodowych tkankach organizmu, ma miejsce w komórkach docelowych, w których aktywność steroidów jest wykorzystywana bez uwalniania jej do płynu zewnątrzkomórkowego. Komórki tkanek obwodowych, syntetyzujące E_1 oraz E_2 wykorzystują te same drogi enzymatyczne, które prowadzą do syntezy odbywającej się w gonadach. Jednakże, w odróżnieniu od gonad, komórki te nie mają zdolności syntezy steroidów C19, dlatego zależy ona od dostępności krążących w surowicy prekursorów [46, 56]. Mimo to steroidy zsyntetyzowane poza gonadami wykazują aktywność parakrynną [64].

Aktywność syntezy steroidów, w tym także estrogenów, w tkankach obwodowych ma swoje uzasadnienie ekonomiczne, ponieważ produkowana jest tylko ilość hormonu niezbędna dla danej komórki. Dodatkowo, synteza odbywająca się w ten sposób zapobiega rozcieńczeniu hormonów w płynach pozakomórkowych, co mogłoby prowadzić do zmniejszenia efektu parakrynnego [56, 64, 73].

2. BIOSYNTETA STEROIDÓW

Enzymy steroidogenezy uczestniczą w biosyntezie steroidów od momentu przemiany cholesterolu do momentu wytworzenia różnych hormonów steroidowych, wśród których można wyróżnić: androgeny, estrogeny, progesteron, mineralokortykoidy oraz glikokortykoidy. Ich kompleksy składają się z wielu specyficznych enzymów cytochromu P450 (CYP), reduktaz steroidowych oraz dehydrogenaz hydroksysteroidowych (HSD) [53, 65].

Do tej pory wykazano, że zdolność syntezy steroidów ma wiele komórek różnych narządów i tkanek, w tym: jądra, jajniki, łożysko, nadnercza, mózg i komórki tłuszczowe. Jednak główną rolę w syntezie *de novo* steroidów pełnią trzy następujące narządy: nadnercza i jajniki u kobiet oraz jądra u mężczyzn [8, 11, 65].

Synteza hormonów steroidowych *de novo* rozpoczyna się od konwersji cholesterolu do pregnenolonu przy udziale CYP11A (enzym odpowiedzialny za odszczepienie łańcucha bocznego od cholesterolu). CYP11A jest związany z wewnętrzną błoną mitochondriów, a jego obecność została stwierdzona we wszystkich steroidogennych tkankach, jednak jego ekspresja jest słaba lub jest jej

brak w tkankach niesteroidogennych [62]. Kolejnym krokiem jest przekształcenie pregnenolonu w progesteron przy udziale 3β -dehydrogenazy hydroksysteroidowej (HSD3B). Enzym ten należy do grupy enzymów niezwiązanych z CYP, jednak zaangażowanych w biosyntezę steroidów i nazywany jest inaczej Δ^5 - Δ^4 -izomerazą. Odpowiada on również za inne ważne reakcje w procesie biosyntezy steroidów. Bierze udział w przekształcaniu Δ^5 -prekursorów steroidowych – pregnenolonu, 17α -hydroksypregnenolonu, DHEA oraz 5-androstendiolu odpowiednio w progesteron, 17α -hydroksyprogesteron, androstendion i testosteron [27, 58, 65, 70]. Występują dwie izoformy tego enzymu, które są regulowane w sposób tkankowo-specyficzny [65, 70]. Typ „1” HSD3B można odnaleźć w tkankach niesteroidogennych, takich jak: skóra, wątroba, nerki, łożysko, natomiast typ „2” HSD3B ulega w przeważającej mierze ekspresji w tkankach steroidogennych, czyli jajnikach, jądrach, nadnerczach [30]. Pregnenolon i progesteron są prekursorami wszystkich kolejnych hormonów steroidowych [11, 26, 53, 56, 65].

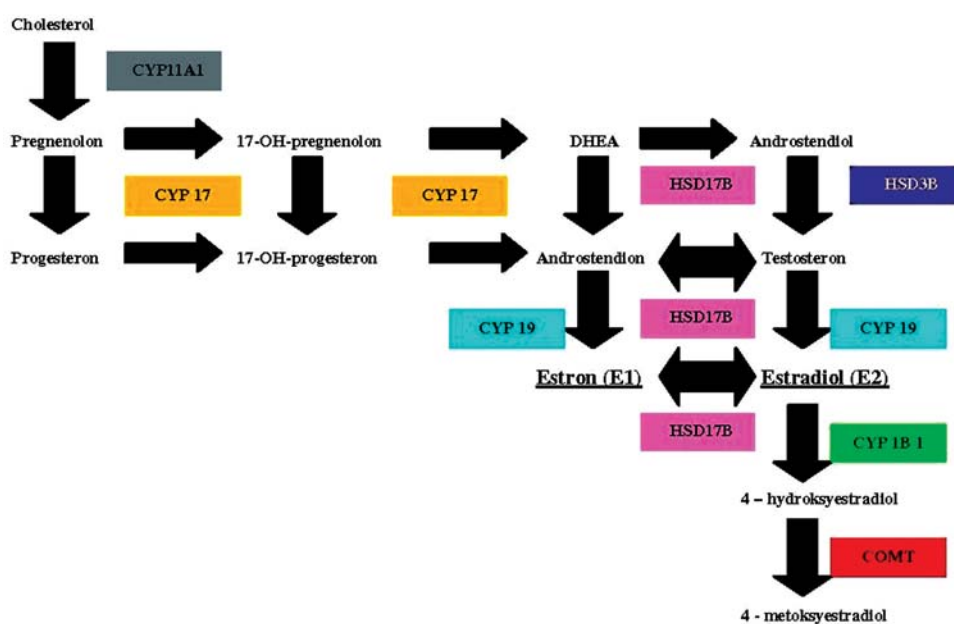
Istotnymi enzymami w dalszych etapach przemiany estrogenów zarówno w organizmach kobiet, jak i mężczyzn jest szereg izoform HSD17B – 17β -dehydrogenazy hydroksysteroidowej. Różne izoformy tego enzymu odpowiadają za procesy redukcji i oksydacji estrogenów regulując w ten sposób ich aktywność. Redukcja estrogenów prowadzi do zwiększenia ich aktywności. Ma to miejsce w przypadku działania izoformy 1 oraz 5 HSD17B, które redukują DHEA do bardziej aktywnej formy – 5-androstendiolu, izoformy 3 i 5, które redukują androstendion do testosteronu oraz izoformy 1 i 7 redukujących E_1 do E_2 . Procesy oksydacji estrogenów prowadzą do przekształcania form bardziej aktywnych do mniej aktywnych. Za reakcje oksydacji odpowiadają izoformy 2 i 4 enzymu HSD17B [58, 64, 65]. U kobiet przemiany te zachodzą w komórkach ziarnistych, natomiast u mężczyzn redukcja estrogenów przy udziale izoform 3,5 ma miejsce w komórkach Leydiga, a ekspresja izoformy 2 HSD17B katalizującej oksydację estrogenów ma miejsce w prostaty [54, 65].

