

DANIELA SEICK BARBARINI

**RESPOSTA DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO DURANTE TESTES
PROVOCATIVOS: CORRELAÇÃO COM O CRESCIMENTO DE CRIANÇAS COM
BAIXA ESTATURA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação - Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientadores:

**Prof^a. Dr^a. Margaret C. S. Boguszewski
Prof. Dr. Romolo Sandrini Neto**

Co-orientadora:

Prof^a. Dr^a. Mônica Nunes Lima Cat

**CURITIBA
2004**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

*Programa de Pós-Graduação Mestrado e Doutorado
Em Saúde da Criança e do Adolescente*

Parecer

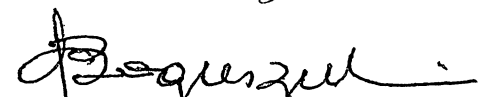
Parecer Conjunto dos Professores Dra. Margaret Cristina da Silva Boguszewski, Dr. Alexander Augusto de Lima Jorge e o Dr. César Luiz Boguszewski sobre a Dissertação de Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal do Paraná, elaborada por Daniela Seick Barbarini intitulada: “Resposta do Hormônio de Crescimento Durante Testes Provocativos: Correlação com o Crescimento de Crianças com Baixa Estatura”.

*A Banca Examinadora considerou que Daniela Seick Barbarini apresentou trabalho adequado para Dissertação de Mestrado e o defendeu com segurança e propriedade nas arguições que lhe foram feitas, atribuindo-lhe: **Conceito “A”**, correspondente ao **Grau “100”**, sendo, pois unanimemente recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **“Mestre em Pediatria”** e a publicação da Dissertação em veículo de divulgação conveniente, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições.*

Curitiba, 20 de dezembro de 2004


Prof. Dra. Margaret Cristina da Silva Boguszewski


Prof. Dr. Alexander Augusto de Lima Jorge


Prof. Dr. César Luiz Boguszewski

Dedico este trabalho a todos que em diferentes momentos e lugares estiveram ao meu lado e partilharam a alegria de viver e de ser humano, especialmente, aos meus pais, Henrique e Renilda, pelo amor, carinho e tão importante exemplo, à minha irmã, Denise, pela amizade, pelo constante incentivo e confiança, ao Alcemir, pela alegria do encontro, por todo o respeito e amor.

AGRADECIMENTOS

Pesquisar me remete à idéia de caminhar...
... continuar uma caminhada, algumas vezes iniciar uma nova.
Interessante é que, será sempre uma caminhada,
em meio a um universo de possibilidades, descobertas, mistérios...
caminhos.

A todos que percorreram comigo um pequeno trecho do caminho, o meu sincero muito obrigada!

Aos professores, funcionários, colegas de residência médica e especialização da Unidade de Endocrinologia Pediátrica, do Departamento de Pediatria e do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Paraná, pelos ensinamentos e alegres momentos.

Às crianças que aqui chegaram e a seus familiares pelo intenso aprendizado e gratificante convívio.

Ao Dr. Romolo Sandrini Neto e ao Dr. Luiz de Lacerda Filho, pelas bases de tudo o que na UEP se desenvolve.

À Anita, pelo esforço, ao longo dos anos, em cadastrar as novas crianças que chegavam.

Aos funcionários do Arquivo Médico, em especial à Sirlete, pela constante e intensa separação dos prontuários estudados.

À Mariana, pela ajuda em momento fundamental, o meu especial obrigado e desejo de sucesso na continuidade do caminho.

Aos colegas do curso de pós-graduação e aos professores Dinarte José Girdali e Leidi Parolin Marinoni, pelo importante aprendizado através do micro-ensino.

Aos meus amigos, em especial à Maristela e à Marion, pela amizade e incentivo nos últimos dois anos.

Aos meus orientadores, Dr^a. Margaret C. S. Boguszewski, Dr. Romolo Sandrini Neto e Dr^a. Mônica Nunes Lima Cat, por aceitarem os desafios de orientar.

Aos meus pais, os responsáveis pelo início de tudo, pelo carinho e apoio, pela paciência, em especial nos últimos meses, e por saberem estar, simplesmente, ao lado.

Ao Alcemir, que soube também e tão bem estar ao lado, e me ajudou a não desanimar, sobretudo quando a saudade vinha forte e as incertezas eram muitas.

Estou chegando....

E o meu mais profundo e sincero agradecimento à Dr^a. Margaret C. S. Boguszewski, pela confiança, serenidade, pela ajuda com o material, pelas longas conversas e pela paciência com as minhas longas frases, especialmente pelos ensinamentos não só como orientadora, mas como pessoa humana e batalhadora.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE QUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVO DO ESTUDO.....	2
1.2 HIPÓTESE.....	2
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 CRESCIMENTO.....	3
2.2 BAIXA ESTATURA.....	6
2.2.1 Deficiência de GH.....	7
2.3 SECREÇÃO DE HORMÔNIO DE CRESCIMENTO.....	9
2.4 ORIGEM DOS TESTES DE SECREÇÃO DE GH.....	10
2.5 TESTES PROVOCATIVOS – SITUAÇÃO ATUAL.....	11
2.6 MÉTODOS LABORATORIAIS PARA QUANTIFICAÇÃO DE GH.....	15
2.7 FATORES QUE PODEM INTERFERIR NOS RESULTADOS DOS TESTES.....	18
2.7.1 Idade e Desenvolvimento Puberal.....	18
2.7.2 Estado Nutricional e Obesidade.....	19
2.7.3 Glicocorticóides.....	19
2.7.4 Hipotireoidismo.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	21
3.2 DADOS COLETADOS.....	22
3.3 TESTES PROVOCATIVOS PARA AVALIAÇÃO DA SECREÇÃO DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO.....	23
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
4 RESULTADOS	27
4.1 DESCRIÇÃO GERAL DA AMOSTRA OBTIDA.....	27
4.2 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS NOS TESTES PROVOCATIVOS E	

SUA RELAÇÃO COM O CRESCIMENTO ESPONTÂNEO.....	29
4.2.1 Testes Provocativos.....	29
4.2.2 Classificação em Grupos.....	29
4.2.3 Descrição e Comparação entre os Grupos.....	30
4.2.4 Relação entre o Crescimento e Resultados Obtidos nos Testes Provocativos.....	35
5 DISCUSSÃO.....	40
6 CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....	49
ANEXOS.....	61

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DAS CRIANÇAS DE ACORDO COM O CRITÉRIO DE EXCLUSÃO.....	27
TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS CRIANÇAS AO NASCIMENTO E NA PRIMEIRA CONSULTA.....	28
TABELA 3 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO (r) ENTRE O PICO DE GH E TAMANHO AO NASCIMENTO, IDADE CRONOLÓGICA, PESO, ESTATURA E IMC NA ÉPOCA DO TESTE.....	29
TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO DOS TESTES PROVOCATIVOS REALIZADOS NOS GRUPOS 1 E 2 DE ACORDO COM O TIPO DE IMUNOENSAIO.....	30
TABELA 5 - CARACTERÍSTICAS DAS CRIANÇAS DOS GRUPOS 1 E 2 NA PRIMEIRA CONSULTA E AO NASCIMENTO.....	31
TABELA 6 - CARACTERÍSTICAS DAS CRIANÇAS DOS GRUPOS 1 E 2 NA ÉPOCA DOS TESTES PROVOCATIVOS PARA AVALIAR A SECREÇÃO DE GH E RESULTADOS OBTIDOS.....	31
TABELA 7 - ESCORE Z DAS VELOCIDADES DE CRESCIMENTO (VC) NOS PERÍODOS PRÉ-PÚBERE E PÚBERE NOS GRUPOS 1 E 2.....	34

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - PARÂMETROS AUXOLÓGICOS QUE SUGEREM DEFICIÊNCIA DE GH.....	8
QUADRO 2 - REFERÊNCIAS INTERNACIONAIS PARA CONVERSÃO DAS UNIDADES DE QUANTIFICAÇÃO SÉRICA DE GH.....	25

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - VARIAÇÃO DA SECREÇÃO DE GH DA DEFICIÊNCIA GRAVE À PRODUÇÃO EXCESSIVA E RESPOSTAS ESPERADAS NAS DIFERENTES FORMAS DE AVALIAÇÃO.....	13
FIGURA 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS TESTES PROVOCATIVOS NOS GRUPOS 1 E 2 DE ACORDO COM O TIPO DE ESTÍMULO UTILIZADO.....	32
FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO DOS PICOS DE GH NOS GRUPOS 1 E 2 DE ACORDO COM O TIPO DE ESTÍMULO UTILIZADO NOS TESTES PROVOCATIVOS.....	33
FIGURA 4 - PORCENTAGENS DE CRIANÇAS COM VELOCIDADE DE CRESCIMENTO BAIXA DURANTE O SEGUIMENTO DE ACORDO COM OS GRUPOS.....	35
FIGURA 5 - DISTRIBUIÇÃO DAS CRIANÇAS DOS GRUPOS 1 E 2 COM DUAS VELOCIDADES DE CRESCIMENTO CONSECUTIVAS DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO DO CRESCIMENTO.....	35
FIGURA 6 - CORRELAÇÃO ENTRE O ESCORE Z DAS VELOCIDADES DE CRESCIMENTO E OS PICOS DE GH (ng/ml) NOS TESTES PROVOCATIVOS NO PERÍODO PRÉ-PÚBERE.....	36
FIGURA 7 - CORRELAÇÃO ENTRE O ESCORE Z DAS VELOCIDADES DE CRESCIMENTO E OS PICOS DE GH (ng/ml) NOS TESTES PROVOCATIVOS NO PERÍODO PÚBERE.....	36
FIGURA 8 - PROBABILIDADE DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO BAIXA (ESCORE Z DA VC < -0,8) DE ACORDO COM O PICO DE GH (ng/ml) NOS TESTES PROVOCATIVOS NO PERÍODO PRÉ-PÚBERE.....	37
FIGURA 9 - PROBABILIDADE DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO BAIXA (ESCORE Z DA VC < -0,8) DE ACORDO COM O PICO DE GH (ng/ml) NOS TESTES PROVOCATIVOS NO PERÍODO PÚBERE.....	38
FIGURA 10 - PROBABILIDADE DE CRESCIMENTO LENTO (ESCORE Z DA VC < -0,8 POR DOIS ANOS CONSECUTIVOS) DE ACORDO COM O PICO DE GH (ng/ml) OBTIDO NOS TESTES PROVOCATIVOS.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS

DIF	-	Diferença entre o escore Z da estatura da criança e o escore Z da estatura alvo familiar
DP	-	Desvio Padrão
FDA	-	<i>Food and Drug Administration</i>
GH	-	<i>Growth Hormone</i> - Hormônio de crescimento
GHBP	-	<i>Growth Hormone Binding Protein</i> - Proteína de ligação do GH
GHRH	-	<i>Growth Hormone Releasing Hormone</i> - Hormônio liberador de GH
GnRH	-	<i>Gonadotrophin-Releasing Hormone</i> – Hormônio liberador de gonadotrofinas
IC	-	Intervalo de Confiança
IGF	-	<i>Insulin-like Growth Factor</i> - Fator de crescimento insulina símile
IGF-I	-	<i>Insulin-like Growth Factor - I</i> - Fator de crescimento insulina símile-I
IGF-II	-	<i>Insulin-like Growth Factor - II</i> - Fator de crescimento insulina símile-II
IGFBP-3	-	<i>Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3</i> - Proteína ligadora do IGF-I tipo 3
ICMA	-	Quimioluminescência
IFMA	-	Imunofluorimétrico
IMC	-	Índice de Massa Corporal
IRMA	-	Imunorradiométrico
IRP	-	<i>International Reference Preparation</i> - Preparação Internacional de Referência
JAK	-	<i>Janus Kinase</i>
L-dopa	-	Levodopa
LHRH	-	<i>Luteinizing Hormone-Releasing Hormone</i> - Hormônio Liberador do Hormônio Luteinizante
PIG	-	Pequeno para a Idade Gestacional
RIA	-	Radioimunoensaio
RCCP	-	Retardo Constitucional do Crescimento e da Puberdade
STAT	-	<i>Signal Transducers and Activators of Transcription</i> – Transdutores de Sinal e Ativadores de Transcrição
VC	-	Velocidade de Crescimento

RESUMO

A relação entre o crescimento na infância e adolescência, as concentrações de hormônio de crescimento (GH) obtidas durante testes provocativos e a baixa estatura continua sendo motivo de discussões e controvérsias. Poucos estudos correlacionam os testes provocativos ao padrão de crescimento. **Objetivos:** avaliar as concentrações de GH obtidas durante testes provocativos e correlacionar com o padrão de crescimento em crianças com baixa estatura. **Material e Métodos:** estudo retrospectivo dos pacientes com baixa estatura atendidos na Unidade de Endocrinologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Os resultados são apresentados em escore Z e expressos como mediana (limite inferior e limite superior), exceto o índice de massa corporal (IMC) e idade cronológica expressos como média \pm desvio padrão (DP). A diferença entre o escore Z da estatura da criança e o escore Z da estatura alvo familiar foi chamada de DIF. Fizeram parte do estudo 135 crianças (86 meninos) com baixa estatura [estatura - 3,30 (-8,10 e -2,10) nas meninas e -3,35 (-6,00 e -1,80) nos meninos] e/ou estatura abaixo do alvo familiar [DIF -1,85 (-6,00 e 0,40) nas meninas e -1,80 (-5,00 e -0,30) nos meninos], submetidas a pelo menos dois testes provocativos. As concentrações de GH foram convertidas para ng/ml. **Resultados:** as crianças foram classificadas em dois grupos de acordo com os picos de GH obtidos durante os testes provocativos: Grupo 1 – crianças com valores de GH menores do que 10 ng/ml em todos os testes (77 crianças); Grupo 2 – crianças com valores de GH maiores ou iguais a 10 ng/ml em pelo menos um teste (58 crianças). A velocidade de crescimento foi avaliada em um ano e quando possível por pelo menos dois anos consecutivos. A estatura e o DIF no Grupo 1 [-3,73 (-8,10 e -1,83) e -2,20 (-6,00 e 0,40)] foram significativamente menores do que no Grupo 2 [-3,03 (-5,40 e -2,10) e -1,70 (-3,20 e -0,30)] ($p = 0,001$). Já o IMC, na época dos testes, foi maior no Grupo 1 ($-0,31 \pm 1,19$) do que no Grupo 2 ($-0,82 \pm 1,06$; $p = 0,000$). A velocidade de crescimento no período pré-púbere foi menor no Grupo 1 tanto no primeiro ano [-1,34 (-6,20 e 4,60) vs -0,60 (-3,55 e 4,15); $p = 0,04$] como no segundo ano [-1,43 (-4,40 e 3,90) vs -0,40 (-3,01 e 2,90); $p = 0,049$]. Esta diferença não se manteve significativa na puberdade. Entre as crianças com duas velocidades de crescimento disponíveis, 40% das crianças do Grupo 1 e 23,9% das crianças do Grupo 2 apresentaram velocidade de crescimento baixa (escore Z da velocidade de crescimento menor que -0,8) por dois anos consecutivos. Analisados os dois grupos em conjunto, não se observou correlação entre os picos de GH durante os testes provocativos e as velocidades de crescimento avaliadas em um ano, o tamanho ao nascimento, a estatura, o peso, o IMC e a idade cronológica na época dos testes. As concentrações de GH obtidas nos testes provocativos apresentaram poder discriminante fraco para distinguir as crianças que iriam apresentar velocidade de crescimento baixa em um ou dois anos consecutivos daquelas que cresceriam de forma adequada. **Conclusão:** as concentrações máximas de GH obtidas durante os testes provocativos em crianças com baixa estatura não apresentaram correlação com a velocidade de crescimento espontânea verificada em um ano e também em dois anos consecutivos.

ABSTRACT

The relation between growth during childhood and adolescence, growth hormone (GH) concentration during provocative tests and short stature is still subject of many debates and controversies. Few studies correlate the GH concentrations obtained during provocative tests with the growth pattern. **Aims:** to evaluate GH concentrations during provocative tests and to correlate them with growth velocity of children with short stature. **Patients and Methods:** a retrospective study of children with short stature followed at the Pediatric Endocrinology Unit, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná. The results are shown in standard score deviation (SDS) and expressed as median (lower and upper limit), except the body mass index (BMI) and the chronological age presented as mean \pm standard deviation (SD). The difference between the height SDS of the child and the SDS of the target height was denominated DIF. 135 short children (86 boys) were included [stature -3,30 (-8,10 and -2,10) for girls and -3,35 (-6,00 and -1,80) for boys] and DIF values of -1,85 (-6,00 and 0,40) and -1,80 (-5,00 and -0,30) for girls and boys respectively, submitted to at least two GH provocative tests. The GH concentration were converted to ng/ml. **Results:** children were classified in two groups according to the GH peaks: Group 1 – children with GH values below 10 ng/ml in all tests (77 children); Group 2 – children with GH values above or equal to 10 ng/ml at least in one test (58 children). Growth velocity was evaluated during one year and, when available, during at least two years. Children in Group 1 were significantly shorter than children in Group 2 [height -3,73 (-8,10 and -1,83) and DIF -2,20 (-6,00 and 0,40) for Group 1; height -3,03 (-5,40 and -2,10) and DIF -1,70 (-3,20 and -0,30) for Group 2] ($p = 0,001$). BMI, at the moment of the provocative tests, was higher in Group 1 than in Group 2. Growth velocity in the prepubertal period was slower on Group 1 during the first [-1,34 (-6,20 and 4,60) vs -0,60 (-3,55 and 4,15); $p = 0,04$] and second years [-1,43 (-4,40 and 3,90) vs -0,40 (-3,01 and 2,90); $p = 0,049$]. However, the difference was not significant during puberty. Forty per cent of children in Group 1 and 23,9% of children in Group 2 were growing slowly (growth velocity SDS below -0,8 during two years). Observed together (Group 1 and Group 2), there were no correlations between GH peaks and growth velocity evaluated during one year, size at birth and height, weight, BMI and chronological age at the moment of the tests. GH concentrations during provocative tests show a weak discriminant power to identify children who will grow slowly from the children who will grow properly. **Conclusion:** GH peaks during provocative tests in children with short stature did not show a correlation with the spontaneous growth velocity during one or two years of follow-up.

1 INTRODUÇÃO

O crescimento adequado e o desenvolvimento de uma criança estão entre as maiores preocupações de quem cuida e é responsável por ela. A baixa estatura, quando presente, é motivo de angústia para muitas famílias. Descobrir o que acontece torna-se fundamental, pois pode trazer de volta a tranquilidade. Como fazê-lo, ainda é um grande desafio.

