



Rola hormonu wzrostu i insulinopodobnego czynnika wzrostu I w procesach oksydacyjnych

The role of growth hormone and insulin-like growth factor I in oxidative processes

Agnieszka Kokoszko^{1,3}, Andrzej Lewiński^{2,3}, Małgorzata Karbownik-Lewińska^{1,3}

¹Zakład Endokrynologii Onkologicznej, Katedra Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Medyczny, Łódź

²Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Katedra Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Medyczny, Łódź

³Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, Łódź

Streszczenie

W warunkach fizjologicznych reakcje wolnorodnikowe przebiegają z zachowaniem równowagi pomiędzy procesami wytwarzania wolnych rodników i ich neutralizowania. W przebiegu wielu chorób, w wyniku niekontrolowanego powstawania wolnych rodników i ich nadmiernego oddziaływania z cząsteczkami biologicznymi, dochodzi do zachwiania tej fizjologicznej równowagi i nasilenia stresu oksydacyjnego. Wydaje się, że zmiany w zakresie osi hormon wzrostu (GH)/insulinopodobny czynnik wzrostu I (IGF-I), obserwowane zarówno w stanach nadmiaru, jak i niedoboru GH, przyczyniają się do nasilenia stresu oksydacyjnego.

W niniejszej pracy omówiono wyniki badań doświadczalnych i klinicznych, w których wykazano wpływ GH i IGF-I na procesy oksydacyjne. (*Endokrynol Pol* 2008; 59 (6): 496–501)

Słowa kluczowe: hormon wzrostu, insulinopodobny czynnik wzrostu I, stres oksydacyjny, peroksydacja lipidów, niedobór hormonu wzrostu, akromegalia

Abstract

Under physiological conditions, there is a balance between the production and detoxification of reactive oxygen species (ROS). In the course of several diseases, an overproduction of ROS and their increased reaction with biological macromolecules, lead to disruption of this balance and to enhanced oxidative stress. Alterations in growth hormone (GH)/insulin-like growth factor I (IGF-I) pathway (e.g., in condition of GH overproduction or deficiency) are tightly linked with enhanced oxidative stress.

The results of experimental and clinical studies, in which effects of GH and IGF-I on oxidative processes were revealed, are presented in the survey. (*Pol J Endocrinol* 2008; 59 (6): 496–501)

Key words: growth hormone, insulin-like growth factor I, oxidative stress, lipid peroxidation, growth hormone deficiency, acromegaly

Wstęp

Mianem wolnego rodnika określa się atom (lub cząsteczkę), który posiada jeden lub więcej niesparowanych elektronów i jest zdolny do samodzielnego istnienia. Wolne rodniki, w celu pozbycia się zbędnego elektronu lub przyłączenia elektronu dodatkowego, szybko wchodzą w reakcje z wieloma różnymi cząsteczkami [1]. Najważniejszą grupę wolnych rodników wytwarzanych przez żywe organizmy stanowią wolne rodniki tlenowe zaliczane do reaktywnych form tlenu (ROS, *reactive oxygen species*), wśród których wyróżnia się między innymi anionorodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\cdot-}$), rodnik wodoronadtlenkowy (HO_2^{\cdot}) oraz najbardziej reaktywny wobec makrocząstek biologicznych — rodnik hydroksylowy ($\cdot OH$) [2].

W warunkach fizjologicznych reakcje wolnorodnikowe przebiegają z zachowaniem równowagi pomiędzy procesami wytwarzania wolnych rodników a mechanizmami obronnymi organizmu. Wyróżnia się mechanizmy obronne enzymatyczne obejmujące enzymy antyoksydacyjne, takie jak na przykład dysmutaza ponadtlenkowa (SOD, *superoxide dismutase*), peroksydaza glutationowa (GPx, *glutathione peroxidase*) czy katalaza (CAT, *catalase*), a także mechanizmy nieenzymatyczne, czyli endo- i egzogenne substancje antyoksydacyjne [2]. W przebiegu wielu chorób, w wyniku niekontrolowanego powstawania wolnych rodników i ich nadmiernego oddziaływania z cząsteczkami biologicznymi, dochodzi do zachwiania tej fizjologicznej równowagi i nasilenia stresu oksydacyjnego [2, 3]. Jednym ze wskaźników stresu oksydacyjnego



