ROLA OSI HORMON WZROSTU – INSULINOPODOBNY CZYNNIK WZROSTOWY TYPU-1 W STARZENIU SIĘ ORGANIZMU

THE ROLE OF GROWTH HORMONE – INSULIN LIKE GROWTH FACTOR-1 AXIS IN AGING

Katarzyna PIOTROWSKA, Sylwia SŁUCZANOWSKA-GŁĄBOWSKA, Marzena STANISZEWSKA, Bolesław BANACH, Wojciech GŁĄBOWSKI, Maria LASZCZYŃSKA, Mariusz Z. RATAJCZAK

Katedra i Zakład Fizjologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego
Zakład Histologii i Biologii Rozwoju Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego

Streszczenie: Starzenie się to postępujący w czasie proces fizjologiczny towarzyszący procesom życiowym. Ze względu na ciągły rozwój medycyny, cywilizacji, bogacenie się społeczeństw oraz ułatwienia techniczne, problem wydłużania życia staje się bardzo istotny. Dotychczasowe badania wykazały, że oś hormon wzrostu –insulino podobny czynnik wzrostowy typu-I (ang. *Growth Hormon-Insuline like Growth Factor-1 axis*, GH/IGF-1 axis) ma istotny wpływ na proces starzenia się, a niski poziom insuliny i duża wrażliwość tkanek na ten hormon oraz niski poziom krążącego we krwi insulinopodobnego czynnika wzrostowego-1 jest cechą długowiecznych zwierząt doświadczalnych. Obecna praca opisuje kilka teorii dotyczących starzenia się organizmu, ze szczególnym uwzględnieniem roli osi GH/IGF-1 oraz insuliny, a także wpływu tych czynników na pulę najwcześniejszych rozwojowo komórek macierzystych i ich potencjał regeneracyjny.

Słowa kluczowe: Hormon wzrostu, IGF-1, insulina, starzenie, VSELs

Summary: Aging is an inevitable consequence of life. Due to advances in medicine, progress in civilization and economy the increase of lifespan become very timely issue. The latest data confirm that growth hormone-insulin growth factor-1 axis is crucial regulatory axis of aging and low level of insulin, increased tissue insulin sensitivity as well as low level of circulating in peripheral blood insulin like growth factor-1 are the major characteristics of long-living animals. Current paper presents some theories of aging with focus on GH/IGF-1 axis and insulin and influence of those factors on early developmental stem cells pool and their regenerative potential.

Key words: Growth Hormone, IGF-1, insulin, aging, VSELs

Wykaz stosowanych skrótów: **bGH** (*bovine Growth Hormone*) – bydlęcy hormon wzrostu; **CAT** (*Catalase*) – katalaza; **CR** (*Caloric Restriction*) – ograniczenie kaloryczne; **CuZnSOD** (*Copper Zinc Superoxide Dismutase*) – miedziowo- cynkowa dysmutaza ponadtlenkowa; **FoxO** (*Forkhead-box O transcription factors*) – białkowe czynniki transkrypcyjne; **GDR** (*Glucose Disposal Rate*) – metabolizm glukozy; **GH** (*Growth Hormone*) – hormon wzrostu; **GHR** (*Growth Hormone Receptor*) – receptor hormonu wzrostu; **GHRH** (*Growth Hormone Releasing Hormone*) – hormon uwalniający hormon wzrostu; **GHRKO** (*Growth Hormone Receptor Knock-Out*) – wyciszony gen receptora hormonu wzrostu; **GPX** (*Glutathione Peroxydase*) – peroksydaza glutationowa; **GSC** (*Germline Stem Cells*) – komórki macierzyste linii germinalnej; **HSC** (*Hematopoietic Stem Cells*) – komórki macierzyste hematopoetyczne; **IGF-1** (*Insulin Growth Factor-1*) – insulinopodobny czynnik wzrostu typu 1; **IGF-2** (*Insulin Growth Factor-2*) –insulinopodobny czynnik wzrostu typu 2; **IR** (*Insulin Receptor*) – receptor insulinowy; **ISC** (*Interstinal Stem Cells*) – komórki macierzyste nabłonka jelitowego; **KM –** komórki macierzyste; **LT-HSC** (*Long Time-Hematopoietic Stem Cells*) – długookresowe komórki macierzyste hematopoetyczne; **MEFs** (*Mice Embryonic Fibroblasts*) – mysie embrionalne fibroblasty; **MnSOD** (*Manganese Superoxide Dismutase*) – manganianowa dysmutaza ponadtlenkowa; **mTOR** (*mammalian Target for Rapamycin*) – ssaczy cel dla rapamycyny; **NSC** (*Neural Stem Cells*) – nerwowe komórki macierzyste; **ROS** (*Reactive Oxygen Species*) – reaktywne formy tlenu; **SF** (*Skin-derived Fibroblasts*) – fibroblasty pochodzące ze skóry; **SOD** (*Superoxide Dismutase*)– dysmutaza ponadtlenkowa; **VSELs** (*Very Small Embryonic-Like stem cells*) – bardzo małe podobne do embrionalnych komórki macierzyste.

WSTĘP

Starzenie organizmu jest zjawiskiem postępującym w czasie towarzyszącym procesom życiowym organizmu. Początkowo procesy związane ze starzeniem zachodzą na poziomie molekularnym, wewnątrzkomórkowym, z czasem manifestują się w postaci ogólnoustrojowej utraty homeostazy, co w konsekwencji prowadzi do śmierci organizmu. Czas średniego życia człowieka się wydłuża. Dlatego też problem powstrzymania lub spowolnienia procesów starzenia jest jednym z istotnych kierunków badań naukowych. Do chwili obecnej powstało wiele teorii starzenia opartych na obserwacjach i badaniach eksperymentalnych [30, 49, 50, 52, 56, 61].

Powszechnie przyjmuje się kilka teorii starzenia się i ich wpływu na długość życia. Do najważniejszych zalicza się: i) teorię wolnych rodników tlenowych (ang. *Reactive Oxygen Species,* ROS), ii) teorię restrykcji kalorycznej (ang. *Caloric Restriction*, CR), iii) teorię blokowania szlaku mTOR (ang. *mammalian Target for Rapamycin*), iv) teorię zależności długowieczności od poziomu w surowicy insulinowo podobnego czynnika wzrostowego typu 1 (ang. *Insulin Like Growth Factor-1,* IGF-1), v) teorię zależności długowieczności od osobniczej wrażliwości na insulinę i poziom krążącej we krwi insuliny oraz vi) zaproponowaną przez nasz zespół teorię stopniowego wyczerpywania się z wiekiem puli wczesnych rozwojowo komórek macierzystych organizmie – tzw. małych komórek przypominają-

cych komórki embrionalne (ang. *Very Small Embryonic Like stem cells,* VSELs). Po zapoznaniu się ze szczegółami wymienionych teorii, można określić w nich pewne punkty wspólne i powiązania sprawiające, że wszystkie te teorie zaczynają łączyć się ze sobą w kaskadę procesów składających się na proces starzenia.

