

## Original research papers

---

# ANALYSIS OF USEFULNESS OF MEASURING CONCENTRATIONS OF GROWTH HORMONE IN JUDOKAS' URINE AS AN INDICATOR OF PITUITARY HORMONE RESPONSE TO TRAINING

## *Growth hormone in urine vs. judokas' training*

ZBIGNIEW OBMİŃSKI

*Institute of Sport in Warsaw, Department of Endocrinology*

Mailing address: Zbigniew Obmiński, Institute of Sport, Department of Endocrinology, 16/2 Trylogii Street, 01-982 Warszawa, tel.: +48 22 8340812 ext. 259, fax: +48 22 8350977, e-mail: zbigniew.obminski@insp.waw.pl

### Abstract

**Introduction.** Determination of growth hormone in the blood (bGH) in athletes of different disciplines are often used in studies of pituitary response to physical efforts. They are used to assess the degree of fitness and detect early signs of overtraining. In pediatrics they are performed for indication of the hormone in urine (uGH), so as not to expose children to stress. The aim of this study was to analyze the usefulness of such determinations to assess the pituitary response in judokas to training of different intensities. **Material and methods.** Fourteen athletes practicing judo (23-28 years age, body weight 68-85) were examined during two different 1.5-hour training sessions, of higher (TH) and lower (TL) intensity of effort. UGH was determined in 3 h urine collection covering a total of 1.5 h training and 1.5 h post-workout restitution, and bGH and lactate (LA) in 45 and 90 minute of the workout. **Results.** Average concentrations of uGH, bGH and LA were statistically significantly higher during TH. In both training sessions uGH concentrations were several times lower than bGH. No correlation relationship was found between parameters in blood and urine separately in each training session. **Conclusions.** UGH determination in 3 h urine collection could be an alternative to bGH determination to assess the pituitary response to training.

**Keywords:** judo, training, growth hormone, blood, urine

### Introduction

In coaching practice it is required more and more often to monitor the physiological response to training efforts. Most transient biological reactions are observed in the blood, where the effort sensitive biochemical parameters are designated, such as lactate, glucose or the so called exercise stress hormones, such as steroid hormones, e.g. cortisol, testosterone, and peptides, such as insulin, growth hormone (GH). In the case of cortisol and testosterone levels for several decades noninvasive techniques of material collection for analysis are used, i.e. saliva and/or urine, while the measurement of peptide hormones in athletes is performed only in the blood. An interest in the marking of peptide hormones in the urine, especially GH of athletes, results from the diagnostic value of hormone measurements in assessing the degree of adaptation to maximal effort, and the fact that the concentration in urine may represent the profile of changes in blood concentration, the determination of which would require multiple sampling in the test time interval.

Scope of blood concentrations of GH at rest, in untrained persons is quite wide (0.1-3.3 ng/ml). It is caused by, among others, pulsatory secretion of the hormone and rapid half-life time in blood (about 20 min.) When the blood collection occurs on time of "pulse", the elevated level of GH is recorded. For this

reason, the determination of hormone in a sample of blood is hardly a measure of hormonal activity of the pituitary gland. Studies have shown that in some part of the examined athletes, blood levels of GH at rest, measured in the neutral conditions far exceed the limits at rest set for those not practicing. Sartorio et al. [1] studying the at rest concentrations of GH in the blood of athletes noted in 7 of 42 men the levels >3.6 ng/ml and in 7 of 35 women concentrations >9.5 ng/ml, and a very wide range of concentrations bGH in women (0.1-26.5 ng/ml) and men (0.1-16.0 ng/ml). This seems to confirm the episodic nature of GH secretion at rest. Furthermore, sex-specific differences were shown by comparing the relationship between GH concentration in the blood, and its level in urine [2]. Higher in women than in men blood levels of GH (4.2±5.1 vs. 0.3±0.8 ng/ml) corresponded to the sex-specific concentrations in the urine of 0.0030±0.0038 vs. 0.0014±0.0013 ng/ml. These results show that average concentrations in urine at rest are lower than in the blood, approximately 230 and 1400 times in men and women respectively. Quiescent parallelism between the concentrations in both fluids raises hopes of some scholars on the use of routine measurement of GH in urine to assess the hormonal activity of the pituitary gland. On the other hand, very low urine GH concentrations may become a barrier in routine application of analyses.

Aim of the study was two-fold: (i) to determine the changes in post-effort concentrations of growth hormone in blood serum (bGH) and urine (uGH) after 1.5 hours of judo practice sessions characterized by repetitive efforts of different intensities, (ii) to assess the real usefulness of uGH determination in athletes during training.

### Material and methods

A group of fourteen judo athletes (age 23-28 years, 68-85 kg body weight) was tested twice with a four day interval between tests, during the morning two 1.5 h training sessions, in randomized order. Each session was characterized by a variety of exercises, including two several minute, dominant high-intensity efforts, W1 and W2 performed in the middle (45 minutes), and at the end (90 minutes) of the workout. Intensity of efforts W1 and W2 in the same session was very similar, but differed in intensity between sessions. The TL session efforts W1 and W2 were less intense than in the TH session. Capillary blood was taken directly before a workout, and in the 4th minute after the first (W1) and after the second (W2) effort. Three-hour urine collection covered the total of 1.5 h training and 1.5 h post-training restitution. Frozen plasma and urine samples were stored until analysis. Urine and plasma samples were run in duplicates in the same sessions to avoid inter-assay errors. The analysis of GH in plasma and urine were determined by enzyme-immunoassay method (ELISA) using kit of reagents from DRG (GERMANY) used to measure bGH. After defrosting of the material, to a number of selected urine samples internal standard was added. All urine samples were dialyzed prior to analysis to remove contaminants that might interfere with the hormone, and then urine was concentrated 50 times by ultrafiltration gravity. The residue was resolved with determined volume of 0-standard samples. Dialysis and ultrafiltration was performed using Cole-Palmer's membranes separating particles with a mass > 10 000 Daltons. Relative within-assay error was 5.9 and 10.8% respectively for the bGH and uGH measurement, recovery ranged from 94 to 102%. The whole blood lactate concentration was determined with a set of Dr. Lange (Germany). Differences in GH concentrations in different blood drawings at the statistical significance  $p < 0.05$  were analyzed by one-way variance analysis method (ANOWA) with repeated measurements. The study report was approved by Ethics Committee at the Institute of Sport in Warsaw.

### Results

The results of determinations of growth hormone in urine and blood plasma, and blood lactate have been shown in Table 1.

The average rate of diuresis (urine volume/collection time) was about 1.5 times smaller than after the more intensive efforts. Although during the post-workout restitution the athletes did not have restrictions in water supply, after a TH session, 4 examined athletes due to a temporary inhibition of diuresis had to extend the period of 1.5 h post-workout urine collection by an additional 20-30 minutes. After the two practice sessions (TH and TL) relative inter-individual differences, expressed as a coefficient of variation  $CV\% = SD/X \times 100\%$  for the measurement of bGH were significantly lower than for uGH. In no training session there was correlation between the uGH and the average of two measurements of bGH concentration (for TL,  $r = 0.102$ , for TH,  $r = 0.134$ ). Similarly, no significant correlation between bGH and LA in each session was noted. Analysis of data combined from both sessions ( $n = 28$ ) showed a significant ( $p < 0.05$ ) correlation between bGH and LA ( $r = 0.578$ ) and bGH and uGH ( $r = 0.423$ ). The results of these cal-

**Table 1.** GH levels (ng/ml) in plasma and blood lactate (mmol /L) after two training efforts (W1, W2) and growth hormone in the 3-hour urine collection over a period of 1.5 h training session with a lower (TL) and higher (TH) intensity and 1.5 h after training in judo competitors restitution

Training sessions	Blood concentration					Urine concentration
	Before training	Growth hormone		Lactate		Growth hormone
		W1	W2	W1	W2	
TL	0.4±0.4 (0.1-1.2)	9.3±4.9 (4.6-14.8)	9.1±4.1 (6.4-12.4)	8.2±2.1 (7.0-11.8)	9.7±2.3 (7.8-12.2)	0.06±0.05 (0.03-0.14)
TH	0.7±1.0 (0.1-3.4)	14.3±6.6* (8.5-24.5)	13.1±7.1* (9.5-23.4)	12.6±2.3* (10.2-16.8)	13.2±3.2* (11.8-16.8)	0.17±0.15* (0.11-0.31)

\* -  $p < 0.05$  differences of average concentrations between the sessions  
W1, W2 - first and second effort

culations may imply no direct cause-effect link between the bGH and LA response in answer to similar efforts in different people, but independent from each other increased bGH and LA reactions induced by the increase in the intensity of training efforts. With an increase in the intensity of effort, less relative increase of bGH (49%) has been noted, as compared with the change of uGH (183%).

### Discussion

As mentioned earlier, the individual concentrations of bGH at rest during the day in adults, both non-practicing, as well as in athletes, are very diverse. A significant proportion of the results observed in the present study and equal 0.1 ng/ml is at the same time the threshold of detection for the used analytical test ELISA. Meanwhile uGH levels at rest are hundreds of times lower than in blood. In the 24 h urine collection at rest, the hormone level range from 0.002 to 0.005 ng/ml [3]. For this reason, in this work there was no attempt to determine uGH at rest, because even after concentration of samples by ultrafiltration uGH levels would be below the detection threshold.

There was no correlation shown between the concentrations of the hormone in urine and blood, neither after the less or the more intense session. Other authors have noted a variable relationship at rest when comparing the average bGH concentration profile covering the period of 24 hours or overnight (8 hours) urine collection with the value uGH [4, 5, 6], and a significant correlation between the concentrations of the hormone in blood and urine after exercise [7]. Reasons for the lack of correlation between bGH and uGH in the present study may be various. One of them is only two measurements of bGH per 3-hour period of urine collection. In this case, "instantaneous" concentrations of the hormone in the blood are not representative for the 3-hour profile of changes in concentrations in the blood. Recorded in the present study a higher concentration of uGH after more intense training session (TH) can be explained by higher concentrations of the hormone in the blood. It should be noted that the concentration ratio bGH/uGH was higher (115) after less intensive session (TL), than after more intensive (63) effort. This may suggest that for the level of uGH not only hormone levels in the blood are responsible, but also the phenomenon of post-workout exercise-induced proteinuria, i.e. an increased urinary excretion of total protein, which increases with the intensity of training exercise. However, since the total protein in the urine was not determined in this experiment, it is difficult to estimate the share of proteinuria in an increased excretion in the urine growth hormone.

Such complex mechanisms affecting the post-workout urine concentrations of peptide hormones may raise objections as to the suitability of post-effort uGH marking in the evaluation of pituitary hormone secretory reserve. On the other hand, measurements of post effort GH concentrations in other body fluids such as urine or saliva, can illustrate the level of this fraction of GH, which is as unrelated to the specific binding protein and lower molecular weight is more easily excreted from the circulation to target tissues and which is considered to be biologically active. The literature describes only a few effort experiments with parallel determinations of bGH and uGH, and there is no assessment of the intensity of effort applied and blood lactate determinations so it is difficult to compare the results with those presented in this paper. Sartorio et al. [7] noted in healthy children (7.2-13.1 years) the post-effort bGH increase to a value of 11.4 ng/ml (an increase of 571%), while the level uGH increased only from 0.0052 to 0.0072 ng/ml. Such small increase and relatively low levels of growth hormone after exercise in the said work might result from the uniform, 15-minute submaximal exercise, the intensity of which corresponded to 80% of VO<sub>2</sub> maximal oxygen uptake.

Comparison of the relative values and standard deviations, expressed by coefficients of variation showed that inter-individual differences in urine test results are higher than in blood. Inter-individual coefficients of variation (CV%) for bGH after W1 and W2 efforts in the TL and TH training were respectively 53, 45, 46 and 54%, while for the uGH after TL and TH – respectively 83 and 88%. This suggests that the concentration of growth hormone in urine has additional, independent of secretion sources of variation, such as the aforementioned renal function. According to some scholars, such volatility reduces the value of diagnostic tests of growth hormone in urine [8, 9]. Despite these reservations, it appears that the uGH determination in 3 hours urine collection, covering a period of repeated training exercise with a very high intensity together with the post-workout restitution can bring more information about the average activity of the pituitary gland in the tested interval of time, than the determination of growth hormone in two samples of blood, which reveal only temporary hormonal status. Observed in most subjects the periodic inhibition of diuresis visible immediately after an intense training session was probably caused by the action of antidiuretic hormone (vasopressin). For this reason, studies of growth hormone in urine after judo training require urine collection extended by short-term post-effort restitution. These results suggest the need for continuing research on growth hormone levels in urine after training and starting effort in athletes in other disciplines, with a parallel improvement of analytical techniques.

### Conclusions

1. A typical training session in judo results in a multiple increase in the concentration of growth hormone in the blood, it is greater the greater the intensity of the repeated efforts of training.
2. Inter-individual variability of post-effort concentration is greater for uGH than the bGH.
3. Due to many factors, post-workout uGH concentration does not correspond to the image of the hormone in the blood based on a small number of bGH determinations.
4. Effort uGH stress concentrations are lower than the value of bGH, which in case of applied analytical assay (ELISA) requires time-consuming procedure prior to measurement.
5. One and a half hour training session with a high-intensity causes transient inhibition of diuresis, thus obtaining the material for the determination of growth hormone in urine requires urine collection extension by 20-30 minutes.