3. STERIDOGENEZA JAJNIKOWA

Komórka jajowa rozwija się w pęcherzyku jajnikowym, który otoczony jest przez komórki ziarniste i komórki tekalne, zwane też osłonowymi, w których dochodzi do wstępnej steroidogenezy [11, 48, 65, 75]. Osłonka wewnętrzna jest bogato unaczyniona i syntetyzowane są w niej znaczne ilości androgenów i progesteronu, które są prekursorami dla syntezy estrogenów odbywającej się w komórkach ziarnistych pęcherzyka jajnikowego. Testosteron i androstendion dyfundują do sąsiadujących, słabo unaczynionych komórek ziarnistych, gdzie podlegają w przeważającej części konwersji do estradiolu przez wspólne działanie aromatazy (CYP19) oraz 17β -dehydrogenazy hydroksysteroidowej (HSD17B) typu „1” oraz „7”. Enzymy te sprzyjają konwersji E_1 do E_2 [48, 54, 74, 75]. W fazie przed owulacją, podczas dojrzewania komórki jajowej, synteza estrogenów stopniowo wzrasta w związku z regulacją aromatazy przez mechanizm działania lutropiny (LH) i folikulotropiny (FSH). Podczas

tej krytycznej fazy estrogeny są odpowiedzialne za regulację działania receptorów LH oraz za inicjację dodatniego sprzężenia zwrotnego, które pośrednio przez LH i FSH prowadzi do rozpoczęcia owulacji. Jakikolwiek zaburzenie w tym krytycznym momencie spowoduje brak owulacji [65, 66, 75]. Po skoku stężenia LH pęknięty pęcherzyk Graafa przekształca się w ciało żółte, które w przeważającej ilości syntetyzuje progesteron. Stopniowe obniżanie stężenia LH, a następnie zahamowana ekspresja aromatazy skutkuje obniżoną produkcją estrogenów, podczas gdy kompetencyjna aktywność CYP11A oraz HSD3B promuje rozpoczęcie procesu prowadzącego do pęknięcia komórki jajowej [25, 65]. Schematyczne przedstawienie przemian, w wyniku których zostają zsyntetyzowane estrogeny przedstawiono na rycinie 1.

Biosynteza estrogenów u mężczyzn zachodzi w komórkach Leydiga zlokalizowanych w jądrach. Komórki te mają zdolność do nieodwracalnego przekształcania androgenów, głównie testosteronu, w estrogeny. Badania ostatnich lat pokazały, że również w komórkach Sertoliego oraz w komórkach rozrodczych – plemnikach (na różnych etapach rozwoju), dochodzi do produkcji estrogenów [15]. Głównym enzymem biorącym udział w tych przemianach jest aromataza cytochromu P450



RYCINA 1. Schemat przemian steroidów – gonadalna synteza estrogenów: CYP17 – kompleks enzymów 17α -hydroksylazy i $17,20$ -liazy; CYP11A1 – enzym odpowiedzialny za odszczepienie łańcucha bocznego od cholesterolu; HSD17B – 17β -dehydrogenaza hydroksysteroidowa; CYP19 – aromataza cytochromu P450; HSD3B – 3β -dehydrogenaza hydroksysteroidowa; CYP1B1 – enzym katalizujący dodanie 2- oraz 4-hydroksylowych grup do E_1 oraz E_2 ; COMT – katechol-O-metylotransferaza

FIGURE 1. Steroids transformation – gonadal estrogen synthesis: CYP17 – 17α -hydroxylase and $17,20$ -lyase complex; CYP11A1 – cholesterol side chain cleavage enzyme; HSD17B – 17β -hydroxysteroid dehydrogenase; CYP19 – cytochrome P450 aromatase; HSD3B – 3β -hydroxysteroid dehydrogenase; CYP1B1 – enzyme that catalyzes the addition of 2- and 4-hydroxyl group to E_1 and E_2 ; COMT – catechol-O-methyl transferase

[13, 15, 65]. Enzym ten jest identyczny zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Estrogeny u mężczyzn, pośrednio więc także aromataza cytochromu P450, biorą czynny udział w dojrzewaniu męskich gamet przez wpływ, jaki wywierają na receptory estrogenowe – ER α oraz ER β . Interakcje estrogenów z receptorami estrogenowymi prowadzą do modulacji w transkrypcji specyficznych genów biorących udział w dojrzewaniu plemników [15]. Ze względu na istnienie wielu źródeł estrogenów oraz obecność ER α , ER β w ejakulacie, wpływają one także prawdopodobnie na ruchliwość nasienia i zdolność do zapłodnienia [14, 15, 40].

4. KLUCZOWE ENZYMY SYNTEZY ESTROGENÓW ORAZ POLIMORFIZM ICH GENÓW

Kluczowymi enzymami dla procesu syntezy estrogenów są: aromataza cytochromu P450 – produkt genu *CYP19*, jak również kompleks 17 α -hydroksylazy i C17,20-liazy – produkty genu *CYP17*. Geny tych enzymów są od wielu lat poddawane badaniom, a ich polimorfizm wiąże się z różnymi zaburzeniami hormonalnymi dotyczącymi zarówno organizmu kobiet, jak i mężczyzn [18, 19, 51, 52, 61, 72].

4.1. Aromataza cytochromu P450

Aromataza cytochromu P450 jest jednym z kluczowych enzymów biosyntezy estrogenów. Kodowana jest przez pojedynczy gen – *CYP19*, który zlokalizowany jest na długim ramieniu chromosomu 15 w pozycji 21.2 [51]. Gen ludzkiej aromatazy cytochromu P450 ma wielkość około 123 kpz z regionem kodującym obejmującym 9 egzonów (około 30 kpz; egzon II – egzon X). Choć istnieje 9 różnych miejsc startu transkrypcji z indywidualnymi promotorami oraz wiele alternatywnych pierwszych egzonów, które zezwalają na ekspresję tkankowo specyficznych regulatorów, to białko zsyntetyzowane w różnych tkankach i narządach organizmu (m. in. mózgu, kościach, tkance tłuszczowej, itd.) jest takie samo bez względu na wykorzystany promotor [52, 72]. Aromataza P450 katalizuje konwersję testosteronu do E₂, androstendionu do E₁ oraz 16 α -hydroksylowanego DHEA do estriolu [52].

4.1.1. Funkcje aromatazy P450 oraz jej znaczenie w biosyntezie estrogenów

Jak wiadomo z literatury androgeny, w tym również estrogeny, mają bardzo duże znaczenie w procesach rozrodczych człowieka, ale wykazują też wielokierunkowe działanie ogólnoustrojowe niezwiązane z reprodukcją [72]. Analizy filogenetyczne oraz mapowanie genomu jednoznacznie na to wskazują [78]. Dlatego istotna wydaje się rola enzymu aromatazy P450. Badania pacjentów, u których stwierdzono brak tego enzymu, jednoznacznie wskazały na jego kluczową rolę w biosyntezie steroidów, szczególnie w procesie aromatyzacji androgenów do estrogenów [21, 24, 33]. Ponadto badania potwierdzają, iż formowanie się estrogenów (steroidów C18) ze steroidów C19, zwłaszcza testosteronu i androstendionu, obejmuje kolejne reakcje