Badania na zwierzętach i w populacjach ludzkich wskazują, iż niski poziom insuliny we krwi i duża wrażliwość tkanek na insulinę są cechą wspólną organizmów długożyjących. Insulina pojawia się w rozważaniach dotyczących teorii starzenia m.in. jako element zapoczątkowujący działanie szlaków metabolicznych, których aktywność prowadzi między innymi do przyspieszenia starzenia. Zauważono także, iż podobnie jak w przypadku insuliny, niski poziom IGF-1 jest cechą zwierząt długowiecznych. Czynnik ten, produkowany przez wątrobę w wyniku działania hormonu wzrostu (ang. *Growth Hormone; GH*), wykazuje niektóre oddziaływania biologiczne zbieżne z insuliną [4, 6, 7, 8, 31].

Obecna praca poglądowa dotyczy głównie zagadnień związanych ze starzeniem organizmu w kontekście teorii starzenia i ich powiązania z poziomem krążącej we krwi insuliny i IGF-1.

WOLNE RODNIKI A PROCES STARZENIA SIĘ

Reaktywne formy tlenu, zwane popularnie wolnymi rodnikami (ang. *Reactive Oxygen Species*, ROS) są cząsteczkami, które wykazują aktywność w procesach utleniania. Reakcje te prowadzą do uszkodzenia struktury DNA, białek i lipidów, doprowadzając do nagromadzenia nieprawidłowych struktur komórkowych, co przyczynia się do starzenia komórek [27]. Mechanizmy ochrony przed ROS opierają się na działaniu systemów nieenzymatycznych np. zredukowanej formy glutationu (GSH) oraz mechanizmów enzymatycznych, które w głównej mierze wiążą się z aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej (ang. *Superoxide Dismutase,* SOD) [38, 64, 65].

W doświadczeniu wykonanym przez Banks i wsp. [5] przeprowadzonym na mysim modelu starzenia się u zwierząt SAMP8 (ang. *Senescence Accelerated Mice*), wykazano, że wzrost poziomu zredukowanej formy glutationu (GSH) oraz obniżenie aktywności peroksydazy glutationowej (GPX), wynikające z podania zwierzętom antagonisty czynnika powodującego uwalnianie hormonu wzrostu (ang. *Growth Hormone Releasing Hormone,* GHRH), powodowało zmniejszenie ilości ROS w komórkach oraz spowolnienie procesów starzenia. Dodatkowo, zauważono istotną poprawę pamięci u zwierząt otrzymujących antagonistę GHRH w porównaniu do zwierząt grupy kontrolnej.

Z kolei badania Ahmed i wsp. [2] wykazały, że zwiększona ekspresja SOD w komórkach śródbłonka naczyń włosowatych płuc, prowadzi do obniżenia ROS i tym

samym zmniejsza prawdopodobieństwo powstania nadciśnienia płucnego. SOD odpowiada m.in. za zmniejszenie ilości wolnego rodnika ponadtlenkowego i w konsekwencji innych reaktywnych form tlenu, co spowalnia procesy degeneracji komórek i starzenia organizmu [27].

ZNACZENIE SZLAKU mTOR W PROCESACH STARZENIA SIĘ

Na udział szlaku mTOR w procesach starzenia mogą wskazywać badania zarówno zwierząt długowiecznych jak i tych, u których czas życia jest skrócony [9, 23, 64, 67]. Bjedov wykazał, że podawanie rapamycyny, która jest inhibitorem mTOR, powoduje wydłużenie życia muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*) [9].

Eksperyment przeprowadzony przez Spilman i wsp. [56] na mysim modelu choroby Alzheimera wykazał, że podanie zwierzętom *ad libitum* rapamycyny, opóźnia procesy starzenia się, zwiększa procesy autofagii uszkodzonych komórek, wydłużając tym samym czas życia zwierząt.

Szlak kinazy proteinowej mTOR jest aktywowany w komórce m.in. w wyniku przyłączenia insuliny do receptora insulinowego, co wpływa na aktywność anaboliczną komórek i zwiększa produkcję białek w komórkach (na poziomie translacji) oraz hamuje procesy autofagii, niezbędnej do eliminacji między innymi nieprawidłowych struktur komórkowych, w tym także białek macierzy międzykomórkowej [32]. Z punktu widzenia długowieczności korzystne wydaje się więc obniżenie aktywności szlaku mTOR. Zmniejsza ono bowiem z jednej strony produkcję białek wiążącą się ze zwiększeniem aktywności fosforylacji oksydatywnej mitochondriów i tym samym zwiększeniem uwalniania ROS, z drugiej zaś pozytywnie działa na aktywność samego zjawiska autofagii [33, 55, 63]. Wykazano także, że GH może aktywować szlak mTOR i przyspieszać procesy starzenia [41].

U transgenicznych myszy posiadających bydlęcy gen hormonu wzrostu (ang. *bovine GH Transgenic Mice,* bGH), gdzie przez całą długość życia poziom GH oraz IGF-I jest podwyższony, zwiększa się liczba receptorów dla GH w wątrobie i innych tkankach, co prowadzi do wzrostu masy ciała. Szlak mTOR u tych myszy jest intensywniej pobudzany niż u myszy typu dzikiego [41]. Prowadzi to w konsekwencji do nasilenia procesów starzenia i do skrócenia średniej długości życia myszy bGH do około 1 roku.

W przypadku obniżenia poziomu IGF-1 we krwi, jakie ma miejsce na przykład przy ograniczeniach kalorii w diecie (ang. *Caloric Restriction*, CR) lub niedoborze GH i IGF-1, kaskada sygnalizacyjna mTOR ulega osłabieniu, a czas życia zwierząt doświadczalnych wydłuża się [11, 52].

UDZIAŁ BIAŁEK FOXO W PROCESIE STARZENIA SIĘ

Nazwa FoxO dotyczy rodziny czynników transkrypcyjnych, które przyłączając się do odcinków promotorowych, regulują ekspresję genów [57]. Regulują one ekspresję m.in. białka $p27^{KIP1}$, Fas ligand (FasL), oraz manganowej dysmutazy ponadtlenkowej (MnSOD) [20]. Wykazano, że w przypadku ograniczenia kalorii w diecie, obniżenia poziomu IGF-1 we krwi, w stanach przewlekłego głodu, bądź zwiększonego stresu, następuje aktywacja szlaku białek FoxO, w wyniku czego dochodzi do zwiększenia ekspresji dysmutazy ponadtlenkowej (MnSOD2) [57]. Prowadzi to do zmniejszenia produkcji białek w komórce (zahamowanie szlaku mTOR) oraz ROS [15]. Wykazano także, że aktywacja szlaku białek FoxO może prowadzić do hamowania proliferacji komórek nowotworowych. Związane jest to z białkiem $p27^{KIP1}$, które jest odpowiedzialne za hamowanie cyklu komórkowego i tym samym proliferacji komórek [29].