### Literature

1. Sartorio A., Marazzi N., Agosti F., Faglia G., Corradini C., De Palo E., et al. (2004) Elite volunteer athletes of different sport disciplines may have elevated baseline GH levels divorced from unaltered levels of both IGF-1 and GH-dependent bone and collagen markers: a study on-the-field. *J. Endocrinol. Invest.*, 27, 410-415.
2. Cappellin E., Gatti R., De Palo E.F. (1999) Influence of gender in growth hormone status in adults: Role of urinary growth hormone. *Clin. Chem.*, 45, 443-444.
3. Porquet D., Rigal O., Brion D.E., Valade F., Leger J., Czernichow P. (1992) Direct double monoclonal immunoradiometric assay of urinary human growth hormone. *Clin. Chem.*, 38,1717-1721.
4. Albini C.H., Sotos J., Sherman B., Johanson A., Celniker A., Hopwood N., et al. (1991) Diagnostic significant of urinary growth hormone measurements in children with growth failure: correlation between serum and urine growth hormone. *Pediatr. Res.*, 29, 619-622.
5. Hokken-Koelega A.C., Hackeng W.H., Stijnen T., Wit J.M., de Muinck Keijzer-Schrama S.M., Drop S.L. (1990) Twenty-four-hour plasma growth hormone (GH) profiles, urinary GH excretion, and plasma insulin like growth factor-I and -II levels in pre pubertal children chronic renal insufficiency and severe growth hormone retardation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 71, 688-695.
6. Moreira-Andrés M.N., Cañizo F.J., Hawkins F. (1993) Is there a place for urinary growth hormone measurement? *Acta Endocrinol (Copenh.)*, 128, 197-201.
7. Sartorio A., Palmieri E., Vangeli V., Conte G., Narici M., Faglia G. (2001) Plasma and urinary GH following a standardized exercise protocol to assess GH production in short children. *J. Endocrinol Invest.*, 24, 515-521.
8. Legér J., Reverchon C., Porquet D., Noël M., Czernichow P. (1995) The wide variation in urinary excretion of human growth hormone in normal growing and growth hormone-deficient children limits its clinical usefulness. *Horm. Res.*, 44, 57-63.
9. Thalange N.K., Gill M.S., Gill L., Whatmore A.J., Addison G. M., Price D.A., et al. (1996) Infradian rhythms in urinary growth hormone excretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81, 100-106.

Submitted: February 18, 2010

Accepted: March 26, 2010

# ANALIZA UŻYTECZNOŚCI POMIARÓW STĘŻEŃ HORMONU WZROSTU W MOCZU JUDOKÓW JAKO WSKAŹNIKA HORMONALNEJ REAKCJI PRZYSADKI MÓZGOWEJ NA TRENING

## *Hormon wzrostu w moczu a trening judoków*

ZBIGNIEW OBMİŃSKI

*Instytut Sportu w Warszawie, Zakład Endokrynologii*

Adres do korespondencji: Zbigniew Obmiński, Instytut Sportu, Zakład Endokrynologii, ul. Trylogii 16/2, 01-982 Warszawa, tel.: 22 8340812 wew. 259, fax: 22 8350977, e-mail: zbigniew.obminski@insp.waw.pl

### Streszczenie

**Wprowadzenie.** Oznaczenia hormonu wzrostu we krwi (bGH) u sportowców różnych dyscyplin stosowane są często w badaniach odpowiedzi przysadki mózgowej na wysiłki fizyczne. Służą one do oceny stopnia wytrenowania i wykrywania wczesnych symptomów przetrenowania. W pediatrii wykonywane są oznaczenia hormonu w moczu (uGH), po to, by nie narażać na stres dzieci. Celem pracy była próba analizy przydatności takich oznaczeń do oceny reakcji przysadki mózgowej u judoków na trening o różnej intensywności. **Materiał i metody.** Czternastu zawodników trenujących judo (wiek 23-28 lat, masa ciała 68-85) zbadano w czasie dwóch 1,5 godzinnych różnych sesji treningowych, o większej (TH) i mniejszej (TL) intensywności wysiłków. Oznaczano uGH w 3 h zbiórkach moczu obejmujących łącznie 1,5 h treningu i 1,5 h potreningową restrykcję, oraz bGH i mleczan (LA) w 45 i 90 minucie treningu. **Wyniki.** Średnie stężenia uGH, bGH i LA były statystycznie znacząco wyższe w czasie TH. W obu sesjach treningowych stężenia uGH były wielokrotnie niższe od bGH. Nie odnotowano zależności korelacyjnych pomiędzy parametrami we krwi i w moczu osobno w każdej sesji treningowej. **Wnioski.** Oznaczenia uGH w 3 h zbiórce moczu mogłyby być alternatywą wobec oznaczeń bGH do oceny reakcji przysadki mózgowej na trening.

**Słowa kluczowe:** judo, trening, hormon wzrostu, krew, mocz

### Wstęp

W praktyce trenerskiej coraz częściej wymagane jest monitorowanie reakcji fizjologicznych na wysiłki treningowe. Większość chwilowych reakcji biologicznych obserwuje się we krwi, gdzie oznaczane są biochemiczne parametry wrażliwe na wysiłek np. mleczan, glukoza lub tzw. hormony stresu wysiłkowego, np. hormony, steroidowe jak kortyzol, testosteron, oraz peptydowe, np. insulina, hormon wzrostu (GH). W przypadku kortyzolu i testosteronu od kilku dekad rutynowo stosowane bywają bezinwazyjne techniki pobrania materiału do analiz, tj. ślina i/lub mocz, podczas gdy pomiary hormonów peptydowych u sportowców wykonywane są jedynie we krwi. Zainteresowanie możliwością oznaczeń w moczu hormonów peptydowych, zwłaszcza GH u sportowców, wynika z wartości diagnostycznej pomiarów tego hormonu w ocenie stopnia adaptacji do maksymalnych wysiłków, oraz z faktu, że stężenie w moczu może reprezentować profil zmian stężenia we krwi, którego wyznaczenie wymagałoby wielokrotnego pobierania próby w badanym interwale czasowym.

Zakres spoczynkowych stężeń we krwi GH u nie trenujących jest dość szeroki (0,1-3,3 ng/ml). Spowodowane to jest m.in. pulsacyjną sekrecją hormonu i szybkim czasem połowicznego zaniku we krwi (ok. 20 min.). Gdy pobranie krwi przypadnie na moment „pulsu” rejestruje się wtedy podwyższony poziom GH. Z tego powodu oznaczenie hormonu w jednej próbce krwi trudno uznać za miarę hormonalnej aktywności przysadki mózgowej. Badania wykazały, że u pewnej części badanych sportowców spoczynkowe poziomy we krwi GH mie-

rzane w warunkach neutralnych znacznie przekraczają spoczynkowe wartości graniczne wyznaczone dla osób nie trenujących. Sartorio i wsp. [1] badając spoczynkowe stężenia GH we krwi u sportowców odnotowali u 7 z 42 badanych mężczyzn poziomy >3,6 ng/ml, a u 7 z 35 kobiet stężenia >9,5 ng/ml, oraz bardzo szeroki zakres stężeń bGH u kobiet (0,1-26,5 ng/ml) i u mężczyzn (0,1-16,0 ng/ml). To zdaje się potwierdzać epizodyczny charakter spoczynkowej sekrecji GH. Ponadto zależne od płci różnice wykazano porównując zależności między stężeniem GH we krwi, a jego poziomem w moczu [2]. Wyższe u kobiet niż u mężczyzn stężenia GH we krwi (4,2±5,1 vs 0,3±0,8ng/ml) odpowiadały adekwatnym do płci stężeniom w moczu 0,0030±0,0038 vs 0,0014±0,0013 ng/ml. Przytoczone wyniki pokazują, że spoczynkowe średnie stężenia są w moczu niższe niż we krwi, ok. 230 i 1400 razy, odpowiednio u mężczyzn i u kobiet. Spoczynkowy paralelizm pomiędzy stężeniami w obu płynach ustrojowych budzi nadzieje u niektórych badaczy na wykorzystanie rutynowych pomiarów GH w moczu do oceny hormonalnej czynności przysadki mózgowej. Z drugiej strony bardzo niskie stężenia GH w moczu mogą być barierą w rutynowym zastosowaniu analiz.

Cel pracy był podwójny: (i) określenie zmian w powysiłkowych stężeniach hormonu wzrostu w surowicy krwi (bGH) i w moczu (uGH) po 1,5 h sesjach treningowych judo charakteryzujących się powtarzanymi wysiłkami o różnej intensywności, (ii) ocena realnej przydatności oznaczeń uGH u sportowców w czasie treningu.

## Material i metody

Grupa czternastu zawodników judo (wiek 23-28 lat, masa ciała 68-85 kg) była badana dwukrotnie z 4 dniową przerwą między badaniami, w czasie dwóch przedpołudniowych 1,5 h sesji treningowych, w losowo wybranej kolejności. Każda z sesji charakteryzowała się różnorodnymi ćwiczeniami, w tym dwoma kilkuminutowymi, dominującymi wysiłkami o znacznej intensywności W1 i W2 wykonanymi odpowiednio w połowie (45 minuta), oraz na zakończenie (90 minuta) treningu. Intensywności wysiłków W1 i W2 wykonanych w tej samej sesji były do siebie zbliżone, ale różniły się intensywnością między sesjami. W sesji TL wysiłki W1 i W2 były mniej intensywne niż sesji TH. Krew kapilarną pobrano bezpośrednio przed treningiem, oraz w 4 minucie po pierwszym (W1) i po drugim (W2) wysiłku. Trzygodzinna zbiórka moczu obejmowała łącznie 1,5 h trening i 1,5 h po treningową restytucję. Zamrożone próbki osocza i moczu przechowywano do momentu analiz. Próbki moczu i osocza analizowano w duplikatach w tych samych seriach w celu uniknięcia błędów między seryjnych. Analizę GH w osoczu i moczu wykonano metodą enzymatyczno-immunologiczną (ELISA) przy użyciu zestawu odczynników firmy DRG (GERMANY) stosowanego do pomiarów bGH. Po rozmrożeniu materiału do kilku wybranych próbek moczu dodano standardu wewnętrznego. Wszystkie próbki moczu przed analizą były dializowane w celu usunięcia zanieczyszczeń mogących interferować z hormonem, a następnie mocz 50-krotnie zateżono metodą grawitacyjnej ultrafiltracji. Pozostałość była rozpuszczona w określonej objętości standardu o zerowym stężeniu. Dializę i ultrafiltrację przeprowadzono przy użyciu membrany firmy Cole-Palmer separującej cząsteczki o masie >10 000 Daltonów. Względny błąd wewnątrzseryjny wyniósł 5,9 i 10,8% odpowiednio dla pomiarów bGH i uGH, wartość odzysku wahała się od 94 do 102%. W pełnej krwi oznaczano stężenie mleczanu zestawem Dr Lange (GERMANY). Różnice stężeń GH w różnych pobraniach krwi przy statystycznej istotności  $p < 0,05$  analizowano metodą jednokierunkowej analizy wariancji (ANOWA) z powtarzanymi pomiarami. Protokół badań został zatwierdzony przez Komisję etyczną przy Instytucie Sportu w Warszawie.

## Wyniki

Wyniki oznaczeń hormonu wzrostu w moczu i w osoczu krwi oraz mleczanu we krwi przedstawiono w Tabeli 1.

**Tabela 1.** Stężenia hormonu wzrostu (ng/ml) w osoczu krwi oraz mleczanu we krwi (mmol/L) po dwóch wysiłkach treningowych (W1, W2) oraz stężenie hormonu wzrostu w 3-godzinnych zbiórkach moczu obejmujących okres 1,5 h sesji treningowych o niższej (TL) i wyższej (TH) intensywności oraz 1,5 h po treningową restytucję u zawodników judo

Sesje treningowe	Stężenie we krwi					Stężenie w moczu
	Hormon wzrostu			Mleczan		Hormon wzrostu
	Przed treningiem	W1	W2	W1	W2	
TL	0,4±0,4 (0,1-1,2)	9,3±4,9 (4,6-14,8)	9,1±4,1 (6,4-12,4)	8,2±2,1 (7,0-11,8)	9,7±2,3 (7,8-12,2)	0,06±0,05 (0,03-0,14)
TH	0,7±1,0 (0,1-3,4)	14,3±6,6* (8,5-24,5)	13,1±7,1* (9,5-23,4)	12,6±2,3* (10,2-16,8)	13,2±3,2* (11,8-16,8)	0,17±0,15* (0,11-0,31)

\* -  $p < 0,05$  różnice średnich stężeń między sesjami  
W1, W2 – wysiłek pierwszy i drugi

Średnia szybkość diurezy (objętość moczu/czas zbiórki) była około 1,5 razy mniejsza po wysiłkach bardziej intensywnych. Pomimo że zawodnicy w czasie powysiłkowej restytucji nie mieli ograniczeń w nawadnianiu, po sesji TH u 4 badanych z powodu przejściowego zahamowania diurezy trzeba było wydłużyć okres 1,5 h powysiłkowej zbiórki moczu o dodatkowe 20-30 minut. Po obu sesjach treningowych (TH i TL) względne między-osobnicze różnice wyrażone współczynnikiem zmienności  $CV\% = SD/X \times 100\%$  były dla pomiarów bGH znacznie mniejsze niż dla uGH. W żadnej sesji treningowej nie odnotowano korelacji pomiędzy uGH a średnim z dwóch pomiarów stężeniem bGH (dla TL,  $r=0,102$ , dla TH,  $r=0,134$ ). Podobnie nie odnotowano znaczących zależności pomiędzy bGH a LA w każdej sesji. Analiza połączonych danych z obu sesji ( $n=28$ ) wykazała znaczącą ( $p < 0,05$ ) korelację pomiędzy bGH a LA ( $r=0,578$ ) oraz bGH a uGH ( $r=0,423$ ). Wyniki tych obliczeń mogą sugerować brak bezpośredniego związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy reakcją bGH a LA w odpowiedzi na podobne wysiłki u różnych osób, ale niezależne od siebie zwiększone reakcje bGH i LA wywołane wzrostem intensywności treningowych wysiłków. Ze wzrostem intensywności wysiłków odnotowano mniejszy względny wzrost bGH (o 49%) w porównaniu ze zmianą uGH (183%).

## Dyskusja

Jak wspomniano wcześniej, indywidualne stężenia bGH w spoczynku w ciągu dnia u dorosłych osób, zarówno nie trenujących, jak i u sportowców są bardzo zróżnicowane. Znaczny odsetek obserwowanych w prezentowanej pracy wyników wynoszący 0,1 ng/ml jest jednocześnie progiem detekcji dla stosowanego testu analitycznego ELISA. Tymczasem spoczynkowe stężenia uGH są setki razy niższe niż we krwi. W spoczynkowej, 24 h zbiórce moczu poziom hormonu waha się od 0,002-0,005 ng/ml [3]. Z tego powodu w niniejszej pracy nie podjęto próby oznaczania uGH w spoczynku, gdyż nawet po zateżeniu próbek metodą ultrafiltracji poziomy uGH byłoby niższe od progu detekcji.

Nie wykazano korelacji między stężeniami hormonu w moczu i we krwi, ani po sesji mniej ani po bardziej intensywnej. Inni autorzy odnotowali znamiennej zależność w spoczynku, gdy porównywano średni profil stężeń bGH obejmujący okres 24 h lub nocnej (8 h) zbiórki moczu z wartością uGH [4, 5, 6], oraz znaczącą korelację pomiędzy stężeniami hormonu we krwi i w moczu po wysiłku [7]. Przyczyny braku korelacji pomiędzy bGH i uGH w prezentowanej pracy mogą być wielorakie. Jedną z nich to jedynie dwa pomiary bGH przypadające na 3-godzinny okres zbiórki moczu. W takim przypadku „chwilowe” stężenia hormonu we krwi nie są reprezentatywne dla 3-godzinnego profilu zmian stężeń we krwi. Odnotowane w prezentowanych badaniach większe stężenie uGH po bardziej intensywnej sesji treningowej (TH) można tłumaczyć wyższymi stężeniami hormonu we krwi. Warto jednak zauważyć, że stosunek stężeń bGH/uGH był wyższy (115) po mniej intensywnej sesji (TL), niż po bardziej (63) intensywnych wysiłkach. Fakt ten może sugerować, że za poziom uGH odpowiadają nie tylko stężenia hormonu we krwi, ale także zjawisko powysiłkowej proteinurii tj. zwiększonego powysiłkowego wydalania z moczem całkowitego białka, które nasila się wraz z intensywnością wysiłków treningowych. Ponieważ jednak całkowite białko w moczu nie było oznaczane w tym eksperymencie, stąd trudno oszacować udział proteinurii w zwiększonym wydalaniu z moczem hormonu wzrostu.

Tak złożone mechanizmy wpływające na powysiłkowe stężenia w moczu hormonów peptydowych mogą budzić zastrzeżenia, co do przydatności powysiłkowych oznaczeń uGH w ocenie hormonalnej rezerwy wydzielniczej przysadki. Z drugiej

strony pomiary powysiłkowych stężeń GH w innych płynach ustrojowych np. moczu lub ślinie, mogą obrazować poziom tej frakcji GH, która jako niezwiązana ze specyficznym białkiem wiążącym i o mniejszej masie molekularnej łatwiej przenika z krążenia do tkanek docelowych i którą uznaje się za biologicznie czynną. W literaturze opisano jedynie kilka wysiłkowych eksperymentów z wykorzystaniem równoległych oznaczeń bGH i uGH, ponadto brak oceny intensywności zastosowanych wysiłków i oznaczeń mleczanu we krwi utrudnia porównanie wyników z prezentowanymi w niniejszej pracy. Sartorio i wsp. [7] odnotowali u zdrowych dzieci (7,2-13,1 lat) powysyłkowy wzrost bGH do wartości 11,4 ng/ml (wzrost o 571%), podczas gdy poziom uGH zwiększył się jedynie z 0,0052 do 0,0072 ng/ml. Tak mały wzrost i względnie niskie stężenia hormonu wzrostu po wysiłku we wspomnianej pracy mogły wynikać z jednostajnego, 15-minutowego submaksymalnego wysiłku, którego intensywność odpowiadała 80%  $\text{VO}_2$  maksymalnego poboru tlenu.

Porównanie względnych wartości odchyżeń standardowych, wyrażonych współczynnikami zmienności (coefficient of variations) wykazało, że między-osobnicze różnice wyników badań w moczu są większe niż we krwi. Współczynniki zmienności między-osobniczej (CV%) dla bGH po wysiłkach W1 i W2 w treningach TL i TH wyniosły odpowiednio 53, 45, 46 i 54% natomiast dla uGH po TL i TH odpowiednio 83 i 88%. To sugeruje, że stężenia hormonu wzrostu w moczu mają dodatkowe, niezależne od sekrecji źródła zmienności, jak choćby wspomniana wcześniej funkcja nerek. Według niektórych badaczy tak duża zmienność obniża wartość diagnostyczną badań hormonu wzrostu w moczu [8, 9]. Mimo tych zastrzeżeń można sądzić, że oznaczenie uGH w 3 h zbiorce moczu obejmującej okres wielokrotnie powtarzanych wysiłków treningowych o bardzo dużej intensywności łącznie z potreningową restytucją może wnieść więcej informacji o średniej aktywności przysadki mózgowej w badanych interwałach czasu, niż oznaczenia hormonu wzrostu w dwóch próbkach krwi, które ujawniają jedynie chwilowy status hormonalny. Obserwowane u większości badanych okresowe zahamowanie diurezy widoczne bezpośrednio po intensywnej sesji treningowej było prawdopodobnie spowodowane działaniem hormonu antydiuretycznego (wazopresyny). Z tego powodu badania hormonu wzrostu w moczu po treningu judo wymagają wydłużenia zbiórki o krótkoterminową powysyłkową restytucję. Uzyskane wyniki sugerują potrzebę kontynuacji badań nad stężeniem hormonu wzrostu w moczu po wysiłkach treningowych i startowych u sportowców innych dyscyplin, z równoległym doskonaleniem technik analitycznych.

### Wnioski

1. Typowa sesja treningowa w judo powoduje wielokrotny wzrost stężenia hormonu wzrostu we krwi, tym większy im większa jest intensywność powtarzanych wysiłków treningowych.
2. Między osobnicza zmienność powysyłkowych stężeń jest większa dla uGH niż bGH.
3. Z powodu wielu czynników powysyłkowe stężenie uGH nie odpowiada obrazowi hormonu we krwi opartemu na małej liczbie oznaczeń bGH.
4. Wysyłkowe stężenia uGH są wielokrotnie niższe od wartości bGH, co przy zastosowanym teście analitycznym (ELISA) wymaga czasochłonnej procedury poprzedzającej pomiar.
5. Półtoragodzinna sesja treningowa o znacznej intensywności wywołuje przejściowe zahamowanie diurezy, dlatego uzyskanie materiału do oznaczania hormonu wzrostu w moczu wymaga przedłużenia zbiórki o 20-30 minut.

### Piśmiennictwo

1. Sartorio A., Marazzi N., Agosti F., Faglia G., Corradini C., De Palo E., et al. (2004) Elite volunteer athletes of different sport disciplines may have elevated baseline GH levels divorced from unaltered levels of both IGF-1 and GH-dependent bone and collagen markers: a study on-the-field. *J. Endocrinol. Invest.*, 27, 410-415.
2. Cappellin E., Gatti R., De Palo E.F. (1999) Influence of gender in growth hormone status in adults: Role of urinary growth hormone. *Clin. Chem.*, 45, 443-444.
3. Porquet D., Rigal O., Brion D.E., Valade F., Leger J., Czernichow P. (1992) Direct double monoclonal immunoradiometric assay of urinary human growth hormone. *Clin. Chem.*, 38, 1717-1721.
4. Albini C.H., Sotos J., Sherman B., Johanson A., Celniker A., Hopwood N., et al. (1991) Diagnostic significance of urinary growth hormone measurements in children with growth failure: correlation between serum and urine growth hormone. *Pediatr. Res.*, 29, 619-622.
5. Hokken-Koelega A.C., Hackeng W.H., Stijnen T., Wit J.M., de Muinck Keijzer-Schrama S.M., Drop S.L. (1990) Twenty-four-hour plasma growth hormone (GH) profiles, urinary GH excretion, and plasma insulin like growth factor-I and -II levels in pre pubertal children chronic renal insufficiency and severe growth hormone retardation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 71, 688-695.
6. Moreira-Andrés M.N., Cañizo F.J., Hawkins F. (1993) Is there a place for urinary growth hormone measurement? *Acta Endocrinol (Copenh.)*, 128, 197-201.
7. Sartorio A., Palmieri E., Vangeli V., Conte G., Narici M., Faglia G. (2001) Plasma and urinary GH following a standardized exercise protocol to assess GH production in short children. *J. Endocrinol. Invest.*, 24, 515-521.
8. Legér J., Reverchon C., Porquet D., Noël M., Czernichow P. (1995) The wide variation in urinary excretion of human growth hormone in normal growing and growth hormone-deficient children limits its clinical usefulness. *Horm. Res.*, 44, 57-63.
9. Thalange N.K., Gill M.S., Gill L., Whatmore A.J., Addison G.M., Price D.A., et al. (1996) Infradian rhythms in urinary growth hormone excretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81, 100-106.

Otrzymano: 18.02.2010

Przyjęto: 26.03.2010