A relação entre o crescimento infantil, as concentrações de hormônio de crescimento (GH) obtidas durante testes provocativos e a indicação de tratamento da baixa estatura continua sendo motivo de discussões e controvérsias (ROSENFELD et al., 1995; PREECE, 1997; HINTZ, 1998; SAGGESE et al., 1998; GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000; FRASIER, 2000; SIZONENKO et al., 2001; JUUL et al., 2002; GANDRUD; WILSON, 2004). Inicialmente o FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou o uso de GH biossintético para tratamento da deficiência de GH, síndrome de Turner e insuficiência renal crônica pré-transplante. Posteriormente cinco novas indicações foram aprovadas: adultos com deficiência de GH, adultos com caquexia secundária à síndrome da imunodeficiência adquirida, síndrome de Prader-Willi, crianças pequenas para a idade gestacional (PIG) e crianças com baixa estatura idiopática com estatura inferior a 2,25 desvios padrões abaixo da média e que não apresentaram recuperação espontânea do crescimento (WILSON et al., 2003). O maior desafio ainda é o diagnóstico da deficiência de GH. Segundo recomendação do último Consenso para Diagnóstico e Tratamento da Deficiência de GH na Infância e Adolescência proposto pela *Growth Hormone Research Society* (2000), o diagnóstico da deficiência de GH envolve a análise de parâmetros clínicos e antropométricos combinados com testes bioquímicos que avaliam o eixo GH-fator de crescimento insulina-símile (IGF) e avaliação radiológica. Entretanto, em muitos países, dentre eles o Brasil, os testes provocativos para avaliar a secreção de GH ainda são considerados elementos essenciais para o diagnóstico da deficiência de GH e para a distribuição do GH biossintético para o tratamento das crianças com baixa estatura.

As discussões e controvérsias existem, pois os testes provocativos para avaliar a secreção de GH apresentam importantes limitações (ROSENFELD et al., 1995) e, por razões éticas, poucos são os estudos feitos em crianças com estatura e

velocidade de crescimento (VC) normais para que se possa definir o que é um exame normal. São testes não fisiológicos, que apresentam grande heterogeneidade de resultados conforme o tipo de estímulo e ensaio utilizados. Os valores de corte são definidos arbitrariamente. Além disso, muitos fatores interferem nos resultados obtidos como a idade e o estágio puberal. Finalmente, poucos são os trabalhos que relacionam a resposta obtida durante o teste com o padrão de crescimento.

Com tantas variáveis envolvidas, discute-se que as concentrações de GH obtidas nos testes provocativos não necessariamente indicam se uma criança apresenta secreção normal de GH, se apresentará um crescimento adequado ou se ela se beneficiará com o uso do GH sintético (SPILIOTIS et al., 1984; BERCU et al., 1986; BELL; DANNA, 1998; GANDRUD; WILSON, 2004).

1.1 OBJETIVO DO ESTUDO

Em virtude do número reduzido de trabalhos que correlacionam o resultado dos testes provocativos e o padrão de crescimento das crianças, este estudo tem como objetivo:

- Avaliar as concentrações de GH obtidas durante os testes provocativos em crianças com baixa estatura e correlacioná-las com o ritmo de crescimento apresentado.

1.2 HIPÓTESE

Concentrações máximas de GH obtidas durante testes provocativos não oferecem segurança absoluta quanto ao padrão de crescimento das crianças com baixa estatura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CRESCIMENTO

O crescimento, por definição um aumento no tamanho, é um dos aspectos fundamentais do desenvolvimento humano. É dependente da coordenação adequada de três eventos celulares: hiperplasia, hipertrofia e apoptose. O controle do processo de crescimento é feito através da interação de muitos fatores, de forma complexa, entre eles:

- Genótipo;
- Fatores externos (nutrição e ambiente);
- Sistemas sinalizadores internos (hormônios e fatores de crescimento).

O crescimento ocorre com intensidades diferentes ao longo da vida. Existem quatro estágios principais de crescimento: fetal, lactente, pré-púbere e púbere (CLAYTON; GILL, 2001; REITER; ROSENFELD, 2003).

O período fetal é o de maior intensidade de crescimento. Ocorre também importante diferenciação celular formando-se todos os grandes sistemas orgânicos e preparando-os para a vida extra-uterina. A velocidade de crescimento é máxima no segundo trimestre da gestação e o ganho de peso no terceiro trimestre (TANNER¹, 1978; AREY², 1966, citados por CLAYTON; GILL, 2001). Durante toda a gestação, o crescimento do feto é dependente de fatores maternos, da função placentária e de fatores fetais. Entre os principais fatores de crescimento nesta fase estão o IGF-I e o IGF-II (fatores de crescimento insulina-símile I e II) como demonstrado por BAKER et al. (1993) e LIU et al. (1993) em estudos com camundongos transgênicos.

Durante o primeiro ano de vida pós-natal a velocidade de crescimento ainda é alta, mas começa a diminuir de forma acentuada em relação ao período pré-natal, o mesmo acontecendo com relação ao peso (FREEMAN et al., 1995; TANNER; WHITEHOUSE; TAKAISHI, 1966b). A velocidade de crescimento nos dois primeiros anos de vida é, em média, de 15 cm/ano (25 cm no primeiro ano e 10 cm no segundo ano). Nesta fase, postula-se que os fatores nutricionais e genéticos são os

¹ TANNER, J. M. **Foetus into Man: Physical Growth from Conception to Maturity**. 2 ed. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1978.

² AREY, L. B. **Developmental Anatomy**. 7 ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1966.

principais reguladores do crescimento. Entretanto, os hormônios do eixo GH-IGFs já participam do controle do crescimento (GLUCKMAN¹, 1994, citado por SIZONENKO et al., 2001; JONES; CLEMMONS, 1995; WOOD, 1995; YAKAR et al., 1999). É nos primeiros dois anos de vida que a criança atinge o canal de crescimento determinado geneticamente (CLAYTON; GILL, 2001).

A partir dos três a quatro anos de idade a velocidade de crescimento diminui e continua diminuindo gradualmente durante a fase pré-púbere. Em média, a velocidade de crescimento nesta fase é de 5 a 6 cm/ano conforme observado através das curvas de velocidade de crescimento (TANNER; WHITEHOUSE; TAKAISHI, 1966a; TANNER; WHITEHOUSE; TAKAISHI, 1966b; FREEMAN et al., 1995). Nesta fase o GH e os hormônios tireoideanos passam a ser os principais determinantes do crescimento. Neste período as disfunções do eixo GH-IGFs tornam-se mais evidentes. Até este momento não se observam diferenças significativas no crescimento entre meninos e meninas.

Na puberdade a velocidade de crescimento volta a aumentar (estirão púbere) sob influência dos esteróides sexuais (KEENAN et al., 1993; METZGER; KERRIGAN, 1993; METZGER; KERRIGAN, 1994). Os esteróides sexuais favorecem um aumento da secreção de GH e estimulam diretamente a produção de IGF-I. Além disso, são importantes para a maturação esquelética e para a fusão das epífises (SMITH et al., 1994; GRUMBACH, 2000). Nesta fase aparecem as diferenças entre os sexos quanto ao início e à intensidade do estirão puberal (TANNER; WHITEHOUSE, 1976). As meninas iniciam a puberdade, em média, dois anos mais cedo que os meninos (o que dá aos meninos dois anos a mais de crescimento pré-púbere com um ganho de 8 a 10 cm na altura adulta). Além disso, o estirão dos meninos é de maior amplitude que o das meninas. Isto explica a diferença na estatura final entre os sexos.

A trajetória de crescimento na vida extra-uterina pode ser representada matematicamente pelo modelo conhecido como ICP (*Infancy-childhood-puberty model*) (KARLBERG et al., 1987a; KARLBERG et al., 1987b; KARLBERG, 1989).

¹ GLUCKMAN, P. D. Growth hormone deficiency diagnosed and treated during the first 2 years of life: evidence for the role of growth hormone in human perinatal growth. In: RANKE, M. B.; GUNARSSON, R. (eds). **Progress in Growth Hormone Therapy – 5 Years of KIGS**. Mannheim: J & J Verlag, 1994. p. 88-96.

O reconhecimento clínico do crescimento normal é de fundamental importância no acompanhamento de uma criança. Deve ser feito com o auxílio de gráficos de crescimento (para estatura, peso, velocidade de crescimento, índice de massa corporal (IMC), entre outros), observação da estatura da criança em comparação com a estatura dos pais e irmãos, observação das proporções corporais e do desenvolvimento puberal e avaliação da maturação esquelética (CLAYTON; GILL, 2001; BROOK; HINDMARSH, 2001).

Uma única medida de estatura comparada com os gráficos de crescimento padrões e com a estatura familiar fornece informações úteis, mas não reflete a natureza dinâmica do crescimento. Para isso é necessário um período de acompanhamento maior no qual várias medidas de estatura são realizadas e a velocidade de crescimento em cm/ano é obtida. Para que a criança mantenha-se num determinado canal de crescimento a velocidade de crescimento não deve ficar abaixo do 25º percentil ou acima do 75º percentil por vários anos seguidos (BROOK; HINDMARSH; HEALY, 1986; CLAYTON; GILL, 2001). Para que seja obtida uma velocidade de crescimento mais real, deve-se ter o cuidado de utilizar para o cálculo medidas de estatura com intervalos entre 9 e 12 meses (TANNER; WHITEHOUSE; TAKAISHI, 1966b; MARSHALL, 1971; BROOK; HINDMARSH; HEALY, 1986). Isto porque mesmo com a medida sendo realizada por pessoa treinada há um erro técnico, em média, de 0,15 cm (CLAYTON; GILL, 2001), variando em diferentes trabalhos de 0,13 cm (TILLMANN et al., 1998) a 0,30 cm (MARSHALL, 1971). Além disso, o crescimento não ocorre de forma linear (HERMANUSSEN, 1998; THALANGE et al., 1996; LAMPL; VELDHUIS; JOHNSON, 1992) e existem variações sazonais no padrão de crescimento (MARSHALL, 1971; TILLMANN et al., 1998). Em crianças saudáveis, a probabilidade de que a velocidade de crescimento seja inadequada por dois anos consecutivos é muito pequena. A chance teórica de que a velocidade de crescimento anual fique abaixo do 25º percentil por dois anos seguidos é de 6,25% e abaixo do 10º percentil é de 1% (BROOK; HINDMARSH; HEALY, 1986; HINDMARSH; SWIFT, 1995; CLAYTON; GILL, 2001).

2.2 BAIXA ESTATURA

Define-se como baixa estatura a estatura abaixo do segundo desvio padrão (DP) negativo ou abaixo do terceiro percentil (-1,88 DP) para idade cronológica e sexo quando comparada a referências obtidas através de amostras adequadas de uma população normal (GUYDA, 1999; GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000; HINTZ, 2001). Os problemas advindos desta definição arbitrária envolvem principalmente crianças de etnias diferentes da população que deu origem à referência. Além disso, o fator hereditário não é considerado (HINTZ, 2001). A definição da estatura alvo familiar e a construção de gráficos que avaliem a estatura da criança em relação à de seus pais (TANNER; GOLDSTEIN; WHITEHOUSE, 1970) contribuem para uma melhor avaliação.

Como o controle do crescimento acontece através de um mecanismo complexo, as situações que podem levar à baixa estatura são muitas. Existem diferentes propostas de classificação para as causas de baixa estatura (HINTZ, 2001; REITER; ROSENFELD, 2003) podendo ser divididas basicamente em causas endócrinas, não endócrinas e a baixa estatura idiopática.

A baixa estatura decorrente de causas não endócrinas pode ser conseqüente a defeitos intrínsecos na placa de crescimento (osteocondrodisplasias), a anormalidades cromossômicas (autossômicas ou de cromossomos sexuais) ou secundária a doenças crônicas, nutrição inadequada ou privação psicossocial.

Entre as causas endócrinas de baixa estatura encontram-se o hipotireoidismo, o excesso de glicocorticóides (como na síndrome de Cushing), o raquitismo, o pseudohipoparatiroidismo, as situações relacionadas à deficiência de hormônios sexuais (hipogonadismo) e as alterações envolvendo o eixo GH-IGF-I. As endocrinopatias podem levar à baixa estatura por reduzir a velocidade de crescimento, promover um avanço maior da idade óssea em relação à velocidade de crescimento ou por restringir o potencial ósseo de crescimento.

Crianças com baixa estatura sem uma causa orgânica definida são classificadas como variantes do normal (atraso constitucional do crescimento e maturação e a baixa estatura familiar) ou baixa estatura idiopática. Alguns autores, entretanto, incluem as chamadas variantes do normal no grupo com baixa estatura idiopática (REITER; ROSENFELD, 2003).

2.2.1 Deficiência de GH

A deficiência de GH na infância e adolescência é caracterizada por uma combinação de anormalidades auxológicas, clínicas, radiológicas, metabólicas e hormonais. Pode variar de uma ausência total da secreção ou uma diminuição da secreção de GH. Conseqüentemente, ocorre diminuição dos níveis de fatores de crescimento dependentes do GH, como o IGF-I (SIZONENKO et al., 2001).

A deficiência de GH pode estar presente em qualquer idade e manifestar-se com graus variáveis de gravidade. Pode ser isolada ou associada a deficiências de outros hormônios hipofisários. De uma maneira geral, são crianças com baixa estatura que apresentam velocidade de crescimento diminuída e atraso na maturação óssea (SAGGESE et al., 1998; ARGENTE et al., 2001). No período neonatal pode ocorrer hipoglicemia, icterícia prolongada e micropênis (meninos), especialmente quando combinada com outras deficiências hormonais hipofisárias. O peso e o comprimento ao nascimento, de uma maneira geral, não são bons indicadores da deficiência de GH (ALBERTSSON-WIKLAND; NIKLASSON; KARLBERG, 1990). No período pré-púbere, os parâmetros auxológicos são considerados os melhores indicadores da deficiência de GH e algumas características fenotípicas podem estar presentes como obesidade em tronco com acúmulo de gordura abdominal, pele e cabelos finos, musculatura menos desenvolvida, fronte proeminente, ponte nasal baixa, voz aguda, atraso na dentição e no desenvolvimento puberal. Pode ocorrer diminuição do apetite (SAGGESE et al., 1998). Na puberdade, além das características já descritas, chama a atenção a ausência do estirão puberal. Quanto aos parâmetros auxológicos que sugerem a deficiência de GH, existem algumas diferenças entre os critérios descritos na literatura (Quadro 1). De um modo geral, é valorizada a estatura atual, a velocidade de crescimento e o alvo familiar.

QUADRO 1 – PARÂMETROS AUXOLÓGICOS QUE SUGEREM DEFICIÊNCIA DE GH

SAGGESE et al. (1998)	JUUL et al. (1999)	GH <i>Research Society</i> (2000)	Reiter e Rosenfeld (2003) ⁽¹⁾
1) Escore Z da estatura < -2,5 2) Escore Z da estatura corrigido para estatura alvo < -1,3 3) Diminuição do escore Z da estatura em 1 ano maior que 0,25	1) Escore Z da estatura < -3,0 2) Escore Z da estatura entre -2,0 e -3,0 e VC < 25 ^o percentil 3) VC < 5 ^o percentil 4) Diminuição da VC associada a condições predisponentes como irradiação craniana prévia 5) Evidência de outras deficiências hormonais hipofisárias ou sinais de deficiência de GH congênita	1) Escore Z da estatura < -3,0 2) Estatura mais que 1,5 DP abaixo da estatura alvo 3) Escore Z da estatura < -2,0 e VC em 1 ano < -1,0 DP para idade cronológica, ou diminuição do escore Z da estatura em 1 ano maior que 0,5 em crianças com mais de 2 anos de idade 4) Na ausência de baixa estatura: VC < - 2,0 DP abaixo da média em 1 ano ou VC < -1,5 DP por 2 anos	1) Escore Z da estatura < - 3,0 2) Escore Z da VC < - 2,0 em 1 ano 3) Escore Z da estatura < -2,0 e da VC < -1,0 em 1 ano 4) Escore Z da estatura < -1,5 e da VC < -1,0 em 2 anos

FONTE: SAGGESE et al., 1998; JUUL et al., 1999; *GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY*, 2000; REITER; ROSENFELD, 2003.

(1) critérios de risco para síndrome de deficiência de IGF

Com relação aos exames complementares, estes são utilizados na tentativa de confirmar o diagnóstico de deficiência de GH uma vez que os parâmetros auxológicos não distinguem as crianças com deficiência daquelas com baixa estatura de outras etiologias. Atualmente, os exames mais usados são os testes provocativos para avaliar a secreção de GH, a quantificação sérica de IGF-I e IGFBP-3, a radiografia de mãos e punhos para avaliar a idade óssea e exames de neuroimagem (SIZONENKO et al., 2001). Quanto aos testes provocativos para avaliar a secreção de GH, a maior dificuldade e maior controvérsia tem sido a definição de um valor de corte para diferenciar um exame normal de uma secreção diminuída. Em uma criança com critérios clínicos sugestivos de deficiência de GH, um pico de GH obtido durante testes provocativos abaixo de 10 ng/ml tem sido tradicionalmente utilizado para confirmar o diagnóstico (*GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY*, 2000). Entretanto, a necessidade do teste provocativo e o valor de corte ainda são motivos de intensa discussão (ROSENFELD et al., 1995; AUDÍ et al., 1996; PREECE, 1997; JUUL, 2000; GANDRUD; WILSON, 2004), devido às muitas variáveis que influenciam o resultado do teste. A seguir é apresentada

uma revisão sobre os principais fatores e situações que afetam o resultado e a avaliação dos testes provocativos.

2.3 SECREÇÃO DE HORMÔNIO DE CRESCIMENTO

O GH é o peptídeo produzido em maior quantidade pela hipófise anterior. A secreção de GH ocorre de forma pulsátil sendo que os picos de maior amplitude são observados nas fases 3 e 4 do sono profundo (UNDERWOOD et al., 1971). A característica pulsátil é controlada por um mecanismo complexo envolvendo principalmente duas proteínas hipotalâmicas, o hormônio liberador de GH (GHRH), que age estimulando a secreção, e a somatostatina, de ação inibitória, e um peptídeo de origem periférica, ghrelina, o qual é produzido principalmente no estômago e age aumentando a secreção de GH através de um receptor específico (revisado por OJEDA, 2004). O GHRH e a somatostatina, por sua vez, são influenciados por vários fatores, como atividade física, nutrição, sono, estresse, esteróides sexuais e hormônios tireoidianos (revisado por PREECE, 1986 e por OJEDA, 2004).

O GH secretado pela hipófise representa uma mistura heterogênea de moléculas. A forma principal contém 191 aminoácidos e peso molecular de 22 kDa. O GH de 22 kDa é considerado o padrão segundo o qual as outras formas são comparadas quanto à estrutura química e atividade biológica. A segunda forma mais abundante, correspondendo a 5-10% do GH hipofisário, é uma variante com peso molecular de 20 kDa e 176 aminoácidos. Além destes dois peptídeos principais, monômeros (5 kDa, 17 kDa, 24 kDa e 27 kDa), oligômeros e eventuais fragmentos que recirculam após o metabolismo renal do hormônio, podem contribuir para a mistura de moléculas de GH na circulação. Na circulação, cerca de metade do GH encontra-se ligado com alta afinidade a uma proteína de ligação (GHBP), idêntica ao domínio extracelular do receptor do GH. A ação do GH na célula tem início com a dimerização de dois receptores do GH, dando início a uma cascata de eventos intracelulares que envolve proteínas das famílias JAK e STAT (revisado por BOGUSZEWSKI, 2001). Na promoção do crescimento, a ação do GH se faz tanto diretamente através de ligação aos seus receptores na placa de crescimento, quanto indiretamente, através do estímulo da produção hepática e tecidual de IGF-I. O IGF-I tem ações autócrinas, parácrinas e endócrinas, agindo também no mecanismo de

retro-alimentação negativa sobre a hipófise. A ação do IGF-I é modulada por proteínas ligadoras, dentre as quais a mais abundante é a IGFBP-3 (revisado por ROITH et al., 2001; revisado por BOGUSZEWSKI, 2001).