DIETA NISKOKALORYCZNA A STARZENIE SIĘ

Ograniczenie kalorii w diecie przy zachowaniu zbilansowanego udziału wszystkich składników odżywczych, jest sprawdzonym modelem wydłużania życia [31, 35]. U gryzoni przy diecie zawierającej 40-60% kalorii standardowej diety, obserwowano spadek GH, IGF-1, glukozy, insuliny, a także wzrost wrażliwości tkanek na insulinę. Stwierdzono też spadek produkcji ROS w mitochondriach. Zmiany te można odwróci poprzez podawanie egzogennej insuliny [35]. Można więc wnioskować, iż efekty CR są w dużej mierze skutkiem niskiego poziomu insuliny, GH i IGF-1.

Badania na długowiecznych myszach szczepu Ames wykazały, iż stosowanie CR u tych zwierząt powodowało dalsze wydłużenie życia [31]. Efekt ten był znacznie mniejszy u myszy szczepu GHRKO (ang. *Growth Hormone Receptor Knock-Out*) znanych pod nazwą myszy karłów Larona (ang. *Laron Dwarfs*). Wspomniane powyżej myszy szczepu Ames nie produkują GH w wyniku niedorozwoju przedniego płata przysadki mózgowej [7], natomiast myszy typu Laron produkują hormon wzrostu, ale posiadają defekt receptora dla GH w wątrobie, co powoduje niewrażliwość tych zwierząt na jego działanie i tym samym prowadzi do zahamowania syntezy IGF-1 w wątrobie [68]. Wspólną cechą obu typów mutantów myszy jest niski poziom krążącego we krwi IGF-1 oraz insuliny, wysoki poziom wrażliwości na insulinę i niski poziom glukozy we krwi. Badania Bonkowskiego i wsp. [13] wykazały, iż elementem kluczowym dla wydłużenia życia u tych zwierząt jest zwiększona wrażliwość tkanek na insulinę. Badacze obserwowali zwiększoną ekspresję recepto-

ra insulinowego (IR), a tym samym wrażliwość na insulinę, w wątrobie i mięśniach szkieletowych, które są głównym miejscem utylizacji glukozy [3]. Obserwowany natomiast brak dalszego wydłużenia życia myszy GHRKO, w porównaniu do myszy typu dzikiego poddanych diecie niskokalorycznej, wynika z braku możliwości dalszego uwrażliwiania (wzrostu ilości IR) tkanek myszy GHRKO na insulinę [3].

Innym ważnym efektem CR jest obniżenie tempa metabolizmu organizmu również na poziomie komórkowym. Niższa produkcja ATP w mitochondriach powoduje spadek produkcji ROS, które w dużej mierze są odpowiedzialne za powstawanie uszkodzeń DNA i innych dużych cząsteczek, np. lipidów błony komórkowej [38].

OŚ GH/IGF-1 A STARZENIE SIĘ

Hormon wzrostu jest ważnym czynnikiem odpowiedzialnym za wzrost organizmów. Jego wpływ zarówno bezpośredni jak i pośredni na komórki uruchamia szlaki prowadzące do proliferacji, różnicowania komórek oraz stymulacji lub hamowania szlaków sygnałowych dla innych hormonów. Działanie bezpośrednie jest związane z interakcją GH ze swoistym receptorem, GHR (ang. *Growth Hormone Receptor*) lub pośrednie poprzez stymulowanie produkcji IGF-1 i IGF-2 [43]. Dane uzyskane u mutantów mysich z defektami osi GH-IGF-1,-2, wspomnianych powyżej myszy szczepu Ames lub Larona wykazały, iż zmniejszenie aktywności tej osi prowadzi do wydłużenia życia [7,8,31,68].

GH jak wspomniano powyżej jest regulatorem syntezy i uwalniania IGF-1 w wątrobie, a także modulatorem działania insuliny, co wiąże się z jego wpływem na wzrost poziomu glukozy i wolnych kwasów tłuszczowych [43,53].

Badania na zwierzęcych modelach mutantów osi GH/IGF-1, wskazują wyraźnie na rolę tego układu w procesach starzenia organizmu [5, 7, 8] niezależnie czy dotyczy to mutantów uzyskanych spontaniczne np. myszy Ames i Snell, czy zwierząt stworzonych w wyniku genetycznej manipulacji np. myszy Larona (GHRKO). Podstawowymi cechami tych myszy jest karłowatość osobników, oraz jak wspomniano powyżej niski poziom IGF-1 we krwi, podwyższona wrażliwość na insulinę, większa odporność na czynniki stresowe oraz długowieczność [7]. Z kolei np. u myszy transgenicznych z nadekspresją bydlęcego hormonu wzrostu (ang. *bovine Growth Hormone,* bGH) obserwowano skrócenie życia oraz zwiększenie masy ciała [7]. Potwierdza to, że zmniejszenie poziomu IGF-1 i zwiększenie wrażliwości na insulinę, co wiąże się ze zmniejszeniem aktywności osi GH/IGF-1, ma znaczący wpływ na długowieczność [6, 7, 8, 31].

IGF-1 i insulina wpływają również na powstawanie ROS [12, 28, 51]. Stwierdzono, że mutanty myszy z brakiem GH lub opornością na GH wykazują zwiększoną odporność na czynniki stresowe, w tym stres oksydacyjny [51]. Badania na heterozygotach myszy z obniżoną ekspresją IGF-1R (myszyIgf-1r$^{+/-}$) wskazują, iż samice są znacznie bardziej oporne na herbicyd (diquat) wywołujący powstawa-

nie ROS *in vivo* [12]. W hodowli mysich płodowych fibroblastów uzyskanych od tych zwierząt, do których dodawano niewielkie ilości nadtlenku wodoru, również zaobserwowano spadek produkcji ROS [28].

Badania na długowiecznych zwierzętach laboratoryjnych wykazały, że niski poziom IGF-1 i insuliny ma znaczenie dla ochrony przed stresem oksydacyjnym (tab. 1). Związane jest to z aktywacją białek FoxO, które prowadzi do zwiększenia poziomu enzymów antyoksydacyjnych, w tym SOD [15, 51, 57].

TABELA 1. Odporność na czynniki stresu oksydacyjnego myszy z defektami osi GH/IGF-1. (Opracowanie na podstawie Brown-Borg HM. Age 2006 [15]; Page MM et al. Age 2010 [42])
TABLE 1. The resistance on oxydative stress factors of mice with defects of GH/IGF-1 axis. (Based on Brown-Borg HM. Age 2006 [15]; Page MM et al. Age 2010 [24])

