

## ***Growth Hormone* Menurunkan Ekspresi Protein p53 dan p21 Sel Endotel Tikus Jantan**

*(GROWTH HORMONE REDUCES P53 AND P21  
ENDOTHELIAL PROTEIN EXPRESSION IN MALE RATS)*

**I Gusti Ayu Dewi Ratnayanti<sup>1\*</sup>, Ni Putu Sriwidayanti<sup>2</sup>,  
I Dewa Ayu Inten Primayanti<sup>3</sup>, I Gusti Kamasan, Nyoman Arijana<sup>1</sup>,  
I Gusti Nyoman Sri Wiryanan<sup>1</sup>, Ida Ayu Ika Wahyuniari<sup>1</sup>,  
I Wayan Sugiritama<sup>1</sup>, I Gusti Ngurah Mayun<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Bagian Histologi, <sup>2</sup>Bagian Patologi Anatomi,  
<sup>3</sup>Bagian Fisiologi, Program Studi Ilmu Kedokteran,  
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana  
Jln Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia

\*Telepon: 62361222510 (401)

\*Email: ratnayanti@unud.ac.id

### **ABSTRAK**

Penggunaan terapi *growth hormone* (GH) pada kondisi yang berkaitan dengan proses penuaan, seperti aterosklerosis, masih kontroversial. Penelitian sebelumnya menunjukkan GH dosis tinggi mampu mengurangi plak aterosklerosis dan mencegah penuaan sel endotel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme GH dalam proses tersebut, khususnya jalur p53/p21. Rancangan *post test only control group* digunakan pada penelitian ini. Sebanyak 20 ekor tikus jantan, diacak menjadi lima kelompok: kelompok kontrol negatif (P0), kontrol positif (P1), dan injeksi GH (P2, P3, dan P4). Kelompok kontrol negatif diberikan diet standar, sementara sisanya diberikan diet aterogenik selama 20 minggu. Setelah 10 minggu, subjek diinjeksi secara subkutan (0,1 mL) dengan aquadest (P0 dan P1) dan berbagai dosis GH (0,02 IU, 0,04 IU, dan 0,08 IU) secara berturut-turut untuk kelompok P2, P3, P4 satu kali sehari selama 10 minggu. Pada akhir penelitian dilakukan pemeriksaan ekspresi protein p53 dan p21. Pemeriksaan imunohistokimia terhadap ekspresi protein p53 sel endotel menunjukkan penurunan ekspresi pada kelompok perlakuan (P0: 7,28±0,36; P1: 39,51±1,18; P2: 32,70±1,10; P3: 16,98±0,78; dan P4: 14,29±0,38). Penurunan ekspresi juga terjadi pada protein p21 (P0: 5,38±0,49; P1: 37,81±0,76; P2: 26,02±1,54; P3: 16,37±1,24; dan P4: 4,82±0,61). Analisis sidik ragam satu jalan dan tes *post hoc* (LSD) menunjukkan perbedaan yang bermakna antara semua kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa GH mampu menurunkan ekspresi protein p53 dan p21 sel endotel tikus jantan dan jalur ini dapat berperan dalam efek GH terhadap plak aterosklerosis dan penuaan sel endotel.

Kata-kata kunci: *growth hormone*; p53; p21; penuaan sel endotel; aterosklerosis.

### **ABSTRACT**

The use of growth hormone (GH) treatment in aging related condition such as atherosclerosis is still controversial. Previous study showed GH reduce atherosclerotic plaque and prevent endothelial cell senescence. This study was aimed to understand the mechanism of GH effect to endothelial senescence through p53/p21 pathway. A randomized posttest only control group design study was conducted. Twenty male Wistar rats were randomized into five groups; negative control (P0), positive control (P1), and GH treated group (P2, P3, P4). Negative control group was fed with standard diet, and others were fed with atherogenic diet for 20 weeks. After 10 weeks, subjects were injected subcutaneously (0,1 mL) with aquadest (P0 and P1) and increasing dose of GH (0,02 IU, 0,04 IU, and 0,08 IU) for P2, P3, P4 once a day respectively for 10 weeks. In the end of the study all subjects were examined for p53 and p21 endothelial protein expressions. Immunohistochemistry of endothelial p53 showed reduce expression in treated groups (P0: 7.28 ± 0.36; P1: 39.51 ± 1.18; P2: 32.70 ± 1.10; P3: 16.98 ± 0.78; and P4: 14.29 ± 0.38). The reduction was

also observed in p21 expression (P0:  $5.38 \pm 0.49$ ; P1:  $37.81 \pm 0.76$ ; P2:  $26.02 \pm 1.54$ ; P3:  $16.37 \pm 1.24$ ; and P4:  $4.82 \pm 0.61$ ). One way analysis of variance and post hoc test (LSD) analysis showed significant differences between all groups ( $p < 0.05$ ). In conclusion, GH reduces endothelial expression of p53 and p21 and this pathway may contribute to GH effect on atherosclerotic plaque and endothelial senescence.