2.4 ORIGEM DOS TESTES DE SECREÇÃO DE GH

O desenvolvimento do radioimunoensaio (RIA) para dosagem de GH no início da década de 60 significou um grande avanço na endocrinologia (HUNTER; GREENWOOD¹, 1962, citado por FRASIER, 1974; GLICK et al., 1963). Foi possível determinar a característica pulsátil da secreção de GH e também demonstrar que as concentrações séricas de GH observadas entre os pulsos são normalmente muito baixas, muitas vezes abaixo dos limites de detecção da maioria dos ensaios laboratoriais convencionais (0,2 ng/ml) (GREENWOOD; HUNTER; MARRIAN, 1964; L'HERMITE-BALÉRIAUX; COPINSCHI; CAUTER, 1996). Com estas observações ficou evidente que uma dosagem sérica ao acaso de GH não seria útil no diagnóstico da deficiência de GH. Além disso, nesta época, o tratamento do nanismo hipofisário era feito com hormônio extraído de hipófises humanas. Como a disponibilidade da medicação era muito pequena, optou-se por métodos laboratoriais que detectassem os casos mais graves de deficiência de GH que se beneficiariam do suprimento limitado deste hormônio. Conforme revisão feita por FRASIER (1974) alguns procedimentos foram criados como triagem para deficiência de GH, entre eles a sobrecarga oral de glicose, o uso de estrogênio oral, a dosagem de GH durante o sono profundo (UNDERWOOD et al., 1971) e após exercício (KEENAN; KILLMER; SODE, 1972; LACEY; HEWISON; PARKIN, 1973). Concentrações séricas de GH maiores do que 5 ng/ml em um destes procedimentos definia uma secreção normal de GH e o paciente não era submetido a testes provocativos definitivos ou tratamento com GH humano. Quando a suspeita clínica e os testes de triagem sugeriam deficiência de GH, o paciente era submetido aos testes provocativos definitivos. O primeiro a ser desenvolvido foi o da hipoglicemia insulínica, onde doses de 0,05 a 0,1 U/kg eram utilizadas (ROTH et al., 1963). Procurava-se encontrar uma forma de confirmar laboratorialmente a deficiência de GH e

¹ HUNTER, W. M.; GREENWOOD, F. C. A radio-immunoelectrophoretic assay for human growth hormone. *Biochem J*, v. 85, p.39, 1962.

diferenciar as crianças com baixa estatura deficientes das não deficientes. Vários outros testes como da arginina, glucagon, levodopa (L-dopa), entre outros, foram desenvolvidos posteriormente. Como consequência dos resultados discordantes com diferentes estímulos no mesmo paciente, foi estabelecido que a confirmação diagnóstica somente aconteceria nos pacientes com dois testes provocativos não responsivos (pico de GH menor que 5 ng/ml). O significado fisiológico destes testes era motivo de debates.

2.5 TESTES PROVOCATIVOS – SITUAÇÃO ATUAL

Os testes provocativos realizados atualmente para o diagnóstico da deficiência de GH são basicamente os mesmos de 40 anos atrás. Mudaram os ensaios laboratoriais para dosagem de GH e aumentou o leque de exames complementares disponíveis (IGF-I, IGFBP-3, GHBP, ressonância nuclear magnética, genética molecular, avaliação da secreção espontânea de GH, entre outros). Além disso, aumentou de forma ilimitada a disponibilidade de GH para tratamento da baixa estatura, agora produzido através de tecnologia de DNA recombinante.

Atualmente, dentre os testes realizados com maior frequência, podemos citar o da clonidina, hipoglicemia insulínica, arginina, glucagon e GHRH. Porém, revisando a literatura, é possível verificar que pelo menos 34 testes provocativos foram desenvolvidos e 189 diferentes combinações de testes já foram descritas (SIZONENKO et al., 2001). Por razões éticas, a maioria dos estudos disponíveis foram realizados em crianças com baixa estatura. São poucos os estudos mostrando valores de referência em crianças com estatura normal.

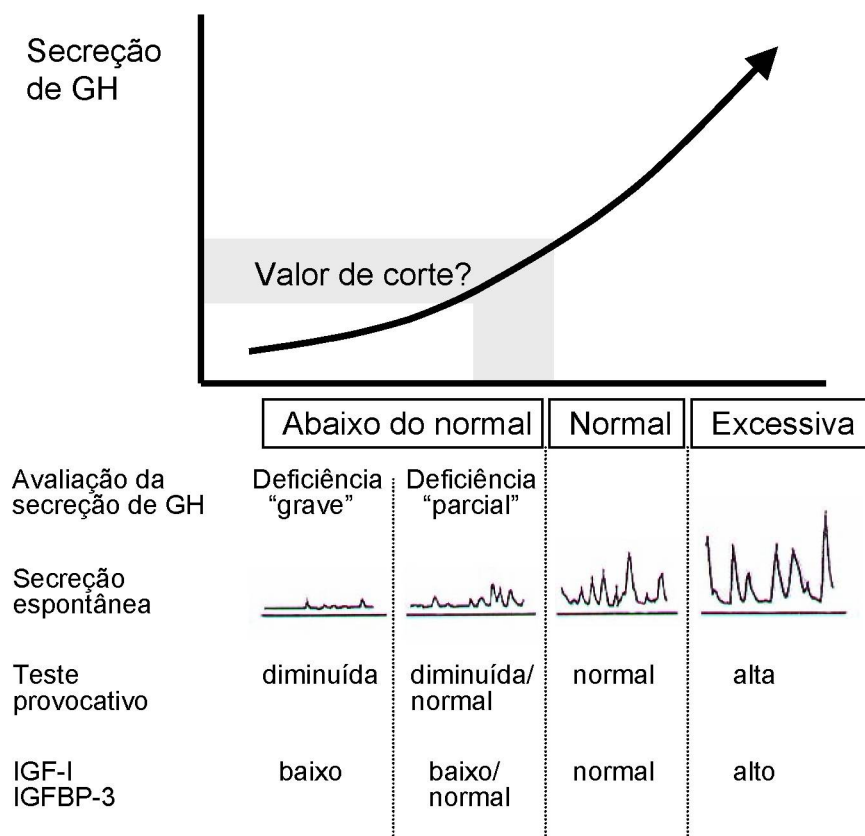
O teste da hipoglicemia insulínica baseia-se na resposta hipofisária à hipoglicemia. A hipoglicemia suprime a secreção de somatostatina e estimula receptores α -adrenérgicos, aumentando a liberação de GH. A acurácia do teste para diagnosticar a deficiência de GH (número de exames positivos nos com deficiência de GH somado ao número de exames negativos nos sem deficiência de GH dividido pelo número total de exames realizados) é de 100% com um nível de corte de 3 ng/ml e cai para 85% quando o nível de corte é de 10 ng/ml. O teste da clonidina, um agonista α -adrenérgico, age provavelmente estimulando a liberação de GHRH. É

considerado por alguns autores como mais potente que o teste da hipoglicemia insulínica (LANES; HURTADO, 1982;) e a acurácia do teste relatada para um valor de corte de 10 ng/ml é de 80%. Já o teste da arginina estimula a secreção de GH diminuindo o tônus da somatostatina e também estimulando receptores α -adrenérgicos com posterior liberação de GHRH. A acurácia do teste da arginina varia de 86% (nível de corte de 3 ng/ml) a 75% (nível de corte de 10 ng/ml). Quando combinado ao teste da hipoglicemia insulínica, a acurácia desta combinação para diagnosticar a deficiência de GH usando um nível de corte de 10 ng/ml é de 100%. Menos freqüentemente usado, o teste do glucagon geralmente é reservado para crianças de baixa idade, uma vez que apresenta menos riscos e é mais tolerado. O glucagon estimula a secreção de GH através da hipoglicemia rebote que se segue ao estado de hiperglicemia inicial. O tempo de aparecimento do pico de GH depende da via de aplicação do glucagon. O teste feito com L-dopa aumenta a secreção de GH através de vias α -adrenérgicas e dopaminérgicas e a acurácia do teste é de 81% para um valor de corte de 6 ng/ml e 56% com valor de corte de 7 ng/ml. Já o teste do GHRH apresenta alta especificidade (95% com valor de corte de 7-10 ng/ml), porém sensibilidade de apenas 30%. É utilizado principalmente para diferenciar a deficiência de GH de origem hipofisária da hipotalâmica (RANKE; HABER, 1996; SIZONENKO et al., 2001).

Em muitos estudos, os resultados obtidos durante testes provocativos não apresentam correlação com a secreção espontânea de GH avaliada durante 24 horas (BERCU et al., 1986; ROCHICCIOLI et al., 1991). A reprodutibilidade dos testes provocativos também foi questionada (ZADIK et al., 1990; TASSONI et al., 1990).

A secreção de GH pode ser considerada um *continuum* entre uma secreção normal e anormal. A determinação de um valor de corte que determine onde termina o normal e começa a deficiência é complicada e arriscada, podendo induzir ao erro. Quando a deficiência de GH é grave o diagnóstico fica evidente tanto pelos dados de história e exame físico como pela ausência de resposta do GH durante os testes provocativos. Entretanto, na deficiência menos intensa (referida por muitos autores como insuficiência ou deficiência parcial de GH), além dos achados clínicos serem menos evidentes, o valor de GH pode mesclar-se entre o normal e o anormal (Figura 1).

FIGURA 1 - VARIAÇÃO DA SECREÇÃO DE GH DA DEFICIÊNCIA GRAVE À PRODUÇÃO EXCESSIVA E RESPOSTAS ESPERADAS NAS DIFERENTES FORMAS DE AVALIAÇÃO



FONTE: Adaptado de ALBERTSSON-WIKLAND, K.; ROSBERG, S. Methods of evaluating spontaneous growth hormone secretion. In: RANKE, M. B. **Diagnostics of Endocrine Function in Children and Adolescents**. 2. ed. rev. e aum. Heidelberg; Leipzig: J. A. Barth Verlag, 1996. p.150.

Na literatura, historicamente os valores de corte gradualmente aumentaram de 5 ng/ml (KAPLAN et al., 1968) para 7 ng/ml (FRASIER, 1974) e mais recentemente 10 ng/ml (GUIDELINES FOR THE USE OF GROWTH HORMONE IN CHILDREN WITH SHORT STATURE. A REPORT BY THE DRUG AND THERAPEUTICS COMMITTEE OF THE LAWSON WILKINS PEDIATRIC ENDOCRINE SOCIETY, 1995) em testes usando anticorpos policlonais. Em parte, este aumento ocorreu devido à sobreposição dos valores de GH entre as crianças consideradas deficientes e aquelas com crescimento normal. Além disso, a mudança do tratamento anteriormente feito com GH proveniente de hipófises de cadáveres para tratamento com GH sintético permitiu que se tratassem casos menos intensos

de deficiência de GH, mas que também cursam com baixa estatura, levando ao aumento do valor de corte.

Como citado anteriormente, os estudos que determinaram a acurácia da maioria dos testes provocativos para diagnosticar a deficiência de GH foram realizados em crianças com baixa estatura e velocidade de crescimento na maioria das vezes abaixo do esperado para a idade. Independente das diferentes respostas do GH durante os testes provocativos e do diagnóstico feito para cada paciente, o quadro clínico da maioria das crianças incluídas nos estudos era semelhante. Apesar dos estudos estarem avaliando a acurácia (concordância do teste com o diagnóstico, ou seja, a chance do exame estar correto) dos testes, muitos levaram em consideração apenas a concentração de GH obtida com outro teste, não o crescimento das crianças, para definir o diagnóstico. Assim, se as concentrações de GH ficavam abaixo de um nível de corte preestabelecido, o teste era considerado positivo e a criança deficiente de GH. Na situação oposta, mesmo com baixa estatura e quadro clínico semelhante, porém com níveis de GH acima do nível de corte, a criança era considerada não deficiente. Na maioria das vezes não é descrito o crescimento posterior destas crianças demonstrando se as consideradas deficientes não cresceram e se as com “secreção normal” cresceram e ficaram com estatura adequada para o seu potencial genético. Fica a dúvida se os testes têm realmente boa acurácia para determinar quem vai crescer adequadamente.

Recentemente, BELL e DANA (1998) avaliaram a resposta ao tratamento com GH sintético em 24843 crianças com baixa estatura registradas no banco de dados do *National Cooperative Growth Study*, Estados Unidos. Apesar das características clínicas serem semelhantes (baixa estatura, baixa velocidade de crescimento, previsão de estatura final abaixo do alvo familiar), os pacientes foram classificados em deficientes de GH (57%) ou normais (30%) com base na resposta menor do que 10 µg/l nos testes provocativos. Todos receberam tratamento com GH recombinante. A resposta ao tratamento foi semelhante nos dois grupos. Apenas um pequeno grupo de pacientes (n=187) com velocidade de crescimento normal pré-tratamento apresentou um aumento da velocidade de crescimento no primeiro ano de tratamento que não se manteve no ano seguinte. Os autores sugerem que crianças com velocidade de crescimento normal pré-tratamento não se beneficiarão do mesmo, enquanto consideram os testes provocativos inadequados para o

diagnóstico de deficiência de GH e para prever quais crianças responderão melhor ao tratamento.

2.6 MÉTODOS LABORATORIAIS PARA QUANTIFICAÇÃO DE GH

Vários são os métodos laboratoriais utilizados para a quantificação de GH. Diferente das drogas lançadas no mercado, os ensaios laboratoriais não estão sujeitos a uma legislação específica sendo produzidos e vendidos pelos fabricantes de acordo com suas próprias especificações. Existem apenas recomendações internacionais de controle de qualidade.

Os métodos utilizados rotineiramente para quantificar o GH são os imunoenaios, que apresentam como característica principal a utilização de anticorpos produzidos contra o hormônio cuja quantidade se pretende determinar. O mecanismo básico dos imunoenaios é a reação entre um antígeno, o hormônio a ser quantificado, e um anticorpo capaz de se ligar a este antígeno. Os sítios de ligação, entretanto, não estão necessariamente relacionados à atividade biológica do hormônio e, por isso, outros métodos estão sendo estudados e desenvolvidos como os bioensaios e os ensaios imunofuncionais (STRASBURGER, 1999), mas ainda não fazem parte da rotina de investigação clínica.

Nos imunoenaios, para tornar o complexo antígeno-anticorpo mensurável, um marcador é adicionado para produzir o sinal para leitura do resultado. De acordo com o tipo de reação e se o antígeno ou o anticorpo é ligado ao marcador, o imunoenasão pode ser classificado como competitivo ou imunométrico (“ensaio sanduíche”). O ensaio imunométrico é usado principalmente para quantificar antígenos grandes com diferentes sítios de ligação aos anticorpos. Dentre os competitivos, o RIA, primeiro a ser desenvolvido, usa como marcador um isótopo radioativo, como o ^{125}I , que é ligado ao antígeno. Dentre os imunométricos (marcador ligado ao anticorpo), o imunorradiométrico (IRMA) também utiliza como marcador um isótopo radioativo, porém é aproximadamente 10 vezes mais sensível que o RIA. A quimioluminescência (ICMA), bastante usada atualmente, utiliza um reagente químico como marcador, geralmente o acridinium, tendo as vantagens de evitar a radiação e de ser um ensaio mais rapidamente realizado. A sensibilidade é

semelhante à do IRMA. Outros ensaios usam como marcadores enzimas e substâncias fluorescentes (IFMA).

Quanto aos anticorpos utilizados nos ensaios, podem ser mono ou policlonais. Os anticorpos policlonais têm uma capacidade de ligação maior, porém são menos específicos que os monoclonais. Os ensaios que utilizam anticorpos policlonais apresentam resultados com valores superiores aos obtidos nos ensaios monoclonais, uma vez que os anticorpos policlonais reconhecem uma gama de antígenos maior do que os anticorpos monoclonais. Estes, por sua vez, reconhecem epítomos específicos da molécula de GH. A presença das diferentes isoformas de GH circulantes também favorece resultados superiores nos ensaios policlonais. A maioria dos RIA utiliza anticorpos policlonais por ser um tipo de ensaio que exige maior afinidade dos anticorpos. Já os ensaios imunométricos geralmente utilizam anticorpos monoclonais (TORRESANI, 1994; WHEELER, 2001).

Outro fator que influencia de forma importante os resultados é o *standard* utilizado para construir a curva padrão do ensaio, contra a qual serão comparadas as concentrações das amostras que estão sendo analisadas. As preparações usadas como *standard* são geralmente obtidas através da extração de material biológico e são relativamente heterogêneas e com diferentes graus de pureza. Não existe uma padronização internacional sobre quais *standards* devem ser usados, nem a origem dos mesmos é controlada. Assim, a comparação de dosagens de GH obtidas em diferentes laboratórios usando diferentes curvas padrão fica comprometida. Existem apenas referências contra as quais eles devem ser calibrados e sugere-se que sejam utilizados materiais para *standard* fornecidos por agências como as do *National Institute for Biological Standards and Control* (Reino Unido) e *National Institutes of Health* (Estados Unidos) (TORRESANI, 1994). O *standard* pode ser extraído de hipófises ou recombinante. Nos primeiros ensaios, os *standards* eram derivados de hipófises e calibrados geralmente contra a referência IRP 66/217 (*International Reference Preparation*) do *National Institute for Biological Standards and Control*, Holly Hill, Reino Unido, e a referência HS 2243 E, do *National Hormone and Pituitary Program*, Bethesda, Estados Unidos. A potência biológica destes *standards* era de aproximadamente 1 mg = 2 U (1 ng/ml = 2 mU/l). Mais recente, também derivado de hipófise, o *standard* calibrado contra a IRP 80/505 tem uma potência biológica de 1mg = 2,6 U e os resultados são geralmente

expressos em mU/l. Com o desenvolvimento de GH recombinante, foi criado o *standard* biossintético WHO 88/624 (1 mg = 3,0 U) e foi recomendado que os resultados das quantificações de GH fossem expressos em µg/l (1 ng/ml = 1 µg/l = 3 mU/l) (JANSSON et al., 1997; STRASBURGER, 1997; SIZONENKO et al., 2001; JULL et al., 2002). Ensaio utilizando *standard* recombinante geralmente resultam em valores de GH sérico mais baixos que os ensaios com *standards* derivados de hipófises conforme observado por MAURAS et al. (2000) e comentado por STRASBURGER (2001).

Quanto à sensibilidade dos métodos laboratoriais e à interpretação dos testes provocativos, um ensaio será mais sensível quanto menor o valor acima de zero que ele pode detectar. No caso dos testes provocativos não se está avaliando a menor concentração e sim o pico de secreção de GH após determinado estímulo. Desta forma, o conhecimento do tipo de anticorpo, se mono ou policlonal, e o *standard* utilizado serão mais importantes na interpretação do teste do que a sensibilidade do método.