SZCZEPY MYSZY O NISKIM POZIOMIE INSULINY I IGF	POZIOM ENZYMÓW ANTYOKSYDACYJNYCH W TKANKACH	TESTY OCENIAJĄCE WRAŻLIWOŚĆ NA STRES OKSYDACYJNY	
		IN VITRO	IN VIVO
Ames Dwarfs	↑ CAT, ↑ GPX, ↑ SOD2 (nerki, wątroba), ↑ SOD1,↑ CAT (podwzgórze)	**SF**: ↑ odporności na UV, H_2O_2, kadm, paraquat	-----
Snell Dwarfs	↓ MnSOD (mózg, serce), ↑ GPx (serce), CuZnSOD bez zmian (mózg, wątroba, serce), CAT bez zmian (mózg, serce)	**SF**: ↑ odporności na UV, H_2O_2, kadm, paraquat, temperaturę, MMS (methyl methanesulfonate)	-----
Laron Dwarfs	↑ metalotioneiny (serce, nerki, wątroba), ↑ GPX (nerki), ↓ CAT, ↓ GPX, ↑ SOD2 (wątroba)	**SF**: ↑ odporności na UV, H_2O_2, paraquat	↓ odporności na paraquat
$Igfr^{+/-}$	Brak danych	MEFs: ↑ odporności na H_2O_2, paraquat,	↑ odporności na paraquat (samice)
$P66^{shc}$ mice		MEFs: ↑ odporności na H_2O_2, UV, paraquat	↑ odporności na paraquat oraz niedokrwienie
α-MUPA	↓ SOD2 (mitochondria), GPX bez zmian (wątroba)	Brak danych	↓ odporności na paraquat, ↑ GSH w mitochondriach, wzmocnienie apoptozy
Klotho	↑ SOD2 (mięśnie)	Badanie z dodaniem białka Klotho do komórek HeLa – ↑ odporności na paraquat	↑ odporności na paraquat, ↓ uszkodzeń DNA
Myszy $IR^{+/-}$	↑ SOD2	Brak danych	↑ odporności myszy na hiperoksję (O_2=80%)

SF – Skin-derived Fibroblasts; **MEFs** – Mice Embryonic Fibroblasts

WRAŻLIWOŚĆ NA INSULINĘ W KONTEKŚCIE DŁUGOWIECZNOŚCI

Poziom glukozy i insuliny w surowicy są kluczowymi parametrami wpływającymi na jakość oraz długość życia zarówno u zwierząt doświadczalnych jak i u ludzi. Poziom glukozy i insuliny kształtują tzw. wrażliwość na insulinę, która wykazuje zmienność osobniczą. Bonkowski i wsp. wykazali, że zwiększona wrażliwość na insulinę koreluje bezpośrednio z zwiększoną ekspresją receptora insulinowego u długożyjących mutantów myszy [3]. Od wielu lat wiadomo, że insulinooporność tkanek prowadzi do rozwinięcia cukrzycy typu II w wyniku nasilenia procesów glikozylacji, co z kolei prowadzi do zaburzeń ogólnoustrojowych i przyspiesza procesy starzenia się organizmu.

Rozing i wsp. [49, 50] przeprowadzili badania na grupach holenderskich stu -i dziewięćdziesięciolatków oraz ich potomkach. Próby wykonane na ponad 2 tysiącach osób wykazały obniżony poziom glukozy we krwi, podwyższoną wrażliwość na insulinę, szybszy metabolizm glukozy w teście tolerancji glukozy w stosunku do życiowych partnerów badanych osób, którzy to stanowili grupę kontrolną.

Korelację między długowiecznością a zwiększonym tempem metabolizmu glukozy wykazał także Wijsman w projekcie Leiden Longevity Study [61]. W jego eksperymencie badaniem objęto ponad 421 rodzin, w których co najmniej dwójka rodzeństwa była długowieczna, osiągając minimum 89 i 91 lat odpowiednio dla mężczyzn i kobiet. Potomków długowiecznych rodziców poddano wielogodzinnym testom, w których badano reakcje organizmu na do żylną infuzję m.in. glukozy i insuliny. Osobnicy ci charakteryzowali się zwiększonym metabolizmem glukozy (ang. *Glucose Disposal Rat*e, GDR). Wartość GDR podczas hiperinsulinemi skorelowano ponadto pozytywnie z długością życia poprzedniego pokolenia. Wyniki powyższych badań sugerują więc istnienie dziedzicznych czynników regulujących działanie insuliny, które w sposób pośredni wpływają na długość życia [61].

Wrażliwość na insulinę jest również związana z powinowactwem insuliny do IR. Zmiana powinowactwa zależy między innymi od formy receptora – krótszej formy IR o wyższym powinowactwie i dłuższej formy IR o niższym. Forma IR zależy od alternatywnego splicingu, który podlega regulacji poprzez insulinę a także inne hormony [48].

KOMÓRKI MACIERZYSTE, GH, SZLAK INSULINOWY, STARZENIE SIĘ

Komórki macierzyste występujące w tkankach dorosłego organizmu, odnawiają tkanki i tym samym odpowiedzialne są za regenerację starzejących się tkanek i narządów mając podstawowe znaczenie w procesach regulujących długowiecz-

ność. Nasz zespół wykazał m.in., iż w procesie starzenia dochodzi do stopniowego wyczerpywania się puli wczesnych komórek macierzystych o cechach komórek macierzystych pluripotencjalnych, zdeponowanych podczas rozwoju osobniczego w dorosłych tkankach – tzw., bardzo małych podobnych do embrionalnych komórek macierzystych (ang. *Very Small Embryonic-Like stem cells,* VSELs) [46]. Komórki te znajdują się w tkankach dorosłych osobników w stanie uśpienia dzięki niskiej ekspresji genów związanych ze szlakiem sygnałowania insuliny i IGF-1 jak np.Igf-2-H19, Igf2R, Rasgrf1 [45]. Ekspresja tych genów jest regulowana poprzez jednostki regulatorowe DNA, które podlegają tzw. piętnu genomowemu. W komórkach VSELs, w wyniku zmian epigenetycznych metylacji miejsc regulatorowych, dochodzi do unikalnej ekspresji tych genów, która prowadzi do zahamowania ścieżek sygnałowania aktywowanych przez insulinę, IGF-1 i IGF-2 [45].

Analiza porównawcza przeprowadzona na czterotygodniowych i dwuletnich myszach potwierdziła, iż z wiekiem zmniejsza się zarówno liczba jak i charakter pluripotencjalny komórek VSELs. Wiąże się to ze stopniowym przywróceniem wzoru metylacji miejsc regulatorowych genów Igf-2-H19, Igf2R, na taki, jaki występuje w innych komórkach somatycznych ustroju. Badania naszego zespołu wskazują, iż zarówno zastosowanie CR jak i zablokowanie szlaków sygnałowania insuliny i IGF-1 poprzez podawanie rapamycyny ma pozytywny wpływ na populację komórek VSELs i utrzymanie ich pluripotencjalności w czasie [46]. Wykazaliśmy również, że u długożyjących mutantów myszy szczepu Larona i Ames występuje zwiększona ilość VSELs w szpiku kostnym [45]. Liczbę tych komórek można zmniejszy poprzez przewlekle podawanie bGH lub IGF-1, co jednocześnie prowadzi do skrócenia przeżycia tych długowiecznych zwierząt. Warto nadmienić, że w jajnikach dwuletnich myszy szczepu Larona zaobserwowaliśmy również obecność licznych pęcherzyków jajnikowych w różnych stadiach rozwoju. Stwierdzono, że 2- letnie samice szczepu Laron były w stanie jeszcze zajść w ciąże dając mioty zdrowych myszy. U myszy kontrolnych dobranych wiekowo nie obserwowano owulacji w jajnikach. Dane te świadczą o młodszym biologicznie wieku jajników myszy typu Laron [54]. Niższy wiek biologiczny dwuletnich myszy typu Laron wykazaliśmy także w badaniach histologicznych w innych narządach [44].

