



Występowanie polimorfizmu sekwencji trójnukleotydowej CAG genu receptora androgenowego w populacji wielkomięjskiej polskich mężczyzn

Occurrence of androgen receptor gene CAG trinucleotide sequence polymorphism in the metropolitan population of Polish men

Alicja Filus¹, Marek Mędraś^{1, 2}, Justyna Kuliczowska-Płaksej¹, Anna Trzmiel-Bira¹, Łukasz Łączmański¹, Diana Jędrzejuk¹

¹Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich, Wrocław

²Katedra Medycyny Sportowej, Akademia Wychowania Fizycznego, Wrocław

Streszczenie

Wstęp: Aktywność receptora androgenowego (AR, *androgen receptor*) modulowana jest przez region polimorficzny zlokalizowany w obrębie egzonu 1 genu i charakteryzujący się zmienną liczbą powtórzeń trójnukleotydu (CAG, *cytosine-adenine-guanine*). Długość regionu polimorficznego jest odwrotnie skorelowana z funkcją transaktywacyjną genu AR. Wykazano istnienie różnic etnicznych w długości powtórzeń CAG genu AR. Celem badań było określenie występowania liczby powtórzeń CAG genu AR w populacji polskich mężczyzn. **Materiał i metody:** W badaniach o charakterze populacyjnym i przekrojowym wzięła udział losowo wybrana populacja próbna 466 mężczyzn — mieszkańców Wrocławia w wieku 25–65 lat (średnia wieku 46,9 ± 12,4 lat). Polimorfizm CAG genu AR określono metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*).

Wyniki: Zakres liczby powtórzeń CAG zawierał się od 1 do 57 ze średnią liczbą powtórzeń wynoszącą 24 ± 7,68. Liczbą tripletów pojawiającą się najczęściej w badanej populacji było 21. Stwierdzono ją u 34 (7,3%) badanych. Grupa 137 (29,4%) mężczyzn posiadała liczbę powtórzeń ≤ 20, a 329 (70,6%) > 20. Poszczególne grupy wiekowe mężczyzn nie różniły się istotnie między sobą długością powtórzeń CAG. Zarówno rozkład małej (≤ 20) i dużej (> 20) liczby powtórzeń CAG genu AR, jak i struktura wiekowa w grupach mężczyzn z dłuższymi i krótszymi allelami były statystycznie takie same.

Wnioski: Średnia liczba powtórzeń CAG genu AR oraz jej zakres w populacji mężczyzn polskich były większe w porównaniu z populacją zachodnioeuropejską i bardziej przypominały dystrybucję liczby powtórzeń spotykaną wśród Azjatów. Te różnice etniczne mogłyby wyjaśnić odmienności biologiczne między populacjami i różne ryzyko występowania schorzeń hormonozależnych.

(*Endokrynol Pol* 2009; 60 (4): 263–270)

Słowa kluczowe: receptor androgenowy, polimorfizm, powtórzenia CAG, różnice etniczne, mężczyźni

Abstract

Background: The activity of androgen receptor (AR) is modulated by a polymorphic region located within exon 1 its gene and characterizing a variable number of trinucleotide CAG repeats. The length of polymorphic region is inversely correlated with the transactivation function of AR gene. It was showed an ethnic differences existence in the length CAG repeats of AR gene. The aim of the study was determined of the number CAG repeats AR gene occurrence in the population Polish men.

Material and methods: In the population-based cross-sectional study participated a population-based sample randomly selected 466 men aged 25–65 years — residents of Wrocław, Poland. The CAG polymorphism was amplified by PCR method.

Results: The range of androgen receptor CAG repeats was from 1 to 57 with a mean 24 ± 7,68. The most frequent repeat was 21. It was indicated in 34 (7,3%) of examined subjects. The number of triplets ≤ 20 had 137 (29,4%) men and > 20 329 (70,6%) men. There were no differences in the length of CAG repeats among the age groups. Both the distribution of small (≤ 20) and large (> 20) number CAG repeats and age structure in men groups with the longer and shorter alleles were statistically all the same.

Conclusions: The average number of AR gene CAG repeats and its range in the population Polish men were larger in comparison to the west European populations and more reminded the number repeats distribution meeting among Asians. This ethnic differences might explain the biological variabilities among different populations and another risk of hormone-dependent diseases occurrence.

(*Pol J Endocrinol* 2009; 60 (4): 263–270)

Key words: androgen receptor, polymorphism, CAG repeats, ethnic differences, men



Dr n. med. Alicja Filus, Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami AM we Wrocławiu,
Wybrzeże Ludwika Pasteura 4, 50–356 Wrocław, e-mail: ala@filus.pl

Prof. dr hab. n. med. Marek Mędraś, Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami AM we Wrocławiu,
Wybrzeże Ludwika Pasteura 4, 50–356 Wrocław, e-mail: marekmedras@poczta.pf.pl, medras@endo.am.wroc.pl