Como visto acima, o conhecimento do ensaio utilizado pelo laboratório para quantificação de GH é fundamental para a interpretação do resultado obtido. Em um estudo onde as mesmas amostras de soro foram avaliadas em 4 laboratórios, utilizando 6 imunoenaios diferentes, houve uma boa concordância entre os valores considerados normais e anormais, porém os valores de corte de cada laboratório diferiam de forma acentuada (ANDERSSON et al., 1995). Outro estudo comparando concentrações de GH determinadas por 5 tipos de ensaios imunorradiométricos de um mesmo fornecedor (policlonal IRP 66/217, policlonal IRP 80/505, policlonal WHO 88/624, monoclonal IRP 66/217 e monoclonal IRP 80/505) e 2 tipos de ensaios fluorimétricos (monoclonal IRP 80/505 e monoclonal WHO 88/624) demonstrou que as concentrações de GH foram 40% mais baixas com o IRMA monoclonal IRP 80/505 e 20% mais baixas com o monoclonal fluorimétrico IRP 80/505 e que os fatores de conversão de um ensaio para outro não eram os mesmos indicados pelos fornecedores (JANSSON et al., 1997). GRANADA et al. (1990) também encontrou importantes diferenças nos resultados usando 11 imunoenaios diferentes para avaliar a concentração integrada de GH noturna de um *pool* de amostras obtidas de 15 crianças com baixa estatura. Outros fatores que contribuem para esta heterogeneidade de resultados são o desenho do ensaio, a preparação de

referência usada para calibrar o *standard*, a matriz, o tipo de *standard* e o tipo de anticorpo utilizados. Assim, a análise da concentração de GH, especialmente considerando um valor de corte específico, só deveria ser feita com o conhecimento do ensaio comercial utilizado e de suas características.

2.7 FATORES QUE PODEM INTERFERIR NOS RESULTADOS DOS TESTES

2.7.1 Idade e Desenvolvimento Puberal

A secreção de GH nas 24 horas é influenciada pela idade e desenvolvimento puberal. A secreção é maior no período final da puberdade, entre as idades de 15 e 19 anos, iniciando um declínio após os 20 anos de idade (ZADIK et al., 1985; MARTHA et al., 1989). A secreção de GH é particularmente baixa no período pré-púbere, não havendo diferenças importantes na secreção entre meninos e meninas. Com a puberdade ocorre um aumento da secreção, sendo este aumento mais precoce e mais pronunciado nas meninas (ALBERTSSON-WIKLAND et al., 1994; VELDHUIS; ROEMMICH; ROGOL, 2000). A secreção mais baixa no período pré-púbere em ambos os sexos e também no início imediato da puberdade nos meninos dificulta o diagnóstico diferencial entre o retardo constitucional do crescimento e da puberdade (RCCP) da deficiência de GH. Jovens com RCCP geralmente apresentam uma secreção diminuída de GH que pode persistir até o início da puberdade, porém com normalização dos níveis hormonais com a progressão da mesma. Desta forma, foi sugerido que a sensibilização prévia com hormônios sexuais (*priming*) poderia garantir uma resposta normal durante os testes provocativos em crianças pré-púberes (MARIN et al., 1994; MARTÍNEZ et al., 2000; GÖNÇ et al., 2001), mas há estudos em que a mudança de resposta após o *priming* não é significativa (ROSS et al., 1987; WILSON et al., 1993). O uso de esteróides sexuais alguns dias antes do teste provocativo poderia distinguir as crianças com RCCP daquelas com deficiência de GH (MOLL; ROSENFELD; FANG, 1986; MARIN et al., 1994). O esperado é que a sensibilização prévia com esteróides sexuais não aumente a secreção de GH naqueles com deficiência grave de GH, enquanto estimula uma resposta pronunciada naqueles com RCCP. Entretanto, fora dos extremos da deficiência grave de GH e do RCCP, a sensibilização prévia com

esteróides sexuais pode não ser suficiente para estabelecer o diagnóstico diferencial entre a insuficiência parcial de GH e alguns casos de RCCP (SHALET et al., 1998).

2.7.2 Estado Nutricional e Obesidade

MARTIN-HERNÁNDEZ et al. (1996) estudaram crianças pré-púberes normais com índice de massa corporal (IMC) entre -2 e +2 desvios padrões e observaram uma correlação negativa entre a secreção espontânea de GH e o IMC. Em crianças e adultos obesos a secreção espontânea de GH está diminuída (ARGENTE et al., 1997) e a resposta aos testes provocativos também é prejudicada (LOCHE et al., 1987). Os níveis séricos de insulina e de IGF-I livre costumam estar aumentados (ARGENTE et al., 1997; ATTIA et al., 1998). O IGF-I total pode estar diminuído (ATTIA et al., 1998), normal ou aumentado (LOCHE et al., 1987; ARGENTE et al., 1997). Uma explicação para a menor secreção de GH nestes pacientes seria o *feedback* negativo exercido pela insulina e provavelmente pela leptina sobre a secreção de GH (COUTANT et al., 1998). Especula-se que a leptina sérica poderia diminuir a resposta dos somatotrofos ao GHRH. Há ainda outros possíveis mecanismos como a inibição da secreção de GH pelo IGF-I (LOCHE et al., 1987). Por outro lado, na desnutrição crônica, a secreção de GH está aumentada, porém com níveis baixos de IGF-I (HINTZ et al., 1978; THISSEN; KETELSLEGERS; UNDERWOOD, 1994).

2.7.3 Glicocorticóides

Crianças em uso crônico de glicocorticóides podem sofrer diminuição do crescimento com resposta anormal do GH durante os testes provocativos. A patogênese da supressão do crescimento e da secreção do GH pelos glicocorticóides é multifatorial, incluindo a supressão da pulsatilidade do GH através do aumento do tônus da somatostatina, diminuição da expressão do receptor do GH e diminuição da bioatividade do IGF-I (ROBINSON et al., 1995; ALLEN et al., 1998).

2.7.4 Hipotireoidismo

Conforme revisado por STROBL e THOMAS (1994), as crianças com hipotireoidismo apresentam uma secreção diminuída de GH durante os testes provocativos, assim como níveis circulantes de IGF-I mais baixos. Entretanto, com o tratamento adequado, tanto a resposta nos testes provocativos como os níveis de IGF-I são normalizados. Em roedores, o hipotireoidismo está associado a uma completa perda da pulsatilidade da secreção do GH e a uma diminuição na síntese hipofisária.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo baseado nos registros médicos dos prontuários das crianças atendidas por baixa estatura no ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), com primeira consulta realizada entre 1^o de janeiro de 1985 e 31 de dezembro de 2000.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da UFPR (Anexo).

3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram selecionadas as crianças com baixa estatura e/ou estatura abaixo do alvo familiar e que foram submetidas durante o seu acompanhamento a pelo menos dois testes provocativos para avaliação da secreção de GH.

Baixa estatura foi definida como estatura abaixo do segundo DP negativo para idade e sexo comparada com referência baseada em uma população normal. Foi utilizada a referência britânica publicada por FREEMAN e colaboradores (1995).

Foi definida como estatura abaixo do alvo familiar a estatura abaixo do primeiro DP negativo da estatura alvo (LONGUI, 1998).

Foram adotados como critérios de exclusão:

- Baixa estatura secundária a doenças crônicas (desnutrição, doença renal crônica, doença hepática, síndromes de má-absorção, cardiopatias, asma moderada ou grave com uso contínuo de corticóides, entre outras);
- Síndromes genéticas;
- Anormalidades cromossômicas;
- Displasias ósseas;
- Radioterapia prévia em sistema nervoso central.

As crianças com pouco tempo de acompanhamento, nas quais não era possível avaliar adequadamente o padrão de crescimento, foram excluídas do estudo.

3.2 DADOS COLETADOS

Foram coletados todos os dados antropométricos e sinais vitais registrados em cada consulta, bem como informações a respeito do estágio de desenvolvimento puberal, uso de medicamentos, gestação e nascimento, estatura dos pais, história familiar e pessoal pregressa. A estatura final quando disponível e uso ou não de hormônio de crescimento humano recombinante e análogo do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH ou LHRH) também foram registrados. Foram coletados ainda os resultados de exames laboratoriais e de idade óssea sempre que disponíveis no prontuário médico. Os dados foram registrados em um Sistema de Coleta e Registro de Dados desenvolvido para o registro de pacientes com alterações hipofisárias e/ou do crescimento (NordiNet™, desenvolvido pela Novo Nordisk®, Dinamarca).

Foram calculados:

- 1) IMC (kg/m^2), calculado através da divisão entre o peso corporal (kg) e a estatura elevada ao quadrado (m^2), na primeira consulta e na consulta mais próxima à realização do teste provocativo para avaliação da secreção de GH;
- 2) Estatura alvo familiar (EA), calculada através das seguintes equações:
 para o sexo masculino: $EA \text{ (cm)} = [(E \text{ mãe} + 13) + E \text{ pai}] \div 2$
 para o sexo feminino: $EA \text{ (cm)} = [(E \text{ pai} - 13) + E \text{ mãe}] \div 2$;
- 3) Diferença entre o escore Z da estatura da criança e o escore Z da estatura alvo familiar (DIF);
- 4) Velocidade de crescimento (cm/ano) por pelo menos um ano e, sempre que possível, por dois anos consecutivos nos períodos pré-púbere e púbere, excluindo-se para este cálculo períodos em que a criança apresentasse algum fator que pudesse interferir no ritmo de crescimento como hipercortisolismo, hipotireoidismo e/ou hipocortisolismo não tratados ou uso de hormônios sexuais. Procurou-se utilizar para o cálculo da velocidade de crescimento as estaturas mais próximas à realização dos testes provocativos para dosagem do hormônio de crescimento. A velocidade de crescimento foi expressa em escore Z para idade cronológica, sexo (TANNER; WHITEHOUSE; TAKAISHI, 1966b) e estágio puberal (RIKKEN; WIT, 1992) e foi calculada em um intervalo de tempo o mais próximo possível de um ano, com limites de 4 a 17 meses. Em dez velocidades de crescimento o cálculo foi

feito a partir de intervalos entre quatro e seis meses, de um total de 254 velocidades de crescimento. Não foram usadas velocidades de crescimento de meninas após os 13,5 anos caso não tenham iniciado a puberdade até os 13,0 anos. Não foram usadas velocidades de crescimento de meninos após os 16,0 anos caso não tenham iniciado a puberdade até os 14,0 anos. A velocidade de crescimento em um ano foi considerada baixa quando o escore Z foi menor que -0,8 (BROOK; HINDMARSH; HEALY, 1986; HINDMARSH et al., 1987), o que corresponde ao 25º percentil da curva de velocidade de crescimento. Foram classificadas como crianças com crescimento lento aquelas que apresentaram velocidade de crescimento baixa por dois anos consecutivos (CLAYTON; GILL, 2001).

O peso, estatura e IMC foram expressos como escore Z para a idade e sexo (FREEMAN et al., 1995; COLE; FREEMAN; PREECE, 1995). A estatura alvo familiar foi expressa em cm e em escore Z.

O peso e comprimento ao nascimento foram expressos em escore Z de acordo com idade gestacional e sexo (FREEMAN et al., 1995). Foi definido como criança PIG aquela com peso e/ou comprimento ao nascimento abaixo do segundo DP negativo para idade gestacional e sexo.

A avaliação do estágio puberal foi feita conforme os parâmetros de MARSHALL e TANNER (MARSHALL; TANNER, 1969; MARSHALL; TANNER, 1970). O acompanhamento do volume testicular foi feito através do orquidômetro de Prader (ZACHMANN et al., 1974). Foram consideradas pré-púberes as meninas com estágio 1 de desenvolvimento mamário. Foram considerados pré-púberes os meninos com volume testicular \leq a 3 ml.

3.3 TESTES PROVOCATIVOS PARA AVALIAÇÃO DA SECREÇÃO DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO

Durante o acompanhamento as crianças foram submetidas a pelo menos dois testes provocativos, em dias diferentes, para avaliar a secreção de GH. Fazem parte da rotina atual na Unidade de Endocrinologia Pediátrica o uso da clonidina e da insulina como estímulos para a liberação do GH nos testes provocativos. Entretanto, como o período do estudo iniciou-se em 1985 e nem todos os testes

foram realizados na Unidade de Endocrinologia Pediátrica, outros estímulos utilizados foram: exercício, L-dopa, propranolol e propranolol associado ao exercício. Todos os testes incluídos no estudo foram feitos de acordo com procedimentos específicos descritos na literatura e revisados por RANKE e HABER (1996) e RODRIGUES; TARDELLI e PIEROLA (1998), como descritos abaixo:

- 1) Clonidina: administram-se $0,15 \text{ mg/m}^2$ (ou $4 \text{ } \mu\text{g/kg}$) de clonidina por via oral logo após o tempo zero, e coletam-se amostras de soro para determinar a concentração de GH nos tempos 0 e 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração (GIL-AD; TOPPER; LARON, 1979);
- 2) Insulina: administra-se $0,1 \text{ U/kg}$ de insulina regular por via endovenosa logo após o tempo zero, e coletam-se amostras de soro nos tempos 0 e 15, 30, 45 e 60 minutos ou 0 e 20, 30, 40 e 60 minutos após a administração. No teste provocativo realizado com insulina foi aceito como estímulo adequado a obtenção de uma concentração de glicemia sérica menor ou igual a 40 mg/dl ou valores menores ou iguais a 50% do valor basal;
- 3) Exercício: realiza-se exercício intenso supervisionado durante 20 minutos e a coleta de sangue para quantificar o GH é feita nos tempos 0 e 20 e 40 minutos após o início do exercício (KEENAN; KILLMER; SODE, 1972; LACEY; HEWISON; PARKIN, 1973);
- 4) L-dopa: administram-se 10 mg/kg de L-dopa por via oral (com uma dose máxima de 500 mg) ou 125 mg (criança com menos que 15 kg), 250 mg ($15 \text{ a } 35 \text{ kg}$) ou 500 mg (mais que 35 kg) e amostras de soro são coletadas nos tempos 0 e 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração (WELDON et al., 1973);
- 5) Propranolol: administram-se $0,75 \text{ mg/kg}$ de propranolol por via oral (com uma dose máxima de 40 mg) e amostras de soro são coletadas nos tempos 0 e 60, 90, 120 e 180 minutos após a administração;
- 6) Propranolol associado ao exercício: administram-se 20 mg de propranolol por via oral para crianças com 20 kg ou menos e 40 mg para as com mais que 20 kg logo após o tempo zero. Aos 120 minutos após a administração do propranolol inicia-se o exercício por 20 minutos. O GH é medido nos tempos 0, 120, 130, 140, 150 e 160 minutos (SHANIS; MOSHANG, 1976; SANDRINI, 1980).

Foram incluídas no estudo somente as crianças com testes realizados em vigência de níveis séricos de hormônio tireoideano normais. Os testes realizados com *priming* foram classificados no momento da análise estatística como tendo sido realizados em puberdade. Foram considerados como dados antropométricos na época dos testes a estatura, o peso e o IMC obtidos no dia do teste ou em consulta realizada em um intervalo de no máximo 60 dias do teste.

Os testes foram realizados em laboratórios diferentes e com ensaios laboratoriais diversos. Os laboratórios foram então contactados e foram obtidas informações a respeito do ensaio laboratorial, o tipo de anticorpo utilizado e a IRP contra a qual o padrão (*standard*) do ensaio foi calibrado. Todos os resultados obtidos nos testes foram então convertidos para uma mesma unidade (ng/ml) utilizando-se os fatores de conversão baseados na potência biológica propostos internacionalmente (citados por AUDÍ; GRANADA; CARRASCOSA, 1996; JANSSON et al., 1997; STRASBURGER, 1997; SIZONENKO et al., 2001; JUUL et al., 2002) (Quadro 2).

QUADRO 2 - REFERÊNCIAS INTERNACIONAIS PARA CONVERSÃO DAS UNIDADES DE QUANTIFICAÇÃO SÉRICA DE GH

Preparação Internacional de Referência (IRP)	Origem da IRP	Fator de conversão
66/217	Hipófise	2,0
HS 2243 E	Hipófise	2,0
80/505	Hipófise	2,6
88/624	Recombinante/biossintético	3,0

FONTE: AUDÍ; GRANADA; CARRASCOSA, 1996; JANSSON et al., 1997; STRASBURGER, 1997; SIZONENKO et al., 2001; JUUL et al., 2002.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis contínuas de distribuição normal foram expressas como média \pm DP (limite inferior e limite superior; mediana), enquanto as de distribuição assimétrica foram expressas como mediana (limite inferior e limite superior).

Para a comparação dos dados entre os sexos e entre os grupos foram utilizados os testes t de Student ou o de Mann-Whitney de acordo com a distribuição simétrica ou assimétrica da variável estudada e de sua homocedasticidade.

Para as variáveis categóricas foi utilizado o teste exato de Fisher, respeitando as frequências utilizadas para a análise.

Para avaliar a variação de frequências de crianças com velocidade de crescimento baixa no período de seguimento de 4 anos foi utilizado o método de Mantel-Haenszel. A associação entre variáveis contínuas foi obtida através do coeficiente de correlação de Pearson. O modelo de Regressão Logística Univariada foi utilizado para estudar as probabilidades de ocorrência de eventos dicotômicos de uma determinada variável contínua.

O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$) com um nível de confiança de 95%.

4 RESULTADOS

Foram registradas 1349 crianças com primeira consulta por baixa estatura entre 1° de janeiro de 1985 e 31 de dezembro de 2000. Destas, 48 prontuários não foram encontrados. Assim, foram revisados 1301 prontuários médicos.

Observados os critérios de inclusão e exclusão fizeram parte do estudo 135 crianças (10,4%), sendo 49 do sexo feminino (36,3%) e 86 do sexo masculino (63,7%). Destas, 134 apresentavam escore Z da estatura menor que -2 e uma apresentava escore Z da estatura igual a -1,8, porém com importante desvio no seu canal de crescimento e diferença em relação à estatura alvo familiar de -1,2 DP. A Tabela 1 mostra as causas de exclusão.

TABELA 1 – DISTRIBUIÇÃO DAS CRIANÇAS DE ACORDO COM O CRITÉRIO DE EXCLUSÃO

Critério de Exclusão	Número de crianças (%)
Tempo insuficiente de acompanhamento	402 (30,9)
Sem teste provocativo para avaliar a secreção de GH	250 (19,2)
Apenas 1 teste provocativo	164 (12,6)
Doença crônica já diagnosticada ou em investigação	75 (5,8)
Anormalidades cromossômicas e/ou síndromes genéticas	73 (5,6)
Ausência de baixa estatura	54 (4,1)
Displasia óssea	27 (2,1)
Outros ⁽¹⁾	121 (9,3)
TOTAL	1166 (89,6)

NOTA: a porcentagem foi expressa em relação ao número total de prontuários revisados.

(1) Testes provocativos incompletos ou sem informações sobre o ensaio utilizado, valores das glicemias obtidas durante o teste não disponíveis, testes realizados em vigência de hipotireoidismo, radioterapia prévia em sistema nervoso central, entre outros.