Prof. dr hab. med. Małgorzata Karbownik-Lewińska, Zakład Endokrynologii Onkologicznej, Katedra Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Medyczny, ul. Żeligowskiego 7/9, 90-752 Łódź, tel./faks: 042 271 13 43, e-mail: MKarbownik@hotmail.com

jest poziomem peroksydacji lipidów (LPO, *lipid peroxidation*), będącej wynikiem oksydacyjnego uszkodzenia lipidów. Produkty LPO (nadtlenki lipidów) podlegają dalszym przemianom, które prowadzą do wytworzenia między innymi aldehydów i hydroksyaldehydów (w tym dialdehydu malonowego i 4-hydroksyalkenalii [MDA + 4-HDA, *malondialdehyde* + *4-hydroxyalkenals*] oraz 4-hydroksy-2-nonenalu [HNE, *4-hydroxy-2-nonenal*]). Dialdehyd malonowy jest czynnikiem mutagennym dla bakterii i ssaków, a także kancerogennym dla szczurów. Z kolei HNE jest uważany za najbardziej toksyczny z produktów LPO [3, 4]. Poziom stresu oksydacyjnego można również określić na podstawie pomiaru stężenia produktów oksydacyjnego uszkodzenia kwasów nukleinowych (w tym głównie kwasu deoksyrybonukleinowego — DNA) oraz białek. W wyniku reakcji wolnych rodników, przede wszystkim $\cdot\text{OH}$, z DNA dochodzi do uszkodzenia zasad nukleinowych, zarówno purynowych, jak i pirymidynowych, oraz reszt cukrowych, a także do rozerwania wiązań fosfodiesterowych łączących poszczególne nukleotydy [3, 4]. Oksydacyjne uszkodzenia DNA powodują upośledzenie procesów transkrypcji i replikacji, przyczyniają się do destabilizacji genomu oraz do zapoczątkowania procesu kancerogenezy [4]. Jednym z najlepszych markerów oksydacyjnego uszkodzenia cząsteczki DNA oraz kancerogenezy jest pomiar stężenia 8-oxo-2'-deoksyguanozyny (8-oxo-dG) w wydalonym moczu oraz w leukocytach krwi obwodowej [1, 4]. Reakcje ROS z białkami prowadzą do powstania wolnych rodników białkowych, nadtlenków białek, a następnie końcowych produktów ich oksydacyjnego uszkodzenia, czego efektem jest zniesienie aktywności biologicznej białka [3]. Pomiar stężenia produktów LPO (w tym MDA + 4-HDA) oraz produktów oksydacyjnego uszkodzenia DNA w surowicy krwi, w innych płynach ustrojowych, w wydalinach, a także w różnych tkankach, wykorzystuje się w wielu badaniach doświadczalnych i klinicznych jako wskaźnik oksydacyjnego uszkodzenia tych cząsteczek.

Hormon wzrostu (GH, *growth hormone*) i tkankowy mediator jego działania — insulinopodobny czynnik wzrostu I (IGF-I, *insulin-like growth factor I*) odgrywają istotną rolę w utrzymaniu równowagi red-ox w warunkach fizjologicznych. Z drugiej zaś strony, zmiany w zakresie osi GH-IGF-I (zachodzące w stanach nadmiaru oraz niedoboru GH) mogą przyczyniać się do nasilenia procesów oksydacyjnych.

Przeprowadzono wiele badań, w których właściwości anty- i/lub prooksydacyjne GH i IGF-I oceniano w warunkach *in vitro* i *in vivo*, u zwierząt doświadczalnych i u ludzi, zarówno w stanach nadmiaru, jak i niedoboru GH.

Wpływ GH i IGF-I na procesy oksydacyjne w warunkach *in vitro*

W warunkach *in vitro* oceniano wpływ GH (zastosowanego w stężeniu 0,1 $\mu\text{g/ml}$, 1,0 $\mu\text{g/ml}$ lub 10 $\mu\text{g/ml}$) i IGF-I (zastosowanego w stężeniu 0,5 nM, 5,0 nM lub 50 nM) na aktywność enzymów antyoksydacyjnych (CAT, GPx) w hepatocytach uzyskanych od myszy z grupy kontrolnej (*wild-type*) oraz od myszy karłowatych z niedoborem GH (*Ames dwarf*). W hepatocytach myszy zdrowych, w wyniku 24-godzinnej ekspozycji zarówno na GH (zastosowany w stężeniu 1,0 $\mu\text{g/ml}$ lub 10 $\mu\text{g/ml}$), jak i IGF-I (we wszystkich zastosowanych stężeniach) odnotowano obniżenie aktywności badanych enzymów antyoksydacyjnych. Z kolei w hepatocytach myszy karłowatych stwierdzono podwyższoną aktywność CAT i GPx w warunkach podstawowych, natomiast GH, we wszystkich badanych stężeniach, dodatkowo podwyższył aktywność GPx, podczas gdy IGF-I (jedynie w stężeniu 5,0 nM) obniżył aktywność CAT [5].

W kolejnych badaniach przeprowadzonych w warunkach *in vitro* opisano wpływ GH i/lub IGF-I na poziom LPO [Kokoszko i wsp., w przygotowaniu]. Właściwości oksydacyjne GH (zastosowanego w stężeniach 100 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 1,0 $\mu\text{g/ml}$, 0,1 $\mu\text{g/ml}$, 0,01 $\mu\text{g/ml}$, 0,001 $\mu\text{g/ml}$, 0,0001 $\mu\text{g/ml}$) i IGF-I (zastosowanego w stężeniach 1000 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 1,0 $\mu\text{g/ml}$, 0,1 $\mu\text{g/ml}$, 0,01 $\mu\text{g/ml}$, 0,001 $\mu\text{g/ml}$, 0,0001 $\mu\text{g/ml}$) oceniano w homogenatach wątroby szczurzej i tarczycy wieprzowej, w warunkach podstawowych oraz w warunkach stresu oksydacyjnego wyindukowanego poprzez substraty reakcji Fentona (jony żelazawe — Fe^{2+} i nadtlenek wodoru — H_2O_2), w wyniku której powstaje $\cdot\text{OH}$ ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$). Poziom LPO oceniano na podstawie oznaczenia stężenia MDA + 4-HDA. Zarówno GH, jak i IGF-I, we wszystkich zastosowanych stężeniach, nie zmieniły podstawowej LPO w obydwu badanych tkankach. Jednak w warunkach nasilonego stresu oksydacyjnego, wykazano, że w zależności od tkanki i od zastosowanego stężenia, GH i/lub IGF-I wykazują różny wpływ na LPO. Hormon wzrostu zastosowany w stężeniach 100 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 1,0 $\mu\text{g/ml}$, 0,1 $\mu\text{g/ml}$ i 0,01 $\mu\text{g/ml}$ spowodował nasilenie LPO wywołanej przez $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$, podczas gdy zastosowany w stężeniach niskich (tzn. 0,001 $\mu\text{g/ml}$ i 0,0001 $\mu\text{g/ml}$) całkowicie zapobiegł tak wyindukowanej LPO w homogenatach tarczycy wieprzowej. Insulinopodobny czynnik wzrostu I (w stężeniach 0,001 $\mu\text{g/ml}$ i 0,0001 $\mu\text{g/ml}$) podwyższył poziom LPO wyindukowanej przez $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$ w homogenatach wątroby szczurzej, a w homogenatach tarczycy wieprzowej IGF-I wykazał pobudzający efekt we wszystkich zastosowanych stężeniach. Zgodnie

z przypuszczeniem autorów niniejszej pracy, efekt działania GH i IGF-I w wątrobie na LPO wyindukowaną przez żelazo był znacznie słabszy niż w gruczole tarczowym. Wątroba, jako główny narząd pośredniczący w działaniu GH i jako najważniejsze miejsce syntezy IGF-I, wydaje się mniej podatna na egzogeny wpływ tych dwóch czynników wzrostowych, nawet w warunkach nasilonego stresu oksydacyjnego. Zaobserwowany w powyższym badaniu antyoksydacyjny efekt działania GH (zastosowanego w niskich stężeniach), w warunkach wyindukowania LPO przez reakcję Fentona w homogenatach tarczycy wieprzowej, stanowi pierwsze doniesienie w piśmiennictwie o ochronnym antyoksydacyjnym wpływie GH w tej tkance. Nie można więc wykluczyć, że GH w stężeniach zbliżonych do fizjologicznych przyczynia się do utrzymywania równowagi red-ox w gruczole tarczowym.

Antyoksydacyjny wpływ GH, polegający na zmniejszeniu wewnątrzkomórkowego wytwarzania ROS, zaobserwowano również w hodowli ludzkich komórek śródbłonna [6]. W badaniu tym oceniano także wpływ GH na syntezę tlenku azotu (NO, *nitric oxide*), co wydaje się szczególnie interesujące ze względu na fakt, że sam NO jest wolnym rodnikiem (NO^{*}). Tlenek azotu może również reagować z O₂^{-*}, tworząc nadtlenoazotyn, który charakteryzuje się silnymi właściwościami utleniającymi wobec wszystkich makrocząsteczek biologicznych [4, 7]. W powyższym badaniu [6] stwierdzono, że GH spowodował zwiększenie wytwarzania NO, co z jednej strony może przyczyniać się do poprawy funkcji śródbłonna naczyniowego i zmniejszenia ryzyka rozwoju zmian miażdżycowych, a z drugiej strony może nasilać stres oksydacyjny.

Wpływ GH i IGF-I na procesy oksydacyjne w warunkach *in vivo*

W warunkach *in vivo* oceniano wpływ zmian w zakresie osi GH-IGF-I na aktywność enzymów antyoksydacyjnych. U myszy karłowatych z niedoborem GH (*Ames dwarf*) stwierdzono podwyższoną aktywność CAT w wątrobie, nerkach i sercu, a także podwyższoną aktywność GPx w wątrobie i nerkach w porównaniu z myszami z grupy kontrolnej (*wild-type*) [8, 9]; obserwacja ta jest zgodna ze wspomnianym wcześniej podwyższeniem aktywności CAT i GPx w hepatocytach myszy karłowatych [4]. U myszy karłowatych, podskórne podanie GH (w dawce 25 µg na wstrzyknięcie, 2 razy dziennie przez 7 dni) spowodowało obniżenie aktywności tych enzymów antyoksydacyjnych [9]. Należy zauważyć rozbieżności efektów GH zastosowanego *in vitro* (działanie pobudzające) [4] i *in vivo* (działanie hamujące) [9] na aktywność CAT i GPx u myszy karłowatych. Jest prawdopodobne, że to działanie hamujące GH

in vivo zachodzi poprzez IGF-I, który właśnie wykazał — jak wcześniej wspomniano — bezpośrednie działanie hamujące (w warunkach *in vitro*) na aktywność CAT u myszy karłowatych [4]. Z kolei u transgenicznych myszy z nadmierną ekspresją GH (stanowiących zwierzęcy model akromegalii) stwierdzono — zgodnie z oczekiwaniem — obniżoną aktywność GPx i SOD w wątrobie [10] i obniżoną aktywność CAT w wątrobie, nerkach, sercu oraz w mózgu [8].

Wpływ GH lub IGF-I na aktywność enzymów antyoksydacyjnych oceniano również w warunkach nasilonego stresu oksydacyjnego w wyniku zadziałania czynnika zewnętrznego oraz w przebiegu procesu starzenia się. Hormon wzrostu podwyższył aktywność CAT i GPx w wątrobie oraz płucach szczurów, u których przyczyną zwiększonego stresu oksydacyjnego był uraz termiczny [11]. Z kolei u szczurów, u których nasilony stres oksydacyjny miał związek z procesem starzenia się, GH podawany w dawce 0,1 mg/100 g mc., 2 razy dziennie we wstrzyknięciach podskórnych przez okres 10 tygodni, nie zmienił aktywności GPx w hepatocytach. Jedynie łączne zastosowanie GH w połączeniu z uznanym antyoksydantem — melatoniną — podwyższyło aktywność tego enzymu antyoksydacyjnego [12]. U szczurów z marskością wątroby, wyindukowaną przez podanie czterochlorku węgla (CCl₄, *carbon tetrachloride*), IGF-I, stosowany we wstrzyknięciach podskórnych w dawce 2 µg/100 g mc./dobę przez 14 dni, zwiększył aktywność enzymów antyoksydacyjnych (CAT, GPx i SOD) oraz obniżył wartości parametrów oksydacyjnego uszkodzenia wątroby (stężenie żelaza, miedzi oraz ekspresję enzymów mieloperoksydazy i indukowanej syntazy NO — iNOS, *inducible NOS*) [13, 14].

W innych badaniach wykazano wpływ GH i IGF-I na poziom LPO. Hormon wzrostu, podawany podskórnie w dawce 33,3 ng/100 g mc. przez 7 dni, obniżył poziom LPO u szczurów z marskością wątroby wywołaną przez tioacetamid [15]. Interesujący jest fakt, że GH zastosowany w grupie bez marskości wątroby (grupa kontrolna) nie zmienił poziomu LPO. U szczurów, ze wstrząsem septycznym wyindukowanym przez infekcję *Escherichia coli*, GH podany w pojedynczym domięśniowym wstrzyknięciu w dawce 0,2 j.m./100 g mc. [16] lub w dawce 0,25 j.m./100 g mc. [17] obniżył poziom LPO. Z kolei IGF-I, podawany podskórnie, 2 razy dziennie w dawce 1 µg/100 g mc. przez 2 lub przez 3 tygodnie [13, 14], obniżył podstawową oraz wyindukowaną przez marskość wątroby LPO. W kolejnym badaniu *in vivo*, autorzy niniejszej pracy ocenili oksydacyjne właściwości GH (podawanego dootrzewnowo w dawce 0,2 j.m./100 g mc., raz dziennie przez 8 dni) i/lub IGF-I (podawanego dootrzewnowo w dawce 2 µg/100 g mc., raz dziennie przez 8 dni) w warunkach podstawowych oraz w warunkach nasilonego stresu oksydacyjnego

wyindukowanego wstrzyknięciem FeSO_4 [18]. Interesujące, że jedyną tkanką, w której odnotowano istotne podwyższenie LPO w wyniku podania FeSO_4 , było jelito cienkie. Obserwacja ta pozostaje w zgodzie z faktem, że jelito cienkie charakteryzuje się dość dużą wrażliwością na działanie różnych czynników prooksydacyjnych, takich jak na przykład promieniowanie jonizujące [19, 20] czy streptozotocyna, indukująca cukrzycę w warunkach doświadczalnych [21, 22]. Można również przypuszczać, że choć w prezentowanym badaniu nie doszło do oddziaływania ostrego czynnika stresogennego na zwierzęta doświadczalne, to jednak 8-dniowe iniekcje poszczególnych substancji mogły w pewnym stopniu wpłynąć na redystrybucję krwi krążącej w obrębie jelita cienkiego (choć w podobnym stopniu we wszystkich grupach doświadczalnych, w tym również w grupie kontrolnej). Stwierdzenie to wydaje się szczególnie ważne w świetle kilku przeprowadzonych wcześniej badań doświadczalnych, w których udowodniono wyjątkową wrażliwość jelita cienkiego na takie czynniki prooksydacyjne jak niedokrwienie, reperfuzja [23] oraz stres, wywołany zabiegiem chirurgicznym [24]. A zatem zaobserwowane w prezentowanym badaniu podwyższenie poziomu LPO w jelicie cienkim po podaniu żelaza mogło wystąpić wskutek tego, że redystrybucja krwi z następczym niedokrwieniem jelit stanowiła czynnik spustowy dla prooksydacyjnego działania żelaza lub mogło mieć związek z efektem addycyjnym prooksydacyjnego wpływu jonów żelazawych i niedokrwienia. Jeżeli zaś chodzi o właściwości oksydacyjne GH i IGF-I, to zarówno GH, jak i IGF-I zapobiegły LPO wyindukowanej przez FeSO_4 w jelicie cienkim. Natomiast w mózgu szczurzym GH obniżył, podczas gdy IGF-I podwyższył podstawową LPO. Te zmiany poziomu LPO w mózgu, zaobserwowane po wstrzyknięciu GH lub IGF-I, a także prooksydacyjne działanie GH i IGF-I, wykazane w opisywanych wcześniej badaniach *in vitro* [Kokoszko i wsp., w przygotowaniu], wskazują, że te czynniki wzrostowe nie mogą być uznane za doskonałe substancje antyoksydacyjne. W praktyce klinicznej oznacza to, że GH i IGF-I nie powinno się stosować jako egzogennych substancji ochronnych w przypadku chorób (innych niż niedobór GH), którym towarzyszy nasilony stres oksydacyjny. Również w badaniach klinicznych nie znaleziono uzasadnienia dla takiej rekomendacji. U pacjentów krytycznie chorych, u których udowodniono występowanie nasilonego stresu oksydacyjnego [25], zastosowanie preparatu rekombinowanego ludzkiego GH (rhGH, *recombinant human growth hormone*) spowodowało istotny (niemal 2-krotny) wzrost śmiertelności [26]. Stosowanie z kolei IGF-I z przyczyn innych niż niedobór tego czynnika wzrostowego budzi również duże kontrowersje. Okazało się, że u pacjentów, u których stężenie IGF-I

utrzymuje się w zakresie górnej granicy wartości referencyjnych, istnieje zwiększone ryzyko rozwoju procesu nowotworowego [27, 28], a temu procesowi zawsze towarzyszy nasilenie stresu oksydacyjnego.

W badaniach *in vivo* również odnotowano wpływ GH na syntezę NO. U cieląt, w homogenatach tkankowych uzyskanych podczas przezskórnej biopsji wątroby oraz w osoczu krwi, oceniano efekt działania GH, podawanego domięśniowo w dawce 0,01 mg/100 g mc. przez 12 dni [29]. Hormon wzrostu istotnie podwyższył stężenie anionów azotynowego (NO^{2-}) i azotanowego (NO^{3-}) w osoczu krwi, a także zwiększył aktywność konstytutywnej (stałe syntetyzowanej) syntazy NO (cNOS, *constitutive NOS*) w wątrobie. W tym samym badaniu odnotowano również synergistyczny wpływ GH i lipopolisacharydu (endotoksyny *Escherichia coli*, która podwyższa stężenie NO^{2-} i NO^{3-} w osoczu krwi) na syntezę NO i aktywność NOS. Wyniki uzyskane w przedstawionym powyżej badaniu stanowią kolejny dowód na prooksydacyjne działanie GH i kolejne uzasadnienie niestosowania GH w stanach nasilonego stresu oksydacyjnego.

Z kolei u myszy transgenicznych z nadmierną ekspresją GH (w wieku 22–24 tygodni) stwierdzono zwiększoną grubość ściany naczyń krwionośnych (w tym aorty i tętnicy szyjnej), a także dysfunkcję rozkurczową śródbłonna naczyniowego, natomiast nie odnotowano różnicy w syntezie NO w porównaniu z myszami z grupy kontrolnej. Należy zatem sądzić, że przyczyną upośledzonej funkcji rozkurczowej śródbłonna naczyniowego jest w tym przypadku zmniejszona biodostępność NO, wynikająca ze zwiększenia odległości pomiędzy śródbłonkiem a komórkami mięśni gładkich [30].

Wpływ GH i IGF-I na procesy oksydacyjne w badaniach u ludzi

Niedobór GH u ludzi dorosłych powoduje wiele zaburzeń metabolicznych, w tym między innymi zaburzenia gospodarki lipidowej sprzyjające rozwojowi chorób układu krążenia, i jest niezależnym czynnikiem ryzyka zgonów z powodu chorób układu krążenia. Jednocześnie nadmiar GH i IGF-I wiąże się z wieloma niekorzystnymi efektami tkankowymi, takimi jak nawet proces kancerogenezy (np. w akromegalii).

Celem badań przeprowadzonych u ludzi było wykazanie, że stany niedoboru lub nadmiaru GH charakteryzują się nasilonym stresem oksydacyjnym, a zastosowanie odpowiedniego leczenia przyczynia się do obniżenia lub nawet normalizacji jego poziomu.

W grupie 12 dorosłych (polskich) pacjentów z niedoborem GH, którzy nie otrzymywali leczenia substytucyjnego z zastosowaniem preparatu rhGH, odnotowano istotnie podwyższony poziom LPO (wyrażony

jako stężenie MDA + 4-HDA), będącej wskaźnikiem nasilonego stresu oksydacyjnego, w porównaniu z grupą kontrolną [31]. U dorosłych pacjentów z niedoborem GH (n = 18) odnotowano również podwyższone stężenie niezależnego czynnika proaterogennego — utlenionej postaci LDL (oxLDL, *oxidized low-density lipoprotein*) w surowicy krwi w porównaniu z grupą kontrolną [32]. W kolejnym badaniu u dorosłych pacjentów z niedoborem GH (n = 8) odnotowano podwyższone stężenie wolnych rodników (w tym m.in. rodnika alkoksylogowego), będących wskaźnikami oksydacyjnego uszkodzenia lipidów, oraz upośledzenie funkcji śródbłonna naczyniowego [33]. U tych pacjentów krótkotrwałe (3-miesięczne) leczenie substytucyjne z zastosowaniem preparatu rhGH spowodowało normalizację funkcji śródbłonna oraz obniżenie poziomu stresu oksydacyjnego. Również w innym badaniu, przeprowadzonym w grupie 13 dorosłych pacjentów z niedoborem GH, opisano korzystny wpływ krótkotrwałego (tym razem 4-miesięcznego) leczenia preparatem rhGH, polegający na obniżeniu stężenia produktów LPO w surowicy krwi, które powstały wyłącznie w wyniku oksydacyjnego uszkodzenia LDL [34]. Równie interesujące jest badanie, w którym opisano przypadek dorosłego, 31-letniego pacjenta z niedoborem GH oraz niealkoholowym stłuszczeniowym zapaleniem wątroby (NASH, *nonalcoholic steatohepatitis*) [35]. Niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby jest postępującą chorobą wątroby, prowadzącą nieuchronnie do niewydolności tego narządu i objawiającą się nasilonym stłuszczeniem, zapaleniem i włóknieniem w obrębie hepatocytów. W patomechanizmie NASH istotną rolę odgrywa proces akumulacji triglicerydów w hepatocytach, insulinooporność oraz podwyższony poziom stresu oksydacyjnego. Stwierdzono, że 6-miesięczne leczenie substytucyjne z zastosowaniem preparatu rhGH powoduje obniżenie stężenia 8-oxo-dG w moczu oraz w hepatocytach, a także przywraca prawidłowy obraz komórek wątroby, oceniany na podstawie badania biopsyjnego.

Istotny jest fakt, że w żadnym z prezentowanych powyżej badań nie opisano długotrwałego efektu działania preparatu rhGH, ponieważ okresy jego stosowania były relatywnie krótkie i nie przekraczały 6 miesięcy. Należy zatem zwrócić szczególną uwagę na badanie przeprowadzone w grupie 40 dorosłych (brytyjskich) pacjentów z ciężkim niedoborem GH, w którym po raz pierwszy opisano istotne obniżenie poziomu LPO w wyniku 2-letniego leczenia substytucyjnego z zastosowaniem preparatu rhGH [36]. W badaniu tym zmiany poziomu oksydacyjnego uszkodzenia lipidów oceniano na podstawie oznaczenia stężenia MDA i 4-HDA. W wyniku zastosowanego leczenia oksydacyjne uszkodzenie makrocząsteczek biologicznych w grupie pacjentów z niedoborem GH, będące przed

leczeniem 10-krotnie wyższe niż u osób zdrowych, uległo stopniowemu obniżeniu, jednakże nie zaobserwowano jego normalizacji do poziomu stwierdzanego w grupie kontrolnej nawet po okresie 2-letniego leczenia substytucyjnego. A zatem, istotnie dłuższy (ponad 2-letni) czas trwania terapii z zastosowaniem preparatu rhGH wydaje się niezbędny w celu przywrócenia równowagi oksydacyjnej do poziomu obserwowanego u osób zdrowych. Założenie to wymaga jednak jednoznacznego potwierdzenia w długoterminowych obserwacjach klinicznych. Częściowe uzasadnienie tego założenia może stanowić obserwacja, że w grupie pacjentów z niedoborem GH otrzymujących preparat rhGH odnotowano dodatnie korelacje pomiędzy poziomami LPO w poszczególnych punktach czasowych badania (tzn. przed leczeniem *vs.* po roku oraz po roku *vs.* po 2 latach). Zatem poziom uszkodzenia oksydacyjnego, utrzymującego się mimo zastosowanego leczenia, zależy od wyjściowego poziomu zaburzenia równowagi red-ox.

Należy również wspomnieć o badaniu przeprowadzonym u dzieci z niedoborem GH (n = 10), będących przed okresem pokwitania, u których przed wdrożeniem leczenia substytucyjnego z zastosowaniem preparatu rhGH odnotowano istotnie wyższe stężenie MDA i obniżone stężenie uznanego antyoksydanta — witaminy E. W wyniku 12-miesięcznego leczenia preparatem rhGH stwierdzono obniżenie stężenia MDA i podwyższenie stężenia witaminy E do poziomu obserwowanego w grupie kontrolnej [37]. Szybciej występująca efektywność — w odniesieniu do zjawisk oksydacyjnych — leczenia substytucyjnego z zastosowaniem preparatu rhGH u dzieci niż u dorosłych, może wynikać z przypuszczenia, że niedobór GH u dorosłych wiąże się z większą „kumulacją” uszkodzeń oksydacyjnych niż niedobór GH u dzieci.

Na podstawie przedstawionych powyżej wyników badań można przypuszczać, że u pacjentów z niedoborem GH (szczególnie u pacjentów dorosłych), którzy nie otrzymywali leczenia substytucyjnego z zastosowaniem preparatu rhGH, mechanizm wolnorodnikowy odgrywa istotną rolę w rozwoju niekorzystnych zmian w łożysku naczyniowym i w innych tkankach. Zatem, u pacjentów z niedoborem GH, nasilony stres oksydacyjny może, niezależnie od innych czynników ryzyka, przyczyniać się do rozwoju miażdżycy oraz występowania chorób układu sercowo-naczyniowego, a także wszelkich innych zaburzeń metabolicznych typowych dla niedoboru GH.

Z kolei u pacjentów z akromegalią tylko w jednym badaniu oceniano poziom stresu oksydacyjnego. Grupę badaną stanowiło 12 dorosłych pacjentów z aktywną akromegalią, u których odnotowano podwyższone stężenie barwnych produktów, powstających w wyniku

reakcji MDA z kwasem tiobarbituranowym, będących wskaźnikami oksydacyjnego uszkodzenia lipidów. U tych pacjentów, w wyniku zastosowanego leczenia preparatem analogu somatostatyny o krótkim czasie działania, podawanym jednorazowo we wstrzyknięciach podskórnych w dawce 100 µg, odnotowano obniżanie się poziomu LPO już po 4 godzinach od momentu zastosowania preparatu. Ponadto, ze względu na krótki czas działania analogu somatostatyny, już po 24 godzinach od zastosowanego leczenia poziom LPO powracał do wartości wyjściowych [38].

Podsumowanie

Na podstawie przedstawionych wyników badań należy stwierdzić, że zarówno GH, jak i tkankowy mediator jego działania (IGF-I) mogą się przyczyniać — obok innych czynników oksydacyjnych — do utrzymania równowagi red-ox w warunkach fizjologicznych. Jednak w warunkach wyindukowanego stresu oksydacyjnego mogą one wykazywać działanie prooksydacyjne, co w praktyce klinicznej nie pozwala na zastosowanie tych czynników wzrostowych jako egzogennych substancji ochronnych w przypadku chorób (innych niż niedobór GH), którym towarzyszy nasilony stres oksydacyjny.

Piśmiennictwo

- Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Wyd. 3. Oxford University Press, Oxford 1999.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J i wsp. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44–84.
- Bartosz G. Druga twarz tlenu. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2006.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J i wsp. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1–40.
- Brown-Borg HM, Rakoczy SG, Romanick MA i wsp. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on hepatocyte antioxidative enzymes. *Exp Biol Med* 2002; 227: 94–104.
- Thum T, Tsikas D, Frolich JC i wsp. Growth hormone induces eNOS expression and nitric oxide release in a cultured human endothelial cell line. *FEBS Lett* 2003; 555: 567–571.
- O'Donnell VB, Freeman BA. Interactions between nitric oxide and lipid oxidation pathways: implications for vascular disease. *Circ Res* 2001; 88: 12–21.
- Brown-Borg HM, Rakoczy SG. Catalase expression in delayed and premature aging mouse models. *Exp Gerontol* 2000; 35: 199–212.
- Brown-Borg HM, Rakoczy SG. Growth hormone administration to long-living dwarf mice alters multiple components of the antioxidative defense system. *Mech Ageing Dev* 2003; 124: 1013–1024.
- Hauck SJ, Bartke A. Free radical defenses in the liver and kidney of human growth hormone transgenic mice: possible mechanisms of early mortality. *J Gerontol* 2001; 56A: B153–B162.
- Youn YK, Suh GJ, Jung SE i wsp. Recombinant human growth hormone decreases lung and liver tissue lipid peroxidation and increases antioxidant activity after thermal injury in rats. *J Burn Care Rehabil* 1998; 19: 542–548.
- Kireev RA, Tresguerres ACF, Castillo C i wsp. Effect of exogenous administration of melatonin and growth hormone on pro-antioxidant functions of the liver in aging male rats. *J Pineal Res* 2007; 42: 64–70.
- Castilla-Cortazar I, Garcia M, Mugerza B i wsp. Hepatoprotective effects of insulin-like growth factor-I in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Gastroenterology* 1997; 113:1682–1691.
- Garcia-Fernandez M, Castilla-Cortazar I, Diaz-Sanchez M i wsp. Antioxidant effects of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in rats with advanced liver cirrhosis. *BMC Gastroenterol* 2005; 5: 7.
- Chen S, Wang H-T, Yang B i wsp. Protective effects of recombinant human growth hormone on cirrhotic rats. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2894–2897.
- Huang Y, Wang S-R, Yi C i wsp. Effects of recombinant human growth hormone on rat septic shock with intraabdominal infection by *E. coli*. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 1134–1137.
- Jung SE, Youn YK, Lim YS i wsp. Combined administration of glutamine and growth hormone synergistically reduces bacterial translocation in sepsis. *J Korean Med Sci* 2003; 18:17–22.
- Kokoszko A, Dąbrowski J, Lewiński A i wsp. Protective effects of GH and IGF-I against iron-induced lipid peroxidation in vivo. *Exp Toxicol Pathol* 2008; 60: 453–458.
- Guney Y, Hicsonmez A, Uluoglu C i wsp. Melatonin prevents inflammation and oxidative stress caused by abdominopelvic and total body irradiation of rat small intestine. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 1305–1314.
- Sener G, Jahovic N, Tosun O i wsp. Melatonin ameliorates ionizing radiation-induced oxidative organ damage in rats. *Life Sci* 2003; 74: 563–572.
- Bhor VM, Raghuram N, Sivakami S. Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 89–97.
- Shirpoor A, Khadem Ansari MH, Salami S i wsp. Effect of vitamin E on oxidative stress status in small intestine of diabetic rat. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4340–4344.
- Halliwell B, Zhao K, Whiteman M. The gastrointestinal tract: a major site of antioxidant action? *Free Radic Res* 2000; 33: 819–830.
- Prabhu R, Anup R, Balasubramanian KA. Surgical stress induces phospholipid degradation in the intestinal brush border membrane. *J Surg Res* 2000; 94: 178–184.
- Karbownik-Lewińska M, Kokoszko A, Józefiak M i wsp. Significance of increased lipid peroxidation in critically ill patients. *Neuroendocrinol Lett* 2007; 28: 367–381.
- Takala J, Ruokonen E, Webster NR i wsp. Increased mortality associated with growth hormone treatment in critically ill adults. *N Engl J Med* 1999; 341: 785–792.
- Hankinson SE, Willett WC, Colditz GA i wsp. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet* 1998; 351: 1393–1396.
- Kurek R, Tunn UW, Eckart O i wsp. The significance of serum levels of insulin-like growth factor-I in patients with prostate cancer. *BJU Int* 2000; 85: 125–129.
- Elsasser TH, Kahl S, MacLeod C i wsp. Mechanisms underlying growth hormone effects in augmenting nitric oxide production and protein tyrosine nitration during endotoxin challenge. *Endocrinology* 2004; 145: 3413–3423.
- Andersson IJ, Johansson ME, Wickman A i wsp. Endothelial dysfunction in growth hormone transgenic mice. *Clin Sci* 2006; 110: 217–225.
- Kokoszko A, Karbownik M, Lewiński A. Increased lipid peroxidation in growth hormone-deficient adult patients. *Neuroendocrinol Lett* 2006; 27: 225–230.
- Ozbeý N, Telci A, Cakatay U i wsp. Determination of oxidative protein and lipid damage in adult hypopituitary patients with GH deficiency. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: 1001–1007.
- Evans LM, Davies JS, Anderson RA i wsp. The effect of GH replacement therapy on endothelial function and oxidative stress in adult growth hormone deficiency. *Eur J Endocrinol* 2000; 142: 254–262.
- Scacchi M, Valassi E, Pincelli AI i wsp. Increased lipid peroxidation in adult GH-deficient patients: effects of short-term GH administration. *J Endocrinol Invest* 2006; 29: 899–904.
- Takahashi Y, Iida K, Takahashi K i wsp. Growth hormone reverses non-alcoholic steatohepatitis in a patient with adult growth hormone deficiency. *Gastroenterology* 2007; 132: 938–943.
- Karbownik-Lewińska M, Kokoszko A, Lewandowski KC i wsp. Growth hormone replacement reduces increased lipid peroxidation in growth hormone-deficient adults. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 68: 957–964.
- Mohn A, Di Marzio D, Giannini C i wsp. Alterations in the oxidant-antioxidant status in prepubertal children with growth hormone deficiency: effect of growth hormone replacement therapy. *Clin Endocrinol* 2005; 63: 537–542.
- Yarman S, Özden TA, Gökkuşu C. The evaluation of lipid peroxidation and acute effect of octreotide on lipid peroxidation in patients with active acromegaly. *Clin Chim Acta* 2003; 336: 45–48.