Key words: growth hormone; p53; p21; endothelial cell senescence; atherosclerosis

## PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskuler seperti penyakit jantung koroner, hipertensi, gagal jantung kongestif, dan *stroke* adalah penyakit yang kejadiannya meningkat seiring bertambahnya usia. Penyakit ini bertanggung jawab terhadap 16,5 juta (30,3%) kematian di seluruh dunia. Sebanyak 7,2 juta diakibatkan oleh penyakit jantung dan 5,2 juta disebabkan oleh *stroke* (Yayasan Jantung Indonesia, 2009). Faktor utama yang mendasari penyakit kardiovaskuler ini adalah aterosklerosis. Pada aterosklerosis terjadi penyempitan pembuluh darah akibat akumulasi lipid pada tunika intima (Mada-manchi *et al.*, 2005).

Aterosklerosis merupakan penyakit multifaktorial dengan diet tinggi kolesterol sebagai faktor risiko utama. Belakangan ini berkembang teori bahwa aterosklerosis berhubungan dengan penuaan sel endotel (Shi *et al.*, 2013). Akumulasi sel endotel tua pada pembuluh darah menyebabkan disfungsi endotel yang akhirnya akan menyebabkan aterosklerosis. Ada beberapa jalur yang memicu terjadinya penuaan sel, yaitu jalur pemendekan telomer (yang terkait dan tidak terkait) serta jalur independen. Kedua jalur ini memicu serangkaian sinyal melalui p53-p21-Retinoblastoma (Rb) atau p-16-Rb. Protein p53 disandi oleh tumor supresor gen p53 (TP53) merupakan protein regulator yang mengatur lebih dari ratusan target yang berperan dalam berbagai proses biologi, antara lain apoptosis, siklus sel, dan perbaikan DNA. Protein p53 dapat menginduksi p21. Protein p21 adalah salah satu *cyclin dependent kinase* (CDK) *inhibitor* (CKI) yang berperan dalam menghambat siklus sel. Ekspresi yang berlebihan dari protein tersebut akan menyebabkan terhentinya siklus pembelahan sel dan menghasilkan fenotipe sel tua (Bai dan Zhu, 2006; Jian-Hua *et al.*, 2007; Erusalimsky dan Scene, 2009).

Penggunaan *growth hormone* (GH) sebagai terapi antipenuaan masih diperdebatkan. Walaupun pada penderita defisiensi GH terjadi peningkatan mortalitas akibat penyakit kardiovaskuler, dan apakah terapi GH dapat

mencegah penyakit kardiovaskuler belum dapat dibuktikan. Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan hasil yang berbeda. Pada beberapa penelitian, terapi GH tidak terbukti mampu mencegah aterosklerosis (Ronchi *et al.*, 2006; Oliviera *et al.*, 2007; Titterington *et al.*, 2009). Sementara itu penelitian lainnya mendukung bahwa GH mampu mencegah aterosklerosis (Colao *et al.*, 2008; Ahn *et al.*, 2006). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa GH dosis tinggi mampu mengurangi ketebalan aterosklerosis dan mencegah penuaan sel endotel (Ratnayanti *et al.*, 2012).

Keterlibatan GH dalam penuaan sel endotel sebagai dasar patogenesis penting terbentuknya plak aterosklerosis, belum banyak diteliti. Terdapat kemungkinan bahwa GH dapat mencegah penuaan sel endotel karena GH diketahui dapat memperbaiki kondisi-kondisi yang memicu terjadinya penuaan sel endotel seperti dislipidemia dan stres oksidatif. Terapi GH dilaporkan mampu memperbaiki profil lipid (Colao *et al.*, 2008; Verhelst dan Abs, 2009; Ratnayanti, 2011). Pemberian GH juga mempunyai efek yang positif terhadap stres oksidatif (Ratnayanti, 2011; Legatt *et al.*, 2007; Csiszar *et al.*, 2008; Titterington *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa GH dosis sedang dan tinggi dilaporkan dapat mencegah penuaan sel endotel pada tikus yang diinduksi aterosklerosis (Ratnayanti *et al.*, 2012). Tetapi mekanisme GH mencegah hal tersebut belum diketahui. Oleh karena tujuan penelitian ini adalah ingin diketahui jalur kerja GH dalam mekanisme penuaan sel endotel, yaitu terhadap ekspresi protein p53 dan p21.