Wstęp

Wpływ androgenów na komórki może być modulowany przez różnice w budowie strukturalnej receptora androgenowego (AR, *androgen receptor*) wynikające z istnienia polimorfizmu sekwencji trójnukleotydowej CAG (*cytosine-adenine-guanine*) w obrębie jego genu, zlokalizowanego na dłuższym ramieniu chromosomu X w pozycji q11–12 [1–6]. Obszar kodujący sekwencję poliglutaminową jest najbardziej zmiennym (polimorficznym) regionem genu AR. Znajduje się on w obrębie pierwszego z ośmiu wyodrębnionych egzonów genu AR, odpowiedzialnego za aktywność transkrypcyjną genu docelowego. Składa się z powtarzających się cyklicznie trójnukleotydów zawierających zasady: cymetydynę, adeninę, guaninę (CAG) [1–8]. Istnieją różnice w liczbie powtórzeń CAG między grupami etnicznymi. Zakres jej rozciąga się zwykle od 11 do 31, ze średnią liczbą powtórzeń wynoszącą 21 ± 2 [2, 8–10]. Polimorfizm tego regionu pełni istotną funkcję w patogenezie chorób związanych zarówno z nadmierną aktywnością AR, jak i z jej brakiem [2, 3, 11].

Zmienna ekspansja tripletów CAG może prowadzić do rozwoju różnych schorzeń hormonozależnych. Udowodniono związek polimorfizmu regionu AR-CAG z procesem transformacji nowotworowej w komórkach takich narządów, jak: sutek, jajnik, endometrium, prostata czy wątroba [1–3, 8].

Zmienna ekspresja trójnukleotydu CAG została opisana także w wielu schorzeniach powstałych w wyniku patologii układu nerwowego. Wśród chorób neurodegeneracyjnych spowodowanych zwiększoną liczbą powtórzeń CAG w egzonie 1 genu AR, dochodzącą w niektórych przypadkach do ponad 60, najlepiej zbadano rdzeniowo-opuszkowy zanik mięśni, opisany po raz pierwszy w 1968 roku przez Kennedy'ego i wsp. [za: 8, 12]. Różną liczbę powtórzeń sekwencji trójnukleotydu CAG wykryto także w zespole łamliwego chromosomu X, chorobie Huntingtona, ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 1 i Friedreicha [3].

Konsekwencje zmienności genetycznej AR wynikającej z obecności sekwencji polimorficznej CAG w jego genie nie zostały do końca poznane i stanowią przedmiot intensywnie prowadzonych badań naukowych.

Celem pracy było określenie występowania polimorfizmu genu AR dotyczącego zmiennej liczby powtórzeń trójnukleotydu CAG w populacji polskich mężczyzn. Podobne badania przeprowadzono w różnych populacjach mężczyzn i kobiet, ale według wiedzy autorów w literaturze przedmiotu nie znaleziono informacji na ten temat odnośnie populacji polskiej.

Materiał i metody

Charakter badań

Badania miały charakter populacyjny i przekrojowy. Zostały wykonane w Klinice Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami Akademii Medycznej we Wrocławiu, w ramach projektu badawczego nr 2P05D11226 pod tytułem „Rola polimorfizmu receptora androgenowego w procesie starzenia się mężczyzn z populacji wrocławskiej”, finansowanego przez Komitet Badań Naukowych. Na realizację badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej we Wrocławiu (Opinia Komisji Bioetycznej nr KB — 180/2006).

Grupa badana

Kompletne dane do realizacji wszystkich założeń projektu badawczego uzyskano od 466 mężczyzn — mieszkańców Wrocławia w wieku 25–65 lat (średnia wieku $46,9 \pm 12,4$ roku). Taką grupę (próbę) badanych wybrano spośród 900 mężczyzn wyłonionych przy zastosowaniu schematu losowania warstwowego (wg 5-letnich przedziałów wiekowych) z grupy 3000 mężczyzn wybranych losowo przez Ośrodek Informatyki Dolnośląskiego Urzędu Wojewódzkiego we Wrocławiu.

Jedynym kryterium, na podstawie którego włączano pacjentów do badań, był wiek. Za kryterium wyłączenia z badań przyjęto brak pisemnej zgody na udział w projekcie badawczym oraz stwierdzenie w wywiadzie poważnych zaburzeń funkcjonowania gruczołów wydzielania wewnętrznego bądź stosowanie terapii substytucyjnej testosteronem. Służyło to osiągnięciu jak najlepszej wiarygodności wyników badań dotyczących innych niż polimorfizm genu AR parametrów, których oznaczenie stanowiło pozostałe założenie grantu, w ramach którego przeprowadzono niniejszą analizę dystrybucji powtórzeń CAG.

Po imiennym zaproszeniu na badanie zgłosiło się łącznie 466 osób, co stanowiło 51,8% z 900 zaproszonych mężczyzn. Wszyscy uczestnicy, którzy przystąpili do badań, po uzyskaniu wyczerpującej informacji o sposobie i założeniach realizowanego projektu badawczego wyrazili pisemnie świadomą i dobrowolną zgodę na udział w nim oraz na przetwarzanie danych osobowych w celach wyłącznie naukowych.

