

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA**

**ANA LUIZA PRIETO FARINASSI
ANTÔNIO BENTES DE FIGUEIREDO JUNIOR**

**COMPARAÇÃO ENTRE O TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA E O TESTE DA
CLONIDINA PARA O DIAGNÓSTICO DE DEFICIÊNCIA DO HORMÔNIO DE
CRESCIMENTO IDIOPÁTICA EM CRIANÇAS COM BAIXA ESTATURA.**

**BELÉM-PARÁ
2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA**

**ANA LUIZA PRIETO FARINASSI
ANTÔNIO BENTES DE FIGUEIREDO JUNIOR**

**COMPARAÇÃO ENTRE O TESTE DE TOLERÂNCIA A INSULINA E O TESTE DA
CLONIDINA PARA O DIAGNÓSTICO DE DEFICIÊNCIA DO HORMÔNIO DE
CRESCIMENTO IDIOPÁTICA EM CRIANÇAS COM BAIXA ESTATURA.**

Monografia apresentada junto à Faculdade de
Medicina da Universidade Federal do Pará, como
requisito para a obtenção do título de Médico.

Orientador: Prof^o Dr. João Soares Felício

**BELÉM – PARÁ
2017**

ANA LUIZA PRIETO FARINASSI
ANTÔNIO BENTES DE FIGUEIREDO JUNIOR

**COMPARAÇÃO ENTRE O TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA E O TESTE DA
CLONIDINA PARA O DIAGNÓSTICO DE DEFICIÊNCIA DO HORMÔNIO DE
CRESCIMENTO IDIOPÁTICA EM CRIANÇAS COM BAIXA ESTATURA.**

BANCA EXAMINADORA:

ORIENTADOR (A)

NOME/INSTITUIÇÃO

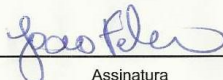

NOME/INSTITUIÇÃO

Aprovado em: __/__/__

Conceito: _____



FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. Projeto de Pesquisa: Comparação entre o teste de tolerância à insulina e o teste da clonidina no diagnóstico de crianças com baixa estatura por deficiência do Hormônio de Crescimento.		2. Número de Participantes da Pesquisa: 120	
3. Área Temática:			
4. Área do Conhecimento: Grande Área 4. Ciências da Saúde			
PESQUISADOR RESPONSÁVEL			
5. Nome: João Soares Felício			
6. CPF: 281.739.102-00		7. Endereço (Rua, n.º): Travessa Quintino Bocaiuva- 2111 Batista Campos Apto-09 BELEM PARA 66035190	
8. Nacionalidade: BRASILEIRO		9. Telefone: (91) 9988-2972	10. Outro Telefone:
		11. Email: felicio.bel@terra.com.br	
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.			
Data: <u>18</u> / <u>09</u> / <u>2015</u>		 Assinatura	
INSTITUIÇÃO PROPONENTE			
12. Nome: Hospital Universitário João de Barros Barreto - UFPA		13. CNPJ: 34.621.748/0004-76	14. Unidade/Orgão:
15. Telefone:		16. Outro Telefone:	
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.			
Responsável: <u>PEDRO PAULO FREIRE PIANI</u>		CPF: <u>227767612-87</u>	
Cargo/Função: <u>COORDENADOR ACADÊMICO</u>		 Assinatura	
Data: <u>09</u> / <u>10</u> / <u>15</u>			
PATROCINADOR PRINCIPAL			
Não se aplica.			

Dedico este trabalho aos meus pais e a minha irmã, meus maiores incentivadores, que sempre estiveram ao meu lado.

Ana Luiza Prieto Farinassi

Aos meus pais, por todos estes anos de dedicação e incentivo. À minha irmã Tamara, por sempre estar ao meu lado quando precisei.

Antônio Bentes de Figueiredo Junior

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar nossos passos e nos sustentar nessa caminhada.

Ao nosso querido orientador, Dr. João Soares Felício, pelas inúmeras oportunidades oferecidas, pela disponibilidade e contribuição para nosso desenvolvimento pessoal e profissional.

A nossa querida Dra. Karem Felício, por seus ensinamentos, por toda ajuda para a realização deste trabalho e por ser exemplo de profissional, com sua competência, humanidade e respeito aos pacientes.