Odrębne zagadnienie stanowi wpływ insuliny i IGF-1 na komórki macierzyste linii germinalnej (ang. *Germ line Stem Cell*, GSC). Spadek aktywności sygnałowania szlaku insulinowego i insulinopodonbnych czynników wzrostowych, prowadzi do redukcji GSC u owadów. Samice muszki owocówki *Drosophila melanogaster* z mutacją w genie receptora insulinowego (*dinr*-Drosophila insulin receptor), bądź z brakiem substratu receptora insulinowego *Chico* wykazują nie tylko niższy poziom GSC przy wykluciu, ale również szybciej tracą GSC niż samice kontrolne. Przypuszcza się, iż duże znaczenie w tym procesie odgrywają nisze komórek macierzystych linii germinalnej, które utrzymują populację komórek GSC [30]. Dane te pokazują, że oś GH -IGF-1 odgrywa ważną rolę w rozwoju GSC. Wspomniane myszy z mutacją Larona

wykazują m.in. opóźnione dojrzewanie płciowe [68]. Zmniejszenie oddziaływania tej osi odgrywa jednak ważną rolę w utrzymaniu płodności w wieku późniejszym. To dwukierunkowe działanie osi GH-IGF-1 tłumaczy zarówno początkowo opóźniony jak i z wiekiem wydłużony okres płodności u myszy z mutacja Larona [54, 68].

Należy również uwzględnić, że z wiekiem liczba komórek macierzystych i ich potencjał proliferacyjny spada [17, 24]. Może to być wynikiem zmian w ekspresji czynników regulatorowych w niszach tkankowych w których znajdują się komórki macierzyste (KM), z drugiej zaś strony może być wynikiem spadku wrażliwości samych KM na te sygnały [26]. Ables i Drummond-Barbosa [1] wskazali m.in., że w procesie aktywacji neuroblastów u *D. melanogaster* niezbędne są sygnały w postaci insulinopodobnych peptydów (ang. *Insulin-Like Peptide*, ILP). ILP wydzielane są przez komórki glejowe pobudzone sygnałami z ciała tłuszczowego (pełniącego u tchawkodysznych funkcje odpowiadające wątrobie i tkance tłuszczowej zwierząt kręgowych). Na skutek syntezy ILPs przylegające do gleju neuroblasty aktywowane są poprzez kaskadę insulina /PI-3K /mTOR. Pochodzące natomiast z innych tkanek ILPs, które są w stanie promować aktywność m.in. GSCs oraz ISCs (ang. *Intestinal Stem Cells*), nie wpływają, jak wykazano, na aktywację neuroblastów [1].

Starzenie się komórek macierzystych przejawia się obniżeniem ich potencjału proliferacyjnego i zdolności do regeneracji na skutek kumulacji mutacji w materiale genetycznym, skracania telomerów lub negatywnego wpływu czynników epigenetycznych [59, 60]. Z punktu widzenia starzenia się komórek macierzystych, istotne stają się interakcje zachodzące między komórkami macierzystymi a ich mikrośrodowiskiem (niszą), oraz powiązania obu tych elementów z sygnałami systemowymi pochodzącymi od starzejących się narządów [21]. Wewnętrzne starzenie się komórek macierzystych może przyczyniać się do ogólnoustrojowego spadku zdolności regeneracyjnej organizmu oraz osłabienia funkcji narządów, jednakże niewykluczone, że starzenie się całego organizmu prowadzi do osłabienia struktur niszy komórek macierzystych, a co za tym idzie samych komórek macierzystych (KM). Kluczowym elementem zmian związanych z wiekiem są modyfikacje nisz komórkowych skutkujące osłabieniem funkcji KM [19].

Badania Yilmaz [66] pokazują ważną rolę niszy komórek macierzystych jelita (ang. *Interstinal Stem Cells*, ISC). W pracy wykazano, że komórki dna krypt jelitowych (komórki Panetha) wspierają funkcję ISC *in vivo* oraz *in vitro*. Zastosowaniem CR prowadziło do zwiększenia ilości komórek w kryptach, nie uzyskano natomiast wzrostu ilości komórek progenitorowych. Wskazuje to, iż CR a także rapamycyna biorą udział w samo odnawianiu się komórek ISC, ale nie powodują wzrostu różnicowania nowopowstałych ISC do komórek nabłonka jelitowego. Autorzy również zaobserwowali, u myszy na CR, wzrost potencjału regeneracyjnego komórek ISC, u których wcześniej doszło do zniszczenia nabłonka jelitowego w wyniku naświetlania [66].

Praca autorstwa Blackmore`a i wsp. [10] wskazuje, iż GH wpływa także na namnażanie nerwowych komórek macierzystych (NSC, neural stem cells). Począwszy od trzydziestego roku życia, synteza i sekrecja GH spada i osiąga fazę plateau po siedemdziesiątym roku życia. Zjawisko to określane jest jako somatopauza. Podobne zjawisko zaobserwowano również u gryzoni [22]. W związku z tym, że poziom GH zwiększa się m.in. przy wysiłku fizycznym, a spada wraz z wiekiem, sugeruje to, że wysiłek fizyczny ma istotne znaczenie w utrzymywaniu sprawności umysłowej oraz prewencji wielu chorób [18,25]. Ciekawych spostrzeżeń dostarczyła obserwacja myszy poddawanych regularnemu wysiłkowi fizycznemu. Okazało się, iż o ile u myszy w wieku 18 miesięcy obserwowano wzrost liczby komórek progenitorowych i macierzystych, o tyle u myszy 24-miesięcznych dochodziło do spadku ich ilości pomimo działania czynnika stymulującego [10].

Stosowanie GH, pomimo braku akceptacji U.S. Food and Drug Administration, miało być terapią zapobiegającą skutkom starzenia się. Pomimo, iż podawanie starszym mężczyznom GH prowadziło do spadku masy tłuszczowej ciała oraz wzrostu masy mięśniowej, to jednocześnie zwiększało, jak wykazano, ryzyko wystąpienia groźnych powikłań w tym cukrzycy [37]. Pierwsze wyniki z użyciem GH u ludzi wskazujące na poprawę wydolności tlenowej i częstotliwości pracy serca, niemniej jednak skutkują występowaniem działań ubocznych. Poza tym, korzystne efekty działania GH są przejściowe, zależą od ciągłego podawania hormonu i zanikają po zaprzestaniu jego podawania [36].

Możliwe, iż spadek poziomu GH nie jest przyczyną, lecz skutkiem starzenia się, a może nawet mechanizmem przystosowawczym. A zatem, podwyższanie poziomu GH po osiągnięciu określonego wieku, wbrew fizjologicznemu procesowi obniżania jego poziomu z upływem lat, może mieć jak się obecnie uważa poważne konsekwencje zdrowotne [37].