4.1 DESCRIÇÃO GERAL DA AMOSTRA OBTIDA

Na primeira consulta, a média da idade cronológica foi de $9,05 \pm 2,94$ anos para o sexo feminino (limites: 2,09 – 18,07 anos; mediana: 9,05 anos) e $9,09 \pm 3,09$ anos para o sexo masculino (limites: 2,33 – 14,66 anos; mediana: 8,74 anos). Entre as meninas, 42 eram pré-púberes e 07 púberes e entre as crianças do sexo masculino, 79 eram pré-púberes e 07 púberes. O peso, a estatura, o IMC e o DIF na primeira consulta, assim como os dados referentes à estatura familiar e de

nascimento das crianças com idade gestacional conhecida são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 – CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS CRIANÇAS AO NASCIMENTO E NA PRIMEIRA CONSULTA

	Feminino (n = 49)	Masculino (n = 86)	p
Peso nascimento ⁽¹⁾	-0,88 ± 1,34 (-3,87 e 2,60;-0,95)	-0,77 ± 1,08 (-3,22 e 1,74;-0,69)	0,61*
Comprimento nascimento ⁽²⁾	-1,28 ± 1,60 (-4,73 e 2,78;-0,97)	-1,32 ± 1,00 (-3,33 e 0,70;-1,31)	0,94**
Idade cronológica 1 ^a consulta	9,05 ± 2,94 (2,09 e 18,07;9,05)	9,09 ± 3,09 (2,33 e 14,66;8,74)	0,92*
Peso 1 ^a consulta	-2,10 (-3,60 e 0,10)	-2,00 (-3,20 e 0,40)	0,79**
Estatura 1 ^a consulta	-3,30 (-8,10 e -2,10)	-3,35 (-6,00 e -1,80)	0,38**
IMC 1 ^a consulta	-0,48 ± 1,19 (-3,80 e 1,80;-0,40)	-0,30 ± 1,05 (-3,10 e 2,70;-0,40)	0,37*
Estatura alvo ⁽³⁾	-1,66 ± 0,77 (-3,45 e 0,27;-1,77)	-1,49 ± 0,66 (-3,30 e 0,08;-1,46)	0,19*
DIF 1 ^a consulta ⁽³⁾	-1,85 (-6,00 e 0,40)	-1,80 (-5,00 e -0,30)	0,93**

NOTA: resultados apresentados em escore Z (exceto a idade cronológica que é apresentada em anos) e expressos como média ± DP (limite inferior e limite superior; mediana) ou mediana (limite inferior e limite superior).

(1) n = 46 para o sexo feminino e n = 74 para o sexo masculino

(2) n = 28 para o sexo feminino e n = 44 para o sexo masculino

(3) n = 46 para o sexo feminino e n = 80 para o sexo masculino

* análise feita através do teste t de Student

** análise feita através do teste de Mann-Whitney

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os sexos quanto à idade cronológica, a estatura, o peso, o IMC e o DIF na primeira consulta, bem como quanto ao peso e comprimento ao nascimento.

De acordo com o peso e/ou comprimento ao nascimento, 11 meninas e 16 meninos foram classificados como FIG.

Foram obtidas estaturas maternas de 127 crianças e paternas de 128. A média de estatura materna foi de 154,45 ± 5,90 cm (limites: 140,0 e 170,0 cm; mediana: 154,30 cm) e de estatura paterna foi de 167,25 ± 6,04 cm (limites: 152,0 e 183,0 cm; mediana: 168,0 cm). Quando avaliada segundo o escore Z, a média para a estatura materna foi de -1,55 ± 0,98 (limites: -3,95 e 1,03; mediana: -1,58) e para a estatura paterna foi de -1,59 ± 0,88 (limites: -3,81 e 0,71; mediana: -1,48).

Para o cálculo da estatura alvo familiar foram obtidas as estaturas de ambos os pais de 46 meninas e 80 meninos. A média da estatura alvo para as meninas foi de 154,28 ± 4,68 cm (limites: 143,50 – 165,95 cm; mediana: 153,62 cm) e para os meninos de 167,45 ± 4,55 cm (limites: 155,00 – 178,20 cm; mediana: 167,65 cm). O

escore Z da estatura alvo encontra-se na Tabela 2. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os sexos quanto ao escore Z da estatura alvo ($p = 0,19$).

4.2 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS NOS TESTES PROVOCATIVOS E SUA RELAÇÃO COM O CRESCIMENTO ESPONTÂNEO

4.2.1 Testes Provocativos

Durante o acompanhamento das 135 crianças foram realizados 294 testes provocativos para avaliar a secreção de GH, sendo 247 (84,01%) realizados no período pré-púbere, 43 (14,63%) no período púbere e 04 (1,36%) com *priming*. Os estímulos utilizados nos testes provocativos foram: clonidina (155 testes; 52,72%); insulina (125 testes; 42,52%); L-dopa (05 testes; 1,70%); exercício (05 testes; 1,70%); propranolol associado ao exercício (03 testes; 1,02%) e propranolol (01 teste; 0,34%). Dos 294 testes, 220 foram realizados no laboratório do Hospital de Clínicas da UFPR (HC-UFPR).

Não houve correlação entre os picos de GH obtidos nos testes provocativos e o escore Z do peso e do comprimento ao nascimento, a idade cronológica, o escore Z do peso, da estatura e do IMC na época do teste. Os valores dos coeficientes de correlação obtidos (r) podem ser vistos na Tabela 3.

TABELA 3 – COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO (r) ENTRE O PICO DE GH E TAMANHO AO NASCIMENTO, IDADE CRONOLÓGICA, PESO, ESTATURA E IMC NA ÉPOCA DO TESTE

Variável	Coefficiente de correlação (r)
Peso ao nascimento (escore Z)	-0,05
Comprimento ao nascimento (escore Z)	-0,09
Idade cronológica (anos)	0,003
Peso (escore Z)	0,05
Estatura (escore Z)	0,26
IMC (escore Z)	-0,17

4.2.2 Classificação em Grupos

As crianças foram divididas de acordo com o pico de secreção de GH obtido no teste provocativo em dois grupos:

- **Grupo 1** – Crianças com pico de GH menor que 10 ng/ml em todos os testes: composto por 77 crianças (27 do sexo feminino e 50 do sexo masculino), com um total de 164 testes realizados (123 no laboratório do HC-UFPR).
- **Grupo 2** – Crianças com pico de GH maior ou igual a 10 ng/ml em pelo menos um teste: composto por 58 crianças (22 do sexo feminino e 36 do sexo masculino), com um total de 130 testes realizados (97 no laboratório do HC-UFPR). Destas 58 crianças, 15 tinham o pico de secreção de GH maior ou igual a 10 ng/ml em todos os testes realizados (04 do sexo feminino e 11 do sexo masculino). O pico de GH foi menor que 10 ng/ml em 51 testes (46 realizados no período pré-púbere e 05 em puberdade).

A distribuição dos testes provocativos de acordo com o tipo de imunoenensaio utilizado encontra-se na Tabela 4.

TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO DOS TESTES PROVOCATIVOS REALIZADOS NOS GRUPOS 1 E 2 DE ACORDO COM O TIPO DE IMUNOENSAIO

	Grupo 1 n (%)	Grupo 2 n (%)
RIA	36 (22,0)	22 (16,9)
IRMA	87 (53,0)	73 (56,2)
ICMA	21 (12,8)	21 (16,1)
IFMA	01 (0,6)	01 (0,8)
Não informado	19 (11,6)	13 (10,0)
TOTAL	164 (100,0)	130 (100,0)

4.2.3 Descrição e Comparação entre os Grupos

As Tabelas 5 e 6 mostram as características dos dois grupos na primeira consulta, ao nascimento e na época em que as crianças foram submetidas aos testes provocativos para avaliar a secreção de GH, bem como os resultados obtidos nos testes.

TABELA 5 - CARACTERÍSTICAS DAS CRIANÇAS DOS GRUPOS 1 E 2 NA PRIMEIRA CONSULTA E AO NASCIMENTO

	Grupo 1	Grupo 2	p
Idade cronológica ⁽¹⁾	9,34 ± 3,00 (2,33 e 18,07; 9,37)	8,74 ± 3,06 (2,09 e 14,66; 8,38)	0,26*
Estatura ⁽²⁾	-3,73 (-8,10 e -1,83)	-3,03 (-5,40 e -2,10)	0,001**
Peso ⁽²⁾	-2,10 (-3,60 e 0,40)	-2,00 (-2,80 e -0,80)	0,13**
IMC ⁽¹⁾	-0,26 ± 1,15 (-3,80 e 2,70; -0,20)	-0,51 ± 1,03 (-3,10 e 2,30; -0,40)	0,20*
Estatura alvo ⁽¹⁾	-1,51 ± 0,72 (-3,30 e 0,80; -1,48)	-1,60 ± 0,69 (-3,45 e 0,27; -1,62)	0,47*
DIF ⁽²⁾	-2,20 (-6,00 e 0,40)	-1,70 (-3,20 e -0,30)	0,001**
Peso nascimento ⁽¹⁾	-0,81 ± 1,10 (-3,37 e 2,22; -0,76)	-0,81 ± 1,28 (-3,87 e 2,60; -0,78)	0,99*
Comprimento nascimento ⁽²⁾	-0,97 (-3,33 e 2,78)	-1,31 (-4,73 e 0,64)	0,21**

NOTA : idade cronológica expressa em anos e as demais informações em escore Z.

(1) média ± DP (limite inferior e limite superior; mediana)

(2) mediana (limite inferior e limite superior)

* Análise feita através do teste t de Student

** Análise feita através do teste de Mann-Whitney

TABELA 6 - CARACTERÍSTICAS DAS CRIANÇAS DOS GRUPOS 1 E 2 NA ÉPOCA DOS TESTES PROVOCATIVOS PARA AVALIAR A SECREÇÃO DE GH E RESULTADOS OBTIDOS

	Grupo 1	Grupo 2	p
Idade cronológica (anos) ⁽¹⁾	10,09 ± 3,03 (3,83 e 18,58; 10,10)	10,22 ± 2,81 (3,24 e 15,95; 10,33)	0,71*
Escore Z da estatura ⁽²⁾	-3,60 (-8,10 e -1,83)	-3,00 (-5,40 e -2,00)	0,000**
Escore Z do peso ⁽²⁾	-2,20 (-3,50 e 0,40)	-2,00 (-2,80 e -0,80)	0,05**
Escore Z do IMC ⁽¹⁾	-0,31 ± 1,19 (-3,80 e 2,80; -0,30)	-0,82 ± 1,06 (-3,60 e 1,30; -0,80)	0,000*
Testes pré- púberes (n)	138	109	
Testes púberes (n) ⁽³⁾	26	21	
Pico GH pré-púbere ⁽²⁾	2,45 (0,05 e 9,91)	10,43 (0,20 e 47,73)	0,00**
Pico GH púbere ⁽²⁾	4,70 (0,51 e 9,29)	13,10 (1,65 e 74,70)	0,00**
Pico GH (todos) ⁽²⁾	2,80 (0,05 e 9,91)	10,77 (0,20 e 74,70)	0,00**

NOTA : Valor do pico de GH expresso em ng/ml. A estatura na época dos testes foi obtida em 151 testes do Grupo 1 e em 114 testes do Grupo 2. O peso e o IMC foram obtidos em 150 testes do Grupo 1 e em 112 testes do Grupo 2.

(1) média ± DP (limite inferior e limite superior; mediana)

(2) mediana (limite inferior e limite superior)

(3) dois testes com *priming* no Grupo 1 e dois no Grupo 2

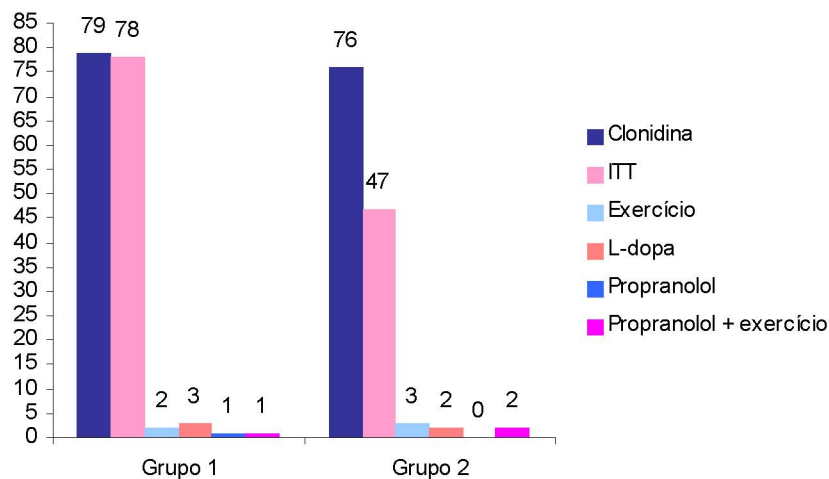
* Análise feita através do teste t de Student

** Análise feita através do teste de Mann-Whitney

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto ao escore Z do peso e do comprimento ao nascimento, ao escore Z da estatura alvo familiar, à idade cronológica e escore Z do peso ($p = 0,13$) e do IMC ($p = 0,20$) na primeira consulta, aos tipos de estímulos utilizados nos testes provocativos (Figura 2), assim como à idade cronológica, escore Z do peso e estágio puberal na época dos testes. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com relação ao escore Z da estatura e ao DIF na primeira consulta ($p = 0,001$), sendo as

crianças do Grupo 1 mais baixas e com estatura mais afastada do alvo familiar. No momento dos testes houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto ao escore Z da estatura ($p = 0,000$) e do IMC ($p = 0,000$).

FIGURA 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS TESTES PROVOCATIVOS NOS GRUPOS 1 E 2 DE ACORDO COM O TIPO DE ESTÍMULO UTILIZADO

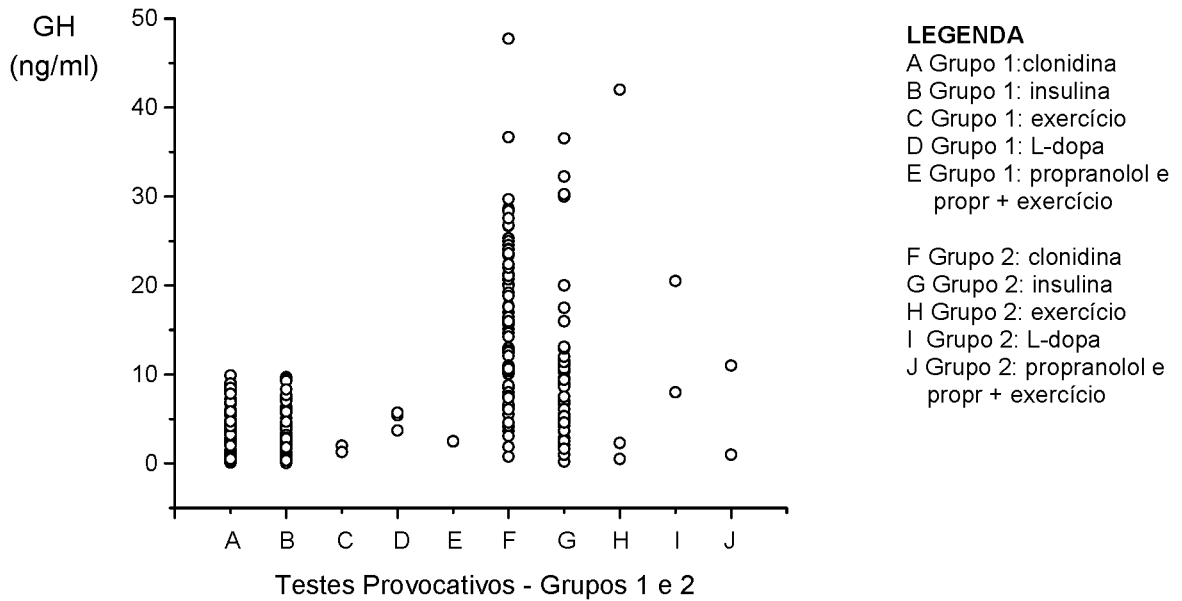


Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto às medianas dos picos de GH e importante sobreposição de resultados nos dois grupos. A distribuição dos picos de GH obtidos durante os testes provocativos em cada um dos grupos pode ser vista na Figura 3.

Quanto aos resultados obtidos nos testes realizados em puberdade ou não, no Grupo 1 houve diferença estatisticamente significativa entre a mediana dos picos de GH nos testes pré-púberes e púberes ($p = 0,000$), mas no Grupo 2 esta diferença não foi significativa ($p = 0,19$).

Nos dois grupos, o primeiro teste provocativo a que a criança foi submetida foi, na maioria das vezes, o da clonidina (99 dos 135 testes, ou seja, 73,33%) e no segundo teste houve predomínio da hipoglicemia insulínica como estímulo utilizado (88 dos 135 testes realizados, ou seja, 65,18%).

FIGURA 3 – DISTRIBUIÇÃO DOS PICOS DE GH NOS GRUPOS 1 E 2 DE ACORDO COM O TIPO DE ESTÍMULO UTILIZADO NOS TESTES PROVOCATIVOS



As velocidades de crescimento foram analisadas nos dois grupos como pré-púberes e púberes para serem posteriormente correlacionadas com os resultados obtidos nos testes provocativos nos períodos correspondentes. No período pré-púbere, 122 crianças (67 do Grupo 1 e 55 do Grupo 2) tinham uma velocidade de crescimento disponível e 73 (30 do Grupo 1 e 43 do Grupo 2) tinham velocidades de crescimento disponíveis também no segundo ano. Na puberdade, 35 crianças (16 do Grupo 1 e 19 do Grupo 2) tinham uma velocidade de crescimento e 12 tinham duas velocidades de crescimento (06 do Grupo 1 e 06 do Grupo 2).

Os resultados do escore Z da velocidade de crescimento nos períodos pré-púbere e púbere em cada um dos grupos encontram-se na Tabela 7.

TABELA 7 – ESCORE Z DAS VELOCIDADES DE CRESCIMENTO (VC) NOS PERÍODOS PRÉ-PÚBERE E PÚBERE NOS GRUPOS 1 E 2

	Grupo 1	Grupo 2	p
Primeira VC pré-púbere	-1,34 (-6,20 e 4,60)	-0,60 (-3,55 e 4,15)	0,04**
Segunda VC pré-púbere	-1,43 (-4,40 e 3,90)	-0,40 (-3,01 e 2,90)	0,049**
Primeira VC púbere	0,21 ± 1,84 (-3,12 e 2,90;0,79)	0,44 ± 2,15 (-2,23 e 5,33;-0,15)	0,74*
Segunda VC púbere	1,39 ± 3,04 (-1,80 e 4,90;0,97)	3,15 ± 1,26 (1,44 e 5,19;3,00)	0,22*
VC pré-púbere todas⁽¹⁾	-1,34 (-6,20 e 4,60)	-0,49 (-3,55 e 4,15)	0,003**
VC púbere todas⁽²⁾	0,53 ± 2,22 (-3,12 e 4,90;0,79)	1,09 ± 2,28 (-2,23 e 5,33;0,47)	0,40*

NOTA: resultados expressos em mediana (limite inferior e limite superior) para VC pré-púbere e em média ± DP (limite inferior e limite superior; mediana) para VC púbere.