A prezada Prof. Dra. Elizabeth Yamada, pelas oportunidades fornecidas desde o início do curso, nos incentivando a buscar novas experiências e desafios.

Aos funcionários do Centro de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário João de Barros Barreto e, em especial a Ana Regina, por todo empenho e contribuição durante a realização deste estudo.

Ao Fabrício Resende e Sávio Cavalcante, que de forma individual nos auxiliaram na realização deste projeto.

Aos pacientes, pela confiança e disponibilidade.

A todos que contribuíram durante a execução deste trabalho: Obrigado!

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

Charles Chaplin

RESUMO

O crescimento longitudinal envolve aspectos genéticos, hormonais, nutricionais e ambientais. Após considerar e excluir outras causas de baixa estatura (BE), a deficiência do hormônio de crescimento (DGH) deve ser investigada. A investigação é realizada pela análise dos dados auxológicos, fazendo-se necessária a estimulação fisiológica da secreção do hormônio de crescimento (GH), através de testes provocativos, como método complementar. No entanto, é necessária melhor compreensão desses testes, bem como a determinação dos pontos de corte mais adequados para o correto diagnóstico de DGH. O objetivo deste trabalho foi estabelecer valores de sensibilidade (SEN), especificidade (ESP) e acurácia (ACU) para diferentes pontos de corte no teste de tolerância à insulina (TTI) e teste da clonidina (TC) para diagnóstico de DGH. Foram avaliados 57 pacientes, com $< -2DP$ de altura para idade e sexo e/ou $< -1DP$ para estatura alvo familiar. O diagnóstico de DGH foi confirmado nos pacientes com BE e ganho de pelo menos $0,3DP$ da altura pelo índice Z em um ano, ou proporcional em um período mínimo de 6 meses em uso de GH recombinante humano (rhGH). Foram definidos os valores de SEN, ESP e ACU do TC e do TTI realizados antes do tratamento nos pontos de corte 3, 5, 7 e $10 \mu\text{g/L}$. Dentre os pacientes avaliados, 25 (43,9%) e 32(56,1%) apresentaram BE com e sem DGH, respectivamente. Os dados mostraram que o TTI se apresentou mais adequado com nível de corte para o diagnóstico de DGH de $< 7 \mu\text{g/L}$ (S: 90%, E: 77%, A: 83%); enquanto que para o TC isto ocorreu com níveis de corte $< 5 \mu\text{g/L}$ (S:86%, E: 85%, A: 86%). Os dados sugerem que para o TTI os níveis de corte utilizados para o diagnóstico de DGH devam ser de $< 7 \mu\text{g/L}$. Quando o teste de clonidina for utilizado níveis de corte $< 5 \mu\text{g/L}$ parecem ser mais adequados. O teste da clonidina se mostrou mais sensível que o TTI em todos os pontos de corte.

Palavras-chave: Baixa estatura; Hormônio de crescimento; Deficiência do hormônio de crescimento; Teste de estímulo do GH.

ABSTRACT

Longitudinal growth involves genetic, hormonal, nutritional and environmental aspects. Despite other causes of short stature (SS), Growth Hormone Deficiency (GHD) must be investigated. The investigation is carried out by the analysis of auxological data, being necessary the physiological stimulation of growth hormone secretion, through provocative tests, as a complementary method. Although, it is necessary a better comprehension of these tests, as well the determination of most appropriate peak cut-off value for correct diagnosis of GHD. The purpose of this project is to compare insulin tolerance test (ITT) and clonidin test (CT), establishing sensibility (SEN), specificity (SPE) and accuracy (ACC) in different cut-offs for GHD's diagnosis. A study was carried out with 57 children and teenagers, who had <-2SD height for age and sex and/or <-1SD for parental height. The diagnosis of GHD was confirmed in those patients with SS and, at least, 0,3SD height increase in a year, or proportional, in a minimum period of six months follow-up with rhGH treatment. SEN, SPE and ACC of ITT and clonidin test were defined for 3, 5, 7 and 10 μ g/L values. Among the patients in the study 25 (43,9%) and 32 (56,1%) were classified as SS with and without GHD, respectively. The cut-off founded for ITT was <7 μ g/L (S: 90%, E: 77%, A: 83%) and for CT was <5 μ g/L (S: 86%, E: 85%, A: 86%). This study concludes that <7 μ g/L represents the most appropriate cut-off value for ITT in diagnosis of GHD. When clonidin test was applied, <5 μ g/L cut-off is more suitable. Clonidine test presented greater sensibility than ITT at all cut-off values.