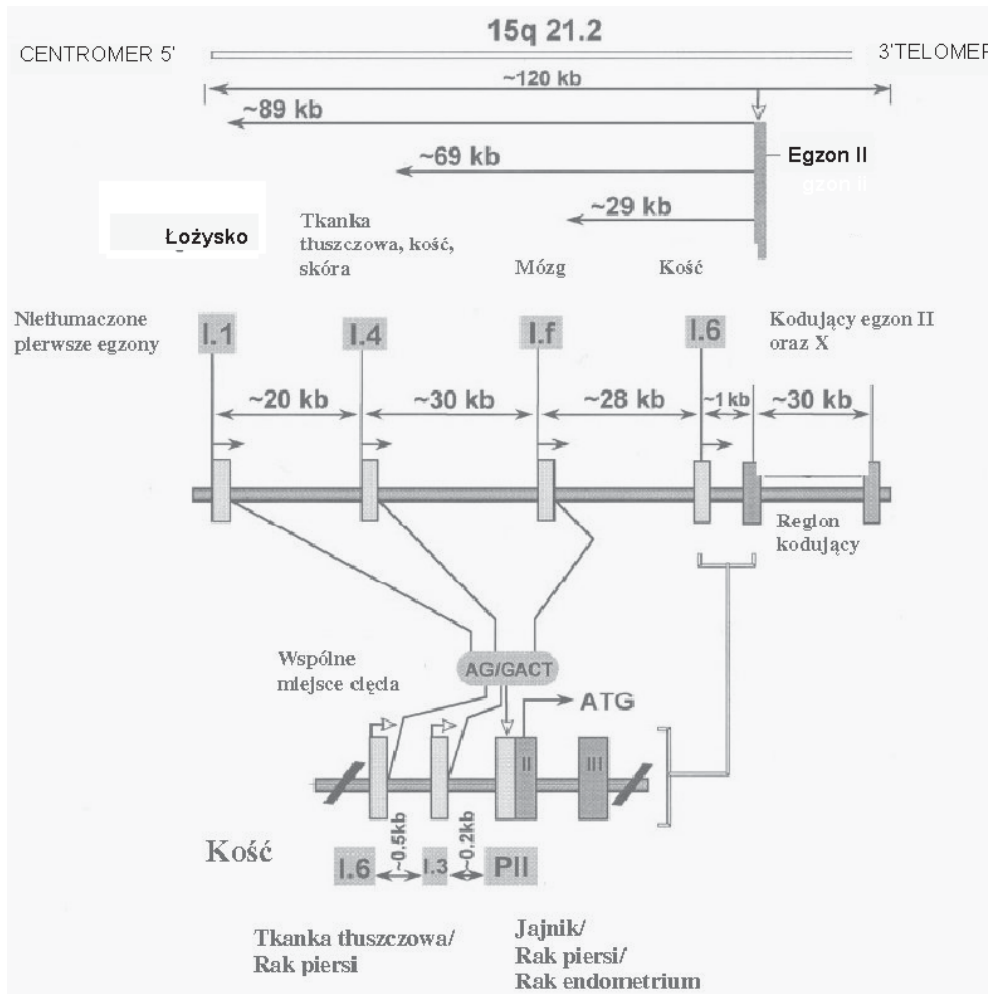
hydroksylacji, oksydacji, usuwania węgla z łańcucha C19 oraz aromatyzację pierścienia A steroidów, które katalizowane są przez aromatazę P450 [52].

4.1.2. Gen CYP19 oraz jego polimorfizm

Aromataza P450 należy do dużej grupy enzymów cytochromu P450, obejmującej 460 różnych enzymów zgrupowanych w 74 rodzinach. Aromataza jest jednym z enzymów należących do grupy 19 [57]. W odróżnieniu od większości enzymów steroidogennych P450, aromataza ulega ekspresji zarówno w tkankach steroidogennych, takich jak jajniki czy łożysko, jak również powszechnie w wielu innych tkankach i organach, np. kościach, mózgu, tkance tłuszczowej [52, 72]. Aromataza P450 jest położoną w retikulum endoplazmatycznym glikoproteiną, chociaż proces glikozytacji nie wpływa na aktywność tego enzymu. Jak wspomniano powyżej gen ludzkiej aromatazy cytochromu P450 – *CYP19*, położony jest na długim ramieniu chromosomu 15 w pozycji 21.2 [51]. Gen ludzkiej aromatazy cytochromu P450 ma wielkość około 123 kpz z regionem kodującym obejmującym 9 egzonów (około 30 kpz; egzon II – egzon X) (ryc. 2). W górę od egzonu II występuje pewna liczba alternatywnych pierwszych egzonów, które są w zróżnicowany sposób podzielone na wyraźne regiony 5'UTR. Oprócz tego wyznaczono 9 odrębnych miejsc rozpoczęcia transkrypcji z indywidualnymi promotorami zezwalającymi na ekspresję tkankowo specyficznego regulacji. Nawet jeśli w danej tkance ekspresji ulega unikalny pierwszy egzon regionu 5'UTR przez podział na przypadkowe miejsca akceptora egzonu II (AG/GACT), to region kodujący oraz produkt translacji są identyczne niezależnie od miejsca ekspresji. Oznacza to, że pomimo faktu, iż transkrypty w różnych tkankach mają odmienne zakończenia 5', region kodujący (otwarta ramka odczytu) oraz produkt translacji pozostają niezmiennione, niezależne od miejsca powstania i występowania (np. w kościach, jajnikach, łożysku, mózgu itd.) [67, 72].

W genie *CYP19* zidentyfikowano już prawie 500 SNPs [58]. Ze względu na duże rozmiary tego genu oraz liczbę polimorfizmów pojedynczych nukleotydów, naukowcy skupili się na trzech wariantach allelicznych *CYP19*. Najpowszechniej badanym polimorfizmem w kontekście biosyntezy estrogenów jest liczba tandemowych powtórek $[TTTA]_n$ w intronie 4. Ich liczba waha się od 7 do 13, gdzie najpowszechniej występującym jest haplotyp z 7 powtórzeniami. Kolejnym polimorfizmem jest delecja 3 par zasad $[TCT]$ znajdujących się w pobliżu tandemowych powtórek $[TTTA]_n$, przy czym delecja ta występuje najczęściej w związku z haplotypem, w którym znajduje się 7 powtórek $[TTTA]_n$. Trzecim rozpatrywanym polimorfizmem jest substytucja $C \rightarrow T$ w regionie 3'UTR [39, 49, 59].

