

Test z insuliną, z glukagonem oraz z arginina/insuliną na wydzielanie hormonu wzrostu — wykonanie testów i ich interpretacja

Adam Dudek, Marek Niedziela

Poradnia Endokrynologiczna dla Dzieci, Szpital Wojewódzki nr 2 w Rzeszowie
Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Adres do korespondencji: Adam Dudek, Szpital Wojewódzki nr 2 w Rzeszowie, ul. Lwowska 60, 35-301 Rzeszów, e-mail: dudek.ad@wp.pl

Słowa kluczowe: hormon wzrostu, test hipoglikemii poinsulinowej, test z glukagonem
Key words: growth hormone, insulin tolerance test (ITT), glucagon stimulation test

STRESZCZENIE/ABSTRACTS

Celem pracy było omówienie hipoglikemicznych testów stymulujących wydzielanie hormonu wzrostu, stosowanych w trakcie diagnostyki dzieci niskorosłych. Przedstawiono mechanizm działania, sposób wykonania i interpretację testu z insuliną (*Insuline Tolerance Test*; ITT), testu z glukagonem oraz testu z arginina/insuliną. Zwrócono uwagę na zalety obu testów hipoglikemicznych oceniających dodatkowo wydzielanie osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej, ale też na trudności i niebezpieczeństwa związane z ich wykonywaniem.

The aim of the paper is to describe growth hormone hypoglycemic stimulation tests carried out in the diagnostics of short stature in children. The mechanism of action, mode of performance and interpretation of insulin tolerance test (ITT), glucagon stimulation test and Arginine/Insulin Tolerance Test are presented. Special attention is paid to advantages of both hypoglycemic tests enabling additionally to evaluate hypothalamic-pituitary-adrenal axis as well as to difficulties and dangers attributed to the performance of both tests.

Wstęp

Czynnikiem, który odgrywa istotną rolę w niedoborze wzrostu, jest **hormon wzrostu (GH)**. Ten polipeptyd, syntetyzowany i wydzielany przez komórki somatotropowe przedniego płata przysadki, jest wydzielany cyklicznie, a jego stężenie w surowicy krwi w okresach pomiędzy pulsami wydzielniczymi jest bardzo niskie i może być nieoznaczalne w badaniach laboratoryjnych. Istnieje więc potrzeba skutecznego określenia, czy wydzielanie GH jest dostateczne, czy nie. Procesy syntezy i uwalniania hormonu wzrostu regulowane są na wielu poziomach układu endokrynnego i przez wiele różnych czynników. Te właśnie drogi wydzielania wykorzystywane są w diagnozowaniu niedoboru GH. Fizjologicznie około 70–80% hormonu wzrostu wydziela się w okresie snu i dlatego oznaczanie poziomu GH po zaśnięciu stało się często badaniem przesiewowym w ocenie wydolności przysadki w tym zakresie. Test nocny wymaga jednak pełnej, całodobowej hospitalizacji pacjenta, a ponadto nie ma do chwili obecnej standaryzowanych warunków jego przeprowadzania jak i wartości uznanych za prawidłowe. Poza tym w algorytmie rozpoznania somatotropinowej niedoczynności przysadki [*Terapeutyczne programy zdrowotne. Leczenie niskorosłych dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki (SNP). Załącznik do zarządzenia nr 98008/DGL Prezesa NFZ z dnia 28 października 2008*] konieczne jest potwierdzenie obniżonego wydzielania GH w dwóch farmakologicznych testach stymulacyjnych, co sprawia, że wykorzystujemy w praktyce różne bodźce, które dobieramy w zależności m.in. od wieku pacjenta, schorzeń towarzyszących czy choćby z uwagi na techniczne możliwości wykonania i własne doświadczenie.

Jednym z czynników pobudzających przysadkę do wydzielania GH jest wyraźne obniżenie poziomu glukozy we krwi. Stan hipoglikemii jest bodźcem działającym na poziomie podwzgórza [1]. Reakcją organizmu na zaistniałe niedocukrzenie jest uruchomienie procesów hiperglikemizujących, których jednym z ogniw jest wydzielany przez przedni płat przysadki GH. W diagnostyce wykorzystujemy więc substancje obniżające poziom glukozy w sposób bezpośredni (insulina) i pośredni (glukagon).