Key-words: Short stature; Growth Hormone; Growth Hormone Deficiency; GH-stimulation test.

LISTA DE ABREVIATURAS

BE	Baixa Estatura
BEI	Baixa Estatura Idiopática
DGH	Deficiência do Hormônio de Crescimento
DP	Desvio-Padrão
GH	Hormônio de Crescimento
GHRH	Hormônio Liberador do Hormônio de Crescimento
GHRS	do inglês, <i>Growth Hormone Research Society</i> , Sociedade de Pesquisa do Hormônio do Crescimento
IGF-1	do inglês, <i>Insulin Growth Factor -1</i> , Fator de Crescimento semelhante à Insulina tipo 1
IMC	Índice de Massa Corporal
RCCP	Retardo Constitucional de Crescimento e Puberdade
rhGH	Hormônio de Crescimento humano recombinante
RNM	Ressonância Nuclear Magnética
TA	Termo de Assentimento
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TTI	Teste de Tolerância à Insulina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	Objetivo Geral.....	14
2.2	Objetivos Específicos	14
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
3.1	Crescimento normal	15
3.2	Eixo GH – IGF-1	16
3.3	Atuação do GH na placa de crescimento	17
3.4	Desordens do crescimento	18
3.5	Deficiência do Hormônio de Crescimento.....	18
3.6	Avaliação Diagnóstica	19
4	MÉTODO.....	23
4.1	Desenho do estudo.....	23
4.2	Local.....	23
4.3	População e amostra do estudo.....	23
4.4	Critérios de inclusão.....	24
4.5	Critérios de exclusão.....	24
4.7	Análise Estatística.....	27
5	RESULTADOS.....	28
6	DISCUSSÃO.....	31
7	CONCLUSÃO	37
8	REFERÊNCIAS	38
9	APÊNDICES.....	45
9.1	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO....	46
9.2	APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMETO	49
9.3	APÊNDICE C – TERMO DE ACEITE DO ORIENTADOR.....	52

9.4	APENDICE D – ARTIGO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO.....	53
10	ANEXOS.....	65
10.1	ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEP.....	66

1 INTRODUÇÃO

O crescimento humano é um processo biológico que envolve aspectos genéticos, hormonais, nutricionais e ambientais (ROSENFELD, 2003). Durante a infância e adolescência esse processo é dinâmico e ocorre até o fechamento das placas de crescimento epifisárias e o alcance da altura esperada para a idade adulta. Uma taxa de crescimento normal resultará em um adulto com altura dentro do potencial genético familiar. Por outro lado, um crescimento anormal prolongado terá como consequência um déficit na altura final, que não alcançará o alvo genético (SAVAGE et al., 2016).

Para classificar o processo de crescimento em normal ou anormal, são utilizados parâmetros baseados na estatura média da população para a idade e sexo e na velocidade em que o crescimento ocorre. Os maiores desafios para o diagnóstico e tratamento dos processos de crescimento anormais, em especial a baixa estatura, estão relacionados à definição da etiologia desse distúrbio (ARGENTE, 2016). Crianças cuja altura esteja dois desvios padrões abaixo da média para idade e sexo e/ou apresente uma baixa velocidade de crescimento e/ou um déficit de altura maior que um desvio padrão em relação à altura alvo familiar devem ser encaminhadas para uma avaliação pediátrica completa (NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH CLINICAL, 2010). Tal avaliação consiste na pesquisa da história pessoal, familiar e social, exame físico, exames laboratoriais gerais e/ou especializados, exames radiológicos, testes genéticos, entre outros (ROGOL; HAYDEN, 2014).

A baixa estatura deve ser diagnosticada precocemente, para que o seguimento e tratamento sejam eficazes. A investigação deve distinguir entre baixa estatura idiopática, baixa estatura devido a variantes fisiológicas (baixa estatura familiar e atraso constitucional de crescimento e de puberdade, ou ambas), causas primárias de baixa estatura, como defeitos sindrômicos e / ou genéticos e displasia esquelética, e causas secundárias que envolvem distúrbios endócrinos (deficiência do hormônio de crescimento) ou crônicos, como doença celíaca, doença de Crohn, desnutrição, insuficiência renal, anorexia nervosa, entre outras (LÉGER, 2017).

