

**VPLYV POLYMORFIZMOV
ARG48GLY A ALA119SER
V GÉNE CYP 1B1 NA REPRODUKČNÉ
CHARAKTERISTIKY
A MENOPAUZÁLNE SYMPTÓMY
SLOVENSKÝCH ŽIEN
VO VEKU 40–65 ROKOV**

**The impact of Arg48Gly and Ala119Ser
polymorphisms on the reproductive features
and menopausal symptoms
of Slovak women aged 40–65 years**

**Zuzana Danková, Veronika Čerňanová,
Marta Cvičelová, Daniela Siváková**

Katedra antropológie, Prírodovedecká fakulta,
Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava,
Slovenská republika

Abstract

Cytochrome P450 CYP 1B1 plays an important role in hydroxylation of 17 β -estradiol and thus may influence reproductive characteristics of women (including onset of menarche, age at natural menopause and prevalence of menopausal symptoms).

The main objective of the study was to determine the impact of two CYP1B1 polymorphisms (Arg48Gly and Ala118Ser) on the age of menarche, menopause and menopausal symptoms in Slovak middle aged women. Two hundred and thirty two women were investigated. Among them 108 women had undergone natural menopause and had their last bleeding at least 12 months prior to the interview. The rest of women (n = 124) were in the premenopausal group. Peripheral blood was used for the genotype detection using isolation kit and RLFP-PCR analysis. The Menopause-Specific Questionnaire was used to get data on personal and family history, reproductive variables and 48 menopausal symptoms. Basic anthropometric parameters were measured by standard methods and bioelectric impedance was carried by the BIA 101 device, Akern S.r.l. The IBM SPSS statistical package was used for data analysis.

No association was observed between two polymorphisms and on the age of menarche. Among the women who experienced natural menopause, genotypes Gly/Gly and Ser/Ser were significantly associated with earlier onset of menopause, respectively (p = 0.046, p = 0.041). The genotype Gly/Gly significantly extends the number of days of menstruation's duration (p = 0.046). The linear regression in both groups showed impact of duration of menstruation on the number of menopausal symptoms (premenopausal women: B = 1.812, t = 3.19, p = 0.002; postmenopausal women: B = 2.16, t = 3.79, p < 0.001).

Women with the genotypes Gly/Gly and Ser/Ser, by additive and recessive models of Arg48Gly and Ala119Ser polymorphisms, had significantly moderate manifestation of bloating. Those with the Ser/Ser genotype were significantly more satisfied with their personal life and professional work in comparison with women of the other genotypes (p = 0.038). On the other hand, women with the Gly/Gly genotype had stronger manifestation of hot flushes (p = 0.037) than women of the other genotypes.

Key words: cytochrome, menopausal transition, menarche

Úvod

Menarché a menopauza ohraničujú reprodukčné obdobie ženy, čím významne vplyvajú na zdravotný stav a kvalitu života žien (Sowers, Pope, Welch, Sternfeld, & Albrecht, 2001). Vek nástupu menarché a menopauzy je ovplyvnený interakciou viacerých faktorov prostredia s výraznou genetickou predispozíciou (Bruin et al., 2001; Long et al., 2006). Heritabilita sa na základe štúdií dvojčiat pohybuje podľa rôznych autorov v rozpätí 53–74 % pre menarché a 31–87 % pre menopauzu (Cramer, Xu, & Harlow, 1995; Chie, Liu, Chi, Wu, & Chen, 1997; Snieder, MacGregor, & Spector, 1998). Obdobie ukončenia reprodukčného obdobia ženy je charakteristické výskytom viacerých symptómov v dôsledku významného poklesu hladín estrogénov (Bruce & Rymer, 2009). Akútne symptómy (vazomotorické a psychické) sa objavujú už niekoľko rokov pred menopauzou a možno ich tak zachytiť aj u mnohých premenopauzálnych žien (Samsioe, Dören, & Lobo, 2006). Subakútne (atrofia tkanív senzitivných na hladiny estrogénov) a akútne symptómy (metabolické poruchy, osteoporóza a iné) sú priamym dôsledkom deficitu estrogénov a vyskytujú sa predovšetkým u postmenopauzálnych žien (Massart, Reginster, & Brandt, 2001; Poehlman, 2002; Jarupanch, 2007; Janssen, Powell, Crawford, Lasley, & Sutton-Tyrrell, 2008). Asociačné štúdie poukazujú na významný vplyv viacerých polymorfizmov, predovšetkým v génoch zapojených do metabolismu pohlavných hormónov, na výskyt a intenzitu menopauzálnych symptómov (Malacara, Pérez-Luque, Martínez-Garza, & Sánchez-Marín, 2004; Kravitz, Meyer, Seeman, Greendale, & Sowers, 2006; Rebbeck et al., 2010). Patrí sem aj skupina cytochrómov, ktoré sú zapojené do hydroxylácie estrogénov (Sutter et al., 1994; Cho et al., 2007).