(1) número de VC (n) = 97 para o Grupo 1 e n = 99 para o Grupo 2

(2) n = 22 para o Grupo 1 e n = 25 para o Grupo 2

* Análise feita através do teste t de Student

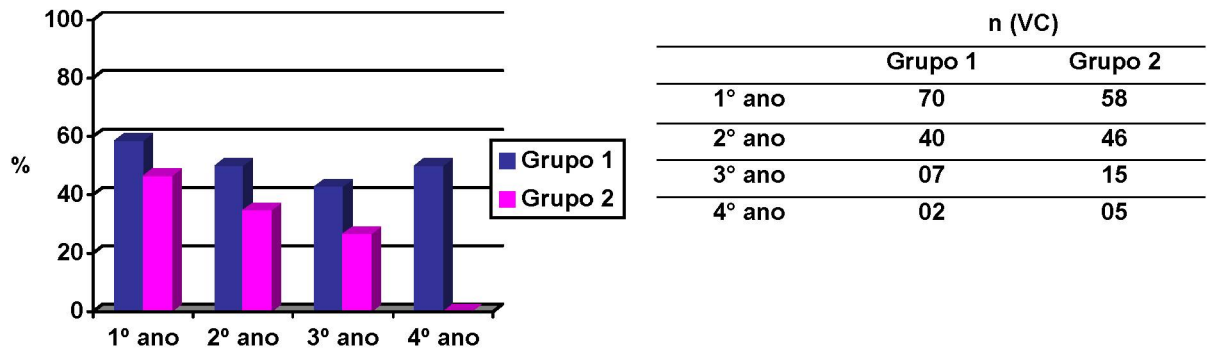
** Análise feita através do teste de Mann-Whitney

A análise das velocidades de crescimento mostrou que no período pré-púbere, nos dois anos em que foram avaliadas, as crianças do Grupo 1 apresentaram escore Z da velocidade de crescimento menor que as do Grupo 2 (p = 0,04 no primeiro ano e p = 0,049 no segundo ano). No período púbere não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao escore Z da velocidade de crescimento entre os grupos (p = 0,74 no primeiro ano e p = 0,22 no segundo ano).

Da mesma forma, quando todas as velocidades de crescimento pré-púberes e púberes, em cada grupo, foram analisadas em conjunto, o escore Z da velocidade de crescimento foi diferente entre os grupos no período pré-púbere (p=0,003) e não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos no período púbere (p=0,40).

Ao ser analisado o escore Z da velocidade de crescimento em cada avaliação nos dois grupos (primeira VC disponível, segunda, terceira e quarta, independente do estágio puberal), observou-se que enquanto para o Grupo 1 a frequência de crianças classificadas como tendo baixa velocidade de crescimento (escore Z da velocidade de crescimento em um ano < -0,8) manteve-se quase que inalterada nas 4 avaliações, para as crianças do Grupo 2 houve diminuição progressiva das porcentagens (teste de Mantel-Haenszel, p=0,03; OR = 0,55, IC= 0,32 - 0,93) (Figura 4).

FIGURA 4 – PORCENTAGENS DE CRIANÇAS COM VELOCIDADE DE CRESCIMENTO BAIXA DURANTE O SEGUIMENTO DE ACORDO COM OS GRUPOS



Quando as crianças com pelo menos duas velocidades de crescimento consecutivas disponíveis (40 no Grupo 1 e 46 no Grupo 2) foram avaliadas, observou-se que no Grupo 1, 16 (40,0%) apresentavam crescimento lento (escore z da velocidade de crescimento < - 0,8 por dois anos consecutivos) e no Grupo 2, 11 (23,9%) (Figura 5).

FIGURA 5 – DISTRIBUIÇÃO DAS CRIANÇAS DOS GRUPOS 1 E 2 COM DUAS VELOCIDADES DE CRESCIMENTO CONSECUTIVAS DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO DO CRESCIMENTO



4.2.4 Relação entre o Crescimento e Resultados Obtidos nos Testes Provocativos

A análise do crescimento (velocidade de crescimento em um ano e em dois anos consecutivos) *versus* os resultados obtidos nos testes provocativos foi feita através dos métodos estatísticos de correlação e regressão logística univariada.

Como pode ser visto nas Figuras 6 e 7 não houve correlação entre os picos de GH e a velocidade de crescimento nos períodos pré-púbere ($r = 0,11$) e púbere ($r = 0,16$).

FIGURA 6 – CORRELAÇÃO ENTRE O ESCORE Z DAS VELOCIDADES DE CRESCIMENTO E OS PICOS DE GH (ng/ml) NOS TESTES PROVOCATIVOS NO PERÍODO PRÉ-PÚBERE

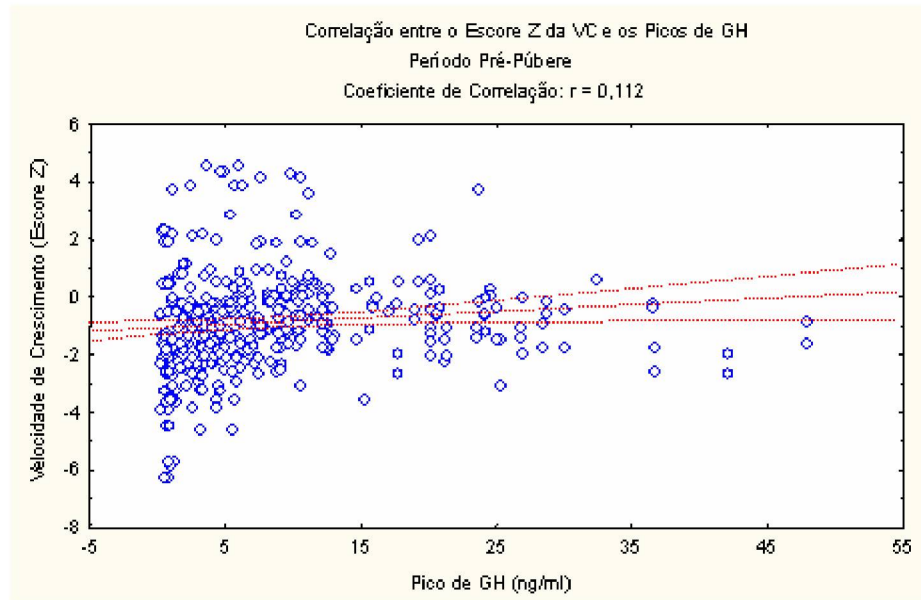
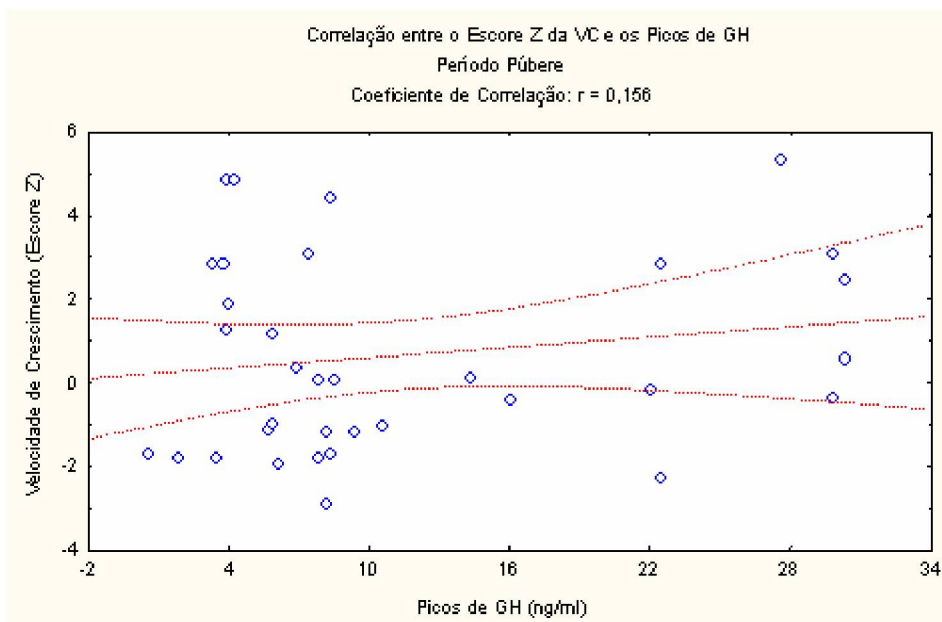


FIGURA 7 – CORRELAÇÃO ENTRE O ESCORE Z DAS VELOCIDADES DE CRESCIMENTO E OS PICOS DE GH (ng/ml) NOS TESTES PROVOCATIVOS NO PERÍODO PÚBLERE



Não foi observado um aumento significativo da probabilidade de uma criança apresentar velocidade de crescimento baixa (escore Z da VC em um ano menor que -0,8) no período pré-púbere com a diminuição dos valores de pico de GH obtidos neste período ($p = 0,06$). Assim, como pode ser visto na Figura 8, para um valor de pico de GH de 20 ng/ml, a probabilidade de uma criança apresentar velocidade de crescimento baixa é de 50%. Com um pico de GH de 5 ng/ml, a probabilidade de uma velocidade de crescimento baixa aumenta somente para cerca de 58%. Já na puberdade (Figura 9), o aumento da probabilidade de uma criança apresentar velocidade de crescimento baixa em um ano conforme a diminuição do valor de pico de GH obtido no teste é significativo ($p = 0,03$). Com um valor de pico, por exemplo, de 20 ng/ml, a probabilidade de velocidade de crescimento baixa é de 20%. Entretanto, passa a 50% com um pico de GH de 5 ng/ml.

FIGURA 8 – PROBABILIDADE DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO BAIXA (ESCORE Z DA VC < -0,8) DE ACORDO COM O PICO DE GH (ng/ml) NOS TESTES PROVOCATIVOS NO PERÍODO PRÉ-PÚBERE

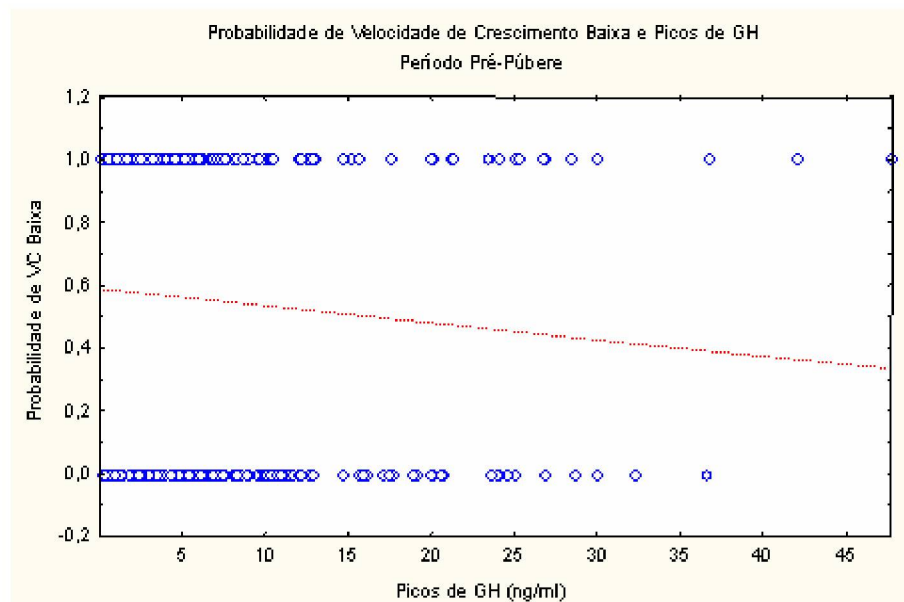
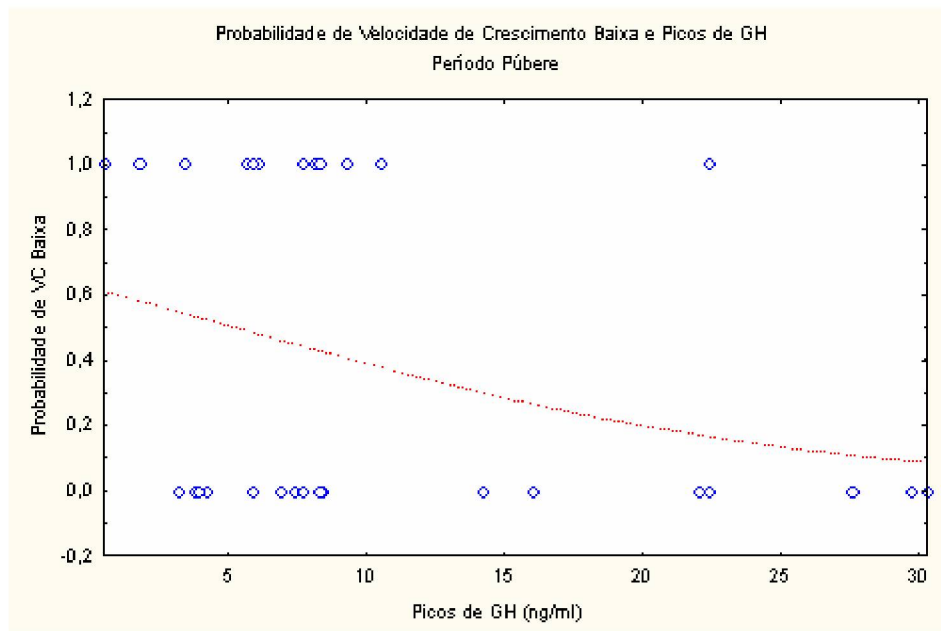
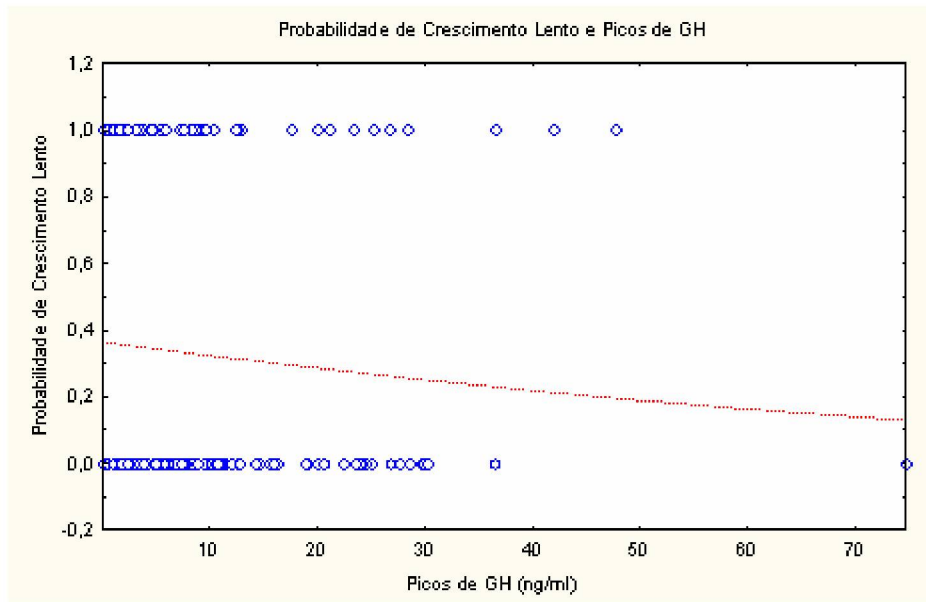


FIGURA 9 – PROBABILIDADE DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO BAIXA (ESCORE Z DA VC < -0,8) DE ACORDO COM O PICO DE GH (ng/ml) NOS TESTES PROVOCATIVOS NO PERÍODO PÚBERE



Estudando-se, ainda através da regressão logística univariada, os resultados obtidos nos testes provocativos de GH e o padrão de crescimento das crianças por dois anos consecutivos (crescimento lento quando o escore Z da velocidade de crescimento for menor que -0,8 por dois anos consecutivos), também foi observado que a concentração máxima de GH obtida no teste possui fraco poder discriminante entre as crianças que crescem lentamente ou não ($p = 0,28$) (Figura 10).

FIGURA 10 – PROBABILIDADE DE CRESCIMENTO LENTO (ESCORE Z DA VC < -0,8 POR DOIS ANOS CONSECUTIVOS) DE ACORDO COM O PICO DE GH (ng/ml) OBTIDO NOS TESTES PROVOCATIVOS



5 DISCUSSÃO

Apesar de disponíveis há várias décadas, ainda existem muitas controvérsias em relação aos testes provocativos para avaliar a secreção de GH, tanto no que diz respeito à orientação diagnóstica quanto à orientação do tratamento das crianças com baixa estatura. Poucos estudos avaliam os testes provocativos em função do padrão de crescimento na infância e na adolescência. O presente trabalho procurou avaliar, através de um estudo retrospectivo, os resultados obtidos nos testes provocativos e o crescimento apresentado pelas crianças com baixa estatura acompanhadas em um serviço especializado, da forma como o problema é apresentado na prática clínica diária.

As crianças que fizeram parte deste estudo apresentavam baixa estatura importante. Apesar da estatura alvo familiar encontrar-se abaixo da média populacional, a diferença da estatura das crianças em relação ao alvo familiar foi significativa, demonstrando a intensidade do comprometimento do crescimento das crianças. Os valores de escore Z da estatura no presente estudo ficaram abaixo dos observados em um grande estudo com mais de seis mil crianças com baixa estatura (*National Cooperative Growth Study – substudy VI*), onde a média \pm DP do escore Z de estatura foi de $-2,5 \pm 1,1$ (HINTZ, 1998). Isto aconteceu provavelmente por tratar-se de um grupo selecionado, onde um dos critérios de inclusão foi que as crianças tivessem sido submetidas a pelo menos dois testes provocativos para avaliar a secreção de GH. Como se sabe, a indicação destes testes é reservada às crianças com maior comprometimento do crescimento.

As crianças foram separadas em dois grupos de acordo com o resultado nos testes provocativos. Como o estudo foi retrospectivo e envolveu crianças atendidas ao longo de quinze anos, vários foram os ensaios utilizados para quantificação do GH e, portanto, as unidades em que os resultados eram expressos também variaram. Para uma maior uniformidade, todos os resultados foram convertidos para uma mesma unidade (ng/ml), com base no tipo de ensaio utilizado na época da realização dos testes e a IRP contra a qual o *standard* era calibrado, utilizando os fatores de conversão, baseados na potência biológica, propostos internacionalmente. Não houve diferença entre os grupos quanto aos tipos de estímulos utilizados nos testes provocativos, à idade cronológica, ao peso e ao

estádio puberal na época dos testes, os quais poderiam interferir com os resultados obtidos (ZADIK et al., 1985; MARTHA et al., 1989; ALBERTSSON-WIKLAND et al., 1994; VELDHUIS; ROEMMICH; ROGOL, 2000). Apesar de todas as crianças apresentarem baixa estatura, as que apresentaram em todos os testes provocativos as concentrações de GH menores do que 10 ng/ml (Grupo 1) eram mais baixas, encontravam-se mais afastadas do alvo familiar e apresentavam, na época dos testes, IMC maior do que as crianças com pelo menos um valor de GH acima de 10 ng/ml (Grupo 2). Vários trabalhos mostram que a obesidade diminui a secreção espontânea e a resposta do GH durante os testes provocativos (LOCHE et al., 1987; ARGENTE et al., 1997). No presente estudo, apesar do escore Z do IMC ser maior no Grupo 1, ele estava abaixo da média refletindo o importante comprometimento do crescimento nestas crianças, e não demonstrando a presença de obesidade. A média do escore Z do IMC encontrado nos dois grupos foi semelhante ao encontrado nas crianças com baixa estatura no *National Cooperative Growth Study-substudy VI* que foi em média \pm DP de $-0,5 \pm 1,4$ (HINTZ, 1998).