Após considerar e excluir outras causas de baixa estatura e, os dados auxológicos obtidos sugerirem Deficiência do Hormônio de Crescimento (DGH), esta deverá ser investigada. A ausência ou decréscimo nos níveis desse hormônio é comumente associado a fenótipos de baixa estatura, tais como baixa velocidade de crescimento, elevação do índice

massa gorda/massa magra, hipoglicemia, redução da densidade óssea, atraso puberal, além de distúrbios emocionais e sociais (MOLITCH, 2005; OSWIECIMSKA et al., 2014).

A avaliação dessa condição é realizada através de exames clínicos, laboratoriais e de imagem (SALGADO et al., 1992; GH RESEARCH SOCIETY, 2005). O diagnóstico deve ser confirmado por meio de testes de estimulação, utilizando provocação fisiológica ou farmacológica da secreção de GH. A estimulação farmacológica inclui o Teste de Tolerância à Insulina (TTI) e o Teste da Clonidina (HOECK et al., 2005).

Segundo a portaria nº 110 do Ministério da Saúde, de 10 de março de 2010, que contempla o “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hipopituitarismo”, o diagnóstico de DGH em crianças e adolescentes requer dois testes de estímulo com valor de pico de GH $< 5 \mu\text{g/L}$, dosados por método de quimioluminescência ou imunofluorimetria com anticorpos monoclonais (BRASIL, 2010). Entretanto, muitos especialistas defendem que um único teste combinado com a dosagem de IGF-1 basal e interpretado em conjunto com a avaliação clínica completa do paciente, pode excluir ou confirmar a DGH (AL HERBISH et al., 2016).

Nenhum dos testes disponíveis é considerado o padrão-ouro para o diagnóstico de DHG, pois apresentam risco de fornecer resultados falsos (OBARA-MOSZYNSKA; NIEDZIELA, 2015). Alguns autores sugerem que uma boa resposta terapêutica com o GH recombinante humano (rhGH) seja uma prova segura de que provavelmente exista a deficiência hormonal (BAKKER et al., 2008; RANKE, 2013). O aumento da altura final e a alteração na velocidade de crescimento são úteis para avaliar essa resposta clinicamente (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estabelecer valores de sensibilidade, especificidade e acurácia para diferentes pontos de corte no TTI e Teste da Clonidina para diagnóstico de Deficiência do Hormônio de Crescimento Idiopática.

2.2 Objetivos Específicos

1. Comparar o TTI e o Teste da Clonidina no diagnóstico de crianças com baixa estatura por DGH Idiopática.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Crescimento normal

O crescimento é um processo comum a todos os organismos multicelulares e, essencial para a formação de um indivíduo adulto saudável. Nos organismos vertebrados, o crescimento longitudinal é principalmente determinado pelo processo de ossificação endocondral. Este processo consiste na agregação das células do mesênquima e sua diferenciação em condrócitos (na maioria dos ossos), que são as células primárias do tecido cartilaginoso. Na cartilagem de crescimento ocorre a expansão, diferenciação e posterior substituição pelo tecido ósseo, resultando na formação e crescimento dos ossos longos (WEISE et al., 1997; JORGE, 2011).

Uma variedade de estímulos hormonais atua na cartilagem de crescimento, incluindo-se o hormônio do crescimento (GH), insulin-like growth fator (IGF-1), esteróides sexuais, hormônios tireoidianos, fatores de crescimento parácrinos e citocinas (NILSSON, 2005).

O crescimento pré-natal e pós-natal possuem fatores determinantes próprios. Os determinantes pré-natais incluem a interação de fatores nutricionais maternos, suficiência placentária, fator de crescimento semelhante à insulina 1 e 2 (IGF-1 e IGF-2 placentários) e insulina fetal. O período embrionário inicial tem relativa independência dos fatores ambientais, sendo os fatores genéticos inerentes ao próprio embrião os mais relevantes nesse momento (GLUCKMAN, 1997). Os determinantes IGF-1 e IGF-2 se ligam ao receptor do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF1R) para promover o crescimento fetal. O IGF-2 é produzido de forma constitutiva no início da gestação, sendo importante para o crescimento intrauterino na fase embrionária.