Test z insuliną (test hipoglikemii poinsulinowej; ITT – insulin tolerance test)

Hipoglikemiczny test insulinowy określany jest często złotym standardem w diagnostyce zaburzeń osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej i wykorzystywany często w ocenie funkcji somatotropinowej przysadki. Był on pierwszym przyjętym i uznanym farmakologicznym testem stymulacyjnym wprowadzonym do oceny rezerwy przysadkowej GH. Korzyści tego testu wynikają z faktu jednoczesowej oceny osi ACTH-nadnercza i bardzo mocnej stymulacji wydzielania GH [2].

Mechanizm działania. Dożylnie podanie insuliny wywołuje hipoglikemię (<40 mg%; <2,2 mmol/l lub spadek wartości glikemii o 50% lub więcej w stosunku do wyjściowej), indukując wydzielanie GH za pomocą wieloczynnikowych, ośrodkowych mechanizmów, reprezentujących podwzgórzową, neuroendokrynną odpowiedź na warunki stresowe, co aktywuje oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową; wzrasta endogenna aktywność GHRH z towarzyszącym obniżeniem uwalniania somatostatyny (SRIF, *somatotropin release inhibitory factor*). Spadek wartości SRIF jest prawdopodobnie zjawiskiem pierwotnym, a wzrost GHRH jest procesem wtórnym. Występujący w tej reakcji wzrost wydzielania katecholamin wydaje się też bardzo znaczącym mechanizmem prowadzącym do wzmożonej produkcji GH i ACTH

Wskazania: ocena rezerwy przysadkowej w zakresie wydzielania GH i ACTH;

Przeciwwskazania: nieleczona niedoczynność tarczycy, objawy lub podejrzenie choroby sercowo-naczyniowej, objawy lub podejrzenie chorób OUN (np. drgawki), hipoglikemia, jakiegokolwiek ostry lub podostry stan chorobowy, nie jest rekomendowany u dzieci < 5 r.ż. [3].

Warunki wykonania testu: test przeprowadzamy w godzinach rannych, pacjent pozostaje na czczo (co najmniej 8 godzin po ostatnim posiłku u dzieci > 4 lat i co najmniej 4 godziny u dzieci młodszych) [1], wymagane – stały nadzór i obserwacja pacjenta przez cały czas wykonywania badania, przeszkolony personel, znający objawy hipoglikemii i pozostający w kontakcie z lekarzem przez cały czas trwania testu (lekarz powinien być obecny przez 45 minut po podaniu insuliny) [4], możliwość szybkiego oznaczenia poziomu glikemii w trakcie badania (glikemia musi być oznaczana przyłożkowo), kaniulizacja żyły obwodowej, 10 i 20% glukoza, glukagon i hydrokortyzon gotowe do ewentualnego podania, sprawdzona masa ciała pacjenta, zapewnione – dostarczenie posiłku lub płynów z glukozą po zakończeniu testu lub w trakcie jego trwania, możliwość obserwacji pacjenta co najmniej przez 90 minut po zakończeniu testu i spożyciu posiłku [5].

Metoda wykonania testu:

- przed podaniem insuliny dwukrotne pobranie próbek krwi na oznaczenie poziomu glukozy (> 3,0 mmol/l w czasie -30 min i w czasie 0) [4], kortyzolu i GH,
- dożylnie podanie insuliny w dawce 0,1 j/kg masy ciała (0,05 j/kg w przypadku podejrzenia ciężkiego deficytu GH i jeśli jest wykonywany u młodszych dzieci <5 r.ż.) (np. Insulin Actrapid HM firmy Novo Nordisk),
- oznaczanie poziomu glukozy po 15, 30, 45, 60, 90 i 120 min; niektórzy proponują oznaczenie glukozy w 10 i 20 min., a nie w 15 min. Najniższa wartość glikemii z reguły przypada na 20',
- pobranie próbek krwi na oznaczenie kortyzolu i GH po 30, 45, 60, 90 i 120 min.,
- przedłużająca się hipoglikemia < 40 mg% (< 2,2 mmol/l) lub jej kliniczne objawy są wskazaniem do dożylnego podania 10–20% glukozy (zwykle 2 ml/kg 10% glukozy iv) i hydrokortyzonu (zwłaszcza w przypadku niedoczynności przysadki – zwykle 100 mg iv)