Prowadzone badania wskazują na wpływ tych polimorfizmów na procesy związane ze steroidogenezą, jak również niezwiązane bezpośrednio z syntezą estrogenów. Ze względu na pełnioną przez *CYP19* funkcję w steroidogenezie, ważnym czynnikiem wydaje się wpływ wymienionych wyżej zróżnicowań w obrębie jego struktury na stężenia hormonów płciowych. Przeprowadzone do tej pory analizy nie wskazują jednoznacznie wpływu SNPs oraz innych typów polimorfizmów na stężenia estrogenów. Według niektórych autorów nie istnieje żadna korelacja



RYCINA 2. Genomowa organizacja ludzkiego genu *CYP19* (wg [72] zmodyfikowane)
 FIGURE 2. Genomic organization of the human *CYP19* gene (acc. [72] modified)

występowania polimorfizmu i zmniejszonego stężenia estrogenów oraz innych androgenów u kobiet przed i po menopauzie [5]. Nowsze doniesienia wskazują jednak na znaczącą rolę SNPs oraz innych typów polimorfizmu *CYP19* w kształtowaniu stężeń steroidów. Petry et al. [2005] wykazali, że powszechny polimorfizm występujący w obrębie regionu 3'UTR związany jest ze zwiększonym stężeniem androgenów u młodych kobiet [60]. Wielu autorów donosi o zwiększonych stężeniach estradiolu u kobiet po menopauzie, u których występuje większa ilość alleli z liczbą powtórzeń $[TTTA]_n$ większą niż 7 [35, 80]. Prace badawcze pokazują również podwyższone stężenie estrogenów w surowicy w porównaniu z androgenami u kobiet po menopauzie, które są homozygotami pod względem insercji 3 par zasad $[TCT]$ w regionie powtórek $[TTTA]_n$ [5, 22, 80]. Niejednoznaczne wyniki przedstawiane

są również w przypadku polimorfizmu substytucji $C \rightarrow T$ w regionie 3'UTR. Podczas gdy jedni autorzy wskazują na spadek stężenia androgenów, w tym DHEA, DHEAS, androstendionu oraz brak wpływu na stężenia E_2 i E_1 związany z różną liczbą alleli $[T]$ [37], to inne badania nie wykazały wpływu tej zmiany na stężenie androgenów, jednocześnie wskazując na wyższe stężenia E_2 i E_1 [22].

Dotychczas przeprowadzone badania nad związkiem polimorfizmu *CYP19* z ryzykiem wystąpienia raka endometrium ujawniły występowanie silnej korelacji. Autorzy donoszą, że polimorfizm w intronie 4 genu *CYP19* w obrębie powtórzeń $[TTTA]_n$ znacząco zwiększa ryzyko wystąpienia raka endometrium u kobiet, u których liczba powtórzeń jest wyższa niż 7 [7, 59].

Mimo niewielkiej ilości badań dostępne są również wyniki analiz wpływu polimorfizmu *CYP19* na stężenie lipidów w surowicy kobiet przed i po menopauzie. Wykonane analizy dotyczyły polimorfizmu $[TTTA]_n$ w intronie 4 genu. Autorzy stwierdzili, że jednoczesne występowanie haplotypów z kombinacją alleli z liczbą powtórzeń $[TTTA]_n$ mniejszą niż 8–10 oraz polimorfizmu *CYP1A2***T* było związane z większym stężeniem lipoprotein o dużej gęstości HDL w surowicy kobiet HTZ „+” oraz kobiet HTZ „-” po menopauzie [3].

Ze względu na wpływ polimorfizmu genu *CYP19* na stężenie hormonów steroidowych, wiąże się go także z ryzykiem wystąpienia raka piersi u kobiet. W latach ubiegłych wyniki badań sprzężenia wielu SNPs w obrębie *CYP19* z ryzykiem wystąpienia raka piersi mówiły o braku takiego związku [35, 37]. Badania były jednak prowadzone tylko wśród kobiet po menopauzie. Podobny brak wpływu polimorfizmu *CYP19* na ryzyko wystąpienia raka piersi u pomenopauzalnych pacjentek stwierdzili w swoim badaniu Tablott et al. [2008]. Jednak ta grupa naukowców wykazała istnienie związku polimorfizmu substytucji $G \rightarrow A$ (rs1008805) w obrębie genu ludzkiej aromatazy ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia raka piersi u kobiet w wieku przedmenopauzalnym. Zwiększone ryzyko zanotowano w przypadku występowania alleli $[G]$ w regionie polimorfizmu w *CYP19* [77].

Estrogeny odgrywają ważną rolę w procesach mineralizacji kości. Stąd ważnym czynnikiem ryzyka wystąpienia osteoporozy u mężczyzn i kobiet po menopauzie wydaje się ich biosynteza i stężenie [63]. Jak dowiedziono powyżej, istotnym elementem biosyntezy estrogenów jest kompleks enzymów aromatazy P450 oraz geny go kodujące, w tym *CYP19*. Dlatego ważne jest zbadanie, czy istnieje związek między polimorfizmem w obrębie *CYP19* a procesami kostnienia szkieletu. Dotychczasowe badania dowodzą, że zróżnicowanie genetyczne, szczególnie w obrębie intronu 4, ma znaczący wpływ na gęstość mineralną kości zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet po menopauzie. Z przeprowadzonych badań wynika, że polimorfizm ilości tandemowych powtórzeń $[TTTA]_n$ wpływa bezpośrednio na stężenie estrogenów, a tym samym na gęstość mineralną kości u mężczyzn w następujący sposób – u mężczyzn o genotypie z dużą (>9) ilością powtórzeń $[TTTA]_n$ występuje większa gęstość mineralna w kościach lędźwiowych, większe stężenia E_2 oraz wolniejsze tempo zmian w gęstości kości niż u mężczyzn o genotypie z mniejszą niż 9 liczbą

powtórzeń [29]. Odnotowano również fakt istnienia związku polimorfizmu delekcji 3 par zasad w obrębie regionu $[TTTA]_n$ w intronie 4 genu ludzkiej aromatazy z niższym szczytem masy kości u mężczyzn [44].

Estrogeny są najważniejszymi hormonami wpływającymi na wiek wystąpienia pierwszej miesiączki oraz na wiek menopauzy. Dlatego polimorfizm w obrębie genów kodujących enzymy szlaku biosyntezy estrogenów wydaje się być bardzo istotny dla każdej kobiety [34, 43, 42]. Publikacje na ten temat donoszą, że istnieje związek między polimorfizmem w obrębie regionu 3'UTR genu *CYP19* a czasem wystąpienia naturalnej menopauzy u kobiet. Potwierdzeniem tego faktu są badania He et al. [2007], w których dostrzeżono związek dwóch SNP (24 – rs1065778; 27 – rs2255192) – substytucji w obrębie regionu 3'UTR genu *CYP19*, z czasem wystąpienia naturalnej menopauzy [41]. Jednak wpływ polimorfizmu genu *CYP19* oraz innych genów szlaku biosyntezy estrogenów nie jest ostatecznie wyjaśniony [41, 42, 45].

4.2. Enzym cytochromu P450c17 α

Jednym z początkowych etapów steroidogenezy jest konwersja pregnenolonu do 17-OH-pregnenolonu, a następnie do DHEA oraz konwersja progesteronu do 17-OH-progesteronu, a następnie do androstendionu [58, 65]. Za pierwszą wymienioną konwersję do etapu DHEA odpowiada enzym 17 α -hydroksylaza, natomiast drugą przemianę do androstendionu katalizuje 17,20-liaza. Androgeny te – DHEA oraz androstendion mogą następnie ulegać konwersji do m.in. E₁, E₂, T. Kompleks 17 α -hydroksylazy i 17,20-liazy kodowany jest przez gen *CYP17* i jest aktywny zarówno w jajniku, jak i korze nadnerczy [58, 65, 69]. Kompleks tych enzymów jest jednym z kluczowych w procesie steroidogenezy, a jego inaktywacja niesie ze sobą wiele negatywnych konsekwencji. Mutacje występujące w obrębie genu *CYP17* powodujące niedobór 17 α -hydroksylazy prowadzą do wystąpienia infantylnego seksualnego oraz wrodzonego rozrostu nadnerczy. Brak aktywności enzymu 17,20-liazy powoduje natomiast osłabioną produkcję gonadalnych steroidów płciowych oraz podwyższone stężenia progesteronu [2, 19, 50, 68].

4.2.1. Gen *CYP17* oraz jego polimorfizm

Gen cytochromu P450c17 α – *CYP17* kodujący kompleks enzymów 17 α -hydroksylazy i 17,20-liazy zlokalizowany jest na długim ramieniu chromosomu 10 w pozycji 24.3 (10q24.3). Składa się on z 6569 pz w 8 egzonach podzielonych 7 intronami [61].

Gen *CYP17* występuje w wielu wariantach polimorficznych, które jednak w większości przypadków występują bardzo rzadko. Najszerzej opisane zostały trzy polimorfizmy [20, 27, 55], jednak szczególnie jeden, polimorfizm regionu 5'UTR, jest intensywnie badany. Polimorfizm ten obejmuje mutację w postaci substytucji $T \rightarrow C$ w regionie promotora, 34 pz powyżej miejsca inicjacji translacji i poniżej miejsca startu transkrypcji, i często określany jest jako polimorfizm *CYP17 MspA1* (rs743572) [12, 18, 69]. Wariant tego polimorfizmu tworzy miejsce rozpoznawane przez enzym restrykcyjny *MspA1*. W „dzikim” genotypie brak jest tego miejsca restrykcyjnego, gdyż nie nastąpiła substytucja $T \rightarrow C$, taki wariant oznaczany jest

jako *A1*. Jeśli występuje miejsce cięcia enzymu restrykcyjnego, to mamy do czynienia z wariantem *A2*. Uważa się, że wariant *A2* tworzy dodatkowe miejsce promotora typ Sp-1 (CCACC box). Ze względu na fakt istnienia korelacji między ilością miejsc promotora a ich aktywnością, rozważana jest możliwość nasilenia transkrypcji w przypadku występowania genotypu w wariantcie *A2* [18, 69, 81].

Ze względu na znaczącą rolę, jaką w procesie steroidogenezy odgrywa kompleks enzymów cytochromu P450c17 α , prowadzonych jest wiele badań dotyczących polimorfizmu jego genu – *CYP17*. Jak powszechnie wiadomo z literatury, zaburzenia w syntezie estrogenów mają wpływ na rozwój raka piersi u kobiet oraz raka prostaty u mężczyzn. Stąd mogą wynikać liczne badania wpływu polimorfizmu *CYP17* na wystąpienie wyżej wymienionych nowotworów [18, 23, 68]. Większość z dotychczas przeprowadzonych badań wskazuje na brak związku między polimorfizmem *CYP17 MspA1* a zwiększonym ryzykiem wystąpienia raka piersi u kobiet po menopauzie [16, 17, 18, 23]. W odróżnieniu od powyższych, Zhang et al. [2009] przeprowadzili analizę wpływu polimorfizmu genu *CYP17* i *CYP19* oraz genu kodującego receptor estrogenowy – ER α na rozwój raka piersi u kobiet po menopauzie, a uzyskane przez nich wyniki wskazały na związek polimorfizmu regionu 5'UTR genu *CYP17* ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na raka piersi. Szczególny wzrost ryzyka wystąpienia raka piersi u kobiet po menopauzie wiązał się z występowaniem w genotypie wariantu *A1/A2*, czyli alleli w wariantcie heterozygotycznym [T/C] [85]. Podobną zależność stwierdzili w swoich badaniach Setiawan et al. [2007], jednocześnie jednak wskazali na brak związku polimorfizmu *A1/A2* ze stężeniem hormonów steroidowych w surowicy zarówno mężczyzn, jak i kobiet po menopauzie. Dlatego autorzy ci nie potwierdzili ostatecznie hipotezy o udziale polimorfizmu genu *CYP17* w częstszym występowaniu raka prostaty u mężczyzn i raka piersi u kobiet po menopauzie [68]. Naukowcy wskazują również na brak związku występowania polimorfizmu w regionie 5'UTR genu *CYP17* ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na raka piersi u kobiet przed menopauzą [4, 68, 81], chociaż istnieją analizy wskazujące na istnienie takiego związku [16].

Prowadzone są również badania nad istnieniem związku polimorfizmu genu *CYP17* (*CYP17 MspA1*) z występowaniem raka endometrium, jednak dotychczasowe wyniki nie ujawniły żadnej korelacji [1, 6, 28, 36, 58, 76].

Zbadano także potencjalny wpływ występowania polimorfizmu *CYP17* w obrębie regionu 5'UTR na czas pojawienia się pierwszej miesiączki (*menarche*). Badania te nie przyniosły jednoznacznej odpowiedzi. Podczas gdy jedne analizy wskazują na to, że występowanie w genotypie alleli w układzie homozygotycznym *A2/A2* wpływa na wcześniejsze wystąpienie *menarche* [32, 84], to wyniki innych badań tego nie potwierdziły [31, 34, 38]. Uzyskane różne wyniki można tłumaczyć różnicami genetycznymi między badanymi populacjami kobiet, jak również rozbieżnościami wśród użytych markerów i zastosowanych metod opracowań statystycznych.

Powszechnie prowadzone są także badania, których celem jest powiązanie polimorfizmu w obrębie genów kodujących enzymy szlaku biosyntezy estrogenów z wiekiem menopauzy. W przypadku kompleksu enzymów cytochromu P450c17 α i ich genu *CYP17* przeprowadzone analizy genetyczne najpowszechniejszego

polimorfizmu *CYP17 MspAI* dowodzą, iż wiek ostatniej miesiączki nie zależy od tej substytucji. Do tej pory naukowcy nie znaleźli korelacji między występowaniem w genotypie alleli w wariancie *A2/A2* lub *A1/A2* a wiekiem menopauzy, jednak ze względu na wielkość i różnorodność badanych populacji wskazują na konieczność dalszych badań w tym zakresie [41, 42, 45].