U każdego pacjenta przeprowadzono dokładny kwestionariuszowy wywiad lekarski — bezpośredni odnośnie przeszłości chorobowej, aktualnego stanu zdrowia, przyjmowanych leków i stosowanych używek oraz występowania chorób przewlekłych w rodzinie. Wywiad ten uzupełniono o dane dotyczące wykształcenia, zawodu i trybu życia.

W badanej populacji mężczyzn 44,2% badanych stanowiły osoby z wykształceniem wyższym, 55,58% osoby z wykształceniem podstawowym i średnim. Aktywność zawodową wykazywało 63,53% badanych, 19,95% reprezentowało status emeryta, a 5,15% rencisty.

Nie miało rozpoznanej żadnej choroby przewlekłej i nie podawało żadnych dolegliwości 7,3% badanych.

Najczęściej zgłaszanymi schorzeniami były choroby układu sercowo-naczyniowego i narządu ruchu. W grupie schorzeń układu krążenia najczęściej stwierdzano nadciśnienie tętnicze (21,24%), chorobę niedokrwienną serca (9,44%), w tym przebyty zawał serca (5,15%), zylaki kończyn dolnych (3,43%), wady zastawkowe (2,14%), arytmie (1,9%). W strukturze chorób narządu ruchu dominujące ilościowo były choroby zwyrodnieniowe (20,60%).

W dalszej kolejności badani mężczyźni leczyli się z powodu urazów (14,9%), przerostu prostaty (5,58%), alergii (4,72%), kamicy nerkowej (4,51%), zaburzeń lipidowych (4,51%), cukrzycy typ 2 (4,08%), chorób wątroby (3,65%), choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy (3,43%), migreny (3,22%), zaburzeń psychicznych (2,79%), astmy (2,57%). Udział innych schorzeń wymienianych przez pacjentów, takich jak: przebyty nowotwór, udar mózgu, zespół jelita drażliwego, był mniejszy niż 2%.

Wśród najczęściej zgłaszanych dolegliwości (odpowiedzi na pytania otwarte) były: bóle głowy, dolegliwości bólowe związane z patologią układu kostno-stawowego, układu pokarmowego, narządów zmysłu.

Żadnych leków nie przyjmowało 58,8% badanych mężczyzn, natomiast 47,2% było leczonych farmakologicznie różnymi preparatami, w tym 0,6% zażywało leki psychotropowe.

Całkowity brak stosowania jakichkolwiek używek deklarowało 5,15% uczestników badań. Do spożywania alkoholu przyznało się 25,9%, w tym 1,5% deklarowało częste i dosyć częste wykorzystywanie różnych okazji do napicia się alkoholu. Do abstynencji przyznało się 74,1% mężczyzn. Nie palenie papierosów w ogóle deklarowało 58,15% badanych, 24,03% w momencie trwania badań nie paliło, ale nadużywało nikotyny w przeszłości, a 17,81% regularnie paliło tytoń. Spośród wszystkich badanych tylko 1 mężczyzna przyznał się do przyjmowania narkotyków.

Poza oceną demograficzną każdego mężczyznę poddano szczegółowemu badaniu przedmiotowemu z pomiarem ciśnienia tętniczego i oceną wskaźników antropometrycznych, takich jak: masa ciała, wzrost, obwód talii i bioder. Wyliczono wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*) = masa [kg]/wzrost [m²] oraz określono wskaźnik talia/biodro (WHR, *waist to hip ratio*) = obwód talii [cm]/obwód bioder [cm].

Badaną populację mężczyzn podzielono na 5 grup wiekowych: I — 25–29 lat, II — 30–39 lat, III — 40–49 lat,

IV — 50–59 lat, V — 60–65 lat. Oprócz podziału na poszczególne kategorie wiekowe badaną populację podzielono również zależnie od liczby powtórzeń CAG genu *AR* na dwie grupy: I — o małej (≤ 20) i II — o dużej (> 20) liczbie powtórzeń CAG genu *AR*.

Oznaczenie polimorfizmu genetycznego

Genomowe DNA wyizolowano z limfocytów krwi pełnej pobranej na EDTA przy użyciu standardowych metod.

Polimorfizm CAG genu *AR* (OMIM: [*313700]) określono z wykorzystaniem łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*). Produkty amplifikacji poddano analizie przy użyciu elektroforezy kapilarnej (ABI PRISM 310). Amplifikacji genu *AR* dokonano w roztworze o końcowej objętości 20 μ l, zawierającym: zestaw starterów FW (*forward*): 5'-TCCAGAATCTGTTCCAGAGCGTG-3', RV (*reverse*): 5'-CTCTACGATGGGCTTGGGGAGAAC-3'; 1,5 mM MgCl₂; 200 μ M dATP; 200 μ M dCTP; 200 μ M dGTP; 200 μ M dTTP; roztwór Q; 2 jednostki polimerazy (QIAGEN); 200 ng genomowego DNA; wodę do objętości 20 μ l. Starter RV został oznakowany przy użyciu barwnika fluorescencyjnego HEX.