Interpretacja testu:

- aby test uznać za miarodajny, poziom glikemii powinien spaść $< 40 \text{ mg\%}$ ($< 2,2 \text{ mmol/l}$) lub obniżyć się o co najmniej 50% w porównaniu ze stężeniem wyjściowym [5]; bez adekwatnej hipoglikemii testu nie można interpretować,
- prawidłowa odpowiedź przy spadku poziomu glukozy $< 2,2 \text{ mmol/l}$ to wzrost poziomu GH $> 20 \text{ mU/l}$ (10 ng/ml),
- poziom GH $< 10 \text{ mU/l}$ (5 ng/ml) wskazuje na ciężki deficyt, a w granicach $10\text{--}20 \text{ mU/l}$ ($5\text{--}10 \text{ ng/ml}$) na częściowy niedobór GH

Kontrowersje: zagrożenie drgawkami i uszkodzeniem OUN, kontynuacja testu po hipoglikemii z następowym podaniem glukozy (p.o. lub iv), długość trwania testu.

Hipoglikemiczny test insulinowy był pierwszym z testów i nadal uważany jest za „złoty standard” oceny wydzielania hormonu wzrostu u dzieci i dorosłych. Jednakże pomimo swojego „błysku” mocy i niezawodności, nie jest do końca akceptowalny przez wszystkich i istnieją ośrodki, w których nie wykonuje się go u dzieci i młodzieży. Ma to związek z potencjalnym zagrożeniem wynikającym z niebezpieczeństwa hipoglikemii dla rozwijającego się ciągle ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Osłabienie, poty, drżenia i drgawki to zawsze niepokojące objawy świadczące o zaburzeniach OUN. Niestety opisywane były także przypadki obrzęku mózgu, a nawet zgonów związanych z użyciem tego testu [3]. Z powodu serii ciężkich powikłań w roku 1991 angielski Departament Zdrowia wydał dokument ostrzegający przed ryzykiem związanym z wykonywaniem ITT, w którym zaleca, by ten test nie był wykonywany u dzieci wymagających oceny wydzielania tylko samego GH [4]. Z uwagi na niedojrzałość OUN nie zaleca się zwykle wykonywania tego testu u dzieci poniżej piątego roku życia. Pomimo tego w wielu ośrodkach endokrynologicznych ITT jest nadal mocnym punktem diagnostycznym wydzielania GH, szczególnie z uwagi na dodatkową możliwość oceny osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej. Kontrowersje budzi też sama techniczna strona wykonywania ITT, jak choćby długość jego trwania. Do rozważenia pozostaje postulat skrócenia go do 90 minut, gdyż jak pokazują badania – szczyt wydzielania GH przypada na okres 30–90 minut po podaniu insuliny [6]. To teoretycznie niewielkie, półgodzinne skrócenie ITT dawałoby oprócz wymiernych korzyści ekonomicznych także poprawę bezpieczeństwa i redukcję objawów ubocznych. Z samym przebiegiem i zakończeniem testu wiążą się też rozbieżności zdań dotyczących podawania glukozy w momencie osiągnięcia satysfakcjonujących poziomów hipoglikemii ($< 2,2 \text{ mmol/l}$) i jej klinicznych objawów, jak tachykardia, zmęczenie, senność czy głód. Niektóre badania pokazują, że podanie pokarmu lub 5% glukozy nie zmienia znacząco wyników testu, dając ostatecznie wystarczającą odpowiedź w zakresie osi wydzielania GH i ACTH i zapobiegając jednocześnie poważnym objawom ubocznym [7]. Inni autorzy sugerują jednak, że podanie glukozy wprawdzie redukuje ryzyko komplikacji ITT, lecz zmniejsza produkcję GH i kortyzolu w odpowiedzi na stymulację insuliną, prowadząc częściej do fałszywych wniosków co do niedoczynności przysadki [8]. Jeszcze inne prace skupiają się nad rodzajem insuliny użytej do testu, co mogłoby, jak np. w próbach z insuliną Lispro, wywoływać w trakcie ITT szybsze i krótsze momenty hipoglikemii w porównaniu z insulinami tradycyjnie stosowanymi, podnosząc poziom bezpieczeństwa i redukując przy tym dyskomfort pacjenta [9].