Com o avanço da gestação, a função placentária passa a ser determinante para o crescimento fetal e o IGF-1 assume o papel de principal regulador do crescimento (BAKKER, 1993). Os níveis de IGF-1 fetais dependem do estado nutricional do feto. Dessa forma, a transferência placentária de glicose para o feto estimula a secreção de insulina fetal, que irá determinar a secreção de IGF-1 (JORGE, 2011). O GH apresenta pouca interferência no crescimento durante todo o período fetal, no entanto é o principal determinante e regulador do crescimento linear pós-natal, juntamente com o potencial genético individual, fatores nutricionais e hormonais (DECHIARA; EFSTRATIADIS; ROBERTSON, 1990; LIU, 1993).

3.2 Eixo GH – IGF-1

A herança genética e os hormônios componentes do eixo GH-IGF influenciam diretamente no processo de crescimento humano (KAVITHA; CATRIN; FIONA, 2015). O hormônio de crescimento, produzido nas células somatotróficas, localizadas na hipófise anterior, é um hormônio proteico heterogêneo, que se apresenta em diferentes isoformas (KATO et al., 2002). As fontes de sua heterogeneidade ocorrem em nível do genoma, do splicing de RNAm, de modificações pós-tradução e do metabolismo. O agrupamento dos genes que codificam o GH hipofisário está localizado no cromossomo 17 e contém dois genes GH (GH1 e GH2). O splicing alternativo de RNAm na transcrição do GH1 forma dois produtos: GH com peso molecular de 22.000 daltons, que corresponde à principal forma de GH hipofisário, e GH com peso molecular de 20.000 daltons, que não possui alta afinidade com o receptor. As formas modificadas pós-tradução incluem as formas desaminadas, N-acetiladas e monômeros glicosilados de GH (OLLE et al., 2008).

O hormônio de crescimento, além de contribuir para a diferenciação específica de células de crescimento ósseo e de células musculares, possui outros efeitos biológicos, como seu efeito anabólico, lipolítico, antagonista insulínico e participação na regulação da pressão arterial (CUNEO et al., 1992). O efeito anabólico do GH ocorre pela facilitação do transporte de aminoácidos para o interior das células através das membranas plasmáticas, estimulação da síntese de RNA e da ativação de ribossomos, promovendo aumento da síntese proteica. A lipólise é estimulada diretamente pelo GH, que aumenta a síntese de enzimas envolvidas no metabolismo de gorduras (MAURAS; HAYMOND, 2005).

A secreção do GH ocorre de forma pulsátil e este possui meia-vida muito curta (14 minutos). Entre os pulsos, o nível sérico de GH é mínimo a indetectável. Os pulsos ocorrem até 10 vezes ao dia, durando 90 minutos e separados por 128 minutos. A secreção de GH atinge seu pico dentro de uma hora de início do sono profundo (KAVITHA; CATRIN; FIONA, 2015).

A produção de GH varia de acordo com a idade e o estágio de crescimento e desenvolvimento, sendo produzido em uma taxa máxima na puberdade, quando o crescimento corporal é acelerado e decaindo progressivamente na idade adulta. O aumento da secreção de GH que ocorre durante a puberdade tem sido atribuído a mudanças nos níveis de esteróides sexuais, que aumentam a frequência e a amplitude de pulsos de GH, enquanto que seu

declínio está relacionado à diminuição do índice de massa corporal (IMC) na idade adulta (KAVITHA; CATRIN; FIONA, 2015).

A secreção hipofisária de GH possui um controle hipotalâmico, exercido pelo GHRH (hormônio liberador do GH), pela somatostatina e em menor intensidade, pela grelina (ROELFSEMA; CLARK, 2001; ROSICKÁ et al., 2002; KATO et al., 2002). O GHRH e a grelina atuam estimulando a secreção hormonal através de receptores específicos distintos acoplados à proteína G, enquanto a somatostatina exerce efeito inibitório (ROSICKÁ et al., 2002). A somatostatina atua inibindo principalmente a amplitude e o pico de secreção, sem afetar a biossíntese do GH. Além do controle hipotalâmico, alguns fatores regulam a secreção de GH, sendo eles a hipoglicemia, a infusão ou administração de aminoácidos, ritmo neural endógeno, sono, estresse, exercício e sinais nutricionais e metabólicos (WIDEMAN et al., 1999; KATO et al., 2002).