PIŚMIENNICTWO

- [1] ABAN M, ARSLAN M, TOK E, TEKES S, BUDAK T, ALTINTAS A. *CYP17* genetic polymorphism in patients with endometrial hyperplasia and cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2006; **16**: 448–451.
- [2] AKHTAR MK, KELLY SL, KADERBHAI MA. Cytochrome b_5 modulation of 17α hydroxylase and $17,20$ lyase (*CYP17*) activities in steroidogenesis. *J Endocrinology* 2005; **187**: 267–274.
- [3] ALMEIDA S, ZANDONÁ MR, FRANKEN R, CALLEGARI-JACQUES SM, OSÓRIO-WENDER MC, HUTZ MH. Estrogen metabolizing gene polymorphisms and lipid levels in women with different hormonal status. *Pharmacogenomics J* 2005; **5**: 346–351.
- [4] AMBROSONE CB, MOYSICH KB, FURBERG H, FREUDENHEIM JL, BOWMAN ED, AHMED S, GRAHAM S, VENA JE, SHIELDS PG. *CYP17* genetic polymorphism, breast cancer and breast cancer risk factors. *Breast Cancer Res* 2003; **5**: 45–51.
- [5] BAGHAEI F, ROSMOND R, WESTBERG L, HELLSTRAND M, ERIKSSON E, HOLM G, BJÖRNTORP P. The *CYP19* gene and associations with androgens and abdominal obesity in premenopausal women. *Obes Res* 2003; **11**: 578–585.
- [6] BERSTEIN LM, IMYANITOV EN, KOVALEVSKIJ AJ, MAXIMOV SJ, VASILYEV DA, BUSLOV KG, SOKOLENKO AP, IYEVLEVA AG, CHEKMARIOVA EV, THIJSSSEN JH. *CYP17* and *CYP19* genetic polymorphisms in endometrial cancer: association with intratumoral aromatase activity. *Cancer Lett* 2004; **207**: 191–196.
- [7] BERSTEIN LM, IMYANITOV EN, KOVALEVSKIJ AJ, MAXIMOV SJ, VASILYEV DA, BUSLOV KG, SOKOLENKO AP, IYEVLEVA AG, CHEKMARIOVA EV, THIJSSSEN JH. *CYP17* and *CYP19* genetic polymorphisms in endometrial cancer: association with intratumoral aromatase activity. *Cancer Lett* 2004; **207**: 191–196.
- [8] BRODOWSKAA, LASZCZYŃSKA M, STARCZEWSKIA, KARAKIEWICZ B, BRODOWSKI J. Zmiany lokalizacji i funkcji receptora estrogenowego α w jajniku kobiet po menopauzie w porównaniu z wiekiem rozrodczym. *Pol Merk Lek* 2007; **23**: 231–234.
- [9] BRODOWSKAA, LASZCZYŃSKA M, STARCZEWSKIA. Apoptosis in ovarian cells in postmenopausal women. *Folia Histochem Cytobiol* 2007; **45**: 99–105.
- [10] BRODOWSKA A, LASZCZYŃSKA M, STARCZEWSKI A. Rola apoptozy w komórkach jajnika. *Post Biol Kom* 2006; **33**: 35–44.
- [11] BRODOWSKAA, STARCZEWSKIA, LASZCZYŃSKA M, SZYDŁOWSKA I. Androgeniza jajnikowa u kobiet w wieku pomenopauzalnym. *Pol Merk Lek* 2005; **19**: 90–93.
- [12] CAREY AH, WATERWORTH D, PATEL K, WHITE D, LITTLE J, NOVELI P, FRANKS S, WILLIAMSON R. Polycystic ovaries and premature male pattern baldness are associated with one allele of the steroid metabolism gene *CYP17*. *Hum Mol Genet* 1994; **3**: 1873–1876.
- [13] CARREAU S, LAMBARD S, DELALANDE CH, DENIS-GALERAUD I, BILINSKA B, BOURGUIBA S. Aromatase expression and role of estrogen in male gonad: a review. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; **1**: 1–6.
- [14] CARREAU S, SAID L, LMABARD S, SAAD A, DENIS-GALERAUD I. RNA dynamics of fertile and infertile spermatozoa. *Biochem Soc Trans* 2007; **35**: 634–636.
- [15] CARREAU S, SILANDRE D, BOIS C, BOURAIMA H, DENIS-GALERAUD I, DELALANDE CH. Estrogens: a new player in spermatogenesis. *Folia Histochem Cytobiol* 2007; **45**: 5–10.
- [16] CHAKRABORTY A, MURTHY NS, CHINTAMANI C, BHATNAGAR D, MOHIL RS, SHARMA PC, SAXENA S. *CYP17* gene polymorphism and its association with high-risk north Indian breast cancer patients. *J Hum Genet* 2007; **52**: 159–165.

- [17] CHANG JH, GERTIG DM, CHEN X, DITE GS, JENKINS MA, MILNE RL, SOUTHEY MC, MCCREDIE MR, GILES GG, CHENEVIX-TRENCH G, HOPPER JL, SPURDLE AB. *CYP17* genetic polymorphism, breast cancer, and breast cancer risk factors: Australian Breast Cancer Family Study. *Breast Cancer Res* 2005; **7**: 513–521.
- [18] CHEN Y, GAMMON MD, TEITELBAUM SL, BRITTON JA, TERRY MB, SHANTAKUMAR S, ENG SM, WANG Q et al. Estrogen-biosynthesis gene *CYP17* and its interactions with reproductive, hormonal and lifestyle factors in breast cancer risk: results from the Long Island Breast Cancer Study Project. *Carcinogenesis* 2008; **29**: 766–771.
- [19] COSTA-SANTOS M, KATER CE, AUCHUS RJ. Two prevalent *CYP17* mutations and genotype-phenotype correlations in 24 Brazilian patients with 17-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 49–60.
- [20] CROCITTO LE, FEIGELSON HS, YU MC, KOLONEL LN, HENDERSON BE, COETZEE GA. A polymorphism in intron 6 of the *CYP17* gene. *Clin Genet* 1997; **52**: 68–69.
- [21] DELADÖEY J, FLÜCK C, BEX M, YOSHIMURA N, HARADA N, MULLIS PE. Aromatase deficiency caused by a novel P450arom gene mutation: Impact of absent estrogen production on serum gonadotropin concentration in a boy. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; **84**: 4050–4054.
- [22] DUNNING AM, DOWSETT M, HEALEY CS, TEE L, LUBEN RN, FOLKERD E, NOVIK KL, KELEMEN L, OGATA S, PHAROAH PD, EASTON DE, DAY NE, PONDER BA. Polymorphisms associated with circulating sex hormone levels in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 2005; **97**: 153–154.
- [23] EINARSDOTTIR K, RYLANDER-RUDQVIST T, HUMPHREYS K, AHLBERG S, JONASDOTTIR G, WEIDERPASS E, CHIA KS, INGLEMAN-SUNDBERG M, PERSSON I, LIU J, HALL P, WEDREN S. *CYP17* gene polymorphism in relation to breast cancer risk: a case-control study. *Breast Cancer Res* 2005; **7**: 890–896.
- [24] FISHER CR, GRAVES KH, PARLOW AF, SIMPSON ER. Characterization of mice deficient in aromatase (ArKO) because of targeted disruption of the *cyp19* gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 6965–6970.
- [25] FITZPATRICK SL, CARLONE DL, ROBKER RL, RICHARD JS. Expression of aromatase in the ovary: down-regulation of mRNA by the ovulatory luteinizing hormone surge. *Steroids* 1997; **62**: 197–206.
- [26] FOGLE RH, STANCZYK FZ, ZHANG X, PAULSON RJ. Ovarian androgen production in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; **92**: 3040–3043.
- [27] FRANKS S, WHITE D, GILLING-SMITH C, CAREY A, WATERWORTH D, WILLIAMSON R. Hypersecretion of androgens by polycystic ovaries: the role of genetic factors in regulation of cytochrome P450c17 alpha. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1996; **10**: 193–203.
- [28] GAUDET MM, LACEY JV JR, LISSOWSKA J, PEPLONSKA B, BRINTON LA, CHANOCK S, GARCIA-CLOSAS M. Genetic variation in *CYP17* and endometrial cancer risk. *Hum Genet* 2008; **123**: 155–162.
- [29] GENNARIL L, MASI L, MERLOTTI D, PICARIELLO L, FALCHETTIA, TANINIA, MAVILLAC, DEL MONTE F et al. A polymorphic *CYP19 TTTA* repeat influences aromatase activity and estrogen levels in elderly men: effects on bone metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 2803–2810.
- [30] GINGRAS S, COTE S, SIMARD J. Multiple signal transduction pathways mediate interleukin-4-induced 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase / Δ^5 - Δ^4 isomerase in normal and tumoral target tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001; **76**: 213–225.
- [31] GOODMAN MT, MC DUFFIE K, GUO C, TERADA K, DONLON TA. *CYP17* genotype and ovarian cancer: a null case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; **10**: 563–564.
- [32] GORAI I, TANAKA K, INADAM, MORINAGA H, UCHIYAMA Y, KIKUCHI R, CHAKIO, HIRAHARA F. Estrogen metabolizing gene polymorphisms, but not estrogen receptor-alpha gene polymorphisms, are associated with the onset of menarche in healthy postmenopausal Japanese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 799–803.
- [33] GRUMBACH MM, AUCHUS RJ. Estrogen: consequences and implications of human mutations in synthesis and action. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; **84**: 4677–4694.
- [34] GUO Y, XIONG D-H, YANG T-L, GUO Y-F, RECKER RR, DENG H-W. Polymorphisms of estrogen-biosynthesis genes *CYP17* and *CYP19* may influence age at the menarche: a genetic association study in Caucasian females. *Hum Mol Genet* 2006; **15**: 2401–2408.
- [35] HAIMAN CA, DOSSUS L, SETIAWAN VW, STRAM DO, DUNNING AM, GILLES T, THUN MJ, ALBANES D et al. Genetic variation at the *CYP19A1* locus predicts circulating estrogen levels but not breast cancer risk in postmenopausal women. *Cancer Res* 2007; **67**: 1893–1897.