Kumulacja uszkodzeń DNA w komórkach somatycznych, jako konsekwencja starzenia, zyskuje potwierdzenie w szeregu analiz wskazujących, iż długo żyjące osobniki różnych gatunków charakteryzuje podwyższona aktywność czynników odpowiadających za niwelowanie skutków uszkodzeń DNA i powstających nieprawidłowych białek [63]. Okazuje się także, iż zaburzenia w strukturze i funkcjonowaniu DNA np. w melanoblastach (komórki macierzyste melanocytów) uruchamiają mechanizm różnicowania się tych komórek do melanocytów, prowadząc do stopniowego zmniejszania się wyjściowej puli komórek. Zaobserwowano również pojawiające się z wiekiem epigenetyczne zmiany w hematopoetycznych komórkach macierzystych (HSCs), które prowadzą do osłabienia ich funkcji [62]. Biorąc pod uwagę, że prawdopodobieństwo występowania szeregu nowotworów wzrasta wraz z wiekiem, a jednocześnie wraz z wiekiem pojawiają się zaburzenia ze strony układu immunologicznego, możliwe jest, że obniżający się poziom GH pełni rolę ochronną dla organizmu poprzez zmniejszenie proliferacji, różnicowania się i doj-

rzewania komórek, w tym komórek nowotworowych [8, 14, 16, 53]. Zaobserwowano zmiany na szlaku GH/IGF-I między innymi w raku sutka oraz prostaty [47,58].

Badanie przeprowadzone przez Kucia i wsp. [34] wykazały spadek liczby VSELs w szpiku kostnym transgenicznych myszy z nadekspresją bydlęcego hormonu wzrostu (bGH), co koreluje ze skróceniem przeżycia tych zwierząt. Stwierdzono, że podwyższony poziom GH oraz IGF-1, IGF-2 poprzez stymulację komórek macierzystych, prowadzi do zmian w poziomie ekspresji markerów pluripotencjalności takich jak Oct4, Nanog, Sox2, Klf4, promotor Oct4 ulega hipermetylacji a chromatyna przybiera bardziej zwartą strukturę [34]. Wskazuje to, że wzrost poziomu GH i IGF-1 w organizmie prowadzi do stopniowo zmniejszenia pluripotencjalnego charakteru komórek VSELs i tym samym mieć negatywny wpływ na regenerację tkanek i długość przeżycia.

Z drugiej strony należy mieć na uwadze, że takie nadmierne pobudzenie komórek macierzystych czynnikami wzrostowymi insulinopodobymi może prowadzić również do indukcji transformacji nowotworowej w tych komórkach [39].

PODSUMOWANIE

Podsumowując, obecne doniesienia dotyczące starzenia się organizmu wskazują na istotną rolę insuliny, IGF-1 oraz insulinowrażliwości w tym procesie. Niski poziom insuliny i wysoka insulinowrażliwość oraz niski poziom krążącego we krwi IGF-1 to cechy spotykane u organizmów długowiecznych. Niskie poziomy insuliny i IGF-1 sprzyjają ochronie komórek przed nadmierną produkcją ROS, w wyniku wzmożonego oddychania w mitochondriach, a także poprzez wyhamowanie szlaku mTOR. Powodują także uruchomienie szlaków sygnałowych odpowiedzialnych za usuwanie ROS (enzymy antyoksydacyjne) oraz nieprawidłowych białek (autofagia), co zapobiega kumulowaniu w komórkach nieprawidłowych struktur, będących przyczyną starzenia komórek. Niskie poziomy sygnałowania na szlakach insuliny i IGF-1 wpływają także na zachowanie dużej puli komórek macierzystych zdeponowanych w dorosłych tkankach, powodując podwyższenie potencjału regeneracyjnego narządów.

Nadmierne sygnałowanie insulinowe prowadzi do zmniejszenia puli wczesnych rozwojowo komórek macierzystych w dorosłych tkankach. Utrzymanie niskich poziomów insuliny i IGF-1 jest możliwe przy zastosowaniu u dorosłych organizmów ograniczenia kalorycznego, co sprzyja zachowaniu zdrowia i długowieczności.

PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, Program Innowacyjna Gospodarka (European Union Structural Funds, Innovative Economy Operational Program) POIG.01.01.02-00-109/09-00

LITERATURA

[1] Ables ET, Drummond-Barbosa D. Food for thought: neural stem cells on. *Cell stem cell* 2011; **8**: 352-354.

[2] Ahmed MN, Zhang Y, Codipilly C, Zaghloul N, Patel D, Wolin M, Miller EJ. Extracellular superoxide dismutase overexpression can revers the course of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Mol Med* 2012; **18**: 38-46.

[3] Arum O, Bonkowski MS, Rocha JS, Bartke A. The Growth Hormone Receptor Gene Disrupted (GHR -KO) Mouse Fails to Respond to an Intermitted Fasting (IF) Diet. *Aging Cell* 2009; **8**: 756 – 760.

[4] Avogaro A, De Kreutzenberg SV, Fadini GP. Insulin signaling and life span. *Eur J Physiol* 2010; **459**: 301-314.

[5] Banks WA, Morley JE, Susan AF, Price TO, Ercal N, Vidaurre I, Schally AV. Effects of a growth hormone-releasing hormone antagonist on telomerase activity, oxidative stress, longevity, and aging in mice. *PNAS* 2010. **107**: 22272-22277.

[6] Bartke A, Masternak MM, Al-Regaiey KA, Bonkowski MS. Effects of dietary restriction on the expression of insulin-signaling-related genes in long-lived mutant mice. *Interdiscip Top Gerontol* 2007; **35**: 69-82.

[7] Bartke A, Sun Ly, Longo V. Somatotropic signaling: trade – offs between growth, reproductive development, and longevity. *Physiol Rev* 2013; **93**: 571 – 598.

[8] Bartke A. Growth hormone, insulin and aging: The benefits of endocrine defects. *Experimental Gerontology* 2011; **46**: 108-111.

[9] Bjedov I, M, Kerr F, Slack C, Jacobson J, Foley A, Partridge L. Mechanisms of lifespan extension by rapamycinin the fruit fly Drosophila melanogaster. *Cell Metab* 2010; **11**: 35-46.

[10] Blackmore DG, Golmohammadii MG, Large B, Waters MJ, Rietze RL. Exercise increases neural stem cell number in a growth hormone-dependent manner, augmenting the regenerative response in aged mice. *Stem Cells* 2009; **27**: 2044-2052.

[11] Blagosklonny MV. Calorie restriction: Decelerating mTOR-driven aging from cells to organisms (including humans). *Cell Cycle* 2010; **15**: 683-688.

[12] Bokov AF, Garg N, Ikeno Y, Thakur S, Musi N, Defronzo RA, Zhang N, Erickson RC, Gelfond J, Hubbard GB, Adamo ML, Richardson A. Does reduced IGF-1R signaling in Igf1r+/-mice alter aging? *PloS One* 2011 e: 26891.

[13] Bonkowski MS, Dominici FP, Arum O, Rocha JS, Al Regaiey KA, Westbrook R, Spong A, Panici J, Masternak MM, Kopchick JJ, Bartke A. Disruption of growth hormone receptor prevents calorie restriction from improving insulin action and longevity. *PLoS One* 2009; **4**: e4567.