## METODE PENELITIAN

*Growth hormone* yang digunakan pada penelitian ini adalah GH rekombinan (Genotropin; Pfizer). Diet tinggi kolesterol terdiri dari kolesterol 1%, kuning telur 5%, lemak babi 10%, minyak kelapa 1%, propiltiourasil 0,01%, dan ditambah dengan diet standar (HPS 511) hingga 100%. Reagen yang digunakan pada penelitian ini antara lain antibodi primer, p53

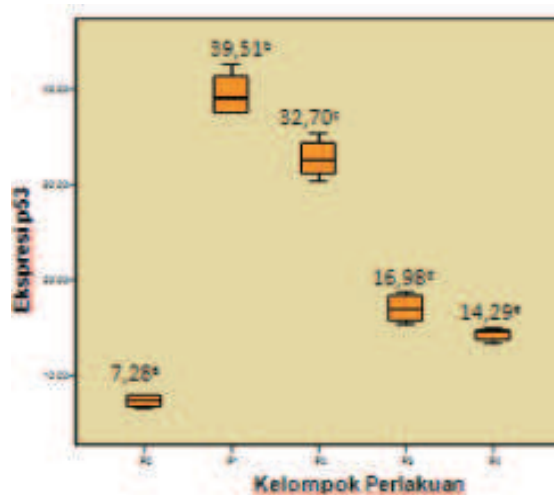
(Santacruz) dan p21 (Thermo scientific), antibodi sekunder *Labeled Streptavidin-Biotin (LSAB staining system)* (Santacruz), serta Hematoksilin Meyer. Sampel penelitian adalah tikus Wistar jantan berusia 11–12 bulan. Subjek penelitian diperoleh dari Unit Laboratorium Hewan, Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana.

Tikus diadaptasikan selama satu minggu dan sebanyak 20 ekor tikus yang sesuai dengan criteria, diacak dan dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Subjek diberikan diet standar dan tinggi kolesterol selama 10 minggu untuk mencapai keadaan aterosklerosis. Kemudian masing-masing kelompok menerima perlakuan; diet standar ditambah aquadest 0,01 mL (P0) dan empat kelompok lainnya diberi diet tinggi kolesterol, perlakuan tersebut antara lain aquades 0,01mL (P1), GH 0,02 IU/0,01mL (P2), GH 0,04 IU/0,01mL (P3), serta GH 0,08 IU/0,01mL (P4). Aquades dan GH diberikan satu kali sehari secara subkutan pada bagian punggung selama 10 minggu berikutnya. Setelah 20 minggu tikus dikorbankan nyawanya dengan kloroform lalu aorta tikus diisolasi dan diperiksa. Ekspresi protein p53 dan p21 selanjutnya diperiksa secara imunohistokimia (*LSAB staining system*) sesuai protokol (p53 dan p21 100 µl, 1: 200 µl) pada Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana. Sel endotel yang positif mengekspresikan protein p53 dan p21 berwarna coklat dihitung pada pembesaran 400 kali dengan mikroskop cahaya. Normalitas data diuji dengan Uji Saphiro-Wilks dan homogenitas data dengan Tes Levene. Data kemudian dianalisis dengan sidik ragam satu jalan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok yang dilanjutkan dengan tes *post hoc*.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Pengaruh *Growth Hormone* Terhadap Ekspresi Protein p53 Sel Endotel**

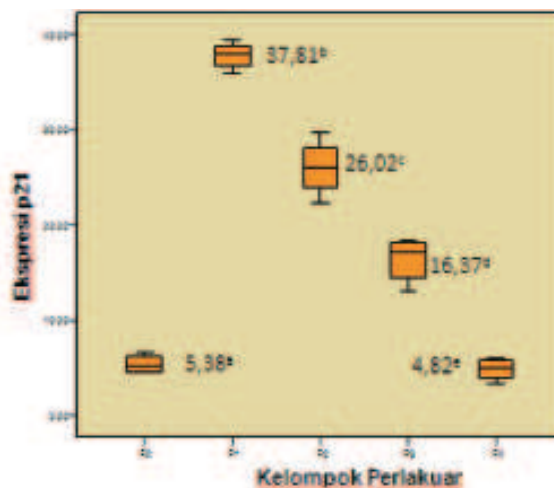
Data ekspresi p53 menunjukkan distribusi normal dengan tes Saphiro Wilk ( $p > 0,05$ ), demikian pula dengan uji homogenitas dengan tes Levene juga menunjukkan data yang homogen ( $p > 0,05$ ). Analisis uji efek perlakuan dengan sidik ragam satu jalan mendapatkan hasil yang bermakna antar kelompok. Hasil kemudian dianalisis dengan LSD. Hasil penelitian mendapatkan tingkat ekspresi p53 berbeda antar semua kelompok perlakuan



Gambar 1. Hasil analisis pengaruh *growth hormone* terhadap ekspresi protein p53 sel endotel.