Warunki PCR: denaturacja DNA w temperaturze 95°C przez 3 minuty, a następnie 35 cykli zawierających: denaturację w temperaturze 95°C przez 30 sekund, przyłączanie w 59,6°C przez 45 sekund, wydłużanie w 72°C przez 45 sekund. Końcowe wydłużanie prowadzono w temperaturze 72°C przez 10 minut.

Do prowadzenia reakcji wykorzystano termocykler firmy Biometra. Do wyznaczenia krzywej standardowej wybrano produkty reakcji od czterech pacjentów, a następnie określono ich sekwencję przy użyciu sekwencjatora ABI PRISM 310 *Genetic Analyzer* firmy Applied Biosystems oraz zestawu *BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit* firmy Applied Biosystems. Produkty PCR wszystkich pacjentów rozdzielono za pomocą elektroforezy kapilarnej (ABI PRISM 310), a liczbę powtórzeń CAG określono na podstawie wyznaczonej wcześniej krzywej standardowej: (CAG) $n = 0,5 * M[bp] - 101$.

Analiza statystyczna

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą programu komputerowego STATISTICA v. 6.0 firmy Statsoft. Uzyskane dane przedstawiono jako średnią arytmetyczną z odchyleniem standardowym. Ocenę istotności testu oceniano, podając p — wartość testu. Wartość $p < 0,05$ uznano za istotną statystycznie.

Do porównania średnich pomiędzy wyodrębnionymi grupami wiekowymi wykorzystano test analizy wariancji jednoczynnikowej (ANOVA). Porównanie dystrybucji powtórzeń CAG genu *AR* w poszczególnych grupach wiekowych przeprowadzono za pomocą testu χ^2 .

Tabela I. Charakterystyka kliniczna badanych mężczyzn

Table I. Clinical characteristic of examined men

	Grupa wiekowa (lata)					
	Razem	25–29	30–39	40–49	50–59	60–65
N	466	36	119	91	115	105
Wzrost [cm]	* ^a					
Średnia	175,84	179,58	179,10	176,97	174,67	171,17
SD	6,95	5,78	6,73	5,17	6,62	6,35
Masa ciała [kg]	*					
Średnia	84,1	77,2	83,1	85,5	87,0	83,4
SD	13,6	10,5	13,2	12,6	14,7	13,5
BMI [kg/m²]	*					
Średnia	27,22	23,96	25,91	27,24	28,48	28,41
SD	4,17	3,38	3,86	3,53	4,33	4,12
Obwód talii [cm]	*					
Średnia	96,97	88,03	92,25	97,41	100,79	100,80
SD	11,42	7,73	9,81	9,70	11,99	11,44
Obwód bioder [cm]	*					
Średnia	101,19	96,39	98,82	101,57	102,86	103,36
SD	8,49	8,79	7,26	7,56	9,25	8,41
WHR	*					
Średnia	0,96	0,92	0,93	0,96	0,98	0,97
SD	0,071	0,059	0,068	0,066	0,072	0,069
SBP [mm Hg]	*					
Średnia	128,92	118,75	119,79	128,08	134,83	137,01
SD	16,63	10,10	11,94	13,78	18,32	16,49
DBP [mm Hg]	*					
Średnia	84,19	80,14	81,09	84,78	87,49	84,95
SD	9,93	10,03	8,34	9,40	11,04	9,39

* $p < 0,01$ (test ANOVA); N (number of men) — liczba mężczyzn, SD (standard deviation) — odchylenie standardowe; BMI (body mass index) — wskaźnik masy ciała; WHR (waist to hip ratio) — stosunek obwodu talii do obwodu bioder; SBP (systolic blood pressure) — skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP (diastolic blood pressure) — rozkurczowe ciśnienie tętnicze

Wyniki

Ocena kliniczna badanych mężczyzn

Mężczyźni reprezentujący różne grupy wiekowe różniły się między sobą istotnie statystycznie pod względem mierzonych parametrów antropometrycznych, wartości BMI, WHR i skurczowego oraz rozkurczowego ciśnienia tętniczego. Charakterystykę kliniczną badanej populacji mężczyzn w grupach wiekowych przedstawiono w tabeli I.

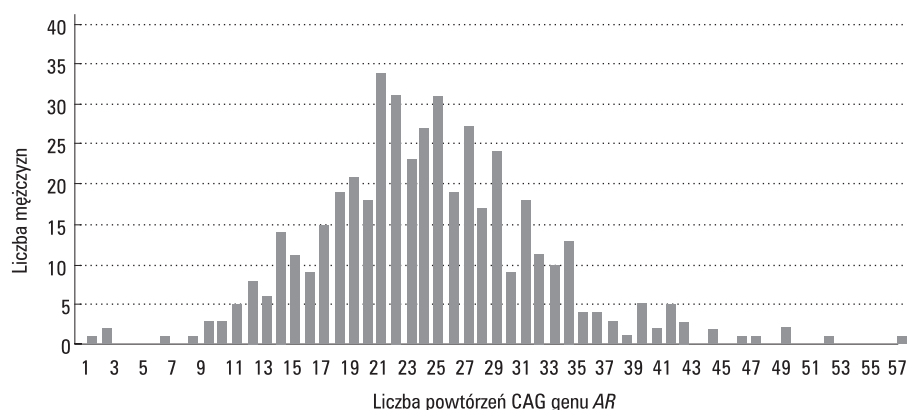
Dystrybucja liczby powtórzeń trójnukleotydu CAG genu AR w całej badanej populacji mężczyzn i w poszczególnych grupach wiekowych

Zakres liczby powtórzeń trójnukleotydu CAG genu AR w badanej populacji mężczyzn wrocławskich

wynosił od 1 do 57, ze średnią liczbą powtórzeń $24 \pm 7,68$. Dwadzieścia jeden było najczęściej pojawiającą się liczbą tripletów CAG w badanej populacji mężczyzn. Stwierdzono ją u 34 (7,3%) badanych.