Após ser liberado na circulação sanguínea, o hormônio do crescimento atinge o fígado, local onde estimula a produção de IGF-1, também conhecido como somatomedina – C. O IGF-1 é o principal metabólito ativo do GH, atua no controle de sua secreção, através do sistema de retroalimentação negativa e realiza grande parte dos efeitos biológicos do GH (ROELFSEMA; CLARK, 2001).

3.3 Atuação do GH na placa de crescimento

O hormônio de crescimento age de maneira indireta e direta sobre suas células alvo para promover a formação de tecido. A ação indireta do GH, conhecida como “teoria clássica”, ocorre através da atuação do IGF-1 e seu receptor específico (IGF1R) na placa de crescimento (BOGUSZEWSKI, 2001). Já a ação direta do GH, chamada de “teoria do efeito duplo”, ocorre pela atuação do GH na placa de crescimento, através de seu receptor (GHR), provocando a diferenciação de células precursoras (pré-condrócitos) em células jovens (condrócitos). Após essa etapa, os condrócitos jovens iniciam a produção de IGF-1 que, por sua vez, estimula de forma parácrina a expansão clonal e maturação dos condrócitos. A expansão tecidual decorre da combinação de ambos os efeitos do GH (direto e indireto) na placa de crescimento (GREEN; MORIKAWA; NIXON, 1985; LARON, 2001).

3.4 Desordens do crescimento

O déficit de crescimento é definido como uma condição em que a estatura de um indivíduo está dois desvios-padrões abaixo da média padronizada para sexo, idade e grupo populacional ou um desvio-padrão abaixo da média para altura-alvo (COHEN et al., 2008).

Esse distúrbio é uma importante queixa em consultas pediátricas e pode ser desencadeado por diversas etiologias. Dentre as principais, encontram-se as variantes da normalidade, que não apresentam fundo patológico e abrangem a Baixa Estatura (BE) constitucional e BE familiar. Algumas etiologias não-endócrinas também podem ser responsáveis pelo déficit de crescimento, a exemplo das alterações cromossômicas, displasias esqueléticas, nanismo psicossocial, má nutrição e doenças crônicas.

No entanto, grande parte das alterações do ritmo de crescimento possui origem endócrina, principalmente relacionada ao eixo GH-IGF-1 (COHEN et al., 2008). As principais disfunções hormonais que podem cursar com distúrbios de crescimento são o Diabetes Mellitus, excesso de glicocorticóides endógenos ou exógenos, hipotireoidismo congênito ou adquirido, desordens do metabolismo do cálcio e vitamina D, neurodisfunção secretória, GH bioinativo, insensibilidade ao GH, deleção do gene do IGF-1 e deficiência de GH (DE PAULA, 2007).

A elucidação etiológica da baixa estatura deve ser realizada por meio de avaliação sistematizada, baseada em achados clínicos e laboratoriais. O diagnóstico preciso e precoce da causa do distúrbio favorece a instituição de intervenção adequada e em tempo hábil, possibilitando o crescimento do indivíduo de forma saudável e dentro dos limites da normalidade (HAYMOND et al., 2013).

3.5 Deficiência do Hormônio de Crescimento

A deficiência do hormônio de crescimento (DGH) corresponde à deficiência hormonal hipofisária mais comum, sendo sua prevalência estimada em 1: 4000 a 1: 10 000. A etiologia é variável, incluindo lesões estruturais, anormalidades genéticas, traumatismos, doenças infiltrativas, cirurgia ou irradiação para a glândula pituitária e / ou hipotálamo. Entretanto, a maioria dos casos não possui etiologia conhecida- DGH idiopática (CHENG; LI CHEN, 2013; ALATZOGLOU; KULAR; DATTANI, 2015; YUEN, 2016).

A etiologia genética está relacionada a mutações nos genes que codificam o hormônio de crescimento (GH1), o receptor do hormônio libertador do GH (GHRHR) e o fator de transcrição SOX3. No entanto, essas mutações são encontradas em um pequeno número de pacientes, o que sugere que outros fatores genéticos ainda não identificados estejam envolvidos (ALATZOGLOU; DATTANI, 2010; OSWIECIMSKA et al., 2016).

