

Wiek menarche w zależności od stanu odżywienia i polimorfizmu sekwencji intronu 1 genu receptora estrogenowego alfa*

Age at menarche in relation to nutritional status and polymorphism in the first intron of the estrogen receptor alpha gene

Beata Kulik-Rechberger¹, Paweł Skorupski², Maria Kozłowska¹, Tomasz Rechberger²

¹Zakład Propedeutyki Pediatrii Akademii Medycznej im. prof. Feliksa Skubiszewskiego w Lublinie
Kierownik: dr hab. Beata Kulik-Rechberger

²II Katedra i Klinika Ginekologii Akademii Medycznej im. prof. Feliksa Skubiszewskiego w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Tomasz Rechberger

Polimorfizmy długości fragmentów restrykcyjnych PvuII i XbaI genu receptora estrogenowego alfa (ER α) są spowodowane zmianami sekwencji DNA dotyczącymi pojedynczych nukleotydów w intronie 1 genu. Zważywszy na genetyczne uwarunkowanie procesu pokwitania można przypuszczać, że może on także zależeć od typu polimorficznego ER α . **Celem pracy** była ocena zależności między genotypem ER α , wiekiem menarche i stanem odżywienia dziewcząt. **Materiał i metody.** Badaniem długofalowym objęto 126 zdrowych dziewcząt. Oceniano wskaźniki masy ciała (BMI), obwody ramienia oraz grubości fałdów skórno-tłuszczowych na brzuchu, na ramieniu i pod łopatką. Ustalano datę wystąpienia menarche. Jednorazowo, kiedy dziewczęta były w wieku średnio $12,42 \pm 0,34$ lat, określano stężenie leptyny, estradiolu oraz genotyp ER α . Dziewczęta podzielono na dwie grupy: pierwszą stanowiły dziewczęta, które były po menarche lub osiągnęły menarche w ciągu roku od badania, drugą dziewczęta, które osiągnęły menarche później. **Wyniki.** Stwierdzono dodatnie korelacje między leptyną i BMI ($R=0,69$; $p<0,001$), obwodem ramienia ($R=0,68$; $p<0,001$) oraz sumą fałdów skórno-tłuszczowych ($R=0,80$; $p<0,001$) w grupie pierwszej i w grupie drugiej (odpowiednio: $R=0,83$; $p<0,001$, $R=0,85$; $p<0,001$, $R=0,085$; $p<0,001$). Dziewczęta, które szybciej osiągnęły menarche, były młodsze, ale miały większy BMI ($p<0,001$), obwód ramienia ($p<0,001$), sumę fałdów skórno-tłuszczowych ($p<0,001$), a także wyższe stężenie leptyny ($p<0,03$) i estradiolu ($p<0,001$) niż dziewczęta, które osiągnęły menarche później. **Wnioski.** Wiek menarche zależy od stanu odżywienia i stężenia leptyny we krwi dziewcząt. Wyniki naszych badań nie wskazują, aby polimorfizmy PvuII oraz XbaI ER α miały wpływ na stan odżywienia i wiek menarche.

Słowa kluczowe: menarche, odżywienie, receptor estrogenowy α

Restriction fragment lengths polymorphisms PvuII and XbaI of estrogen receptor α (ER α) gene are caused by single nucleotide transitions in the first intron. These alterations are suspected to create the genetic background of female pubertal process. **The aim** of the study was to assess the relationships between ER α gene polymorphisms, age at menarche and nutritional status of girls. **Material and Methods.** The longitudinal study comprised 126 healthy girls. Body mass indexes (BMI), arm circumferences, and thicknesses of the skin-folds on abdomen, at the triceps and subscapular sites were assessed. The time of menarche was estimated. Once, when girls were in a mean age of 12.42 ± 0.34 years, serum concentration of leptin, estradiol, and genotype of ER α gene were evaluated. Girls were divided into two groups: girls that were after menarche or reached menarche in one year since examination and girls that reached menarche later. **Results.** There were positive correlations between leptin and BMI ($R=0.69$; $p<0.001$), arm circumference ($R=0.68$; $p<0.001$) and sum of skin folds ($R=0.80$; $p<0.001$) in the first and in the second group (respectively: $R=0.83$; $p<0.001$, $R=0.85$; $p<0.001$, $R=0.085$; $p<0.001$). Girls that reached menarche earlier were younger but they had bigger BMI ($p<0.001$), arm circumference ($p<0.001$), sum of skin-folds ($p<0.001$) as well as higher serum leptin ($p<0.03$) and estradiol ($p<0.001$) concentrations than girls, that reach menarche later. **Conclusion.** Age at menarche depend on nutritional status and concentration of leptin. Our results do not indicate that the PvuII and XbaI polymorphisms of ER α influence nutritional status and modulate age at menarche.

Key words: menarche, nutritional status, estrogen receptor α

Pediatr Pol 2008; 83 (3): 218–223

© 2008 by Polskie Towarzystwo Pediatryczne

* Praca finansowana ze środków KBN, projekt badawczy nr 2 P05E 045 27

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

Wkład poszczególnych autorów w pracę

1) Zasadniczy wkład w koncepcję i projekt pracy – Beata Kulik Rechberger, Tomasz Rechberger. 2) Wkład w zebranie danych, analizę i interpretację danych: Beata Kulik-Rechberger, Paweł Skorupski, Maria Kozłowska. 3) Odpowiedzialność za analizę statystyczną i przygotowanie wyników badań do analizy: Beata Kulik-Rechberger, Paweł Skorupski, Maria Kozłowska. 4) Napisanie artykułu – Beata Kulik-Rechberger.

Okres pokwitania charakteryzuje się przyspieszeniem wzrastania, zwanym skokiem pokwitaniowym, dojrzewaniem wtórnych cech płciowych i pojawieniem się pierwszej miesiączki (*menarche*). Powszechnie wiadomo, że tempo wzrastania i dojrzewania zależy od wielu czynników. Wśród nich jest wymieniany stan odżywienia [1, 2]. Obserwacje kliniczne dowodzą, że znaczny niedobór masy ciała powoduje brak *menarche* lub zanik cykli miesięczkowych. Przyczyną tych zaburzeń jest między innymi niedobór tkanki tłuszczowej i wydzielanych przez nią hormonów, a wśród nich leptyny. Jej stężenie w płynach ustrojowych jest proporcjonalne do wskaźników oceniających zasoby tkanki tłuszczowej w organizmie [3, 4]. Hormon ten zmniejsza łaknienie, zwiększa termogenezę i wydatkowanie energii u zwierząt [5]. Ma on również istotne znaczenie w dojrzewaniu płciowym. Podawanie leptyny zdrowym zwierzętom stymuluje dojrzewanie, podobnie jak karmienie ich bez ograniczeń. Ograniczenie pożywienia opóźnia dojrzewanie, które można przyspieszyć podając leptynę [6].

Niewątpliwie zasadniczymi determinantami procesu wzrastania i dojrzewania są czynniki genetyczne, co potwierdzają zależności w relacji matka-córka czy siostra-siostra [7, 8]. Do silnie zdeterminowanych genetycznie cech należą kształt i wymiary ciała (zwłaszcza wysokość), czas kostnienia chrząstek wzrostowych, a także czas wystąpienia *menarche* i długość cyklu miesięczkowego [1]. Mechanizm regulujący dojrzewanie płciowe dziecka nie jest dokładnie poznany. Niezmiernie ważną rolę w tym procesie odgrywają estrogeny, które stymulują rozwój gruczołów sutkowych, narządów płciowych, warunkują pojawienie się *menarche* i cyklicznych zmian menstruacyjnych. Efekty działania estrogenów zależą od ich stężenia we krwi, a także od stopnia ekspresji i struktury receptorów komórek docelowych. Znane są dwa typy receptora estrogenowego (ER): receptor estrogenowy alfa i beta (ER α , ER β). Oba znajdują się w ośrodkowym układzie nerwowym, w gruczołach sutkowych, układzie moczowo-płciowym, kościach i tkance tłuszczowej. Ważnym elementem modyfikującym działanie estrogenów jest zmienność polimorficzna genów kodujących enzymy szlaku syntezy hormonów steroidowych lub genów kodujących receptory dla hormonów płciowych [8–10]. Jednym z genów, który brany jest pod uwagę w procesie pokwitania, jest gen dla receptora estrogenowego α (ER α) [8]. Gen ten jest zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 6 i zawiera 8 eksonów kodujących białko receptorowe o długości 595 aminokwasów i masie cząsteczkowej 66 kDa. Interesujący jest fakt występowania polimorfizmów DNA w zakresie genu ER α . Dotychczas najlepiej są

poznane warianty polimorficzne wykrywane z zastosowaniem enzymów restrykcyjnych PvuII i XbaI. Polimorfizmy długości fragmentów restrykcyjnych PvuII i XbaI genu ER α spowodowane są zmianami sekwencji DNA dotyczącymi pojedynczych nukleotydów w intronie 1, zlokalizowanymi odpowiednio w odległości 397 i 351 pz od egzonu 2. Uważa się, że te subtelne modyfikacje wpływają na wiązanie czynników transkrypcyjnych, w ten sposób oddziałując na alternatywne składanie mRNA i na syntezę receptorów [11].

Celem pracy była ocena zależności między polimorfizmem długości fragmentów restrykcyjnych PvuII i XbaI genu receptora estrogenowego alfa, wiekiem *menarche* i stanem odżywienia dziewcząt.

Materiał i metody

Badaniem długofalowym objęto 126 zdrowych dziewcząt w wieku $11,31 \pm 0,29$ lat (od 10,7 do 12,2). Datę wystąpienia *menarche* ustalano na podstawie wywiadu. Jednorazowo, kiedy dziewczęta były w wieku średnio $12,42 \pm 0,34$ lat, pobierano krew obwodową celem określenia stężenia leptyny, estradiolu oraz wykonania badań genetycznych. Stan odżywienia dziewcząt określano na podstawie wskaźnika masy ciała [BMI = masa (kg)/wysokość (m²)], obwodu ramienia oraz sumy grubości fałdów skórno-tłuszczowych mierzonych pod łopatką, na ramieniu i na brzuchu. Dziewczęta podzielono na dwie grupy: pierwszą stanowiły te, które osiągnęły *menarche* przed lub w ciągu roku od oceny stężeń hormonów, drugą dziewczęta, które osiągnęły *menarche* później.

Stężenie leptyny i estradiolu oznaczano metodą radioimmunologiczną, stosując zestaw Human Leptin RIA kit (Linco Research, Inc., St. Charles, MO) oraz zestaw E2-RIA-CT (Biosource). Genomowe DNA wyizolowano z leukocytów z użyciem Flexi Gene DNA kit (Quiagen, Hilden, Germany). Metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR), wykorzystując startery: 5'CTG CCA CCC TAT CTG TAT CTT TTC CTA TTC TCC 3' and 5' TCT TTC TCT GCC ACC CTG GCG TCG ATT ATC TGA 3', amplifikowano fragment DNA długości 1372 pz, zawierający miejsca polimorficzne. Amplifikację DNA przeprowadzano w 30 cyklach, w następujących warunkach: denaturacja w temp. 95°C przez 60 s; przyłączanie starterów w temp. 62°C przez 60 s; wydłużanie starterów w temp. 72°C przez 60 s. Produkty PCR zostały poddane trawieniu enzymami restrykcyjnymi PvuII i XbaI (Promega, Madison, WI, USA), a następnie rozdzielane na 2% żelu agarozowym zawierającym bromek etydyny.

W wyniku trawienia próbek DNA enzymem PvuII uzyskano fragmenty o długości 936 pz i 436 pz. W wyniku trawienia enzymem XbaI uzyskano frag-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2678335>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2678335>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)