Rozkład liczby powtórzeń w badanej populacji przedstawiał się następująco: liczba mężczyzn (liczba powtórzeń CAG) 1(1), 2(2), 0(3), 0(4), 0(5), 1(6), 0(7), 1(8), 3(9), 3(10), 5(11), 8(12), 6(13), 14(14), 11(15), 9(16), 15(17), 19(18), 21(19), 18(20), 34(21), 31(22), 23(23), 27(24), 31(25), 19(26), 27(27), 17(28), 24(29), 9(30), 18(31), 11(32), 10(33), 13(34), 4(35), 4(36), 3(37), 1(38), 5(39), 2(40), 5(41), 3(42), 0(43), 2(44), 0(45), 1(46), 1(47), 0(48), 2(49), 0(50), 0(51), 1(52), 0(53), 0(54), 0(55), 0(56), 1(57).

Wykres dystrybucji liczby powtórzeń CAG genu AR w badanej populacji mężczyzn polskich przedstawiono na rycinie 1.



Rycina 1. Dystrybucja liczby powtórzeń CAG genu AR w badanej populacji polskich mężczyzn

Figure 1. The distribution of number CAG AR gene repeats in examined population Polish men

Tabela II. Zakres i średnia liczba powtórzeń CAG genu AR w grupach wiekowych mężczyzn

Table II. The range and mean number of AR gene CAG repeats in age groups of men

p = 0,60 ^a	Grupa wiekowa (lata)					
	Razem	25–29	30–39	40–49	50–59	60–65
N	466	36	119	91	115	105
Minimum	1,0	13,5	1,0	2,0	9,0	9,0
Maksimum	57	49,0	57	52,0	49,0	42,0
Średnia	24	25	24	24	24	23
SD	7,68	7,62	8,02	8,16	7,39	7,32

^awartość p dla testu ANOVA; N — liczba mężczyzn; SD (standard deviation) — odchylenie standardowe

Nie odnotowano istotnych statystycznie różnic w liczbie powtórzeń CAG genu AR w poszczególnych grupach wiekowych mężczyzn ($p = 0,60$, test ANOVA). Zakres liczby powtórzeń CAG genu AR w poszczególnych kategoriach wiekowych przedstawiono w tabeli II.

Stosując test χ^2 , zaobserwowano, że zarówno rozkład małej ≤ 20 i dużej > 20 liczby powtórzeń CAG w danych grupach wiekowych ($p = 0,60$, test χ^2), jak i struktura wiekowa w grupach z małą i dużą liczbą powtórzeń były statystycznie takie same ($p = 0,77$, test χ^2). Porównanie rozkładu małej i dużej liczby tripletów CAG w poszczególnych grupach wiekowych i porównanie struktury wiekowej w grupach z małą i dużą liczbą powtórzeń CAG przedstawiono w tabelach III i IV oraz na rycinach 2 i 3.

Dyskusja

Od lat 90 trwają prace nad badaniem mutacji dotyczącej genu receptora androgenowego, objawiającej się polimorfizmem w egzonie 1 polegającym na zmiennej liczbie powtórzeń sekwencji trójnukleotydowej CAG [2, 3].

Mimo licznych badań ostatecznie nie wyjaśniono znaczenia polimorfizmu CAG tego regionu, podobnie jak nie określono roli zmiennej długości innych obszarów polimorficznych (poliprolinowego i poliglicynowego) w genie AR [11].

Wyniki dużych badań populacyjnych wykazały różną liczbę powtórzeń CAG w poszczególnych grupach etnicznych [2, 3, 10, 13–16]. Zaobserwowano, że mężczyźni rasy czarnej odznaczają się mniejszą liczbą tripletów CAG w porównaniu z mężczyznami rasy białej [15, 16]. Najkrótsze allele wykryto u Afroamerykanów, a najdłuższe u Azjatów. Różnice te dotyczyły również płci żeńskiej. U kobiet rasy białej najczęściej stwierdzano 21 powtórzeń, natomiast u kobiet rasy czarnej 18 [2].