Esta patologia está relacionada à modificação na composição corporal, intolerância à glicose, perfis lipídicos anormais, aterosclerose prematura, osteoporose, diminuição da qualidade de vida e aumento da mortalidade (ALATZOGLOU; DATTANI, 2010; YUEN, 2016). Muitas dessas comorbidades podem melhorar após o tratamento com GH recombinante. Esta terapia resulta em aumento da massa corporal magra e diminuição da massa gorda, melhora da densidade mineral óssea e da força muscular, regulação do perfil lipídico e dos marcadores de risco cardiovascular (DÍEZ; CORDIDO, 2014).

Após o início da terapia com o rhGH, os parâmetros auxológicos incluindo peso, altura, proporções corporais e circunferência abdominal devem ser monitorados a cada 3 meses. A velocidade de crescimento deve ser calculada a cada 6 meses e a idade óssea verificada anualmente. É importante pesquisar se há desenvolvimento de hipotireoidismo, hipocortisolismo e alterações glicêmicas. A quantidade sérica de IGF-1 deve ser estimada após 3 meses do início da terapia, e depois anualmente. Com a instituição da terapia espera-se uma rápida resposta, com crescimento de 10-12 cm no primeiro ano, 7 a 9 cm no segundo ano e 5cm/ano nos anos seguintes (SHALET, 2000). A altura deve aumentar em pelo menos 0,3 DP ao final do primeiro ano de tratamento (COHEN et al., 2008).

3.6 Avaliação Diagnóstica

Na suspeita de DGH, outros diagnósticos diferenciais devem ser excluídos a fim de se adotar uma correta proposta terapêutica. Para isso, além da avaliação clínica progressiva, é necessário o auxílio de exames complementares, tanto laboratoriais como radiológicos.

Os parâmetros mais importantes a serem avaliados na avaliação clínica são a existência de baixa estatura e diminuição da velocidade de crescimento. Os dados coletados dos pacientes devem ser comparados às tabelas disponibilizadas pela Organização Mundial de Saúde para a confirmação dessas condições (DE ONIS et al., 2007). Adicionalmente, deve ser verificada a presença de displasias esqueléticas, doenças crônicas e/ou fenótipos

característicos de síndromes cromossômicas, como a Síndrome de Turner, para excluir essas patologias como causa do distúrbio (REITER et al., 1998).

Na avaliação laboratorial, algumas informações podem corroborar para uma conclusão diagnóstica. Níveis elevados de IGF-1 sérico para a faixa etária e sexo, tornam improvável o diagnóstico de DGH (BRASIL, 2010). Em contrapartida, os testes de estímulo à liberação de GH são importantes ferramentas para estabelecer a deficiência do Hormônio de Crescimento como a etiologia da baixa estatura (RICHMOND, 2008).

Exames radiológicos podem ser úteis para a complementação diagnóstica. A radiografia de mãos e punhos para avaliação da idade óssea é um método auxiliar importante para a definição etiológica da baixa estatura, principalmente em crianças maiores de dois anos, permitindo a exclusão de outras patologias, como o retardo constitucional do crescimento e puberdade e outros como diagnóstico diferencial do quadro (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000). Ademais, a tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética de sela túrcica são métodos úteis para a detecção de defeitos anatômicos como hipoplasia hipofisária, neurohipófise ectópica, e lesões expansivas, que podem configurar a causa do distúrbio de crescimento (BRASIL, 2010).

Para a Growth Hormone Research Society (2000), são necessários dois testes de estímulo não responsivos para definir o diagnóstico de DGH, contudo, há especialistas que defendem que um único teste combinado com IGF-1 basal e interpretado em conjunto com a avaliação clínica e auxológica, fornecem dados suficientes para excluir ou confirmar a DGH (AL HERBISH et al., 2016).

Para o Ministério da Saúde do Brasil, é considerado como portador de DGH aquele paciente que apresenta dois testes provocativos ao GH com resposta inferior a 5 µg/L ou possua alteração anatômica da região hipotálamo-hipofisária, história de tratamento com radioterapia e/ou deficiência associada de outros hormônios hipofisários em combinação com um teste de estímulo ao GH com resultado negativo (BRASIL, 2010).