Cytochróm CYP 1B1 sa exprimuje vo viacerých tkanivách napr. v obličkách, nadobličkách, vaječníkoch, semenníkoch a v tkanivách citlivých na steroidy ako prsníky, maternica, prostata (Sutter et al., 1994; Shimada et al., 1996). CYP1B1 je enzým prvej fázy, ktorý katalyzuje premenu 17 β -estradiolu na katecholestrogény, 4-hydroxyestradiol a 2-hydroxyestradiol. Gén pre CYP1B1 je umiestnený na druhom chromozóme v oblasti 2p21-22 (Sutter et al., 1994). V géne bolo opísaných viacero SNP polymorfizmov (Stoilov et al., 1998; McLellan et al., 2000), pričom medzi najčastejšie analyzované patria SNP v kódujúcich oblastiach so zmenou aminokyselínovej sekvencie (Leu432Val, Arg48Gly, Ala119Ser, Asn453Ser) (Cho et al., 2007; Luptáková, Siváková, Šrameková, & Cvičelová, 2012; Španková, Krajčovičová, Ďurišová, & Omelka, 2012; Španková, Krajčovičová, Zábojníková, & Omelka, 2013), čím dochádza aj k funkčnej zmene enzymatickej aktivity hydroxylácie estrogénov (Shimada et al., 1999; Aklillu et al., 2002). To následne môže ovplyvňovať výskyt a intenzitu menopauzálnych symptómov (Mitchell et al., 2008). Súčasný výskyt polymorfizmov Arg48Gly a Ala119Ser nasvedčuje ich väzbe (McLellan et al., 2000) a prítomnosť nukleotidovej zmeny na pozícii C142G (Arg48Gly) a G355T (Ala119Ser) tak predstavuje jednu alelu označovanú ako CYP1B1*2. Frekvencia výskytu tejto alely vykazuje interpopulačnú variabilitu s výskytom 14,1 % v japonskej populácii (Inoue, Asao, & Shimada, 2000), 16,5 % u zdravých Etiópanov (Aklillu et al., 2002), ale najvyšší výskyt tejto alely bol zistený v kaukazoidnej populácii 28,9 % (Inoue, Asao, & Shimada, 2000). Holt et al. (2007) sledovali skupinu žien s rakovinou ovárií s odlišným zastúpením genotypu Gly/Gly (Arg48Gly) u Američaniek (10,5 %) a u Afroameričaniek (18,2 %). U zdravých žien tých istých etnických skupín bolo zastúpenie genotypu Gly/Gly 8,5 % a 21,4 %. Genotyp Ser/Ser (Ala119Ser) sa vyskytoval vo frekvencii 10,8 % a 18,2 % u chorých Američaniek a Afroameričaniek, pričom v súbore zdravých žien bola frekvencia 8,8 % a 21,4 %. Long et al. (2006) zistili u čínskych postmenopauzálnych žien

asociáciu alel Gly (Arg48Gly) a Ser (Ala119Ser) s neskorším nástupom menopauzy, dlhším trvaním reprodukčného obdobia a vyšším počtom menštruačných cyklov. Alela Ser (Ala119Ser) vykazuje podľa Watanabe et al. (2000) pozitívnu koreláciu s rakovinou prsníka.

Cieľ

Cieľom práce bolo vyhodnotiť vplyv dvoch SNP v géne CY-P1B1 (Arg48Gly, C/G, rs 10012 a Ala119Ser, G/T, rs 1056827) na vek nástupu menarché, menopauzy a asociáciu s menopauzálnymi symptómami v súbore slovenských žien vo veku 40–65 rokov.

Súbor a metodika

Súbor tvorilo 232 žien vo veku 40–65 rokov, ktoré v čase výskumu neužívali hormonálnu terapiu, neprekonalí závažnú gynekologickú operáciu alebo iné vážne ochorenie. Na základe menopauzálného statusu boli ženy rozdelené do dvoch skupín na premenopauzálnu ($n = 124$, priemerný vek $45,55 \pm 3,91$ rokov) a postmenopauzálnu ženy s dĺžkou amenorey 12-tich po sebe nasledujúcich mesiacoch ($n = 108$, priemerný vek $53,80 \pm 4,65$ rokov). Výskum sa uskutočnil v rokoch 2008–2014 v štyroch mestách na Slovensku. Výskum sa uskutočnil na zdravotných strediskách v ranných hodinách. Probandkám bola odobratá krv, odmerané antropometrické parametre (telesná výška, telesná hmotnosť, obvod pásu, obvod bokov) a urobená bioimpedančná analýza monofrekvenčným štvorelektrodovým prístrojom BIA 101 Akern S.r.l. Ženy vyplnili dotazník zameraný na informácie o zdravotnom stave, osobnej a rodinnej anamnéze a reprodukčnej histórii. Škálovaný dotazník na hodnotenie menopauzálnych symptómov bol použitý podľa Kaczmarek (2007). Okrem údajov o prítomnosti resp. neprítomnosti 48 sledovaných menopauzálnych symptómov hodnotili ženy aj intenzitu prejavu v rozmedzí 0–7, pričom vyššie číslo predstavovalo silnejší prejav symptómu. Každá probandka bola s výskumom vopred oboznámená a podpísala informovaný súhlas.

Na izoláciu DNA bol použitý kit SiMax TM Genomic DNA Extraction Kit. Genotypy obidvoch polymorfizmov boli stanovené RFLP – PCR analýzou s následným štiepením MwoI a vizualizáciou UV svetlom. Na analýzu vplyvu jednotlivých genotypov / alel obidvoch polymorfizmov boli použité tri modely. Aditívny model, ktorý porovnáva navzájom všetky tri genotypy (Arg/Arg, Arg/Gly, Gly/Gly, resp. Ala/Ala, Ala/Ser, Ser/Ser), dominantný model, ktorý porovnáva homozygota pre pôvodnú alelu voči ostatným genotypom (Arg/Arg, resp. Ala/Ala vs. ostatné genotypy) a recesívny model porovnávajúci homozygota pre mutovanú alelu voči ostatným genotypom (Gly/Gly, resp. Ser/Ser vs. ostatné genotypy). Analýza vplyvu genotypov na intenzitu menopauzálnych symptómov bola hodnotená iba v celom súbore.