Keterangan:

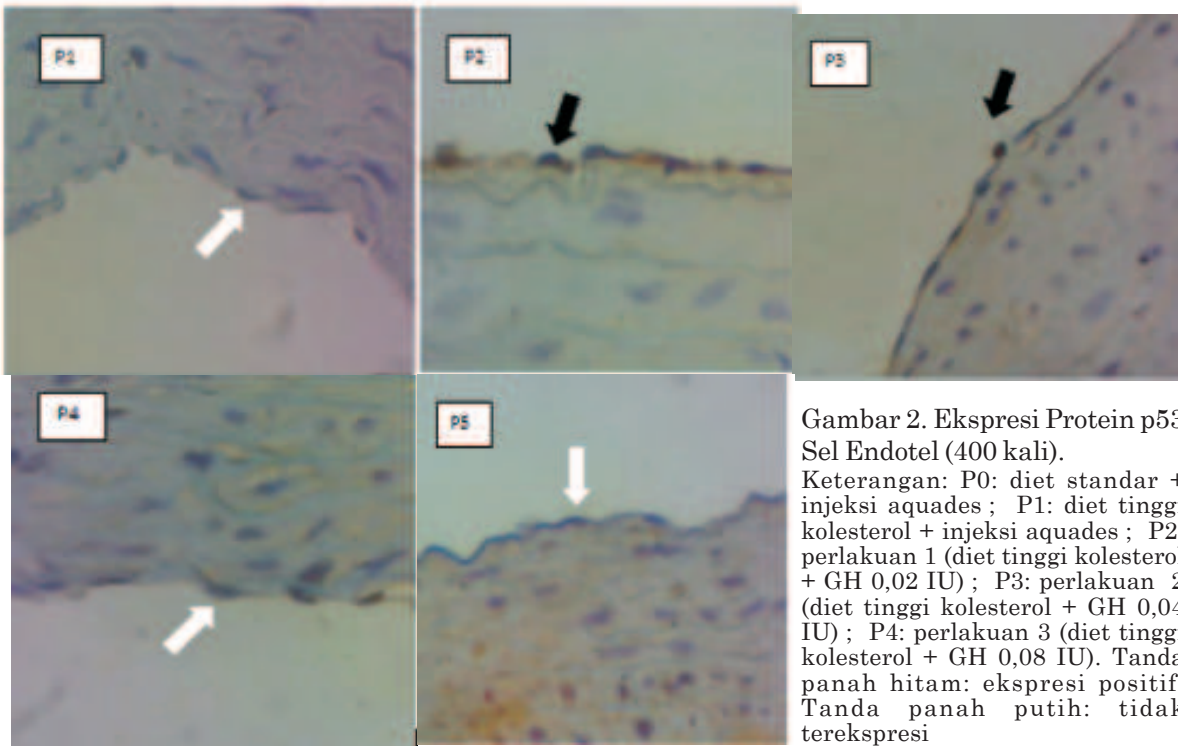
P0: diet standar + injeksi aquades ; P1: diet tinggi kolesterol + injeksi aquades ; P2: perlakuan 1 (diet tinggi kolesterol + GH 0,02 IU) ; P3: perlakuan 2 (diet tinggi kolesterol + GH 0,04 IU) ; P4: perlakuan 3 (diet tinggi kolesterol + GH 0,08 IU).  $p < 0,05$ .