W literaturze przedmiotu najpowszechniej podawane długości obszaru polimorficznego CAG genu AR obejmowały zakres 6–39 powtórzeń ze średnią ich liczbą wynoszącą 20–22 [17]. W badanej populacji 466 mężczyzn polskich, mieszkańców Wrocławia, średnia liczba tripletów CAG wynosiła $24 \pm 7,68$ i obejmowała zakres 1–57. Podobnie szerokiej rozpiętości obszaru poliglutaminowego nie znaleziono w trakcie badań innych

Tabela III. Porównanie rozkładu mniejszej (≤ 20) i większej (> 20) liczby powtórzeń CAG genu AR w poszczególnych grupach wiekowych mężczyznTable III. Comparison of distribution of smaller (≤ 20) and larger (> 20) number AR gene CAG repeats in the particular age groups of men

p = 0,60 ^a	Grupa wiekowa (lata)					
	Razem	25–29	30–39	40–49	50–59	60–65
N	466	36	119	91	115	105
Liczba powtórzeń CAG genu AR ≤ 20						
N	137	10	33	24	34	36
Odsetek	29,4%	27,8%	27,7%	26,47%	29,6%	34,3%
Liczba powtórzeń CAG genu AR > 20						
N	329	26	86	67	81	69
Odsetek	70,6%	72,2%	72,37%	73,6%	70,4%	65,7%

^awartość p dla testu χ^2 ; N — liczba mężczyzn; AR (androgen receptor) — receptor androgenowy; CAG (cytosine–adenine–guanine) — cytozyna–adenina–guanina

Tabela IV. Porównanie struktury wiekowej w grupach mężczyzn z mniejszą (≤ 20) i większą (> 20) liczbą powtórzeń CAG genu ARTable IV. Comparison of the age structure in groups of men with smaller (≤ 20) and larger (> 20) number of AR gene CAG repeats

p = 0,77 ^a	Grupa wiekowa (lata)					
	Razem	25–29	30–39	40–49	50–59	60–65
N razem	466	36	119	91	115	105
Liczba powtórzeń CAG genu AR ≤ 20						
N	137	10	33	24	34	36
Odsetek	100%	7,3%	24,1%	17,5%	24,8%	26,3%
Liczba powtórzeń CAG genu AR > 20						
N	329	26	86	67	81	69
Odsetek	100%	7,9%	26,1%	20,4%	24,6%	21,0%

^awartość p dla testu χ^2 ; AR (androgen receptor) — receptor androgenowy; CAG (cytosine–adenine–guanine) — cytozyna–adenina–guanina

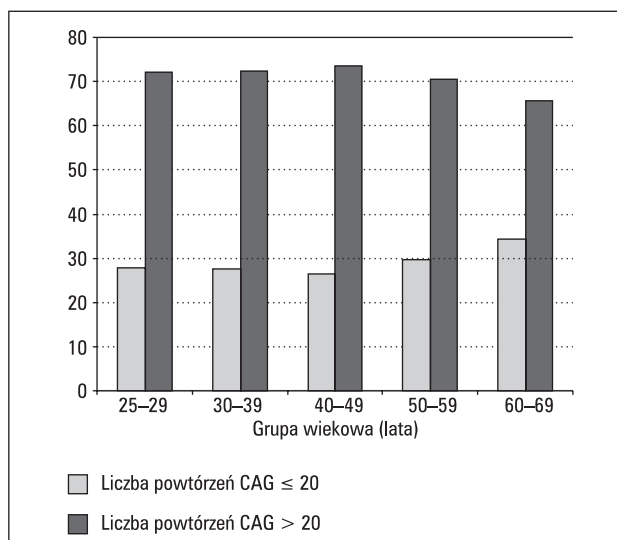
populacji mężczyzn. Dla porównania w grupie 131 Greków w wieku 36–86 lat zakres powtórzeń był mniejszy i zawierał się w przedziale 9–30 [18]. Wartości obliczone dla populacji greckiej były zbliżone do wyników uzyskanych w badaniach populacji Amerykanów, w których średni zakres powtórzeń wynosił 8–37 ze średnią liczbą równą 22 ± 3 [15].

Dystrybucja liczby powtórzeń CAG w grupie zdrowych mężczyzn rasy kaukaskiej w wieku 20–50 lat w badaniach autorów niemieckich wynosiła 14–31 [19]. W trakcie badania innej populacji mężczyzn niemieckich w wieku 18–69 lat obszar polimorficzny obejmował zakres 13–30 powtórzeń ze średnią ich liczbą równą $21,4 \pm 3,5$ [20]. Dane te były zbliżone do wyników badań Lapauw i wsp., dotyczących populacji starszych

Belgów, którzy charakteryzowali się średnią liczbą tripletów wynoszącą 21 i rozciągającą się od 15 do 31 [21]. Z kolei analiza genetyczna dokonana wśród Duńczyków wykazała liczbę powtórzeń CAG zawartą między 13 a 30 [13].