- [36] HAIMAN CA, HANKINSON SE, COLDITZ GA, HUNTER DJ, DE VIVO I. A polymorphism in *CYP17* and endometrial cancer risk. *Cancer Res* 2001; **61**: 3955–3960.
- [37] HAIMAN CA, HANKINSON SE, SPIEGELMAN D, BROWN M, HUNTER DJ. No association between a single nucleotide polymorphism in *CYP19* and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; **11**: 215–216.
- [38] HAIMAN CA, HANKINSON SE, SPIEGELMAN D, COLDITZ GA, WILLET WC, SPEIZER FE, KELSEY KT, HUNTER DJ. The relationship between a polymorphism in *CYP17* with plasma hormone levels and breast cancer. *Cancer Res* 1999; **59**: 1015–1020.
- [39] HAIMAN CA, STRAM DO, PIKE MC, KOLONEL LN, BURRT NP, ALTSCHULER D, HIRSCHHORN J, HENDERSON BE. A comprehensive haplotype analysis of *CYP19* and breast cancer risk: the Multi-ethnic Cohort. *Hum Mol Genet* 2003; **12**: 2679–2692.
- [40] HAMDEN K, SILANDRE D, DELALANDE C, EL FEKI A, CARREAU S. Age-related decrease in aromatase and estrogen receptor (ERalpha and ERbeta) expression in rat testes: protective effect of low caloric diets. *Asian J Androl* 2008; **10**: 177–187.
- [41] HE LN, XIONG DH, LIU YJ, ZHANG F, RECKER RR, DENG HW. Association study of the oestrogen signalling pathway genes in relation to age at natural menopause. *J Genet* 2007; **86**: 269–276.
- [42] HEFLER LA, GRIMM C, HEINZE G, SCHNEEBERGER C, MUELLER MW, MUENDLEIN A, HUBER JC, LEODOLTER S, TEMPFER CB. Estrogen-metabolizing gene polymorphisms and age at natural menopause in Caucasian women. *Hum Reprod* 2005; **20**: 1422–1427.
- [43] KACZMAREK M. The timing of natural menopause in Poland and associated factors. *Maturitas* 2007; **57**: 139–153.
- [44] KASTELAN D, GRUBIC Z, KRLJEVIC I, DURIC K, DUSEK T, STINGL K, GILJEVIC Z, KERHIN-BRKLJACIC V, SUCHANEK E, KORSIC M. Decreased peak bone mass is associated with a 3-bp deletion/insertion of the *CYP19* intron 4 polymorphism: preliminary data from GOOS study. *J Endocrinol Invest* 2007; **30**: 465–469.
- [45] KOK HS, VAN ASSELT KM, VAN DER SCHOUWYT, PEETERS PH, WIJMENGAC. Genetic studies to identify genes underlying menopausal age. *Hum Reprod Update* 2005a; **11**: 483–493.
- [46] LABRIE F, BELANGERA, CUSAN L, GOMEZ JL, CANDAS B. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroids precursors and conjugated androgen metabolites during aging. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; **82**: 2396–2402.
- [47] LABRIE F, LUU-THE V, LIN SX, SIMARD J, LABRIE C, EL-ALFY M, PELLETIER G, BELANGERA. Intracrinology: role of the family of 17 α -hydroxysteroid dehydrogenases in human physiology and disease. *J Mol Endocrinol* 2000; **25**: 1–16.
- [48] LASZCZYŃSKA M, BRODOWSKAA, STARCZEWSKIA, MASIUK M, BRODOWSKI J. Human post-menopausal ovary-hormonally inactive fibrous connective tissue or more? *Histol Histopathol* 2008; **23**: 219–226.
- [49] MA CX, ADJEIAA, SALAVAGGIONE OE, CORONEL J, PELLEYMOUNTER L, WANG L, ECKLOFF B, SHAID D, WIEBEN ED, ADJEI AA, WEINSHILBOUM RM. Human aromatase: gene resequencing and functional genomics. *Cancer Res* 2005; **65**: 11071–11082.
- [50] MARTIN RM, LIN CJ, COSTA EM, DE OLICERA ML, CARRAHILO A, VILLAR H, LONGUI CA, MENDONCA BB. P450c17 deficiency in Brazilian patients biochemical diagnosis through progesterone levels confirmed by *CYP17* genotyping. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 5739–5746.
- [51] MEANS GD, MAHENDROO M, CORBIN CJ, MATHIS JM, POWELL FE, MENDELSON CR, SIMPSON ER. Structural analysis of the gene encoding human aromatase cytochrome P-450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *J Biol Chem* 1989; **264**: 19385–19391.
- [52] MEINHARDT U, MULLIS PE. The aromatase cytochrome P-450 and its clinical impact. *Horm Res* 2002; **57**: 145–152.
- [53] MILLER WL. Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocr Rev* 1988; 295–318.
- [54] MINDNICH R, MOLLER G, ADAMSKI J. The role of 17 betahydroxysteroid dehydrogenases. *Mol Cell Endocrinol* 2004; **218**: 7–20.
- [55] MIYOSHI Y, IWAO K, IKEDAN, EGAWA C, NOGUCHI S. Genetic polymorphism in *CYP17* and breast cancer risk in Japanese women. *Eur J Cancer* 2000; **36**: 2375–2379.
- [56] NELSON LR, BULUN SE. Estrogen production and action. *J Am Acad Dermatol* 2001; **45**: 116–124.
- [57] NELSON R, WAXMAN DJ, WATERMAN MR, GOTOH O, COON MJ, ESTABROOK RW, GUNSALUS IC, NEBERT DW. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 1996; **6**: 1–42.