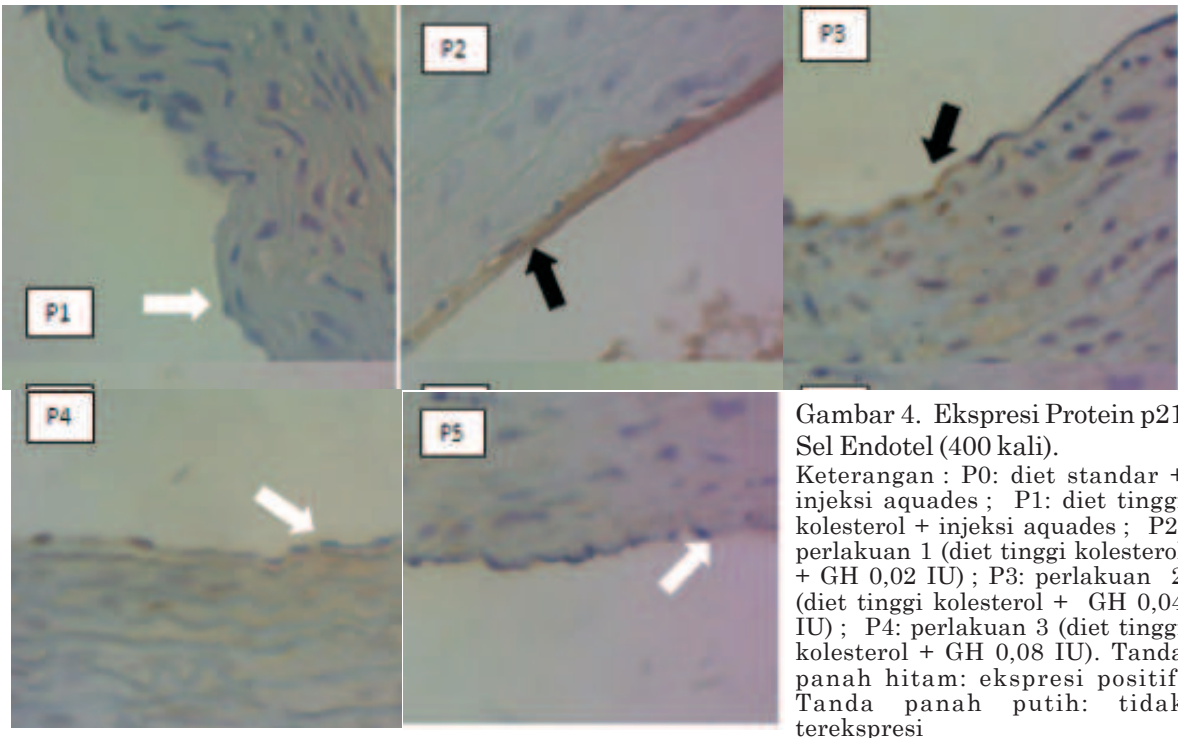
Gambar 3. Hasil Analisis Pengaruh *Growth Hormone* terhadap Ekspresi Protein p21 Sel Endotel

Keterangan :

P0: diet standar + injeksi aquades ; P1: diet tinggi kolesterol + injeksi aquades ; P2: perlakuan 1 (diet tinggi kolesterol + GH 0,02 IU) ; P3: perlakuan 2 (diet tinggi kolesterol + GH 0,04 IU) ; P4: perlakuan 3 (diet tinggi kolesterol + GH 0,08 IU).  $p < 0,05$ .



Gambar 2. Ekspresi Protein p53 Sel Endotel (400 kali).  
 Keterangan: P0: diet standar + injeksi aquades ; P1: diet tinggi kolesterol + injeksi aquades ; P2: perlakuan 1 (diet tinggi kolesterol + GH 0,02 IU) ; P3: perlakuan 2 (diet tinggi kolesterol + GH 0,04 IU) ; P4: perlakuan 3 (diet tinggi kolesterol + GH 0,08 IU). Tanda panah hitam: ekspresi positif, Tanda panah putih: tidak terekspresi



Gambar 4. Ekspresi Protein p21 Sel Endotel (400 kali).  
 Keterangan : P0: diet standar + injeksi aquades ; P1: diet tinggi kolesterol + injeksi aquades ; P2: perlakuan 1 (diet tinggi kolesterol + GH 0,02 IU) ; P3: perlakuan 2 (diet tinggi kolesterol + GH 0,04 IU) ; P4: perlakuan 3 (diet tinggi kolesterol + GH 0,08 IU). Tanda panah hitam: ekspresi positif, Tanda panah putih: tidak terekspresi



( $p < 0,05$ ). Rataan tingkat ekspresi p53 sel endotel dan hasil uji efek perlakuan pada kelompok kontrol dan perlakuan disajikan pada Gambar 1. Ekspresi p53 sel endotel positif dan negatif disajikan pada Gambar 2.

### **Pengaruh Growth Hormone Terhadap Ekspresi Protein p21 Sel Endotel**

Ekspresi protein p21 pada sel endotel aorta tikus jantan pada penelitian ini didapatkan berdistribusi normal dengan tes Saphiro Wilk ( $p > 0,05$ ) serta homogen dengan tes Levene ( $p > 0,05$ ). Uji efek perlakuan dengan sidik ragam satu jalan menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok perlakuan. Analisis lanjutan dengan LSD mendapatkan adanya perbedaan antara semua kelompok (Gambar 3). Ekspresi p21 disajikan pada Gambar 4.