No presente estudo não foram demonstradas correlações entre os valores de picos de GH obtidos durante os testes provocativos e o tamanho ao nascimento, a idade cronológica, o peso, a estatura ou o IMC na época da realização do teste. Estes resultados divergem de alguns trabalhos na literatura. CAREL e colaboradores (1997) avaliaram os resultados dos testes provocativos em 3233 crianças e encontraram que o tipo de estímulo utilizado durante o teste, a idade cronológica, o estágio puberal e o escore Z da estatura estavam associados de forma positiva com o pico de GH, enquanto os escores Z do peso e do alvo familiar tiveram uma associação negativa. Já ALBERTSSON-WIKLAND e ROSBERG (1988), avaliando a secreção espontânea de GH nas 24 horas em crianças não deficientes de GH com estaturas variáveis e mantendo seu canal de crescimento, encontraram uma correlação positiva entre a estatura das crianças e a concentração de GH. A relação com o IMC foi demonstrada por MARTIN-HERNÁNDEZ et al. (1996), que encontraram uma correlação negativa entre a secreção espontânea de GH e o IMC, em crianças pré-púberes com estatura e velocidade de crescimento normais e não obesas. A falta de correlações observadas no presente estudo provavelmente aconteceu porque as crianças apresentavam baixa estatura importante, muitas também com IMC abaixo da média, crescendo abaixo do seu potencial genético,

diferente dos estudos acima onde muitas crianças não apresentavam comprometimento importante do crescimento.

Ao avaliar-se o padrão de crescimento, as crianças do Grupo 1 apresentaram velocidade de crescimento menor no período pré-púbere em relação às do Grupo 2. Esta diferença não se manteve significativa durante a puberdade. Entretanto, observou-se nos dois grupos crianças com velocidade de crescimento normal (escore Z da VC em um ano maior ou igual a -0,8), assim como crianças com baixa velocidade de crescimento independente do estágio puberal. Não se observou correlação entre os picos de GH obtidos durante os testes provocativos e as velocidades de crescimento. Um mesmo valor de pico de GH foi encontrado em testes provocativos de crianças com as mais diversas velocidades de crescimento. Poucos estudos avaliaram a correlação entre a velocidade de crescimento e o pico de GH obtido durante testes provocativos. A maioria dos estudos avalia apenas a sensibilidade e a especificidade dos testes provocativos comparando-os a outros testes. A velocidade de crescimento algumas vezes é citada para mostrar a sobreposição das concentrações máximas de GH nos testes dos diferentes grupos estudados.

DATTANI et al. (1992) estudaram 148 crianças pré-púberes com baixa estatura (definida como escore Z da estatura menor que -2,5), classificadas em dois grupos de acordo com a velocidade de crescimento (um grupo com escore Z da VC menor que -0,8 e outro com escore Z da VC maior que -0,8). Os autores avaliaram a resposta do GH durante o teste de hipoglicemia insulínica e sua relação com o crescimento, com objetivo de estabelecer um valor de corte que definisse o diagnóstico de insuficiência de GH. Apesar de observarem concentrações mais altas de GH nas crianças com escore Z da velocidade de crescimento maior que -0,8, os autores ressaltam a importante sobreposição de picos de GH encontrada nos dois grupos. Uma maior sensibilidade e especificidade foram observadas com a concentração máxima de GH de 13,5 mU/l.

Em outro estudo com 50 crianças pré-púberes com baixa estatura (HINDMARSH et al., 1987) foi avaliada a relação entre a secreção espontânea de GH em 24 horas, o pico de GH obtido durante o teste da hipoglicemia insulínica e a velocidade de crescimento. O crescimento foi classificado como lento quando o escore Z da velocidade de crescimento foi menor que -0,8. Os autores observaram

uma relação positiva entre a amplitude e/ou a frequência dos pulsos de GH e a velocidade de crescimento, mas não foi possível obter um ponto de corte que separasse as crianças que cresciam bem daquelas com crescimento lento. A mesma dificuldade foi encontrada na avaliação da velocidade de crescimento em relação ao pico de GH obtido durante o teste provocativo: 19% das crianças crescendo lentamente tiveram picos de GH acima de 15 mU/l (valor de corte utilizado pelos autores para definir deficiência de GH) e 8 % das crianças com escore Z da velocidade de crescimento maior que -0,8 tiveram picos menores que 15 mU/l. Os autores sugerem que a amplitude dos pulsos de GH e/ou a sua frequência são predominantes na relação com a velocidade de crescimento e reforçam a idéia de que a secreção de GH é um *continuum*.

Já CIANFARANI et al. (2002), realizaram um estudo retrospectivo em que avaliaram 89 crianças com baixa estatura. Os autores classificaram as crianças em insuficientes de GH ou portadores de baixa estatura idiopática, com base no valor do pico de GH obtido durante testes provocativos e pela presença de alterações na ressonância nuclear magnética de região hipotálamo-hipofisária. O grupo classificado como insuficiente de GH (picos de GH < 10 mcg/l) era mais jovem, mais baixo, com velocidade de crescimento menor e concentrações mais baixas de IGF-I que o grupo classificado como com baixa estatura idiopática. Vinte e três das 33 crianças com insuficiência de GH e 31 das 56 crianças com baixa estatura idiopática apresentaram velocidade de crescimento abaixo do 25º percentil. Os autores concluíram que a velocidade de crescimento tem uma sensibilidade alta (82%), mas uma especificidade baixa (43%) na identificação das crianças com insuficiência de GH. GHIGO et al. (1996), em estudo feito com 472 crianças sem deficiência de GH, com velocidade de crescimento normal (escore Z maior que -0,8) e estatura normal ou baixa, encontraram que 23% a 36% das crianças submetidas a pelo menos um teste provocativo apresentaram um pico de GH menor que 10 ng/ml.

Os resultados encontrados no presente estudo, em acordo com os trabalhos citados acima, indicam como é comum a sobreposição de valores de picos de GH obtidos durante os testes provocativos e também das velocidades de crescimento, reforçando a dificuldade de classificar as crianças com baixa estatura em diferentes grupos.

Para que a velocidade de crescimento pudesse ser valorizada com maior segurança, tentamos, sempre que possível, avaliar a velocidade de crescimento por dois anos consecutivos. Ao contrário dos gráficos de estatura, onde desvios iniciais do crescimento são difíceis de serem detectados visualmente devido à forte correlação existente entre as medidas sucessivas, velocidades de crescimento sucessivas dificilmente se correlacionam. Por esta razão, têm sido propostos valores de velocidade de crescimento que, se observados por dois anos consecutivos, indicam que uma atitude imediata deve ser tomada. Atualmente considera-se uma velocidade de crescimento abaixo do 25^o percentil ou escore Z menor que -0,8 como sinal de alerta para um crescimento inadequado (BROOK; HINDMARSH; HEALY, 1986; HINDMARSH et al., 1987). Estes foram os critérios para análise da velocidade de crescimento adotados neste estudo.

No presente trabalho, entre as crianças com duas velocidades de crescimento disponíveis, 40% das crianças do Grupo 1 e 23,9% das crianças do Grupo 2 apresentaram velocidade de crescimento baixa por dois anos consecutivos. Avaliando as velocidades de crescimento disponíveis por até quatro anos consecutivos, observou-se que, com o passar dos anos, a frequência de crianças classificadas como tendo baixa velocidade de crescimento no Grupo 1 manteve-se quase inalterada. Já no Grupo 2 houve uma diminuição progressiva das crianças com baixa velocidade de crescimento. A maioria dos trabalhos publicados que avaliam a resposta do GH obtida durante os testes provocativos e a velocidade de crescimento espontânea o fazem com velocidade de crescimento em um ano apenas.

Outro resultado importante demonstrado neste estudo foi a ausência de um aumento significativo da probabilidade de uma criança apresentar baixa velocidade de crescimento no período pré-púbere com a diminuição dos valores de pico de GH neste período ($p = 0,06$). Isto sugere que as concentrações de GH obtidas durante os testes provocativos no período pré-púbere nem sempre evidenciam quais crianças apresentarão velocidade de crescimento baixa. Já na puberdade, concentrações mais baixas de GH nos testes provocativos revelam uma maior probabilidade de uma criança apresentar velocidade de crescimento baixa. Mesmo assim, esta probabilidade é de apenas 50% com picos de GH de 5 ng/ml. A concentração máxima de GH obtida durante os testes provocativos também possui

fraco poder discriminante entre as crianças que apresentam crescimento lento (baixa velocidade de crescimento por dois anos consecutivos) e as com crescimento adequado. Estes resultados mostram que, no grupo estudado, a concentração máxima de GH obtida durante os testes provocativos não discrimina as crianças com baixa estatura que apresentarão velocidade de crescimento baixa em um ano ou crescimento lento por dois anos consecutivos daquelas que apresentarão crescimento adequado.

Alguns fatores que podem explicar a ausência de correlação entre os picos de GH obtidos durante os testes provocativos e a observação do crescimento das crianças com baixa estatura observada neste estudo são:

- O teste provocativo foi desenvolvido para avaliar a via secretória e, em especial, a liberação da reserva secretória de GH armazenado na hipófise. Assim, se pouco antes do estímulo tiver acontecido um pulso de liberação de GH e a reserva hipofisária estiver baixa, a resposta no teste será baixa (YOULTON; KAPLAN; GRUMBACH, 1969; DEVESA et al. 1989; SURI et al., 1990);
- O crescimento não ocorre de forma linear (HERMANUSSEN, 1998; LAMPL; VELDHUIS; JOHNSON., 1992), varia com as estações do ano (MARSHALL, 1971; TILLMANN et al., 1998) e alguns estudos sugerem ciclos periódicos de crescimento maiores que um ano (BUTLER; McKIE; RATCLIFFE, 1990). Assim, como a secreção espontânea normal de GH está relacionada à velocidade de crescimento e, habitualmente, utiliza-se a velocidade de crescimento calculada em um ano, discute-se a validade de compará-la ao resultado do teste que mostra a secreção de GH em um único dia (DATTANI et al., 1992; HINDMARSH; SWIFT, 1995);
- O crescimento é dependente não só de GH, mas também de outros fatores;
- Alguns estudos sugerem que, em algumas crianças, os resultados obtidos nos testes provocativos podem ser considerados normais pelos valores de corte classicamente utilizados, mas não necessariamente refletem a secreção espontânea de GH necessária para um crescimento adequado (SPILIOTIS et al., 1984; BERCU et al., 1986; SHULMAN; BERCU, 1987; ROCHICCIOLI et al., 1991);
- A secreção de GH pode ser considerada um *continuum* entre uma secreção normal e anormal. Determinar um valor de corte preciso para diferenciar entre o

normal e o anormal exige que o método de investigação diagnóstica tenha sensibilidade, especificidade, acurácia e precisão elevados. Os testes laboratoriais disponíveis atualmente não atendem tais exigências.

- Limitações dos testes:

- a) os testes provocativos para avaliar a secreção de GH são testes não fisiológicos realizados com estímulos diferentes, e nenhum deles consegue mimetizar o padrão de secreção hipofisária. Diferentes resultados podem ser obtidos nos testes provocativos dependendo do estímulo utilizado (ROCHICCIOLI et al., 1993; GHIGO et al., 1996). Variáveis fisiológicas como a idade, sexo, estado nutricional ou estágio puberal influenciam os resultados dos testes (LOCHE et al., 1987; COUTANT et al., 1998; ZADIK; CHALEW; KOWARSKI, 1990). MARIN et al. (1994) estudando 84 crianças normais com estatura e peso entre os percentis 2,5 e 97,5, observaram que 61% das crianças no estágio 1 da puberdade tiveram pico de GH em algum teste menor que 7 mcg/l. Os picos de GH aumentaram significativamente com o desenvolvimento puberal. No estágio 3, apenas 11% das crianças ainda apresentavam pico de GH menor do que 7 mcg/l. Os autores demonstraram ainda que a administração de estrogênio em crianças pré-púberes por dois dias antes do teste aumentou significativamente o pico de GH obtido durante o teste para 7,2 mcg/l.
- b) Os valores de corte utilizados para definir o que seria uma concentração de GH normal são definidos de forma arbitrária e os mesmos valores são usados independentemente da idade, estágio puberal, tipo de estímulo e tipo de ensaio utilizados (ROSENFELD et al., 1995; JUUL et al., 1999).
- c) A reprodutibilidade dos resultados é baixa (ZADIK et al., 1990; TASSONI et al., 1990). Há uma variedade grande de ensaios disponíveis que dependem do reconhecimento imunológico da molécula de GH. Ocorrem variações consideráveis entre ensaios iguais e entre os diferentes ensaios. Entre as razões para a grande variabilidade dos resultados encontrados nos diferentes ensaios está a presença das diversas isoformas de GH encontradas na circulação e a utilização de diferentes anticorpos nos ensaios, que reconhecem diferentes epítomos na molécula de GH. Além disso, contribuem para a variabilidade dos resultados, a referência internacional contra a qual o

ensaio é calibrado, o padrão utilizado e diferenças nas matrizes (CELNIKER et al., 1989; GRANADA et al., 1990; JANSSON et al., 1997; CHALER et al., 2001).

- Os estudos que determinaram a acurácia da maioria dos testes provocativos para diagnosticar a deficiência de GH foram realizados em crianças com baixa estatura e velocidade de crescimento na maioria das vezes abaixo do esperado para a idade. Independente das diferentes respostas do GH durante os testes provocativos e do diagnóstico feito para cada paciente, o quadro clínico da maioria das crianças incluídas nos estudos era semelhante. Para determinar a acurácia de um teste provocativo, a maioria dos trabalhos levou em consideração apenas a concentração de GH obtida com outro teste, não o crescimento das crianças, para definir o diagnóstico. Além disso, poucos avaliaram o crescimento posterior destas crianças demonstrando se as consideradas deficientes não cresceram e se as com “secreção normal” cresceram e ficaram com estatura adequada para o seu potencial genético. Fica a dúvida se os testes têm realmente boa acurácia para determinar quem vai crescer adequadamente.

Em resumo, o presente estudo demonstrou que a adoção de um valor de corte de 10 ng/ml entre crianças com baixa estatura agrupa as crianças com crescimento mais comprometido, mas não distingue as crianças que irão crescer lentamente. Observou-se que 40% das crianças com picos menores do que 10 ng/ml e 23,9% das com testes responsivos apresentaram velocidade de crescimento baixa por dois anos consecutivos, reforçando a importância dos parâmetros clínicos no acompanhamento das crianças com baixa estatura.

Uma das propostas para a continuidade deste estudo é a avaliação das crianças que apresentaram uma resposta considerada normal pelo valor de corte adotado em um primeiro teste e por isso não foram submetidas a um segundo teste provocativo. Não tendo dois testes provocativos, foram excluídas do presente estudo. Uma segunda proposta compreende a avaliação da estatura final alcançada espontaneamente e após tratamento com GH biossintético nas crianças incluídas no presente estudo.

6 CONCLUSÃO

Com base no objetivo proposto pelo estudo concluiu-se que, nas crianças com baixa estatura, as concentrações máximas de GH obtidas durante os testes provocativos não apresentaram correlação com a velocidade de crescimento espontânea verificada em um ano e também em dois anos consecutivos.

REFERÊNCIAS

ALBERTSSON-WIKLAND, K. et al. Analysis of 24-hour growth hormone profiles in healthy boys and girls of normal stature: relation to puberty. **J Clin Endocrinol Metab**, v.78, n.5, p.1195-1201, 1994.

ALBERTSSON-WIKLAND, K.; NIKLASSON, A .; KARLBERG, P. Birth data for patients who later develop growth hormone deficiency: preliminary analysis of a National Register. **Acta Paediatr Scand (Suppl)**, v.370, p.115-120, 1990.

ALBERTSSON-WIKLAND, K.; ROSBERG, S. Analyses of 24-hour growth hormone profiles in children: relation to growth. **J Clin Endocrinol Metab**, v.67, n.3, p.493-500, 1988.

ALLEN, D. B. et al. Treatment of glucocorticoid-induced growth suppression with growth hormone. **J Clin Endocrinol Metab**, v.83, n.8, p.2824-2829, 1998.

ANDERSSON, ANA-MARIA. et al. Interpretation of growth hormone provocative tests: comparison of cut-off values in four european laboratories. **J Endocrinol**, v.132, p.340-343, 1995.

ARGENTE, J. et al. Multiple endocrine abnormalities of the growth hormone and insulin-like growth factor axis in prepubertal children with exogenous obesity: effect of short- and long-term weight reduction. **J Clin Endocrinol Metab**, v.82, n.7, p.2076-2083, 1997.

ARGENTE, J. et al. Isolated growth hormone deficiency in children and adolescents. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v.14, p.1003-1008, 2001.

ATTIA, N. et al. The metabolic syndrome and insulin-like growth factor I regulation in adolescent obesity. **J Clin Endocrinol Metab**, v.83, n. 5, p.1467-1471, 1998.

AUDÍ, L.; GRANADA, M. L.; CARRASCOSA, A. Growth hormone secretion assessment in the diagnosis of short stature. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v.9, p.313-324, 1996.

BAKER, J. et al. Role of insulin-like growth factors in embryonic and posnatal growth. **Cell**, v.75, p.73-82, 1993.

BELL, J. J.; DANA, K. Lack of correlation between growth hormone provocative test results and subsequent growth rates during growth hormone therapy. **Pediatrics (suppl)**, v.102, p.518-520, 1998.

BERCU, B. B. et al. Growth hormone (GH) provocative testing frequently does not reflect endogenous GH secretion. **J Clin Endocrinol Metab**, v.63, n.3, p.709-716, 1986.

BOGUSZEWSKI, C. L. Genética Molecular do eixo GH-IGF-I. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.45, n.1, p.5-14, 2001.

BROOK, C. G. D.; HINDMARSH, P.C.; HEALY, M. J. R. A better way to detect growth failure. **BMJ**, v.293, p.1186, 1986.

BROOK, C. G. D.; HINDMARSH, P. C. Growth assessment. Purpose and interpretation. In: _____. **Clinical Pediatric Endocrinology**. 4.ed. Oxford: Blackwell Science, 2001. p. 115-123.

BUTLER, G. E.; McKIE, M.; RATCLIFFE, S. G. The cyclical nature of prepubertal growth. **Ann Hum Biol**, v.17, n.3, p.177-198, 1990.

CAREL, JEAN-CLAUDE et al. Growth hormone testing for the diagnosis of growth hormone deficiency in childhood: a population register-based study. **J Clin Endocrinol Metab**, v.82, n.7, p.2117-2121, 1997.

CELNIKER, A. C. et al. Variability in the quantitation of circulating growth hormone using commercial immunoassays. **J Clin Endocrinol Metab**, v.68, n.2, p.469-476, 1989.

CHALER, E. et al. Between-assay differences in serum growth hormone (GH) measurements: importance in the diagnosis of GH deficiency in childhood. **Clin Chem**, v.47, n.9, p.1735-1738, 2001.

CIANFARANI, S. et al. Height velocity and IGF-I assessment in the diagnosis of childhood onset GH insufficiency: do we still need a second GH stimulation test? **Clin Endocrinol (Oxf)**, v.57, p.161-167, 2002.

CLAYTON, P. E.; GILL, M. S. Normal growth and its endocrine control. In: BROOK, C. G. D.; HINDMARSH, P. C. **Clinical Pediatric Endocrinology**. 4.ed. Oxford: Blackwell Science, 2001. p. 95-114.

COLE, T. J.; FREEMAN, J. V.; PREECE, M. A. Body mass index reference curves for the UK, 1990. **Arch Dis Child**, v.73, n.1, p.25-29, 1995.

COUTANT, R. et al. Circulating leptin level and growth hormone response to stimulation tests in obese and normal children. **Eur J Endocrinol**, v.39, p.591-597, 1998.

DATTANI, M. T. et al. What is a normal stimulated growth hormone concentration? **J Endocrinol**, v.133, p.447-450, 1992.

DEVESA et al. Reasons for the variability in growth hormone (GH) responses to GHRH challenge: the endogenous hypothalamic-somatotroph rhythm (HSR). **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 30, p.367-377, 1989.