[14] Borrás C, Gil P, Viña J. Biogerontology in Spain: the most significant studies. *Biogerontology* 2011; **12**: 77-81.

[15] Brown-Borg HM. Longevity in mice: is stress resistance a common factor ? *Age* 2006; **28**: 145-162.

[16] Cancer Research UK[online]2011<http://www.cancerresearchuk.org/>.

[17] Civriz-Bozdag S, Bay M, Ayyildiz E, Topcuoglu P, Ilhan O. Older age and capacity of colony forming unit in autologous peripheral derived hematopoietic cells. *Transfus Apher Sci* 2012; **47**: 113-116.

[18] Coelho FG, Andrade LP, Pedroso RV, Santos-Galduroz RF, Gobbi S, Costa JL, Gobbi LT. Multimodal exercise intervention improves frontal cognitive function and gait in Alzheimer's disease: A controlled trial. *Geriatr Gerontol Int* 2012; **13**: 198-203.

[19] Conboy IM, Rando TA. Heterochronic parabiosis for the study of the effects of aging on stem cells and their niches. *Cell Cycle* 2012; **11**: 2260-2267.

[20] Dijkers PF, Medema RH, Pals C, Banerji L, Thomas NS, Lam EW, Burgering BM, Raaijmakers JA, Lammers JW, Koenderman L, Coffer PJ. Forkhead transcription factor FKHR-L1 modulates cytokine -dependent transcriptional regulation of p27 (KIP1). *Mol Cell Biol* 2000; **20**: 9138-9148.

[21] Edelberg JM, Ballard VL. Stem cell review series: regulating highly potent stem cells in aging: environmental influences on plasticity. *Aging Cell* 2008; **7**: 599-604.

[22] Fanciulli G, Delitala A, Delitala G. Growth hormone, menopause and ageing: no definite evidence for 'rejuvenation' with growth hormone. *Hum Reprod Update* 2009; **15**: 341-358.

[23] Fang Y, Westbrook R, Hill C, Boparai RK, Arum O, Spong A, Wang F, Javors MA, Chen J, Sun LY, Bartke A. Duration of rapamycin treatment has differential effects on metabolism in mice. *Cell Metab* 2013; **17**: 456 -462.
[24] Flici H, Giangrande A. Stem cell aging and plasticity in the Drosophila nervous system. *Fly (Austin)* 2012; **6**: 108-112.
[25] Frystyk J. Exercise and growth hormone – insulin-like growth factor axis. *Med Sci Sports Exerc* 2010; **42**: 58-66.
[26] Geiger H, Denkinger M, Schirmbeck R. Hematopoietic stem cell aging. *Curr Opin Immunol* 2014; **29C**: 86 – 92.
[27] Harman D. Free Radical Theory of Aging: An Update. Increasing a functional Life Span. *Ann N Y Acad Sci* 2006; **1067**: 10-21.
[28] Holzenberger M, Dupont J, Ducos B, Leneuve P, Géloën A, Even PC, Cervera P, Le Bouc Y. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature* 2003; **421**: 182-187.
[29] How C, Pikor L, Gao Y, Elliott BE, Greer PA. Calpain 2 regulates Akt-FoxO-p27 Kip1 protein signaling pathway in mammary carcinoma. *J Biol Chem* 2012; **287**: 15458-15465.
[30] Hsu HJ, Drummond-Barbosa D. Insulin levels control female germ line stem cell maintenance via the niche in Drosophila. *PNAS* 2009; **106**: 1117-1121.
[31] Ikeno Y, Hubbard GB, Lee S, Dube SM, Flores LC, Roman MG, Bartke A. Do Ames dwarf and calorie-restricted mice share common effects on age-related pathology? *Pathobiol Aging and Age-Relat Dis* 2013; **3**: 20833.
[32] Jakubowicz-Wilk J. Inhibitory szlaku PI-3K-Akt/PKB-m-TOR w leczeniu glejaków. *Post Biol Kom* 2009; **2**: 189-201.
[33] Kang HT, Lee KB, Kim SY, Choi HR, Park SC. Autophagy impairment induces premature senescence in primary human fibroblasts. *PloS ONE* 2011; **6**: e23367.
[34] Kucia M, Shin DM, Liu R, Ratajczak J, Bryndza E, Masternak MM, Bartke A, Ratajczak MZ. Reduced number of VSELs in the bone marrow of growth hormone transgenic mice indicates that chronically elevated Igf1 level accelerates age-dependent exhaustion of pluripotent stem cell pool: a novel view on aging. *Leukemia* 2011; **25**: 1370-1373.
[35] Lambert AJ, Wang B,Merry BJ. Exogenous insulin can reverse the effects of caloric restriction on mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **316**: 1196-1201.
[36] Lange KHW, Isaksson F, Rasmussen MH, Juul S, Bülow J, Kjær M. GH administration and discontinuation in healthy elderly men: effects on body composition, GH-related serum markers, resting heart rate and resting oxygen uptake. *Clin Endocrinol* 2001; **55**: 77-86.
[37] Liu H, Bravata DM, Olkin I, Nayak S, Roberts B, Garber AM, Hoffman AR. Systematic review: the safety and efficacy of growth hormone in the healthy elderly. *Ann Intern Med* 2007; **146**: 104-115.
[38] Ma YS, Wu SB, Lee WY, Cheng JS, Wei YH. Response to the increase of oxidative stress and mutation of mitochondrial DNA in aging. *Biochim Biophys Acta* 2009; **1790**: 1021-1029.
[39] Malaguarnera R, Belfiore A. The emerging role of insulin and insulin-like growth factor signalling In cancer stem cells. *Front Endocrinol* 2014; doi: 10.3389/fendo.2014.00010.
[40] Mari D. Role of the IGF/insulin system in longevity. *Minerva Endocrinol* 2011; **36**: 181-185.
[41] Miquet JG, Giani JF, Martinez CS, Muñoz MC, González L, Sotelo AL, Boparai RK, Masternak MM, Bartke A, Dominici FP, Tyryn D. Prolonged exposure to GH impairs insulin signaling in the heart. *J Mol Endocrinol* 2011 47: 167-177.
[42] Page MM, Richardson J, Wiens BE, Tiedtke E, Peters CW, Faure PA, Burness G, Stuart JA. Antioxidant enzyme activities are not broadly correlated with longevity in 14 vertebrate endotherm species. *Age (Dordr)* 2010; **32**: 255-270.
[43] Perrini S, Laviola L, Carreira MC, Cignarelli A, Natalicchio A, Giorgino F. The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis. *J Endocrinol* 2010; **205**: 201-210.

[44] Piotrowska K, Borkowska SJ, Wiszniewska B, Laszczyńska M, Słuczanowska-Głąbowska S, Havens AM, Kopchick JJ, Bartke A, Taichman RS, Kucia M, Ratajczak MZ. The effect of low and high plasma levels of insulin-like growth factor -1 (IGF-1) on the morphology of major organs: studies of Laron dwarf and bovine growth hormone transgenic (bGHTg) mice. Histol Histopathol 2013; **28**: 1325 – 1336.

[45] Ratajczak J, Shin DM, Wan W, Liu R, Masternak MM, Piotrowska K, Wiszniewska B, Kucia M, Bartke A, Ratajczak MZ. Higher number of stem cells in the bone marrow of circulating low Igf-1 level Laron dwarf mice-novel view on Igf-1, stem cells and aging. *Leukemia* 2011; **25**: 729-733.

[46] Ratajczak MZ, Shin DM, Ratajczak J, Kucia M, Bartke A. A novel insight into aging: are there pluripotent very small embryonic-like stem cells (VSELs) in adult tissues over time depleted in an Igf-1-dependent manner? *Aging (Albany NY)* 2010; **2**: 875-883.

[47] Rinaldi S, Biessy C, Hernandez M, Lesueur F, Dos-Santos-Silva I, Rice MS, Lajous M, Lopez-Ridaura R, Torres-Mejía G, Romieu I. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-binding protein-3, genetic polymorphism and mammographic density in premenopausal Mexican women: results from ESMaestras cohort. *Int J Cancer* 2014; **134**:1436-1444.

[48] Rojek A, Niedziela M. Receptor insuliny i jego związek z różnymi formami insulinooporności. *Post Biol Kom* 2009; **36**: 617-648.

[49] Rozing MP, Westendorp RG, De Craen AJ, Froelich M, De Goeij MC, Heijmans BT, Beekman M, Wijsman CA, Mooijaart SP, Blauw GJ, Slagboom PE, Van Heemst D. Favorable glucose tolerance and Lower prevalence of metabolic syndrome in offspring without diabetes mellitus of nonagenarian siblings: the Leiden longevity study. *J Am Geriatr Soc* 2010; **58**: 564-569.

[50] Rozing MP, Westendorp RG, Froelich M, De Craen AJ, Beekman M, Heijmans BT, Mooijaart SP, Blauw GJ, Slagboom PE, Van Heemst D. Human insulin/IGF-1 and familial longevity at middle age. *Aging (Albany NY)* 2009; **1**: 714-22.

[51] Salmon AB, Murakami S, Bartke A, Kopchick JJ, Yasumura K, Miller RA. Fibroblast cell lines from young adult mice of longlived mutant strains are resistant to multiple forms of stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; **289**: e23-e29.

[52] Sharp ZD, Strong Z. The Role of mTOR Signaling in Controlling Mammalian Life Span: What a Fungicide Teaches Us About Longevity. *J Gerontol ABiol Sci Med Sci* 2010; **65**: 580-589.

[53] Shaw AC, Joshi S, Greenwood H, Panda A, Lord JM. Aging of the innate immune system. *Curr Opin Immunol* 2010; **22**: 507-513.

[54] Słuczanowska-Głąbowska S, Laszczyńska M, Piotrowska K, Głąbowski W, Kopchick JJ, Bartke A, Kucia M, Ratajczak MZ. Morphology of ovaries in Laron dwarf mice, with low circulating plasma level of insulin-like growth factor -1 (IGF-1), and in bovine GH-transgenic mice, with high circulating plasma levels of IGF-1. *J Ovarian Res* 2012; **5**: 18.

[55] Sobolewska A, Gajewska M, Zarzyńska J, Gajkowska B, Motyl T. IGF-1, EGF, and sex steroids regulate autophagy in bovine mammary epithelial cells via the mTOR pathway. *Eur J Cell Biol* 2009; **88**: 117-130.

[56] Spilman P, Podlutskaya N, Hart MJ, Debnath J, Gorostiza O, Bredesen D, Richardson A, Strong R, Galvan V. Inhibition of mTOR by Rapamycin Abolishes Cognitive Deficits and Reduces Amyloid-b Levels in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *PLoS ONE* 2010; **4**: 1-8.

[57] Storz P. Forkhead Homeobox Type O Transcription Factors In the Responses to Oxidative Stress. *Antioxid Redox Signal* 2011; **14**: 593-605.

[58] Takeuchi A, Shiota M, Beraldi E, Thaper D, Takahara K, Ibuki N, Pollak M, Cox ME, Naito S, Gleave ME, Zoubeidi A. Insulin-like growth factor – I induces CLU expression through Twist1 to promote prostate cancer growth. Mol Cell Endocrinol 2014 384: 117-125.

[59] Warren LA, Rossi DJ. Stem cells and aging in the hematopoietic system. *Mech Ageing Dev* 2009; **130**: 46-53.

[60] Waterstrat A, Zant GV. Effects of aging on hematopoietic stem and progenitor cells. *Curr Opin Immunol* 2009; **21**: 408-413.

[61] Wijsman CA, Rozing MP, Trea CM, Streefland TCM, Le Cessie S, Mooijaart SP, Slagboom PE, Westendorp RGJ, Hanno P, Van Heems D. Familial longevity is marked by enhanced insulin sensitivity. *Aging Cell* 2011; **10**: 114-121.
[62] Wood KC, Sabatini DM. Growth signaling at the nexus of stem cell life and death. *Cell Stem Cell* 2009; **5**: 232-234.
[63] Wu YT, Tan HL, Huang Q, Ong CN, Shen HM. Activation of the PI3K-Akt_mTOR signaling pathway promotes necrotic cell death via suppression of autophagy. *Autophagy* 2009; **5**: 824-834.
[64] Yamaguchi O, Otsu K. Role of Autophagy In Aging. *J Cardiovasc Pharmacol* 2012; **60**: 242-247.
[65] Yen K, Patel HB, Lublin AL, Mobbs CV. SOD isoforms play no role in lifespan in ad lib or dietary restricted conditions, but mutational inactivation of SOD-1 reduces life extension by cold. *Mech Ageing Dev* 2009; **130**: 173-178.
[66] Yilmaz OH, Katajisto P, Lamming DW, Gultekin Y, Bauer-Rowe K, Sengupta S, Birsoy K, Dursun A, Yilmaz VO, Selig M, Nielsen GP, Mino-Kenudson M, Zukerberg LR, Bhan AK, Deshpande V, Sabatini DM. mTORC1 in the paneth cell niche couples intestinal stem-cell function to calorie intake. *Nature* 2012; **486**: 490-497.
[67] Zhang Y, Bokov A, Gelfond J, Soto V, Ikeno Y, Hubbard G, Diaz V, Sloane L, Maslin K, Treaser S, Réndon S, Van Remmen H, Ward W, Javors M, Richardson A, Austad SN, Fischer K. Rapamycin extends life and health in C57BL/6 mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014; doi:10.1093/gerona/glt056.
[68] Zhou Y, Xu BC, Maheshwari HG, He L, Reed M, Lozykowski M, Okada S, Cataldo L, Coschigano K, Wagner TE, Baumann G, Kopchick JJ. A mammalian model for Laron syndrome produced by targeted disruption of the mouse growth hormone receptor/binding protein gene (the Laron mouse). *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**: 13215-13220.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 12.07.2014
Przyjęto: 11.08.2014
Katarzyna Piotrowska
Katedra i Zakład Fizjologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Powstańców Wlkp., 72, 70-111 Szczecin
email: katarzyna.piotrowska@pum.edu.pl oraz piot.kata@gmail.com