Na štatistické spracovanie údajov bol použitý IBM SPSS štatistický program v. 17. Dáta boli testované na normalitu rozdelenia v každom súbore zvlášť Kolmogorov-Smirnovým testom. Generálny lineárny model (GLM) bol použitý pre porovnanie aritmetických priemerov s ohľadom (adjustáciou) na vek a na analýzu vplyvu genotypov na spojité premenné. Na porovnanie diskretných premenných bol použitý Pearsonov chí kvadrát test. Štatistická významnosť bola hodnotená na hladine $p < 0,05$.

Výsledky

Základné antropometrické údaje, reprodukčná charakteristika a vybrané bioimpedančné údaje žien obidvoch skupín sú uvedené v tabuľke 1. Nakoľko postmenopauzálnu ženy boli štatisticky významne staršie, ďalšie analýzy boli uskutočnené s ohľadom na vek a nepoukázali na štatisticky významne od-

lišné priemerné hodnoty sledovaných parametrov. Priemerný vek vstupu do menarché sa nelíšil významne medzi ženami porovnávaných skupín (medián: 13,00 a 13,50 rokov). Priemerný vek nástupu menopauzy v skupine postmenopauzálnych žien bol $48,72 \pm 3,59$ rokov (medián: 49 rokov).

Zastúpenie jednotlivých genotypov (Tabuľka 2) obidvoch polymorfizmov v sledovaných skupinách sa štatisticky významne nelíšilo. Distribúcia genotypov polymorfizmu Arg48Gly bola v Hardy-Weinbergovej rovnováhe v obidvoch súboroch. Distribúcia genotypov polymorfizmu Ala119Ser bola v HW rovnováhe iba v skupine premenopauzálnych žien.

Analýzy vplyvu genotypov dvoch SNP Arg48Gly a Ala119Ser na nástup menarché, pri testovaní aditívneho, dominantného a recesívneho modelu, nepotvrdili u premenopauzálnych a ani u postmenopauzálnych žien vplyv genotypov na nástup menarché. Na skorší vek nástupu prirodzenej menopauzy (v súbore postmenopauzálnych žien) mali štatisticky významný vplyv genotypy Gly/Gly a Ser/Ser, ako ukázal recesívny model ($p = 0,046$, resp. $p = 0,041$). Ženy s genotypom Gly/Gly mávali zároveň dlhšiu menštruáciu v porovnaní so ženami s genotypmi Arg/Arg a Arg/Gly ($p = 0,046$). Dĺžka menštruácie vyšla v regresnej analýze ako jediná premenná ovplyvňujúca počet menopauzálnych symptómov (celý súbor – $B = 1,912$; $t = 4,52$; $p < 0,001$; premenopauzálnu ženy – $B = 1,812$; $t = 3,19$; $p = 0,002$; postmenopauzálnu ženy – $B = 2,16$; $t = 3,79$; $p < 0,001$). Analýza vplyvu genotypov na základné antropometrické parametre uvedené v tabuľke 1, s ohľadom na vek, nepoukázala na žiadnu štatisticky významnú asociáciu.

Medzi tri najčastejšie sa vyskytujúce symptómy menopauzy u premenopauzálnych žien patrili pocit únavy a vyčerpania (82,4 % žien), bolesť v krížoch (73,9 % žien) a bolesť krčnej chrbtice (68,9 % žien). Postmenopauzálnu ženy najčastejšie uvádzali pocit únavy a vyčerpania (87,0 %), bolesť kĺbov a svalov (74,5 %) a bolesť v krížoch (73,8 % žien). Porovnanie skupín ukázalo, že postmenopauzálnu ženy štatisticky významne viac ($p < 0,05$) trpeli deviatimi menopauzálnymi symptómami v porovnaní so skupinou premenopauzálnych žien; menovite to boli návaly tepla, nočné potenie, bolesti kĺbov a svalov, rast chlčkov na tvári, mravčenie v nohách a rukách, zhoršenie pamäti, nestíhanie toho čo predtým, pocit úzkosti pri odchode z domu, necíti sa plná života, suchosť pošvy pri pohlavnom styku. U postmenopauzálnych žien bola pri troch symptómoch (návaly tepla, pocit úzkosti pri odchode z domu a suchosť pošvy pri pohlavnom styku) štatisticky významne vyššia aj intenzita prejavu symptómu ($p = 0,041$, $p = 0,017$, $p < 0,001$). Na druhej strane sa u postmenopauzálnych žien signifikantne menej vyskytovala citlivosť prs ($p < 0,001$) a kľče v oblasti brucha ($p = 0,002$).

Vplyv genotypov Arg48Gly na intenzitu menopauzálnych symptómov je znázornený na obrázku 1 (aditívny model). Analýza aditívneho modelu ukázala, že ženy s genotypom Gly/Gly mali štatisticky významne najsilnejší prejav návalov tepla ($p = 0,037$). Pri testovaní dominantného modelu neboli zistené žiadne signifikantné rozdiely vo výške intenzity symptómov a pri recesívnom sme zistili, že ženy s genotypom Gly/Gly mali menej intenzívne prejavy nadúvania ($p = 0,044$).

Na obrázku 2 je zobrazená intenzita menopauzálnych symptómov podľa jednotlivých genotypov polymorfizmu Ala119Ser (aditívny model). Štatistické testovanie ukázalo, že ženy s genotypom Ser/Ser menej intenzívne pociťovali nadúvanie ($p = 0,006$). Dominantný model ani pri tomto polymorfizme nepoukázal na rozdiely v intenzite menopauzálnych symptómov. Recesívny model tiež ukázal menej intenzívne nadúvanie u žien s genotypom Ser/Ser ($p = 0,028$). Ženy s týmto genotypom boli zároveň spokojnejšie v osobnom a pracovnom živote ($p = 0,038$) v porovnaní s nositeľkami genotypov Ala/Ala a Ala/Ser.

Tabuľka 1. Základná charakteristika sledovaného súboru

| Parametr | premenopauzálné ženy n = 124 | | postmenopauzálné ženy n = 108 | | p* |
|---------------------------|---------------------------------|---------|----------------------------------|---------|-------|
| | M | ± SD | M | ± SD | |
| Vek (roky) | 45,55 | ± 3,91 | 53,80 | ± 4,65 | 0,000 |
| Vek vstupu do menarché | 13,12 | ± 1,50 | 13,40 | ± 1,70 | n.s. |
| Vek nástupu menopauzy | – | | 48,72 | ± 3,59 | – |
| Dĺžka menštr. cyklu (dni) | 5,58 | ± 1,57 | 5,79 | ± 1,74 | n.s. |
| Počet tehotenstiev | 2,42 | ± 1,28 | 2,75 | ± 1,35 | n.s. |
| Telesná výška (cm) | 164,60 | ± 6,31 | 162,66 | ± 5,57 | n.s. |
| Telesná hmotnosť (kg) | 71,50 | ± 15,27 | 73,91 | ± 16,11 | n.s. |
| BMI (kg/m ²) | 26,41 | ± 5,69 | 27,85 | ± 5,42 | n.s. |
| WHR | 0,80 | ± 0,091 | 0,85 | ± 0,08 | n.s. |
| Tuková hmota (%) | 36,05 | ± 8,49 | 38,20 | ± 8,83 | n.s. |
| Beztuková hmota (%) | 63,95 | ± 8,49 | 61,71 | ± 8,82 | n.s. |
| Svalová hmota (%) | 37,56 | ± 4,81 | 36,50 | ± 5,00 | n.s. |
| BCMI | 7,36 | ± 0,74 | 7,55 | ± 0,94 | n.s. |

Poznámka: BCMI – index bunkovej hmoty, * – adjustované na vek, n.s. – rozdiel nie je štatisticky významný

Tabuľka 2. Frekvencie analyzovaných genotypov v skupine premenopauzálnych a postmenopauzálnych žien

| Polymorfizmus | premenopauzálné ženy n = 124 | | postmenopauzálné ženy n = 104 | | p |
|--------------------|-----------------------------------|------|----------------------------------|------|-------|
| | n | % | n | % | |
| Arg 48 Gly | | | | | |
| Arg/Arg | 57 | 46,0 | 47 | 45,2 | 0,841 |
| Arg/Gly | 49 | 39,5 | 39 | 37,5 | |
| Gly/Gly | 18 | 14,5 | 18 | 17,3 | |
| | HW: $\chi^2 = 1,87$ p = 0,1711 | | HW: $\chi^2 = 3,63$ p = 0,057 | | |
| Polymorfizmus | premenopauzálné ženy n = 123 | | postmenopauzálné ženy n = 104 | | p |
| | n | % | n | % | |
| Ala 119 Ser | | | | | |
| Ala/Ala | 51 | 41,5 | 44 | 42,3 | 0,547 |
| Ala/Ser | 52 | 42,3 | 38 | 36,5 | |
| Ser/Ser | 20 | 16,3 | 22 | 21,2 | |
| | HW: $\chi^2 = 1,16$ p = 0,281 | | HW: $\chi^2 = 5,75$ p = 0,016 | | |

Poznámka: HW – Hardy-Weinbergova rovnováha, p – hodnota štatistickej významnosti

Diskusia

Pri štatistickom porovnaní antropometrických parametrov použitím jednoduchého Mannovho-Whitneyovho testu sme zistili, že postmenopauzálné ženy mali nielen štatisticky významne vyšší vek, ale aj hodnoty BMI, WHR indexu a tukovej hmoty v porovnaní s premenopauzálnymi ženami (Tabuľka 1). Na druhej strane mali tieto ženy štatisticky významne nižšie hodnoty telesnej výšky, beztukovej hmoty a svalovej hmoty. Tieto výsledky korešpondujú so všeobecne akceptovanými poznatkami a výsledkami mnohých výskumov (Kirchengast, 2004; Franklin, Ploutz-Snyder, & Kanaley, 2009), že u žien v postmenopauze dochádza k nárastu telesnej hmotnosti a tukovej zložky. Pri použití štatistického modelu GLM s ohľadom na rozdielny vek premenopauzálnych a postmenopauzálnych žien, rozdiely medzi skupinami žien neboli viac signifikantné (Tabuľka 1), a nie sú teda zapríčinené menopauzálnym statusom ako takým.

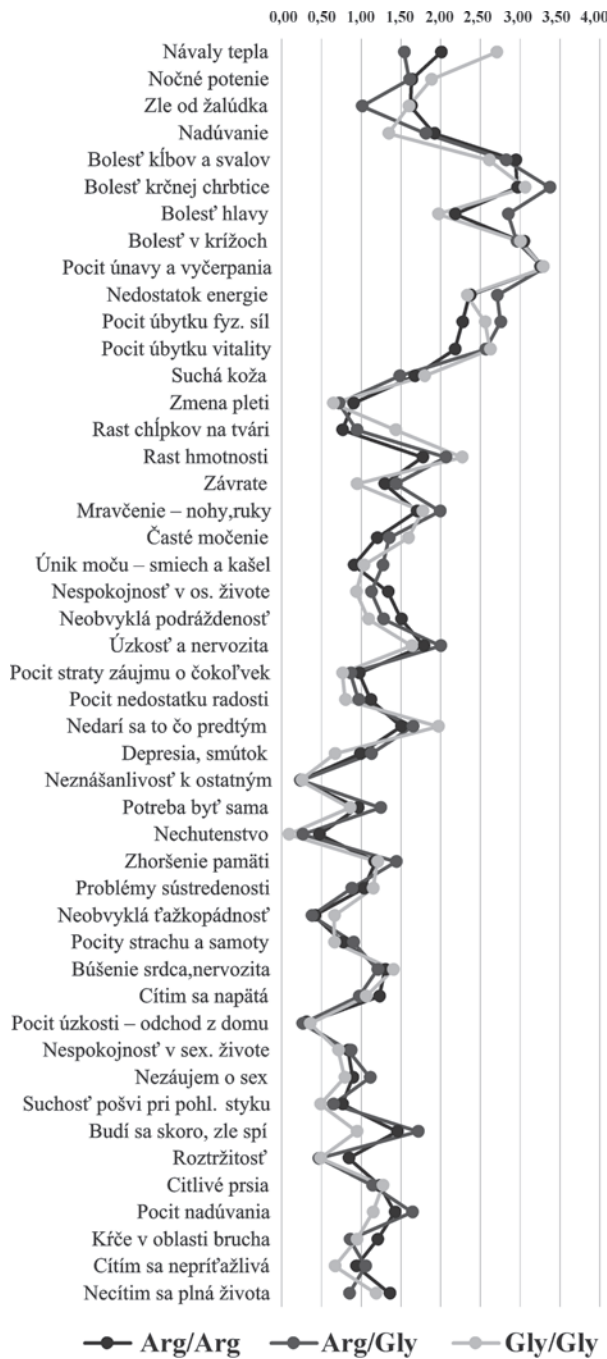
Za zmienku stojí hodnota mediánu (Tabuľka 1) veku vstupu do menarché v našom súbore. Hoci sledovaný súbor bol rozsahom menší a údaje boli zisťované retrospektívne, korešpondujú s výsledkami iných autorov pre slovenské dievčatá v období dospievania (Nagyová, Orliková, Nagy, & Matejovičová, 2007). Nagyová, Matejovičová, & Nagy (2011) odhadli mediánny vek menarché stanovený Kärberovou a gra-

fickou metódou na $12,730 \pm 0,669$ rokov pre dievčatá z mesta a $12,748 \pm 0,107$ rokov pre dievčatá z vidieku.

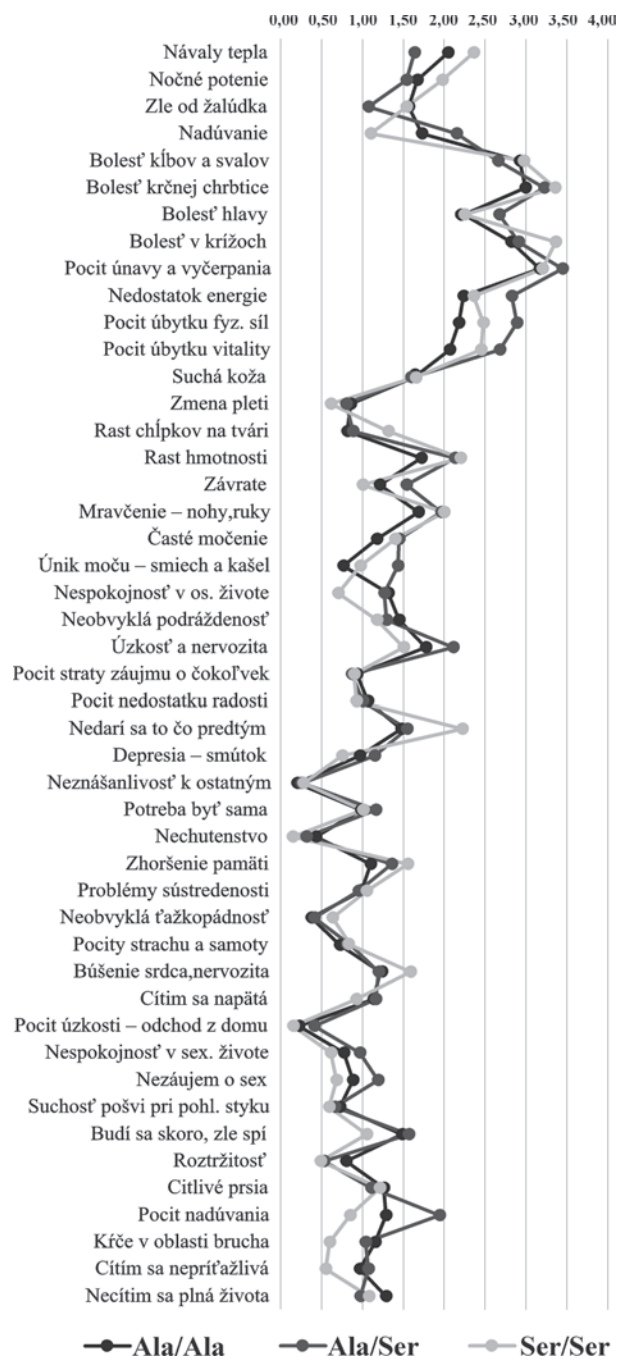
Aj hodnota priemerného veku nástupu prirodzenej menopauzy v sledovanom súbore (medián 49 rokov) korešponduje s údajmi Lukáčikovej (2011), ktorá vo svojej dizertačnej práci odhadla u slovenských žien probitovou metódou tento vek na 50,146 rokov s dolnou hranicou 49,285 rokov a hornou hranicou 51,069 rokov.

Sledovanie vplyvu polymorfizmov CYP1B1 na vek nástupu menarché a menopauzy neboli doposiaľ na Slovensku, ani v Európe, sledované. Podľa autorov Long et al. (2006), ktorí sledovali štyri polymorfizmy v gène pre CYP1B1 a ich asociácie s nástupom prirodzenej menopauzy, počtom rokov menštruovania a počtom menštruačných cyklov u čínskych žien, sme očakávali vplyv genotypov Gly/Gly a Ser/Ser na neskorší nástup menopauzy. V našom súbore však ženy s týmto genotypom mali menopauzu o necelé 2 roky skôr ako nositeľky genotypu Arg/Arg a Ala/Ala. Tieto odlišnosti sú pravdepodobne spôsobené rozsahom súborov, rôznou etnickou príslušnosťou ako aj rozdielnym zastúpením homozygotných genotypov pre mutovanú alelu. Kým v populácii čínskych žien bola frekvencia výskytu genotypov Gly/Gly 4,0 % a Ser/Ser 4,1 %, v súbore slovenských postmenopauzálnych žien bolo zastúpenie týchto genotypov vyššie; 17,3 % a 21,2 %. Hoci sú zatiaľ výsledky

Obrázok 1. Priemerná hodnota intenzity menopauzálnych symptómov (os Y) podľa genotypov polymorfizmu Arg48Gly v celom súbore žien



Obrázok 2. Priemerná hodnota intenzity menopauzálnych symptómov (os Y) podľa jednotlivých genotypov polymorfizmu Ala119Ser v celom súbore žien



v tomto smere nejednoznačné, naša práca nevylučuje, že by genetický polymorfizmus CYP1B1 mohol ovplyvňovať nástup prirodzenej menopauzy.

Podľa autorov Bruce a Rymer (2009) patria medzi najčastejšie sa vyskytujúce prejavy menopauzy návaly tepla a suchosť pošvy s výskytom nad 70 %. V našom súbore prevládala pocit únavy a vyčerpania (s výskytom nad 80 %) a bolesť vo väčších oblastiach chrbtice (s výskytom nad 69 %). Návaly tepla sa štatisticky častejšie vyskytovali u postmenopauzálnych žien (59,8 %) v porovnaní s premenopauzálnymi ženami (27,6 %) ($p = 0,006$), avšak stále to nebol najčastejší sa vyskytujúci symptóm. Suchosť pošvy dosahovala 17,5 % u premenopauzálnych žien a 27,6 % u postmenopauzálnych žien, rozdiel však nebol štatisticky významný. Aj Freeman et al. (2007) uvádzajú na základe longitudinálneho sledovania amerických žien ako

najčastejšie sa vyskytujúce symptómy návaly tepla, bolesti kĺbov a svalov a pokles nálady s častejším výskytom v menopauzálnom období. Zdá sa, že prítomnosť a intenzita menopauzálnych symptómov vykazuje interpopulačnú variabilitu a zároveň je ovplyvňovaná interakciou viacerých faktorov. Nakoľko však aj nízka intenzita symptómov významne ovplyvňuje kvalitu života žien a ich zdravotný stav, je dôležité venovať sa tejto problematike a podrobne analyzovať vplyv možných faktorov v rôznych etnických skupinách.

Záver

Sledovaný súbor tvorili premenopauzálna a postmenopauzálna ženy, ktoré sa štatisticky významne líšili v hodnotách priemerného veku. Základné antropometrické, somatické charakteristiky týchto dvoch skupín neboli podľa výsledkov GLM

modelu, zohľadňujúceho rozdielny vek, štatisticky významné.

V sledovanom súbore sme potvrdili vplyv genotypu Gly/Gly a Ser/Ser na skorší nástup menopauzy. Nositeľky mutovanej alely s genotypom Gly/Gly vykazovali dlhšie trvajúcu menštruáciu, intenzívnejšie prejavy návalov tepla a nižšiu intenzitu nadúvania. Genotyp Ser/Ser bol asociovaný s menšou intenzitou nadúvania a ženy s týmto genotypom boli zároveň spokojnejšie v osobnom a pracovnom živote. Porovnaním výskytu 48 menopauzálnych symptómov sme zistili, že postmenopauzálne ženy častejšie trpeli deviatimi vazomotorickými symptómami v porovnaní s premenopauzálnymi ženami, menej časté boli u nich 2 symptómy. Intenzitou prejavu symptómov sa ženy líšili v 5 symptómoch, pričom štyri z nich boli intenzívnejšie v skupine postmenopauzálnych žien.

Na plauzibilnejšie analýzy vplyvu genotypov na reprodukčné charakteristiky žien bolo potrebné v budúcnosti zväčšiť rozsah súboru tak, aby bola možná diferenciácia nielen podľa menopauzálného statusu, ale aj podľa prítomnosti, resp. neprítomnosti mutovaných alel vo všetkých sledovaných lokusoch. Nové poznatky môže priniesť aj analýza zameraná na asociáciu týchto genotypov s kardiovaskulárnym profilom, ktorý je tiež ovplyvnený kvantitou metabolitov pri hydroxylácii estradiolu. Výzvou zostáva aj stanovenie haplotypov v géne CYP1B1 a komplexné porovnanie viacerých polymorfizmov na reprodukčné a kardiovaskulárne charakteristiky slovenských žien.

Pod'akovanie

Tento článok predstavuje čiastkové výsledky grantu VEGA 1/0493/13.

Súhrn

Cytochróm P450 CYP1B1 katalyzuje hydroxyláciu 17 β -estradiolu, čím vplýva na reprodukčné charakteristiky žien. Hlavným cieľom práce bolo stanoviť vplyv dvoch CYP1B1 polymorfizmov (Arg48Gly a Ala119Ser) na vek nástupu menarché, menopauzy a na menopauzálny symptómy v súbore slovenských žien v strednom veku. Súbor tvorilo 232 žien, z ktorých 108 bolo postmenopauzálnych, s amenoreou minimálne 12-tich po sebe nasledujúcich mesiacoch. Ostatné ženy ($n = 124$) boli zaradené do premenopauzálnych skupín. Na detekciu genotypov bola použitá RFLP-PCR analýza zo vzoriek krvi. Ženy vyplňali dotazník zameraný na osobnú a rodinnú anamnézu, reprodukčné charakteristiky a menopauzálny symptómy. Základné antropometrické parametre boli merané štandardnými metódami. Bioelektrická impedančná analýza bola robená prístrojom BIA 101 Akern S.r.l. Na štatistickú analýzu bol použitý program IBM SPSS.

Výsledky analýz nepotvrdili vplyv genotypov na vek menarché. V súbore postmenopauzálnych žien mal genotyp Gly/Gly a Ser/Ser významný vplyv na skorší nástup menopauzy ($p = 0,046$; $p = 0,041$ resp.). Ženy s genotypom Gly/Gly mali dlhšiu menštruáciu ($p = 0,046$). Dĺžka menštruácie vyšla v regresných analýzach ako jediná premenná vplyvajúca na počet menopauzálnych symptómov a to v obidvoch skupinách (premenopauzálne ženy $B = 1,812$; $t = 3,19$; $p = 0,002$; postmenopauzálne ženy $B = 2,16$; $t = 3,79$; $p < 0,001$).

Ženy s genotypom Gly/Gly a Ser/Ser, ako ukázal aditívny a recesívny model testovania polymorfizmov Arg48Gly a Ala119Ser, mali silnejšie prejavy nadúvania v porovnaní so ženami ostatných genotypov. Genotyp Ser/Ser asocioval s vyššou spokojnosťou žien v osobnom a pracovnom živote ($p = 0,038$). Na druhej strane, ženy s týmto genotypom vykazovali silnejšie prejavy návalov tepla ($p = 0,037$).

KLúčové slová: cytochróm, menopauza, menarché

Literatúra

- Aklillu, E., Oscarson, M., Hidestrand, M., Leidvik, B., Otter, C., & Ingelman-Sundberg, M. (2002). Functional analysis of six different polymorphic CYP 1B1 enzyme variants found in an Ethiopian population. *Molecular Pharmacology*, 61(3), 586–594.
- Bruce, D., & Rymer, J. (2009). Symptoms of the menopause. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 23(1), 25–32.
- Bruin, J. P., Bovenhuis, H., van Noord, P. A. H., Pearson, P. L., van Arendonk, J. A. M., te Velde, E. R., Kuurman, W. W., & Dorland, M. (2001). The role of genetic factors in age at natural menopause. *Human Reproduction*, 16(9), 2014–2018.
- Cramer, D. W., Xu, H., & Harlow, B. L. (1995). Family History as a predictor of early menopause. *Fertility and Sterility*, 64(4), 740–745.
- Chie, W. C., Liu, Y. H., Chi, J., Wu, V., & Chen, A. (1997). Predictive factors for early menarche in Taiwan. *Journal of the Formosan Medical Association*, 96(6), 446–450.
- Cho, Y. J., Hur, S. E., Lee, J. Y., Song, I. O., Moon, H. S., Koong, M. K., & Chung, H. W. (2007). Single nucleotide polymorphisms and haplotypes of the genes encoding the CYP1B1 in Korean women: no association with advanced endometriosis. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 24(7), 271–277.
- Franklin, R., Ploutz-Snyder, L., & Kanaley, J. A. (2009). Longitudinal changes in abdominal fat distribution with menopause. *Metabolism Clinical and Experimental*, 58(3), 311–315.
- Freeman, E., Sammel, M. D., Lin, H., Gracia, C. R., Pien, G. W., Nelson, D. B., & Sheng, L. (2007). Symptoms associated with menopausal transition and reproductive hormones in midlife women. *Obstetrics and Gynecology*, 110(2), 230–240.
- Holt, S. H., Rossing, M. A., Malone, K. E., Schwartz, S. M., Weiss, N. S., & Chen, Ch. (2007). Ovarian Cancer Risk and Polymorphisms Involved in Estrogen Catabolism. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 16, 481–489.
- Inoue, K., Asao, T., & Shimada, T. (2000). Ethnic-related differences in the frequency distribution of genetic polymorphisms in the CYP1A1 and CYP1B1 genes in Japanese and Caucasian populations. *Xenobiotica*, 30(3), 285–295.
- Janssen, I., Powell, L. H., Crawford, S., Lasley, B., & Sutton-Tyrrell, K. (2008). Menopause and the metabolic syndrome: the Study of Women's Health Across the Nation. *Archives of Internal Medicine*, 168(14), 1568–1575.
- Jarupanich, T. (2007). Prevalence and risk factors associated with osteoporosis in women attending menopause clinic at Hat Yai Regional Hospital. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 90(5), 865–869.
- Kaczmarek, M. (2007). The timing of natural menopause in Poland and associated factors. *Maturitas*, 57(2), 139–153.
- Kirchengast, S. (2004). Proximate and Ultimate Aspects of Body Composition changes during menopausal transition. *Biennial Book of EAA*, 3, 111–119.
- Kravitz, H. M., Meyer, P. M., Seeman, T. E., Greendale, G. A., & Sowers, M. R. (2006). Cognitive functioning and sex steroid hormone gene polymorphisms in women at midlife. *The American Journal of Medicine*, 119(9 Suppl 1), 97–102.
- Long, J. R., Shu, X. O., Cai, Q., Cai, H., Gao, Y. T., Jin, F., & Zheng, W. (2006). Polymorphism of the CYP1B1 gene may be associated with the onset of natural menopause in Chinese women. *Maturitas*, 55(3), 238–246.
- Lukáčiková, P. (2011). *Starnutie a koreláty biologického veku slovenských žien v reprodukčnom a postreprodukčnom období života*. Dizertačná práca. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave.

- Luptáková, L., Siváková, D., Šrámeková, D., & Cvičelová, M. (2012). The association of cytochrome P450 1B1 Leu432Val polymorphism with biological markers of health and menopausal symptoms in Slovak midlife women. *Menopause*, 19(2), 216–224.
- Malacara, J. M., Pérez-Luque, E. L., Martínez-Garza, S., & Sánchez-Marín, F. J. (2004). The relationship of estrogen receptor- α polymorphism with symptoms and other characteristics in post-menopausal women. *Maturitas*, 49(2), 163–169.
- Massart, F., Reginster, J. Y., & Brandi, M. L. (2001). Genetics of menopause-associated diseases. *Maturitas*, 40(2), 103–116.
- McLellan, R. A., Oscarson, M., Hildestrand, M., Leidvik, B., Jonsson, E., Otter, Ch., & Ingelman-Sundberg, M. (2000). Characterization and functional analysis of two common human cytochrome P450 1B1 variants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 378(1), 175–181.
- Mitchell, E. S., Farin, F. M., Stapleton, P. L., Tsai, J. M., Tao, E. Y., Smith-DiJulio, K., & Woods, N. F. (2008). Association of estrogen-related polymorphisms with age at menarche, age at final menstrual period, and stages of the menopausal transition. *Menopause*, 15(1), 105–111.
- Nagyová, S., Orliková, B., Nagy, T., & Matejovičová, B. (2007). Sezónnosť a nástup menarché u bratislavských dievčat. *Slovenská antropológia*, 10(2), 53–58.
- Nagyová, S., Matejovičová, B., & Nagy, T. (2011). Sezónnosť a nástup menarché dievčat z mesta a vidieka (Nitra a okolie). *Slovenská antropológia*, 14(2), 25–32.
- Poehlman, E. T. (2002). Menopause, energy expenditure, and body composition. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 81(7), 603–611.
- Rebeck, T. R., Su, H. I., Sammel, M. D., Lin, H., Tran, T. V., Gracia, C. R., & Freeman, E. W. (2010). Effect of hormone metabolism genotypes on steroid hormone levels and menopausal symptoms in a prospective population-based cohort of women experiencing the menopausal transition. *Menopause*, 17(5), 1026–1034.
- Samsioe, G., Dören, M., & Lobo, R. A. (2006). Acute symptoms of the menopause. *Women's Health Medicine*, 3(1), 282–286.
- Shimada, T., Hayes, C. L., Yamazaki, H., Amin, S., Hecht, S. S., Guengerich, F. P., & Sutter, T. R. (1996). Activation of chemically diverse procarcinogens by human cytochrome P-450 1B1. *Cancer Research*, 56(13), 2979–2984.
- Shimada, T., Watanabe J., Kawajiri, K., Sutter, T. R., Guengerich, F. P., Gillam, E. M. J., & Inoue, J. (1999). Catalytic properties of polymorphic human cytochrome P450 1B1 variants. *Carcinogenesis*, 20(8), 1607–1613.
- Snieder, H., MacGregor, A. J., & Spector, T. D. (1998). Genes control the cessation of a women's reproductive life: a twin study of hysterectomy and age at menopause. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83(6), 1875–1880.
- Sowers, M., Pope, S., Welch, G., Sternfeld, B., & Albrecht, G. (2001). The association of menopause with physical functioning in women at midlife. *Journal of the American Geriatrics Society*, 49(11), 1485–1492.
- Stoilov, I., Akarsu, A. N., Alozie, I., Child, A., Barsoum-Homsi, M., Turachi, M. E., ... Sarfarazi, M. (1998). Sequence analysis and homology modeling suggest that primary congenital glaucoma on 2p21 results from mutations disrupting either the hinge region or the conserved core structures of cytochrome P4501B1. *The American Journal of Human Genetics*, 62(3), 573–584.
- Sutter, T. R., Tang, Y. M., Hayes, C. L., Wo, Y. Y., Jabs, E. W., Li, X., ... Greenlee, W. F. (1994). Complete cDNA sequence of a human dioxin-inducible mRNA identifies a new gene subfamily of cytochrome P450 that maps to chromosome 2. *Journal of Biological Chemistry*, 269(18), 13092–13099.
- Španková, J., Krajčovičová, V., Ďurišová, J., & Omelka, R. (2012). Association of the Leu432Val polymorphism in CYP1B1 gene with bone mineral density (BMD) in Slovak postmenopausal women, *Scientia iuvenis. Book of Scientific Papers*.
- Španková, J., Krajčovičová, V., Zábojníková, V., & Omelka, R. (2012). Leu432Val polymorphism in CYP1B1 gene and association with osteoporosis in postmenopausal women, *Scientia iuvenis: Book of Scientific Papers*.
- Watanabe, J., Shimada, T., Gillam, E. M. J., Ikuta, T., Suemasu, K., Higashi, Y., Gotoh, O., & Kawajiri, K. (2000). Association of CYP1B1 genetic polymorphism with incidence to breast and lung cancer. *Pharmacogenetics*, 10(1), 25–33.
- Danková, Z., Čerňanová, V., Cvičelová, M., & Siváková, D. (2014). Vplyv Polymorfizmov Arg48Gly a Ala119Ser v géne CYP 1B1 na reprodukčné charakteristiky a menopauzálné symptómy slovenských žien vo veku 40–65 rokov. *Česká antropologie*, 64(2), 10–15.