DIAMOND, F. B. et al. The role of serial sampling in the diagnosis of growth hormone deficiency. **Pediatrics**, v.102, p.521-524, 1998.

FRASIER, S. D. A review of growth hormone stimulation tests in children. **Pediatrics**, v.53, n.6, p.929-937, 1974.

FRASIER, S. D. Editorial: the diagnosis and treatment of childhood and adolescent growth hormone deficiency - consensus or confusion? **J Clin Endocrinol Metab**, v.85, n.11, p.3988, 2000.

FREEMAN, J. V. et al. Cross sectional stature and weight reference curves for the UK, 1990. **Arch Dis Child**, v.73, n.1, p.17-24, 1995.

GANDRUD, L. M.; WILSON, D. M. Is growth hormone stimulation testing in children still appropriate? **Growth Horm IGF Res**, v.14, p.185-194, 2004.

GHIGO, E. et al. Reliability of provocative tests to asses growth hormone secretory status. Study in 472 normally growing children. **J Clin Endocrinol Metab**, v.81, n.9, p.3323-3327, 1996.

GIL-AD, I.; TOPPER, E.; LARON, Z. Oral clonidine as a growth hormone stimulation test. **Lancet**, v.11, p.278-280, 1979.

GLICK, S. M. et al. Immunoassay of human growth hormone in plasma. **Nature**, v.199, p.784-787, 1963.

GÖNÇ, E. N. et al. Comparison of stimulated growth hormone levels in primed versus unprimed provocative tests. **Horm Res**, v.56, p.32-37, 2001.

GRANADA, M. L. et al. Assay-dependent results of immunoassayable spontaneous 24-hour growth hormone secretion in short children. **Acta Paediatr Scand**, v.370, p.63-70, 1990.

GREENWOOD, F. C.; HUNTER, W. M.; MARRIAN, V. J. Growth levels in children and adolescents. **BMJ**, v.1, p.25-35, 1964.

GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of growth hormone (GH) deficiency in childhood and adolescence: summary statement of the GH research society. **J Clin Endocrinol Metab**, v.85, n.11, p.3990-3993, 2000.

GRUMBACH, M. M. Estrogen, bone, growth and sex: a sea change in conventional wisdom. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v.13, p.1439-1455, 2000.

Guidelines for the use of growth hormone in children with short stature. A report by the Drug and Therapeutics Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. **J Pediatr**, v.127, n.6, p.857-867, 1995.

GUYDA, H. J. Four decades of growth hormone therapy for short children: what have we achieved? **J Clin Endocrinol Metab**, v.84, n.12, p.4307-4316, 1999.

HERMANUSSEN, M. The analysis of short-term growth. **Horm Res**, v.49, n.2, p.53-64, 1998.

HINDMARSH, P. C.; SWIFT, P.G.F. An assessment of growth hormone provocation tests. **Arch Dis Child**, v.72, p.362-368, 1995.

HINDMARSH, P. et al. The relationship between height velocity and growth hormone secretion in short prepubertal children. **Clin Endocrinol**, v.27, p.581-591, 1987.

HINTZ, R. L. The role of auxologic and growth factor measurements in the diagnosis of growth hormone deficiency. **Pediatrics**, v.102, p.524-526, 1998.

HINTZ, R. L. Management of disorders of size. In: BROOK, C. G. D.; HINDMARSH, P. C. **Clinical Pediatric Endocrinology**. 4.ed. Oxford: Blackwell Science, 2001. p. 124-139.

HINTZ, R. L. et al. Plasma somatomedin and growth hormone values in children with protein-calorie malnutrition. **J Pediatr**, v.92, n.1, p.153-156, 1978.

JANSSON, C. et al. Growth hormone (GH) assays: influence of standard preparations, GH isoforms, assay characteristics, and GH-binding protein. **Clin Chem**, v.43, n.6, p.950-956, 1997.

JONES, J. I.; CLEMMONS, D. R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. **Endocr Rev**, v.16, n.1, p.3-34, 1995.

JUUL, A. Testing for growth hormone deficiency in children and adults: discrepancies in the approach of pediatric and adult endocrinologists. **Highlights**, v.8, n.1, p.8-12, 2000.

JUUL, A. et al. Diagnosis of growth hormone (GH) deficiency and the use of GH in children with growth disorders. **Horm Res**, v.51, p.284-299, 1999.

JUUL, A. et al. European audit of current practice in diagnosis and treatment of childhood growth hormone deficiency. **Horm Res**, v.58, p.233-241, 2002.

KAPLAN, S. L. et al. Growth and growth hormone. **Pediatr Res**, v.2, p.43-63, 1968.

KARLBERG, J. A biologically-oriented mathematical model (ICP) for human growth. **Acta Paediatr Scand**, v.350, p.70-94, 1989.

KARLBERG, J. et al. Analysis of linear growth using a mathematical model. **Acta Paediatr Scand**, v.76, p.478-488, 1987a.

KARLBERG, J. et al. Analysis of linear growth using a mathematical model. II. From 3 to 21 years of age. **Acta Paediatr Scand (Suppl)**, v.337, p.12-29, 1987b.

KEENAN, B. S. et al. Androgen-stimulated pubertal growth: the effects of testosterone and dihydrotestosterone on growth hormone and insulin-like growth factor-I in the treatment of short stature and delayed puberty. **J Clin Endocrinol Metab**, v.76, n.4, p.996-1001, 1993.

KEENAN, B. S.; KILLMER JR, L. B.; SODE, J. Growth hormone response to exercise. **Pediatrics**, v.50, p.760-764, 1972.

LACEY, K. A.; HEWISON, A.; PARKIN, J. M. Exercise as a screening test for growth hormone deficiency in children. **Arch Dis Child**, v.48, p.508-512, 1973.

LAMPL, M.; VELDHUIS, J. D.; JOHNSON, M. L. Saltation and stasis: a model of human growth. **Science**, v.258, p.801-803, 1992.

LANES, R. Diagnostic limitations of spontaneous growth hormone measurements in normally growing prepubertal children. **Am J Dis Child**, v.143, p.1284-1286, 1989.

LANES, R.; HURTADO, E. Oral clonidine – an effective growth hormone-releasing agent in prepubertal subjects. **Pediatrics**, v.100, n.5, p.710-714, 1982.

L'HERMITE-BALÉRIAUX, M.; COPINSCHI, G.; CAUTER, E. V. Growth hormone assays: early to latest test generations compared. **Clin Chem**, v.42, n.11, p.1789-1795, 1996.

LIU, JEH-PING. et al. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor (IGF-I) and type 1 IGF receptor (IGF1r). **Cell**, v.75, p.59-72, 1993.

LOCHE, S. et al. Reduced growth hormone response to growth hormone-releasing hormone in children with simple obesity: evidence for somatomedin-C mediated inhibition. **Clin Endocrinol**, v.27, p.145-153, 1987.

LONGUI, C. A. Crescimento Deficiente. In: MONTE, O.; LONGUI, C. A.; CALLIARI, L. E. P. **Endocrinologia para o Pediatra**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1998. p.11-18.

MARIN, G. et al. The effects of estrogen priming and puberty on the growth hormone response to standardized treadmill exercise and arginine-insulin in normal girls and boys. **J Clin Endocrinol Metab**, v.79, n.2, p.537-541, 1994.

MARSHALL, W. A. Evaluation of growth rate in height over periods of less than one year. **Arch Dis Child**, v.46, p.41-44, 1971.

MARSHALL, W. A.; TANNER, J. M. Variations in pattern of pubertal changes in girls. **Arch Dis Child**, v.44, p.291-303, 1969.

MARSHALL, W. A.; TANNER, J. M. Variations in pattern of pubertal changes in boys. **Arch Dis Child**, v.45, p.13-23, 1970.

MARTHA, P. M. et al. Alterations in the pulsatile properties of circulating growth hormone concentrations during puberty in boys. **J Clin Endocrinol Metab**, v.69, n.3, p.563-570, 1989.

MARTIN-HERNÁNDEZ, T. et al. Growth hormone secretion in normal prepubertal children: importance of relations between endogenous secretion, pulsatility and body mass. **Clin Endocrinol**, v.44, p.327-334, 1996.

MARTÍNEZ, A. S. et al. Estrogen priming effect on growth hormone (GH) provocative test: a useful tool for the diagnosis of GH deficiency. **J Clin Endocrinol Metab**, v.85, n.11, p.4168-4172, 2000.

MAURAS, N. et al. Growth hormone stimulation testing in both short and normal statured children: use of an immunofunctional assay. **Pediatr Res**, v.48, n.5, p.614-618, 2000.

METZGER, D. L.; KERRIGAN, J. R. Androgen receptor blockade with flutamide enhances growth hormone secretion in late pubertal males: evidence for independent actions of estrogen and androgen. **J Clin Endocrinol Metab**, v.76, n.5, p.1147-1152, 1993.

METZGER, D. L.; KERRIGAN, J. R. Estrogen receptor blockade with tamoxifen diminishes growth hormone secretion in boys: evidence for a stimulatory role of endogenous estrogens during male adolescence. **J Clin Endocrinol Metab**, v.79, n.2, p.513-518, 1994.

MOLL JR, G. W.; ROSENFELD, R. L.; FANG, V. S. Administration of low-dose estrogen rapidly and directly stimulates growth hormone production. **Am J Dis Child**, v.140, p.124-127, 1986.

OJEDA, S. R. The anterior pituitary and hypothalamus. In: GRIFFIN, J. E.; OJEDA, S. R. **Textbook of Endocrine Physiology**. 5.ed. New York: Oxford University Press, 2004. p. 120-146.

PREECE, M. A. Prepubertal and pubertal endocrinology. In: BERG, J.; TYMOCZKO, J. **Human Growth. A comprehensive treatise**. New York: Plenum Press, 1986. p.211-224.

PREECE, M. A. Making a rational diagnosis of growth-hormone deficiency. **J Pediatr**, v.131, p.S61-S64, 1997.

RANKE, M. B.; HABER, P. Growth hormone stimulation tests. In: RANKE, M. B. **Diagnostics of Endocrine Function in Children and Adolescents**. 2. ed. rev. e aum. Heidelberg; Leipzig: J. A. Barth Verlag, 1996. p. 134-148.

REITER, E. O.; ROSENFELD, R. G. Normal and aberrant growth. In: LARSEN, P. R. et al. **Williams Textbook of Endocrinology**. 10. ed. Philadelphia: Saunders, 2003. p. 1003-1114.

RIKKEN, B.; WITT, J. M. Prepubertal height velocity references over a wide age range. **Arch Dis Child**, v.67, p.1277-1280, 1992.

ROBINSON, I. et al. Glucocorticoids and growth problems. **Acta Paediatr Suppl**, v.411, p.81-86, 1995.

ROCHICCIOLI, P. et al. Association of pharmacological tests and study of 24-hour growth hormone secretion in the Investigation of growth retardation in children: analysis of 257 cases. **Horm Res**, v.35, p.70-75, 1991.

ROCHICCIOLI, P. et al. Statistical study of 5473 results of nine pharmacological stimulation tests: a proposed weighting index. **Acta Paediatr**, v.82, p.245-248, 1993.

RODRIGUES, A . G.; TARDELLI, A . M. D.; PIEROLA, I. C. Testes dinâmicos. In: MONTE, O.; LONGUI, C. A.; CALLIARI, L. E. P. **Endocrinologia para o Pediatra**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1998. p.634-666.

ROITH, D. L. et al. The somatomedin hypothesis: 2001. **Endocr Rev**, v.22, n.1, p.53-74, 2001.

ROSENFELD, R. G. et al. Diagnostic controversy: the diagnosis of childhood growth hormone deficiency revisited. **J Clin Endocrinol Metab**, v.80, n.5, p.1532-1540, 1995.

ROSS, R. J. M. et al. Stilboestrol pretreatment of children with short stature does not affect the growth hormone response to growth hormone-releasing hormone. **Clin Endocrinol**, v.27, p.155-161, 1987.

ROTH, J. et al. Hypoglycemia: a potent stimulus to secretion of growth hormone. **Science**, v.140, p.987-988, 1963.

SAGGESE, G. et al. Diagnosis and treatment of growth hormone deficiency in children and adolescents: towards a consensus. **Horm Res**, v.50, p.320-340, 1998.

SANDRINI NETO, R. **Resposta do hormônio do crescimento humano ao teste do propranolol associado ao exercício. Aspectos clínicos do nanismo hipofisário e do déficit estatural idiopático.** Curitiba, 1980.149 f. Tese (Mestrado). Universidade Federal do Paraná.

SHALET, S. M. et al. The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults. **Endocr Rev**, v.19, n.2, p.203-223, 1998.

SHANIS, B. S.; MOSHANG, T. Propranolol and exercise as a screening test for growth hormone deficiency. **Pediatrics**, v.57, n.5, p.712-714, 1976.

SHULMAN, D. I.; BERCU, B. B. Evaluation of growth hormone secretion: provocative testing vs endogenous 24-hour growth hormone. **Acta Paediatr Scand**, v.337, p.61-71, 1987.

SIZONENKO, P. C. et al. Diagnosis and management of growth hormone deficiency in childhood and adolescence. **Growth Horm IGF Res**, v.11, p.137-165, 2001.

SMITH, E. P. et al. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. **N England J Med**, v.331, p.1056-1061, 1994.

SPILLIOTIS, B. E. et al. Growth hormone neurosecretory dysfunction. **JAMA**, v.251, n.17, p.2223-2230, 1984.

STRASBURGER, C. Use of an immunofunctional assay in GH stimulation testing. **International Growth Monitor**, v.11, n.3, p.10-12, 2001.

STRASBURGER, C. J. Laboratory assessment of GH. **International Growth Monitor**, v.7, n.3, p.2-32, 1997.

STRASBURGER, C. J. Methods in determining growth hormone concentrations: an immunofunctional assay. **Pediatrics (Suppl)**, v.104, p.1024-1028, 1999.

STROBL, J. S.; THOMAS, M. J. Human growth hormone. **Pharmacol Rev**, v.46, n.1, p.1-34, 1994.

SURI, D. et al. The interaction between clonidine and growth hormone releasing hormone in the stimulation of growth hormone secretion in man. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v.33, p.399-406, 1990.

TANNER, J. M.; GOLDSTEIN, H.; WHITEHOUSE, R. H. Standards for children's height at ages 2-9 years allowing for height of parents. **Arch Dis Child**, v.45, p.755-762, 1970.

TANNER, J. M.; WHITEHOUSE, R. H. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. **Arch Dis Child**, v.51, p.170-179, 1976.

TANNER, J. M.; WHITEHOUSE, R. H.; TAKAISHI, M. Standards from birth to maturity for height, weight, height velocity, and weight velocity: british children, 1965. Part I. **Arch Dis Child**, v.41, p.454-471, 1966a.

TANNER, J. M.; WHITEHOUSE, R. H.; TAKAISHI, M. Standards from birth to maturity for height, weight, height velocity, and weight velocity: british children, 1965. Part II. **Arch Dis Child**, v.41, p.613-635, 1966b.

TASSONI, P. et al. Variability of growth hormone response to pharmacological and sleep tests performed twice in short children. **J Clin Endocrinol Metab**, v.71, n.1, p.230-234, 1990.

THALANGE et al. Model of normal prepubertal growth. **Arch Dis Child**, v.75, p.427-431, 1996.

THISSEN, J. P., KETELSLEGERS, J. M., UNDERWOOD, L.E. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. **Endocr Rev**, v.15, n.1, p.80-101, 1994. Resumo.

TILLMANN, V. et al. The relationship between stature, growth, and short-term changes in height and weight in normal prepubertal children. **Pediatr Res**, v.44, n.6, p.882-886, 1998.

TORRESANI, T. E. Hormone assay techniques. In: BESSER et al. **Slide Atlas of Clinical Endocrinology**. London: Mosby-Year, 1994. p. 22.1-22.10.

UNDERWOOD, L. E. et al. Growth hormone levels during sleep in normal and growth hormone deficient children. **Pediatrics**, v.48, p.946-954, 1971.

VELDHUIS, J. D.; ROEMMICH, J. N.; ROGOL, A. D. Gender and sexual maturation-dependent contrasts in the neuroregulation of growth hormone secretion in prepubertal and late adolescent males and females – a general clinical research center-based study. **J Clin Endocrinol Metab**, v.85, n.7, p.2385-2394, 2000.

WELDON, V. V. et al. The use of l-dopa in the diagnosis of hyposomatotropism in children. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 36, p.42-46, 1973.

WHEELER, M. J. Hormone Assays. In: BROOK, C. G. D.; HINDMARSH, P. C. **Clinical Pediatric Endocrinology**. 4.ed. Oxford: Blackwell Science, 2001. p. 27-36.

WILSON, D. M. et al. Effects of estrogen on growth hormone following clonidine stimulation. **Am J Dis Child**, v.147, p.63-65, 1993.

WILSON, T. A. et al. Update of guidelines for the use of growth hormone in children: the Lawson Wilkins Pediatric Endocrinology Society Drug and Therapeutics Committee. **J Pediatr**, v.143, p.415-421, 2003.

WOOD, T. L. Gene-targeting and transgenic approaches to IGF and IGF binding protein function. **Am J Physiol**, v.269 (Endocrinol Metab 32), p.E613-E621, 1995.

YAKAR, S. et al. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor. **Proc Natl Acad Sci**, v.96, p.7324-7329, 1999.

YOULTON, R.; KAPLAN, S. L.; GRUMBACH, M. M. Growth and growth hormone. IV Limitations of the growth hormone response to insulin and arginine and of the immunoreactive insulin response to arginine in the assessment of growth hormone deficiency in children. **Pediatrics**, v.43, n.6, p.989-1004, 1969.

ZACHMANN, M. et al. Testicular volume during adolescence – cross-sectional and longitudinal studies. **Helv Paediatr Acta**, v.29, p.61-72, 1974.

ZADIK, Z. et al. The influence of age on the 24-hour integrated concentration of growth hormone in normal individuals. **J Clin Endocrinol Metab**, v.60, n.3, p.513-516, 1985.

ZADIK, Z. et al. Reproducibility of growth hormone testing procedures: a comparison between 24-hour integrated concentration and pharmacological stimulation. **J Clin Endocrinol Metab**, v.71, n.5, p.1127-1130, 1990.

ZADIK, Z.; CHALEW, S. A.; KOWARSKI, A. Assessment of growth hormone secretion in normal stature children using 24-hour integrated concentration of GH and pharmacological stimulation. **J Clin Endocrinol Metab**, v.71, n.4, p.932-936, 1990.

ANEXO – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM
SERES HUMANOS DO HOSPITAL DE CLÍNICAS/UFPR



Curitiba, 14 de agosto de 2003.

Ilmo (a) Sr. (a)
Dra. Daniela Seick
Nesta

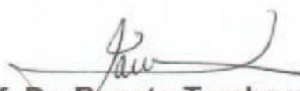
Prezado(a) Senhor(a):

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **“RESPOSTA DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO DURANTE TESTES PROVOCATIVOS: CORRELAÇÃO COM O CRESCIMENTO DE CRIANÇAS COM BAIXA ESTATURA”**, foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 29 de julho de 2003, o referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos.
Protocolo CEP/HC 691.110/2003-07.

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 14 de fevereiro de 2004.

Atenciosamente,



Prof. Dr. Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR