

ẢNH HƯỞNG CỦA HORMONE GROWTH VÀ INSULIN GROWTH FACTOR 1 ĐỐI VỚI SỰ TĂNG TRƯỞNG XƯƠNG TRONG NGHIÊN CỨU *IN VITRO*

TRẦN LONG GIANG*, NGUYỄN CỬU NGUYỆT HUẾ**

TÓM TẮT

GH kích thích sản xuất *IGF-I* trong nuôi cấy mô xương trong ống nghiệm do phát huy tác dụng đồng hóa lên các nguyên bào xương. Một số các nghiên cứu chỉ ra rằng nhiều chức năng của *GH* có thể vẫn phát huy tác dụng mà không cần qua trung gian *IGF-I*. Sự biểu hiện của *GH* thông qua thụ thể (*GHR*) trong nguyên bào xương có thể quan trọng đối với autocrine vòng phản hồi tại chỗ trên trục *GH / IGF-I*; steroid sinh dục, glucocorticoid và các yếu tố khác điều chỉnh tác động của *GH* trong tế bào tạo xương.

Từ khóa: Hormone Growth, Insulin Growth Factor 1, tăng trưởng xương.

ABSTRACT

Effects of Growth Hormone and Insulin Growth Factor 1 for bone growth in In vitro studies

GH stimulates *IGF-I* production in bone culture in vitro by promoting anabolic effects on osteoblasts. Some studies indicate that many functions of *GH* can take effect without *IGF-I* production. The expression of *GH* receptor (*GHR*) in osteoblasts may be important for autocrine feedback loop in place *GH / IGF-I* axis; for sex steroids, glucocorticoids and other factors modulating the effect of *GH* in osteoblasts.

Keywords: Hormone Growth, Insulin Growth Factor 1, Bone growth.

1. Đặt vấn đề

Hormone Growth (*GH*) và Insulin Growth Factor 1 (*IGF-I*) ảnh hưởng mạnh mẽ tới sự trao đổi và phát triển xương của cơ thể. Ở trẻ em, giai đoạn trước 6 tuổi và giai đoạn dậy thì có sự gia tăng mạnh nhất về khối lượng xương thông qua hình thành xương nội sụn. Khối lượng xương tăng dần theo tuổi và đạt mức lớn nhất ở giai đoạn 20 đến 30 tuổi. Sau đó, khối lượng xương giảm dần, đặc biệt giảm nhanh ở phụ nữ sau mãn kinh.

Theo lí thuyết *Somatomedin*: *GH* kích thích tăng trưởng xương bằng cách kích thích gan sản xuất *Somatomedin* (*IGF-*

I), có tác dụng kích thích mô xương và sụn phát triển. Với nồng độ rất thấp *IGF-I* đã có tác dụng tương tự như một *GH* ở nồng độ rất cao chứng tỏ hầu hết chức năng trao đổi chất của *GH* không thông qua ảnh hưởng trực tiếp của nó đến các mô mà thông qua tác dụng của các *Somatomedin*. [3]

Theo lí thuyết ảnh hưởng kép, *GH* và *IGF-I* kích thích các tế bào xương ở các giai đoạn khác nhau của sự trưởng thành. *GH* kích thích làm tăng số lượng các nguyên bào sụn và *IGF-I* kích thích sự phân bào bằng cách làm giảm thời gian chu kì tế bào. [5]

* ThS, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Hà Nội

** Cử nhân, Trường Đại học Giáo dục, ĐHQG Hà Nội

Những nghiên cứu In vitro với các mô xương, các dòng nguyên bào xương và các hủy cốt bào đã làm rõ hơn vai trò của GH và IGF-I trong trao đổi và phát triển xương ở người và động vật.

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Ảnh hưởng của GH trong nuôi cấy mô xương

Phát triển một số mô hình trong ống nghiệm để nghiên cứu ảnh hưởng của hormone và các yếu tố tăng trưởng trong tái tạo xương. Chúng bao gồm các loại nuôi cấy mô khác nhau như nuôi cấy các dòng nguyên bào xương và tế bào sơ cấp. Nuôi cấy mô xương có các lợi thế trong bảo quản sự tương tác giữa các tế bào. Năm 1984, *Stracke và cộng sự* [10] cho rằng GH tăng phosphatase kiềm (AP) khi hoạt động trong môi trường nuôi cấy từ xương ống chân của chuột phôi thai. Hơn nữa, IGF-I đã được tăng lên trong môi trường nuôi cấy sau khi bổ sung GH để nuôi tế bào xương ống chân của chuột và chỉ ra rằng GH kích thích sản xuất IGF -I trong mẫu xương. Mẫu sụn được tách ra từ xương hàm chuột được nuôi trên đỉnh của keo bột biển trong sự vắng mặt hoặc có mặt của GH được ủ ba ngày với GH gây ra một sự gia tăng quá trình tổng hợp DNA và kích thước của mẫu sụn. Tác động của GH thậm chí còn rõ rệt hơn sau 6 ngày trong ống nghiệm, vào thời điểm đó một mạng lưới nền xương hình thành xương xộp đã được hình thành trong ma trận ngoại bào. Nhuộm dương tính với kháng thể chống lại kháng nguyên của xương xác định, ví dụ osteocalcin và osteopontin, bổ sung thêm cho quan điểm cho rằng GH trực tiếp gây ra sự hình thành xương trong ống nghiệm. [1]

2.2. Ảnh hưởng của GH trên nguyên

bào xương

2.2.1. GH kích thích trực tiếp tế bào tạo xương

Tác động của GH đã được nghiên cứu trên một số dòng tế bào tạo xương và các nguyên bào được tách ra có nguồn gốc khác nhau, bao gồm cả ở người, gà, chuột và các tế bào gốc của chuột và dòng tế bào u xương ác tính SaOS-2 ở người và UMR 106,01 ở chuột. GH gây ra sự gia tăng các nguyên bào được tách nuôi trong ống nghiệm ở chuột [4], gà [8], người [9] và các tế bào u xương ác tính ở chuột [1], cũng như các tế bào u xương ác tính ở người [9]. Nồng độ hiệu quả của GH là trong phạm vi sinh lý (kích thích nửa tối đa tại 10-50 ng/ml), cho thấy GH gây sức tác động trực tiếp đến các tế bào tạo xương. Không chỉ GH kích thích sự gia tăng của nguyên bào xương, mà trong một số nghiên cứu, nó cũng kích thích các chức năng khác biệt của các tế bào này. Như vậy, chức năng kiểu hình tiêu biểu của nguyên bào xương như AP, osteocalcin và collagen được kích thích bởi GH [1]. Đối với nguyên bào xương rất khó để tìm thấy một mô hình cho việc xác định các tế bào đích chịu tác động của GH. Tuy nhiên, tiền chất tủy xương có nguồn gốc từ các tế bào xương của người đáp ứng với GH [9] tương tự như các tác động của GH trong tế bào tiền thân ở giai đoạn sớm trong các mô mỡ và sụn. Do đó, có thể thấy GH tương tác với tế bào tiền thân (đời thứ nhất của tế bào gốc).

2.2.2. Vai trò của IGF -I đối với tác động lên nguyên bào xương

IGFs phát huy tác dụng đồng hóa lên các nguyên bào xương. IGF -II có ở nguyên bào xương của cả loài gặm nhấm và người [3]. IGF -I được tạo ra bởi

nguyên bào xương của động vật gặm nhấm [4] trong khi IGF -I ở nguyên bào xương của người còn đang gây tranh cãi. *Chenu và cộng sự* [2], đã phát hiện một lượng đáng kể IGF -I trong môi trường nuôi cấy từ nguyên bào xương ở người. Hơn nữa, một nghiên cứu lai tạo đã chứng minh rằng nguyên bào xương trong mô osteophyte ở người trưởng thành xuất hiện bản sao mRNA của IGF-I. [5]

Trong khi nồng độ IGF -I lưu thông phụ thuộc vào GH, GH có thể không phải là yếu tố chủ yếu quyết định sản xuất IGF -I tại chỗ trong xương. Do đó trong ống nghiệm, các tác động điều tiết của estrogen, PTH, cortisol, cũng như một loạt các yếu tố tăng trưởng tại chỗ cho việc sản xuất IGF -I đã được chứng minh [10]. Các quy định trong việc sản xuất tại chỗ IGF -I bởi các yếu tố tăng trưởng và hormone có tầm quan trọng trong lâm sàng, nhưng trong chuyên đề này chỉ thảo luận về tác dụng kiểm soát của GH trong ảnh hưởng lên xương. Một kích thích sản xuất IGF trong tế bào tạo xương của GH đã được chứng minh bởi *Chenu và cộng sự* [2]. Để kiểm tra tầm quan trọng của IGF -I như một trung gian trong tác động của GH, IGF -I nội sinh đã được tách chiết bởi một kháng huyết thanh với IGF trong nuôi cấy tế bào xương. Kết quả là tác động tăng sinh của GH đã bị bãi bỏ [3] và cho thấy sản xuất tại chỗ IGF -I là quan trọng đối với phát triển tế bào do tác động của GH. Trong một nghiên cứu khác, *Scheven và cộng sự* [9], đã chứng minh GH gây ra tăng trưởng u xương ác tính nhưng không gây tăng trưởng các nguyên bào xương khi các tế bào này được nuôi trong sự hiện diện của kháng thể IGF -I. Tóm lại, GH gây ra biểu hiện IGF -I trong nguyên

bào xương động vật gặm nhấm, trong khi cảm ứng của IGF-I bởi GH trong nguyên bào xương của người là không chắc chắn.

Các hoạt tính sinh học của IGFs trong mô xương được điều chế bởi một số IGFFBPs, chủ yếu là IGFBP -3, -4, và -5 [1]. Do đó, một số tác dụng GH có thể được trung gian thông qua một quy định của sản xuất tại chỗ IGFFBPs trong tế bào tạo xương. Mặt khác, việc điều trị bằng GH làm tăng nồng độ trong huyết thanh của IGFBP -3 và phức hệ của IGF -I và IGFBP -3 là hiệu quả hơn trong việc kích thích độ dày vỏ xương ở chuột bị cắt buồng trứng (OVX) so với việc điều trị chỉ với IGF -I [1]. IGFBP -3 được sản xuất bởi nguyên bào xương. GH làm tăng sản xuất IGFBP -3 trong các tế bào xương ở chuột [4], trong khi không có tác động của GH được phát hiện trên IGFBP -3 biểu hiện trong các tế bào của người [9]. IGFBP -4 ban đầu được phân lập từ xương và được coi như IGFBP ức chế, trong khi IGFBP -5 được coi là một IGFBP kích thích cho sự tăng sinh tế bào xương [1]. Trong chuột, cũng như trong nguyên bào xương của người, GH làm giảm IGFBP -4, được xác định bởi ligand thấm [10], trong khi không có tác động của GH đã được tìm thấy trên IGFBP -4 trong các nguyên bào xương ở người [1]. Trong nguyên bào xương nguyên thủy của chuột, nồng độ IGFBP -5 mRNA được tăng lên gấp 2 lần sau khi điều trị với GH [9]. Một nghiên cứu lâm sàng gần đây đã chứng minh điều trị bằng GH làm tăng nồng độ IGFBP -5 trong huyết thanh trẻ em [8]. Cho dù tác động này của GH ảnh hưởng trực tiếp đến tế bào xương thì việc sản xuất IGFBP-5 vẫn được tiếp tục. Tóm lại, có một số dấu hiệu cho điều trị bằng GH quy định IGFFBPs có thể có một vai trò

điều tiết sự trao đổi chất trong xương.

Nhiều chức năng của GH có thể vẫn phát huy tác dụng mà không cần qua trung gian IGFs. Như vậy, sự biểu hiện của protooncogenes c- fos , c- jun , jun B và C- myc được thể hiện trong sự có mặt của các chất ức chế tổng hợp protein [6]. Gần đây, khi sử dụng nguyên bào xương của người, *Melhus và Ljunghall* [7] đã chứng minh sự khác nhau của bộ gen được gây ra bởi IGF trong một số trường hợp và GH trong những trường hợp khác, nghĩa là những yếu tố này có tác động riêng biệt. Tóm lại, dường như một số tác dụng của GH trên nguyên bào xương qua trung gian nhờ IGFs, nhưng nhiều trường hợp khác thì lại không.

2.2.3. Quy định của thụ thể GH

Barnard và cộng sự [1] là những người đầu tiên chỉ ra ái lực cao của GHRs trên các tế bào giống như nguyên bào xương. Sự có mặt của các thụ thể này đã được xác định trong các nguyên bào xương được tách ra ở người [9] và chuột [4]. Trong huyết thanh số lượng GHRs giảm [9]. Trong một tìm kiếm các yếu tố trong huyết thanh có tác động giảm biểu hiện GHR, người ta thấy rằng IGF -I và II làm giảm số lượng GHR phụ thuộc vào liều lượng và thời gian [1]. Sự giảm sút này được đi kèm với sự suy giảm trong mức độ mRNA mã hóa GHR. Tương tự như vậy, tác động của GH về tăng sinh nguyên bào xương đã giảm sau khi các tế bào tiếp xúc với IGFs [1]. Ngược lại, người ta thấy rằng IGFs quy định số lượng và hoạt động GHR, thông qua sự ức chế hoạt động của IGF [1]. Những phát hiện này cho thấy một phản hồi tại chỗ của trục GH /IGF ở cấp độ tế bào. Như vậy, giả thuyết IGF làm giảm số lượng và hoạt động của GHR được điều

chỉnh nhỏ bởi sự hiện diện của IGFs [1, 6]. *Leung và cộng sự* cho rằng phản hồi tiêu cực của trục GH /IGF -I trong mô xương có thể liên quan đến ba cơ chế khác nhau: 1) IGF-I có nguồn gốc từ gan ức chế tuyến yên tiết GH, 2) IGF -I có nguồn gốc từ xương ức chế tuyến yên tiết GH và 3) GH -I có nguồn gốc từ xương ức chế tác động tại chỗ của GH bằng cách giảm GHR có sẵn [6].

Acid retinoic là một yếu tố làm thay đổi biểu hiện GHR. Tương tự như những gì đã thể hiện trước đó trong tế bào gốc phôi, nó gây ra sự gia tăng về số lượng GHR trong nguyên bào xương chuột [4]. Estrogen được biết là phát huy tác dụng quan trọng trên mô xương, và một nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng estrogen tương tác với tác động của GH ở cấp độ tế bào. Trong tế bào tạo xương của người và chuột, 17β -estradiol thúc đẩy sự phát triển GH, kích thích và tăng mức ràng buộc GH với mRNA của GHR [5]. Nồng độ cao của glucocorticoid gây ra sự gia tăng mức ràng buộc GH với mRNA của GHR trong tế bào u xương ác tính chuột và mRNA của GHR trong tế bào tạo xương ở người [6]. Ngược lại, nồng độ corticosteroid giảm, sẽ làm giảm mức ràng buộc GH với mRNA của GHR ở nguyên bào sụn ở đĩa tăng trưởng của chuột. Trong nguyên bào xương và nguyên bào sụn ở đĩa tăng trưởng ở chuột, GH bị giảm tác động do glucocorticoid bị giảm mạnh.

Tóm lại, sự biểu hiện GHR trong nguyên bào xương có thể quan trọng đối với autocrine vòng phản hồi tại chỗ trên trục GH /IGF -I; steroid sinh dục, glucocorticoid và các yếu tố khác điều chỉnh tác động của GH trong tế bào tạo xương.

2.2.4. Truyền tín hiệu GH trong tế bào tạo xương

Các GHR là một thành viên của nhóm thụ thể các yếu tố tăng trưởng cytokine /hemopoietic. Tín hiệu GH thông qua thụ thể của nó đã được chứng minh là qua trung gian của dòng phosphoryl hóa protein dẫn đến kích hoạt các protein trong nhân và các yếu tố phiên mã. Các GHR tự nó không phải là một kinase tyrosine. Thay vào đó, sau khi GH ràng buộc với thụ thể, xảy ra sự kết hợp với protein - JAK2. JAK2 sau đó được phosphoryl hóa và lần lượt phosphoryl hóa các GHR [1]. Một số con đường tín hiệu có thể tải nạp tín hiệu từ phức hệ này đến nhân tế bào. Dòng đầu tiên là thông qua các protein STAT [10], mà khi được phosphoryl translocated hạt nhân sẽ liên kết với DNA. Ngoài ra, các đường tín hiệu Ras-Raf đóng một vai trò trong việc truyền tín hiệu do GH gây ra [1]. IRS-1 và -2 cũng là những protein hoạt động như đầu dò tín hiệu cho GHR sau khi chúng đã được phosphoryl hóa về dư lượng tyrosine. [7]

Trong nguyên bào xương của chuột, GH được chứng minh là gây ra các gen gây ung thư ban đầu trong nhân: c- fos , c- myc , c- jun , và Jun-B [4]. Sự hình thành của diacylglycerol đã gây ra các tín hiệu được xác định là phụ thuộc vào một dạng protein kinase C. Trong các tế bào này, sự tham gia của các yếu tố AP1, điều chỉnh phiên mã phorbol ester nhạy cảm trong phiên mã gen do GH gây ra, đã lần đầu tiên được xác định. [1]

Trong các tế bào u xương ác tính ở chuột, một protein báo hiệu - Annexin 1, đã được phát hiện gần đây như là tyrosine phosphoryl hóa khi kích thích các tế bào với GH. Phosphoryl hóa tyrosine của

protein này cũng xảy ra sau khi kích thích các tế bào với các yếu tố tăng trưởng biểu bì, pp60^{v-scr}, angiotensin II và insulin. Mặc dù có vẻ như đây là một cơ chế chung của truyền tín hiệu trong các tế bào, các chức năng chính xác của protein này là không rõ như vị trí của nó trong dòng tín hiệu đã được biết đến. [6]

2.3. Ảnh hưởng của GH trên hủy cốt bào

GH làm tăng số lượng hủy cốt bào trong hành xương của xương chày ở chuột hypophysectomized [4]. Tuy nhiên, cơ chế này có hiệu lực chưa rõ ràng. mRNA của GHR đã được phát hiện trong tủy của chuột nuôi và trong tế bào tạo máu của chuột [6]. Trong một nghiên cứu của Nishiyama và cộng sự [theo 8], sử dụng tế bào mô đệm của chuột và tế bào tạo máu, đã thấy GH kích thích tế bào hủy xương tiêu xương thông qua cả tác động trực tiếp và gián tiếp đến tế bào hủy xương và kích hoạt gián tiếp hủy cốt bào trưởng thành. Yếu tố có thể làm trung gian gián tiếp giữa GH và sự hình thành tế bào hủy xương bao gồm IGF -I và IL-6, cả hai đều có liên quan đến sự hình thành tế bào hủy xương và đã được chứng minh là chịu sự điều chỉnh của GH [theo 8]. Nó đã chứng minh IGF -I hỗ trợ kích hoạt và hình thành các hủy cốt bào trong các tế bào xương chuột không phân đoạn và nguyên bào xương hình thành yếu tố trung gian IGF-I kích thích của hủy cốt bào trong tủy chuột và kích hoạt hủy cốt bào ở chuột nuôi cấy mô [4]. Hơn nữa, ở người, hủy cốt bào hoạt động chính xác nhờ chức năng của thụ thể IGF -I. Trong một nghiên cứu của Ransjö và cộng sự [4], sử dụng tủy chuột của chuột nuôi, GH gây ra một sự ức chế hình thành tế bào hủy xương bằng một cơ

chế độ lập với IGF -I. Tóm lại, các dữ liệu cho thấy GH quy định hình thành tế bào hủy xương nhưng cả hai cơ chế kích thích và ức chế có sự khác biệt. Nghiên cứu trong tương lai là cần thiết để nâng cao sự hiểu biết về sinh lí của tác động do GH gây ra trên tế bào hủy xương.

3. Kết luận

Qua tổng hợp những nghiên cứu ảnh hưởng của GH và IGF -I trong *In vitro* có thể thấy:

GH kích thích sản xuất IGF -I trong nuôi cấy mô xương và trực tiếp gây ra sự hình thành xương trong ống nghiệm.

GH kích thích làm tăng số lượng các nguyên bào xương đồng thời kích thích các chức năng khác biệt của các tế bào này như AP, osteocalcin và collagen. Nhiều chức năng của GH có thể vẫn phát huy tác dụng mà không cần qua trung gian IGFs. Sự biểu

hiện của GHR trong nguyên bào xương có thể quan trọng đối với autocrine vòng phản hồi tại chỗ trên trục GH /IGF -I; steroid sinh dục, glucocorticoid và các yếu tố khác điều chỉnh tác động của GH trong tế bào tạo xương. Tín hiệu GH thông qua thụ thể là qua trung gian của dòng phosphoryl hóa protein dẫn đến kích hoạt các protein trong nhân và các yếu tố phiên mã.

GH quy định hình thành tế bào hủy xương nhưng cả hai cơ chế kích thích và ức chế có sự khác biệt. Yếu tố trung gian gián tiếp giữa GH và sự hình thành tế bào hủy xương gồm IGF -I và IL-6, cả hai có liên quan đến sự hình thành tế bào hủy xương và chịu sự điều chỉnh của GH. Trong khi GH gây sự ức chế sự hình thành tế bào hủy xương bằng một cơ chế độc lập với IGF -I.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barnard R, Ng KW, Martin TJ, Waters MJ (1991), "Growth hormone (GH) receptors in clonal osteoblast-like cells mediate a mitogenic response to GH", *Endocrinology* 128: 1459–1464.
2. Chenu C, Valentin-Opran A, Chavassieux P, Saez S, Meunier PJ, Delmas PD (1990), "Insulin like growth factor I hormonal regulation by growth hormone and by 1,25(OH)₂D₃ and activity on human osteoblast-like cells in short-term cultures", *Bone* 11: 81–86.
3. Daughaday WH, Rotwein P (1999), "Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations", *Endocr Rev* 10: 68–91.
4. Ernst M, Rodan GA (1990), "Increased activity of insulin-like growth factor (IGF) in osteoblastic cells in the presence of growth hormone (GH): positive correlation with the presence of the GH-induced IGF-binding protein BP-3", *Endocrinology* 127: 807–814.
5. Isaksson OG, Jansson JO, Gause IA (2002), "Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly", *Science* 216: 1237–1239.
6. Leung K, Rajkovic IA, Peters E, Markus I, Van Wyk JJ, Ho KK (1996), "Insulin-like growth factor I and insulin down-regulate growth hormone (GH) receptors in rat osteoblasts: evidence for a peripheral feedback loop regulating GH

- action”, *Endocrinology* 137: 2694–2702.
7. Melhus H, Ljunghall S (2006), “Growth hormone and insulin-like growth factor-I do not activate identical genes in normal human osteoblasts”, *Biochem Mol Biol Int* 38: 425–428.
 8. Ohlsson C, Isaksson O, Lindahl A (1994), “Clonal analysis of rat tibia growth plate chondrocytes in suspension culture—differential effects of growth hormone and insulin-like growth factor I”, *Growth Regul* 4: 1–7.
 9. Scheven BA, Hamilton NJ, Fakkeldij TM, Duursma SA (2001), “Effects of recombinant human insulin-like growth factor I and II (IGF-I/-II) and growth hormone (GH) on the growth of normal adult human osteoblast-like cells and human osteogenic sarcoma cells”, *Growth Regul* 1: 160–167.
 10. Stracke H, Schulz A, Moeller D, Rossol S, Schatz H (1994), “Effect of growth hormone on osteoblasts and demonstration of somatomedin-C/IGF I in bone organ culture”, *Acta Endocrinol (Copenh)* 107: 16–24.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 23-8-2014; ngày phản biện đánh giá: 30-8-2014;
ngày chấp nhận đăng: 21-11-2014)