Wszystkie te próby i badania nad ITT mają za cel zredukowanie do minimum niebezpieczeństwa związanego z jego wykonaniem. Nie może to jednak osłabić czujności w trakcie przeprowadzania każdego takiego testu, przy założeniu zawsze prawdopodobieństwa wystąpienia poważnych powikłań hipoglikemii.

Test z glukagonem

Jest to kolejny z dynamicznych testów stymulujących wydzielanie GH i kortyzolu, wykorzystujący mechanizm hipoglikemii (pośredniej). Test ten jest często wykonywany w wielu ośrodkach choćby z powodu dostępności glukagonu jak też dość powszechnego przekonania o jego bezpieczeństwie.

Mechanizm działania. Domięśniowe lub podskórne (nie dożylnie) podanie glukagonu prowadzi do znamiennego wzrostu GH; sam glukagon w sposób bezpośredni nie stymuluje somatotropinowej produkcji przysadki. Jego hiperglikemizujące działanie stymuluje uwalnianie insuliny, która wywołując następową hipoglikemię stymuluje produkcję GH. Odbywa się to w sposób łagodniejszy niż w przypadku bezpośredniego wstrzyknięcia insuliny. „Bufory” regulacyjne nie dopuszczają do skrajnych poziomów glukozy, zwłaszcza hipoglikemii. Przedłużenie „łańcucha” działania glukagonu nakazuje też oczekiwać efektów pobudzenia produkcji GH nieco później niż w ITT.

Wskaźniki: ocena rezerwy przysadkowej w zakresie wydzielania GH i ACTH, rekomendowany u małych dzieci <5 r.ż., w tym niemowląt.

Przeciwwskazania: cukrzyca (niepewne warunki stymulacji).

Warunki wykonania testu: takie same jak przy teście hipoglikemii poinsulinowej.

Metoda wykonania testu:

- pobranie próbek krwi na poziom glukozy, GH i kortyzolu,
- podskórne lub domięśniowe (preferowane) podanie glukagonu w dawce 0,03 mg/kg masy ciała (maksymalnie 1 mg); u pacjentów z masą ciała > 90 kg podajemy 1,5 mg glukagonu [10] (np. preparat *GlucaGen Hypokit* liofilizat do wstrzyknięć 1 mg firmy Novo Nordisk),
- pobranie kolejnych próbek w 60, 90, 120, 150 i 180 min. trwania testu (wg niektórych autorów do 240 min. [10], inni za wystarczające uznają pobrania w czasie 0,60,120,180 min).

Interpretacja testu:

- prawidłowa odpowiedź to wzrost poziomu GH > 20 mU/l (10 ng/ml),
- poziom GH < 10 mU/l (5 ng/ml) wskazuje na ciężki deficyt, a w granicach 10–20 mU/l (5–10 ng/ml) na częściowy niedobór GH.

Kontrowersje: zagrożenie uszkodzenia OUN, stopień spadku glikemii a wiarygodność testu, stopień wzrostu kortyzolu a wiarygodność testu, wykonywanie testu u szczupłych pacjentów, fałszywie dodatnie wyniki nawet do 20%.

Test stymulacji glukagonem jest powszechnie stosowany w diagnostyce przysadki co do jej sprawności wydzielania GH i ACTH. Jest on bardzo często wykonywany u małych dzieci, nie dając zbyt wiele objawów ubocznych. Wprawdzie opisywano nawet śmiertelny przypadek po użyciu stymulatora, jakim jest glukagon [3], ale wydaje się że zdarzenie to miało miejsce po zbyt dużej jego dawce w stosunku do obecnie rekomendowanej. Niektórzy autorzy sugerują dawkę jeszcze niższą (15 mcg/kg) jako adekwatną dla stymulacji GH i kortyzolu [5]. Ostrożności wymaga też interpretacja odpowiedzi kortyzolu w teście z glukagonem. Pík stężenia ACTH jest znacząco mniejszy niż w ITT i także opóźniony, co przekłada się na stymulację kortyzolu. Wyższe poziomy kortyzolu uzyskuje się po domięśniowym niż podskórnym podaniu glukagonu [5]. Brak też jednoznacznego zalecenia co do poziomu spadku glikemii w przebiegu tego testu, który byłby odpowiednim stymulatorem dla całego łańcucha zdarzeń prowadzącego do produkcji GH i ACTH. To raczej wzrost poziomu kortyzolu określa jakość tej stymulacji. Problemy z odpowiedzią hipoglikemią wynikają szczególnie u młodszych, szczupłych dzieci z niewielkimi zapasami glikogenu, ponieważ dla poprawności interpretacji testu konieczna jest obecność ich prawidłowych rezerw, aby „wyindukować” odpowiednią hiperglikemię, która „wygeneruje” z kolei uwalnianie insuliny z następową względną hipoglikemią.