Belum banyak penelitian yang membahas mengenai pengaruh GH terhadap p53 dan p21. Hasil penelitian ini didukung oleh hasil-hasil penelitian lain yang kebanyakan berasal dari data-data tak langsung. *Growth Hormone Releasing Hormone* (GHRH) diketahui menurunkan ekspresi p21/waf pada sel kanker epitelial paru (Volakaki *et al.*, 2008). Efek antagonis GHRH terhadap hambatan proliferasi sel dicapai melalui jalur p53/p21 (Stangelberger *et al.*, 2011). Antagonis GHRH meningkatkan ekspresi p53/p21 untuk menginduksi apoptosis (Wu *et al.*, 2010). Hormon tersebut juga menyebabkan kerusakan DNA yang berujung pada terhentinya siklus sel yang dimediasi oleh p21 (Hohla *et al.*, 2009). Penelitian lainnya juga menemukan ekspresi p53 menurun dengan pemberian GH pada pasien dengan *Human Immunodeficiency Virus* (Silva *et al.*, 2003).

Efek GH menurunkan ekspresi protein p53 dan p21 berarti adanya kemampuan GH untuk menghambat terhentinya siklus sel maupun apoptosis. Jalur p53 dan p21 merupakan salah satu jalur penting dari sinyal penuaan sel. Ini menunjukkan GH dapat mencegah penuaan dan kematian sel yang berujung pada disfungsi sel, jaringan, dan organ sehingga bermanifestasi pada gejala salah satunya pada proses penuaan. Aktivasi p21 yang terjadi akibat rangsangan p53 akan menyebabkan hambatan aktivasi kompleks CDK2 - *cyclin* E pada fase *Gap* 1 (G1). Hal ini akan menyebabkan pRb dalam status hipofosforilasi (aktif) sehingga tetap berikatan dengan golongan E2 *transcription factor* (E2F). Ikatan ini menyebabkan target transkripsionalnya tidak dapat diekspresikan dan terhentinya siklus sel (Jun dan Goligorsky, 2006).

Berdasarkan penelitian terdahulu (Ratnayanti *et al.*, 2012) GH diketahui dapat menghambat penuaan sel endotel, dengan demikian jalur ini dapat menjadi salah satu mekanisme GH dalam mencegah proses tersebut.

Mekanisme efek proliferasi GH belum sepenuhnya diketahui. Efek ini dihasilkan baik secara langsung oleh GH maupun oleh *Insulin Like Growth Factor I* (IGF-1). Kerusakan reseptor GH pada nukleus menyebabkan gangguan proliferasi sel (Conway-Campbell *et al.*, 2007). *Insulin Like Growth Factor I* juga diketahui menstimulasi proliferasi sel pada kultur (Kiepe *et al.*, 2005; Hikake *et al.*, 2009). Sebagian jalur transduksi sinyal GH baik secara langsung maupun melalui IGF-1 adalah melalui Ras/*Mitogen Activated Protein Kinase* (MAPK)/*Extracellular Signal-Regulated Kinase* (Erk) dan *Phosphoinositol-3-Kinase* (PI3K)/Akt (Lanning, 2010; Rollo, 2010). Jalur ini diketahui dapat menghambat aktivasi *Forkhead box O* (FOXO) sehingga menurunkan ekspresi p21 sebagai salah satu target transkripsi FOXO (Roy *et al.*, 2010). Efek terhadap p21 juga terjadi karena penurunan ekspresi p53. Namun, mekanisme GH dalam menurunkan p53 belum diketahui sehingga membutuhkan penelitian lebih lanjut.

Di sisi lain, sinyal penghentian siklus sel maupun apoptosis, salah satunya melalui jalur p53-p21 ini, dapat dipicu oleh adanya kerusakan DNA (Karimian *et al.*, 2016). Kerusakan DNA disebabkan oleh berbagai bahan biologi, fisik, maupun kimiawi seperti hormon stres, virus, sinar ultraviolet, dan bahan-bahan karsinogenik (Rastogi *et al.*, 2010; Poerier, 2012; Flint *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2014). Kerusakan DNA merupakan penyebab terjadinya berbagai macam kanker dan juga penyakit yang berhubungan dengan penuaan (Hoeijmaker, 2009). Dengan demikian penghentian siklus sel maupun apoptosis juga merupakan mekanisme pertahanan tubuh untuk mencegah proliferasi dari sel yang disfungsi. Jadi apakah efek GH dalam menurunkan ekspresi protein p53 dan p21 menguntungkan atau bahkan merugikan secara klinis masih harus dibuktikan.

### **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa GH dapat menurunkan ekspresi p53 dan p21 sel endotel. Jalur p53 dan p21 kemungkinan merupakan salah satu jalur target GH dalam menghambat penuaan sel.