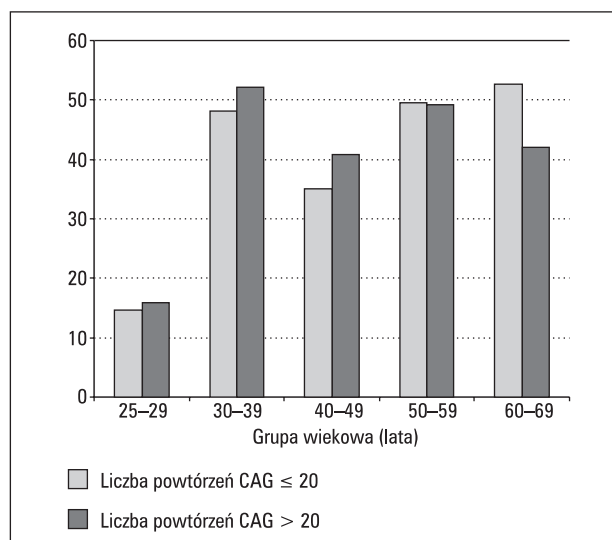
W badaniach Sasaki i wsp. porównujących długości fragmentów polimorficznych CAG genu AR w dwóch odmiennych populacjach mężczyzn — japońskiej i kaukaskiej — nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w długości tego regionu. Dystrybucja liczby trójnukleotydów CAG zawierała się w przedziale 14–31 u Japończyków oraz 15–29 u Niemców [22].

Odmienności populacyjne w liczbie powtórzeń CAG w obrębie genu AR wykazano natomiast w pracy auto-



Rycina 2. Rozkład małej (≤ 20) i dużej (> 20) liczby powtórzeń CAG genu AR w poszczególnych grupach wiekowych mężczyzn

Figure 2. The distribution of small (≤ 20) and large (> 20) number of AR gene CAG repeats in particular age groups of men



Rycina 3. Rozkład struktury wiekowej w grupach mężczyzn z mniejszą (≤ 20) i większą (> 20) liczbą powtórzeń CAG genu AR

Figure 3. The distribution of age structure in the groups of men with smaller (≤ 20) and larger (> 20) number of AR gene CAG repeats

rów szwedzkich, w której ujawniono, że mieszkańcy Grenlandii odznaczali się dłuższym regionem polimorficznym CAG w porównaniu z populacją Szwedów (mediana 22), ale identycznym jak w populacji polskich mężczyzn (mediana 24) [23].

Dane uzyskane z badania liczby powtórzeń sekwencji trójnukleotydu CAG genu AR wśród 466 mężczyzn, mieszkańców Wrocławia, były bardziej zbliżone do badań populacji Azjatów aniżeli populacji zachodnich. Przykładem mogą być badania Hsinga i wsp., w których odnotowana średnia liczba powtórzeń wynosiła 23 i tylko 10% spośród badanych Chińczyków miało liczbę tripletów CAG mniejszą niż 20 [24]. Dla porównania w aktualnie przeprowadzonych badaniach polskich u 29,4% mężczyzn wykryto liczbę powtórzeń ≤ 20 . Podobną do zaobserwowanej w polskiej populacji mieszkańców Wrocławia liczbę powtórzeń CAG — $23,2 \pm 3,0$ dla grupy badanej i $22,9 \pm 3,1$ dla grupy kontrolnej z zakresem w obu przypadkach wynoszącym od 15 do 31 — odnotowano w badaniach prowadzonych na Tajwanie [25]. Zbliżoną długość regionu polimorficznego CAG do wykazanego wśród mieszkańców Wrocławia odnotowano również u Japończyków w badaniach przeprowadzonych przez Suzuki i wsp. [26].

Rozbieżne wyniki przytoczonych badań świadczą o istnieniu dużych różnic rasowych i populacyjnych w długości sekwencji trójnukleotydu CAG w obrębie egzonu 1 genu AR. Prowadzi to do zmienności receptora androgenowego, co moduluje wpływ androgenów na tkanki. Następstwa biologiczne tego stanu są niejasne, choć mogą sugerować, że w populacji męż-

czyn polskich, podobnie jak u Azjatów, taki wariant budowy regionu polimorficznego będzie predysponował do mniejszej częstości występowania na przykład nowotworów androgenozależnych, w tym raka prostaty, w porównaniu z populacją kaukaską czy afroamerykańską. Wiele aspektów zależności pomiędzy zmienną długością regionu polimorficznego CAG genu AR nie zostało jeszcze zbadanych i wymaga prowadzenia dalszych prac badawczych.

Wnioski

W populacji mężczyzn polskich w wieku 25–65 lat średnia liczba powtórzeń trójnukleotydu CAG genu AR była większa od stwierdzanej w innych populacjach zachodnioeuropejskich. Wartość jej zbliżała się do średniej liczby powtórzeń spotykanej wśród mężczyzn rasy żółtej. Podobne spostrzeżenia dotyczą także zakresu liczby powtórzeń.

Istniejące różnice etniczne i populacyjne w długości regionu polimorficznego CAG genu AR mogłyby wyjaśnić odmienności biologiczne występujące między odmiennymi populacjami i odmienne ryzyko występowania schorzeń hormonozależnych.

Piśmiennictwo

1. Bryś M, Krajewska WM. Receptor androgenowy — struktura, funkcja oraz udział w nowotworzeniu gruczołu krokowego. *Post Biol Komórki* 1997; 24: 49–66.
2. Bednarska-Czerwińska A, Dąbkowska-Huć A, Skałba P. Receptor androgenowy. *Gin Prakt* 2003; 11: 12–18.
3. Chelmiński A, Lewandowski P, Chelmiński Z. Wykrywanie polimorfizmu trójnukleotydu CAG w obrębie egzonu 1 genu receptora androgenowego jako metoda diagnostyczna w zaburzeniach związanych z aktywnością hormonów płciowych. *Gin Prakt* 2004; 12: 36–39.