Reasumując, można powiedzieć, że oba przedstawione testy są ważnym ogniwem w procesie diagnostyki wydzielania GH, nie są jednak pozbawione wad. Ich stosowanie wymaga dużej ostrożności i poprawności wykonania. Szczególnie dokładnie powinny być monitorowane poziomy glukozy w trakcie i po zakończeniu testu. Interpretacja wydzielania GH powinna być też zawsze ostatecznie powiązana z auksologią.

Test z argininą/insuliną

Test ten łączy w sobie dwa testy – test z argininą, którego istotą jest stymulacja receptorów α -adrenergicznych i następowe uwalnianie GHRH/GH, oraz test z insuliną, którego istotnym

punktem działania jest hamowanie wydzielania SRIF [11]. Test rozpoczyna się podając najpierw argininę, a po 60 minutach insulinę wg protokołów opisanych dla tych testów. Średnie wartości w tym teście u dzieci zdrowych mieszczą się w przedziale 12–28 ng/mL. Stuprocentowa jest dokładność tego testu w pozytywnej predykcji niedoboru GH (przy punkcie odcięcia wynoszącym 10 ng/mL). Ten złożony (podwójny) test można przeprowadzić w ciągu jednego dnia, a jego wyniki są porównywalne z obu opisywanymi testami przeprowadzonymi oddzielnie [12].

PIŚMIENICTWO/REFERENCES

- [1] Romer T.E. praca zbiorowa: Zaburzenia hormonalne u dzieci i młodzieży. Omnitech Press, Warszawa 1993.
- [2] Shalet S.M., Toogood A., Rahim A. et al.: The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults. *Endocr. Rev.*, 1998;19(2), 203-223.
- [3] Shah A., Stanhope R., Matthew D.: Hazards of pharmacological tests of growth hormone secretion in childhood. *BMJ*, 1992;304, 173-174.
- [4] Galloway P.J., McNeill E., Paterson W.F. et al.: Safety of the insulin tolerance test. *Arch. Dis. Child.*, 2002;87, 354-356.
- [5] Hindmarsh P.C., Swift P.G.F.: An assessment of growth hormone provocation tests. *Arch. Dis. Child.*, 1995;72, 362-368.
- [6] Jaruratanasirikul S., Leethanaporn K., Sriplung H.: Should the duration of the insulin tolerance test be shortened to 90 minutes? *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 2004;17(8), 1105-1109.
- [7] Borm K., Sławik M., Beuschlein F. et al.: Low-dose glucose infusion after achieving critical hypoglycemia during insulin tolerance testing: effect on time of hypoglycemia, neuroendocrine stress response and patient's discomfort in pilot study. *Eur. J. Endocrinol.*, 2005;153, 521-526.
- [8] Yeste D., Tomasini R., Dodino G. et al.: Hypoglycaemia-Insulin Test: Discordant growth hormone and cortisol response in paediatric patients regarding recovery from hypoglycaemia with or without oral glucose solution. *Horm. Res.*, 2007;67, 42-45.
- [9] Yuen K., Amin R., Cook M.B. et al.: Evaluation of the pituitary function with insulin tolerance (hypoglycaemia) testing: are there any differences using insulin Listro compared to regular insulin? *Horm. Res.*, 2008;69, 233-239.
- [10] Turner H., Wass J.A.H.: *Oxford Handbook of Endocrinology and Diabetes*. Oxford University Press, 2006.
- [11] Penny R., Blizzard R.M., Davis W.T.: Sequential arginine and insulin tolerance test on the same day. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1968;29, 1499-1501.
- [12] Ranke M.B., Haber P.G.: Growth hormone stimulation tests. [w:] *Diagnostics of Endocrine Function in Children and Adolescents*. M.B. Ranke (ed), 2nd ed. Johann Ambrosius Barth Edition J & J, 1996, 134-148.