## SARAN

Penelitian lebih lanjut dibutuhkan untuk mengetahui keterlibatan GH pada jalur penuaan sel lainnya, yaitu yang terkait telomere.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat terlaksana dengan bantuan dana dari Hibah Desentralisasi (No: 175.71/UN 14.2/PNL.01.03.00/2013) Direktorat Pendidikan Tinggi, Kementrian Ristek Dikti, Republik Indonesia dan Universitas Udayana. Hasil Penelitian ini telah dipresentasikan pada NASWAAM 2014, Denpasar Bali.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahn CW, Kim CS, Nam JH, Kim HJ, Nam JS, Park JS, Kang ES, Cha BS, Lim SK, Kim KR, Lee HC, Huh KB. 2006. Effects of growth hormone on insulin resistance and atherosclerotic risk factors in obese type 2 diabetic patients with poor glycaemic control. *Clin Endocrinol* 64(4): 444-449.
- Bai L dan Zhu WG. 2006. p53: Structure, Function and Therapeutic Applications. *JOCM* 2(4): 141-153.
- Chen Y, Williams V, Filippova M, Filippov V, Duerksen-Hughes P. Viral Carcinogenesis: Factors Inducing DNA Damage and Virus Integration. *Cancers (Basel)* 6(4): 2155-2186.
- Colao A, Di Somma C, Spiezia S, Savastano S, Rota F, Savanelli MC, Lombardi G. 2008. Growth Hormone Treatment on Atherosclerosis: Results of a 5-Year Open, Prospective, Controlled Study in Male Patients with Severe Growth Hormone Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 93(9): 3416-3424.
- Conway-Campbell BL, Wooh JW, Brooks AJ, Gordon D, Brown RJ, Lichanska AM, Chin HS, Barton CL, Boyle GM, Parsons PG, Jans DA, Waters MJ. 2007. Nuclear targeting of the growth hormone receptor results in dysregulation of cell proliferation and tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci* 104(33): 13331-13336.
- Csiszar A, Labinskyy N, Perez V, Recchia FA, Podlutzky A, Mukhopadhyay P, Losonczy G, Pacher P, Austad SN, Bartke A, Ungvari Z. 2008. Endothelial function and vascular oxidative stress in long-lived GH/IGF-deficient Ames dwarf mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 295: H1882-H1894.
- Erusalimsky JD, Skene C. 2009. Mechanisms of endothelial senescence. *Exp Physiol* 94(3): 299-304.
- Flint MS, Baum A, Episcopo B, Knickelbein KZ, Liegey Dougall AJ, Chambers WH, Jenkins FJ. 2013. Chronic exposure to stress hormones promotes transformation and tumorigenicity of 3T3 mouse fibroblasts. *Stress* 16(1): 114-121.
- Hikake T, Hayashi S, Iguchi S, Sato S. 2009. The role of IGF1 on the differentiation of prolactin secreting cells in the mouse anterior pituitary. *J Endocrinol* 203: 231-240.
- Hoeijmakers JHJ. 2009. DNA Damage, Aging, and Cancer. *N Engl J Med* 361: 1475-1485.
- Hohla F, Buchholz S, Schally AV, Seitz S, Rick FG, Szalontay L, Varga JL, Zarandi M, Halmos G, Vidaurre I, Krishan A, Kurtoglu M, Chandna S, Aigner E, Datz C. 2009. GHRH antagonist causes DNA damage leading to p21 mediated cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells. *Cell Cycle* 8(19): 3149-3156.
- Jian-Hua C, Ozzane SE, Hales CN. 2007. Methods of Cellular Senescence Induction Using Oxidative Stress. Dalam: *Biological Aging Methods and Protocol*. Tollefsbol TO (Ed). New Jersey. Humana Press Inc. Hlm. 179-189.
- Jun C, Goligorsky MS. 2006. Premature Senescence of Endothelial cells: Methusaleh's Dilemma. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290: H1729-H1739.
- Karimian A, Ahmadi Y, Yousefi B. 2016. Multiple functions of p21 in cell cycle, apoptosis and transcriptional regulation after DNA damage. *DNA Repair (Amst)* 42: 63-71.
- Kiepe D, Ciarmatori S, Hoeflich A, Wolf E, Tonshoff B. 2005. Insulin-Like Growth Factor (IGF)-I Stimulates Cell Proliferation and Induces IGF Binding Protein (IGFBP)-3 and IGFBP-5 Gene Expression in Cultured Growth Plate Chondrocytes via Distinct Signaling Pathways. *Endocrinol* 146(7): 3096-3104.
- Lanning NJ. 2010. Molecular Mechanisms Of Growth Hormone-Induced Signal Transduction And SH2B1-Mediated Regulation Of The Actin Cytoskeleton

- [Disertasi]. Michigan. University of Michigan. Diunduh dari: [http://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/75851/lan\\_ningn\\_1.pdf?sequence=1](http://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/75851/lan_ningn_1.pdf?sequence=1)
- Legatt RA, Brauner CJ, Iwama GK, Devlin RH. 2007. The glutathione antioxidant system is enhanced in growth hormone transgenic coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J Comp Physiol B* 177: 413-422.
- Madamanchi NR, Vendrov A, and Runge MS. 2005. Oxidative Stress and Vascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25: 29-38.
- Oliviera JL, Aguiar-Oliveira MH, D'Oliveira A Jr, Pereira RM, Oliveira CR, Farias CT, Barreto-Filho JA, Anjos-Andrade FD, Marques-Santos C, Nascimento-Junior AC, Alves EO, Oliveira FT, Campos VC, Ximenes R, Blackford A, Parmigiani G, Salvatori R. 2007. Congenital Growth Hormone (GH) Deficiency and Atherosclerosis: Effects of GH Replacement in GH-Naive Adults. *J Clin Endocrinol Metab* 92(12): 4664-4670.
- Poirier MC. 2012. Chemical-induced DNA damage and human cancer risk. *Discov Med* 14(77): 283-288.
- Rastogi RP, Richa, Kumar A, Tyagi MB, Sinha RP. 2010. Molecular Mechanisms of Ultraviolet Radiation-Induced DNA Damage and Repair. *J Nucleic Acids* 1-32.
- Ratnayanti I GAD. 2011. Growth Hormone Memperbaiki Profil Lipid dan Menurunkan Kadar Malondyaldehyde (MDA) Tikus Jantan yang Dislipidemia. [Tesis]. Denpasar. Universitas Udayana.
- Ratnayanti IGA, Sriwidayanti, Primayanti I. 2012. Pengaruh Growth Hormone Terhadap Plak Aterosklerosis dan Ekspresi p16INK4a Sel Endotel Aorta Tikus Jantan. Unpublished data.
- Rollo CD. 2010. Aging and the Mammalian Regulatory Triumvirate. *Aging Dis* 1(2): 105-138.
- Ronchi CL, Varca V, Beck-Peccoz P, Orsi E, Donadio F, Baccarelli A, Giavoli C, Ferrante E, Lania A, Spada A, Arosio M. 2006. Comparison between Six-Year Therapy with Long-Acting Somatostatin Analogs and Successful Surgery in Acromegaly: Effects on Cardiovascular Risk Factors. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 121-128.
- Roy SK, Srivastava RK, Shankar S. 2010. Inhibition of PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways causes activation of FOXO transcription factor, leading to cell cycle arrest and apoptosis in pancreatic cancer. *J Mol Sig* 5: 10
- Shi Q, Hornsby PJ, Meng Q, Vandenberg JF, Vandenberg JL. 2013. Longitudinal analysis of short-term high-fat diet on endothelial senescence in baboons. *Am J Cardiovasc Dis* 3(3): 107-119.
- Silva C, Zhang K, Tsutsui S, Holden JK, Gill MJ, Power C. 2003 Growth hormone prevents human immunodeficiency virus-induced neuronal p53 expression. *Ann Neurol* 54(5): 605-614.
- Stangelberger A, Schally A, Rick FG, Varga JF, Baker B, Zarandi M, Halmos G. 2012. Inhibitory effects of antagonists of growth hormone releasing hormone on experimental prostate cancers are associated with upregulation of wild-type p53 and decrease in p21 and mutant p53 proteins. *Prostate* 72(5): 555-565.
- Titterington JS, Sukhanov S, Higashi Y, Vaughn C, Bowers C, Delafontaine P. 2009. Growth Hormone-Releasing Peptide-2 Suppresses Vascular Oxidative Stress in ApoE<sup>-/-</sup> Mice But Does Not Reduce Atherosclerosis. *Endocrinology* 150(12): 5478-5548.
- Volakaki A, Lafkas D, Kassi E, Schally AV, Papavassiliou AG, Kiaris H. 2008. Essential role of p21/waf1 in the mediation of the anti-proliferative effects of GHRH antagonist JMR-132. *J Mol Endocrinol* 41: 389-392.
- Verhelst J, Abs R. 2009. Cholesterol and Lipoprotein Metabolism in Aging: Reversal of Cardiovascular risk factors in hypopituitary GH-deficient adults. *Eur J Endocrinol* 161: S41-S49.
- Wu HM, Schally AV, Cheng JC, Zarandi M, Varga J, Leung PC. 2010. Growth hormone-releasing hormone antagonist induces apoptosis of human endometrial cancer cells through PKC $\alpha$ -mediated activation of p53/p21. *Cancer Lett* 298(1): 16-25.
- Yayasan Jantung Indonesia. 2009. Penyakit Kardiovaskuler Dapat Dihindari. Available at: [www.yayasanjantungsehat.com](http://www.yayasanjantungsehat.com)