4. Bilińska B, Schmalz-Frączek B. Receptory androgenowe w gonadzie męskiej. *Post Biol Komórki* 1999; 26 (supl. 12): 181–187.
5. Brown CJ, Goss SJ, Lubahn DB i wsp. Androgen receptor locus on the human X chromosome: regional localization to Xq11-12 and description of a DNA polymorphism. *Am J Hum Genet* 1989; 44: 264–269.
6. Brinkmann AO. Molecular basis of androgen insensitivity. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 20: 105–109.
7. Palazzolo I, Gliozzi A, Rusmini P i wsp. The role of the polyglutamine tract in androgen receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008; 108: 245–253.
8. Buchanan G, Yang M, Cheong A i wsp. Structural and functional consequences of glutamine tract variation in the androgen receptor. *Hum Mol Genet* 2004; 15: 1677–1692.
9. Ding D, Xu L, Menon M i wsp. Effect of short CAG (glutamine) repeat on human androgen receptor function. *Prostate* 2004; 1: 23–32.
10. Freedman ML, Pearce CL, Penney KL i wsp. Systematic evaluation of genetic variation at the androgen receptor locus and risk of prostate cancer in a multiethnic cohort study. *Am J Hum Genet* 2005; 76: 82–90.
11. Ślęzak R, Szaśiadek M, Jagielski J. Wykorzystanie polimorfizmu sekwencji trójnukleotydowych genu receptora androgenowego w diagnostyce nosicielstwa w rodzinie występującym zespołem niewrażliwości na androgeny. *Gin Pol* 1998; 69: 133–138.
12. LaSpada AR, Wilson EM, Lubahn B i wsp. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 1991; 352: 77–79.
13. Langdahl BL, Stenkjaer L, Carstens M i wsp. A CAG Repeat polymorphism in the androgen receptor gene is associated with reduced bone mass and increased risk of osteoporotic fractures. *Calcif Tissue Int* 2003; 73: 237–243.
14. Irvine RA, Yu MC, Ross RK i wsp. The CAG and GGC microsatellites of the androgen receptor gene are in linkage disequilibrium in men with prostate cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 1937–1940.
15. Panz VR, Joffe BI, Spitz I i wsp. Tandem CAG repeats of the androgen receptor gene and prostate cancer risk in black and white men. *Endocrine* 2001; 15: 213–216.
16. Gilligan T, Manola J, Sartor O i wsp. Absence of a correlation of androgen receptor gene CAG repeat length and prostate cancer risk in an African-American population. *Clin. Prostate Cancer* 2004; 3: 98–103.
17. Krithivas K, Yurgalevitch SM, Mohr BA i wsp. Evidence that the CAG repeat in the androgen receptor gene is associated with the age-related decline in serum androgen levels in men. *J Endocrinol* 1999; 162: 137–142.
18. Alevizaki M, Cimponeriu AT, Garofallaki M i wsp. The androgen receptor gene CAG polymorphism is associated with the severity of coronary artery disease in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 59: 749–755.
19. Zitzmann M, Brune M, Kornmann B i wsp. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene affects bone density and bone metabolism in healthy males. *Clin Endocrinol* 2001; 55: 649–657.
20. Zitzmann M, Depenbusch M, Gromoll J i wsp. Prostate volume and growth in testosterone-substituted hypogonadal men are dependent on the CAG repeat polymorphism of the androgen receptor gene: longitudinal pharmacogenetic study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2049–2054.
21. Lapaaw B, Goemaere S, Crabbe P i wsp. Is the effect of testosterone on body composition modulated by the androgen receptor gene CAG repeat polymorphism in elderly men? *Eur J Endocrinol* 2007; 156: 395–401.
22. Sasaki M, Kaneuchi M, Sakuragi N i wsp. The polyglycine and polyglutamine repeats in the androgen receptor gene in Japanese and Caucasian populations. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 26: 1244–1247.
23. Giwereman C, Giwereman A, Pedersen HS i wsp. Polymorphism in genes regulating androgen activity among prostate cancer low-risk Inuit and high-risk Scandinavians. *Int J Androl* 2008; 31: 25–30.
24. Hsing AW, Gao YT, Wu G i wsp. Polymorphic CAG and GGN repeat lengths in the androgen receptor gene and prostate cancer risk: a population-based case-control study in China. *Cancer Res* 2000; 60: 5111–5116.
25. Huang SP, Chou YH, Chang WS i wsp. Androgen receptor gene polymorphism and prostate cancer in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2003; 102: 680–686.
26. Suzuki H, Akakura K, Komiya A i wsp. CAG polymorphic repeat lengths in androgen receptor gene among Japanese prostate cancer patients: potential predictor of prognosis after endocrine therapy. *Prostate* 2002; 51: 219–224.