- [58] OLSON SH, BANDERA EV, ORLOW I. Variants in estrogen biosynthesis genes, sex steroid hormone levels, and endometrial cancer: a huge review. *Am J Epidemiol* 2007; **165**: 235–245.
- [59] PAYNTER RA, HANKINSON SE, COLDITZ GA, KRAFT P, HUNTER DJ, DE VIVO I. *CYP19* (aromatase) haplotypes and endometrial cancer risk. *Int J Cancer* 2005; **116**: 267–274.
- [60] PETRY CJ, ONG KK, MICHELMORE KF, ARTIGAS S, WINGATE DL, BALEN AH, DE ZEGHER F, IBÁÑEZ L, DUNGER DB. Association of aromatase (*CYP19*) gene variation with features of hyperandrogenism in two populations of young woman. *Hum Reprod* 2005; **20**: 1837–1843.
- [61] PICADO-LEONARD J, MILLER WL. Cloning and sequence of the human gene for P450c17 (steroid 17 alpha-hydroxylase/17,20lyase): similarity with the gene for P450c21. *DNA* 1987; **6**: 439–448.
- [62] REINCKE M, BEUSCHLEIN F, MENIG G, ARLT W, LEHMANN R, KARL M, ALLLOIÖB. Localization and expression of adrenocorticotrophic hormone receptor mRNA in normal and neoplastic human adrenal cortex. *J Endocrinol* 1998; **156**: 415–423.
- [63] RIANCHO JA. Polymorphisms in the *CYP19* gene that influence bone mineral density. *Pharmacogenomics* 2007; **8**: 339–352.
- [64] RIGGS LB, KHOSLA S, MELTON LJ. Sex steroids and conservation of the adult skeleton. *Endocrine Reviews* 2002; **23**: 279–302.
- [65] SANDERSON TJ. The steroid hormone biosynthesis pathway as a target for endocrine-disrupting chemicals. *Toxicological Sciences* 2006; **94**: 3–21.
- [66] SAWICKI W. Histologia. Wyd. 2. Warszawa: Wydaw. Lekarskie PZWL 1997. Rozdział 24, Układ płciowy żeński, s. 480–492.
- [67] SEBASTIAN S, BULUN SE. A highly complex organization of the regulatory region of the human *CYP19* (aromatase) gene revealed by the Human Genome Project. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; **86**: 4600–4602.
- [68] SETIAWAN VW, SCHUMACHER FR, HAIMAN CA, STRAM DO, ALBANES D, ALTSHULER D, BERGLUND G, BURING J et al. *CYP17* genetic variation and risk of breast and prostate cancer from the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium (BPC 3). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; **16**: 2237–2246.
- [69] SHARP L, CARDY AH, COTTON SC, LITTLE J. *CYP17* gene polymorphisms: prevalence and associations with hormone levels and related factors. A huge review. *Am J Epidemiol* 2004; **160**: 729–740.
- [70] SIMARD J, RICKETTS ML, GINGRAS S, SOUCYP, FELTUS FA, MELNER MH. Molecular biology of the 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase/Δ5–Δ4 isomerase gene family. *Endocr Rev* 2005; **26**: 525–582.
- [71] SIMPSON E, RUBIN G, CLYNE C, ROBERTSON K, O'DONNELL L, DAVIS S, JONES M. The role of local estrogen biosynthesis in males and females. *Trends Endocrinol* 2000; **11**: 184–188.
- [72] SIMPSON ER, DAVIS SR. Minireview: aromatase and the regulation of estrogen biosynthesis – some new perspectives. *Endocrinology* 2001; **142**: 4589–4594.
- [73] SIMPSON ER, RUBIN G, CLYNE C, ROBERTSON K, O'DONNELL L, DAVIS S, JONES M. Local estrogen biosynthesis in males and females. *Endocrine-Related Cancer* 1999; **6**: 131–137.
- [74] SIMPSON ER. Sources of estrogen and their importance. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; **86**: 225–230.
- [75] SKALBA P. Endokrynologia ginekologiczna. Wyd. 3 uaktual. i rozszerzone. Warszawa: Wydaw. Lekarskie PZWL 2008. ISBN 83-200-3166-4.
- [76] SZYŁŁO K, SMOLARZ B, ROMANOWICZ-MAKOWSKA H, KULIG A. The polymorphism of the *CYP17* and *CYP19* genes in endometrial cancer patients. *Pol J Pathol* 2006; **57**: 35–40.
- [77] TABLOTT KE, GAMMON MD, KIBRIYA MG, CHEN Y, TEITELBAUM SL, LONG CM, GURVICH I, SANTELLA RM, AHSAN H. A *CYP19* (aromatase) polymorphism is associated with increased premenopausal breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 2008; **111**: 481–487.
- [78] THOMTON JW. Evolution of vertebrate steroid receptors from an ancestral estrogen receptor by ligand exploitation and serial genome expansion. *Proc Natl Acad Sci* 2001; **98**: 5671–5676.
- [79] TODA K, TERASHIMA M, KAMATO T, SUMIMOTO H, YAMAMOTO Y, SAGARA Y, IKEDA H, SHIZUTA Y. Structural and functional characterization of human aromatase P450 gene. *Eur J Biochem* 1990; **193**: 559–565.
- [80] TWORGER SS, CHUBAK J, AIELLO EJ, ULRICH CM, ATKINSON C, POTTER JD, YASUI Y, STAPLETON PL, LAMPE JW, FARIN FM, STAŃCZYK FZ, MC TIERNAN A. Association of *CYP17*, *CYP19*, *CYP11B1*, and *COMT* polymorphisms with serum and urinary sex hormone concentrations in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; **13**: 94–101.

- [81] VERLA-TEBIT E, WANG-GOHRKE S, CHANG-CLAUDE J. CYP17 5'-UTR MspA1 polymorphism and the risk of premenopausal breast cancer in a German population-based case-control study. *Breast Cancer Research* 2005; **7**: 455–464.
- [82] VIHKO RK, APTER DL. The epidemiology and endocrinology of the menarche in relation to breast cancer. *Cancer Surv* 1986; **5**: 561–571.
- [83] WESTERLIND KC, GIBSON KJ, MALONE P, EVANS GL, TURNER RT. Differential effects of estrogen metabolites on bone and reproductive tissues of ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 1998; **13**: 1023–1031.
- [84] WU AH, SEOW A, ARAKAWA K, VAN DEN BERG D, LEE HP, YU MC. HSD17B1 and CYP17 polymorphisms and breast cancer risk among Chinese women in Singapore. *Int J Cancer* 2003; **104**: 450–457.
- [85] ZHANG L, GU L, QIAN B, HAO X, ZHANG W, WEI Q, CHEN K. Association of genetic polymorphisms of ER- α and the estradiol-synthesizing enzyme genes *CYP17* and *CYP19* with breast cancer risk in Chinese women. *Breast Cancer Res Treat* 2009; **114**: 327–338.

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano: 02.07.2009 r.

Przyjęto: 05.11. 2005 r.

Prof. dr hab. n. med. Maria Laszczyńska

Samodzielna Pracownia Histologii i Biologii Rozwoju

Pomorska Akademia Medyczna

ul. Żołnierska 48 Szczecin 71-210

e-mail: laszcz@sci.pam.szczecin.pl