3.6.1 Testes de estímulo ao GH.

Apesar de determinadas limitações, os testes de estímulo ao GH, sejam eles por meios fisiológicos ou farmacológicos, são considerados importantes ferramentas auxiliares na detecção de Deficiência do Hormônio de Crescimento (FRASIER, 1974).

A secreção fisiológica do Hormônio de Crescimento pela hipófise anterior ocorre em pulsos de liberação. Ao intervalo desses pulsos, são observados baixos valores séricos do GH, os quais impossibilitariam a interpretação real da atividade das células somatotróficas, se analisados isoladamente (ROSENFELD et al, 1995) .

Testes de estímulo com L-dopa, clonidina, insulina, glucagon, arginina e propranolol, promovem estimulação do eixo hipotálamo-hipofisário à secreção de GH, seja em resposta a hipotensão, hipoglicemia, secreção de GHRH ou inibição da somatostatina, permitindo uma avaliação mais precisa da oscilação dos níveis de GH dentro do padrão de secreção fisiológica (HAYMOND et al., 2013; RHEE et al., 2015) . A estimulação a partir de jejum, sono e exercício apresentam alta incidência de falsos positivos para DGH, não sendo mais utilizados rotineiramente na prática clínica (JORGE; FONTENELE, 2012).

Arbitrariamente foi definido o ponto de corte de 10 µg/L, baseados em estudos com a técnica de radioimunoensaios (RIA) (CHIGO, 1996). Para técnicas que utilizam anticorpos monoclonais, como quimioluminescência e imunofluorometria, valores menores que 3 e 5 µg/L são mais adequados, a depender do estudo avaliado (BORGES et al., 2016; DE PAULA, 2008). Ensaios com anticorpos policlonais detectam diversas formas de GH, incluindo aquelas com menor atividade biológica, o que torna o método pouco acurado. Atualmente, há preferência pela escolha das técnicas com anticorpos monoclonais, por serem específicos pela forma de 22 kDa do GH (JORGE; FONTENELE, 2012). No Brasil, os testes mais realizados são o Teste da Clonidina e o Teste de Tolerância à Insulina, necessitando de mais investigações para a validação de um *cut-off* mais fidedigno para o diagnóstico de DGH (BORGES et al., 2016).

3.6.1.1 Teste de Tolerância à Insulina (TTI)

O TTI é baseado na indução de hipoglicemia por ação do hormônio peptídico Insulina. A utilização do teste é explicada pelo aumento dos valores séricos de GH e GHRH e decréscimo dos níveis de somatostatina hipotalâmica após a administração da droga por via endovenosa (ROSSKAMP et al., 1987; CHEN; GUO, 2013).

Classicamente esse teste foi adotado como padrão-ouro no diagnóstico de DGH em adultos. Para ser considerado satisfatório, o mesmo deve produzir hipoglicemia adequada, caracterizada por glicemia <40mg/dl, acompanhada ou não de sintomas neuroglicopênicos, ou

mesmo uma queda significativa em comparação à glicemia basal. Geralmente é utilizado como 2º teste confirmatório (JORGE; FONTENELE, 2012).

As principais desvantagens do TTI se devem à necessidade de supervisão médica durante o teste, devido aos efeitos adversos provocados durante a sua realização, sendo contraindicado a crianças abaixo de 20 kg, pacientes idosos e a pacientes com risco para doenças coronarianas. Adicionalmente, pacientes obesos podem não apresentar resposta adequada ao teste, devido resistência prévia à insulina (YUEN, 2016).

3.6.1.2 Teste da Clonidina

A clonidina é um fármaco agonista dos receptores adrenérgicos alfa-2, classicamente utilizado como agente anti-hipertensivo. A utilização da droga nos testes de estímulo ao GH ocorre devido ao seu provável efeito estimulatório sobre o GHRH (BORGES et al., 2016). A via alfa-2-adrenérgica possui papel principal no controle da liberação de somatostatina hipotalâmica e na neuroregulação do GH, o que justifica o Teste da Clonidina como importante ferramenta na investigação etiológica da Baixa Estatura (DEVESA et al., 1991; BORGES et al., 2016).

É considerado um bom teste inicial, por possuir boa sensibilidade e prática na aplicação, quando comparado a outros testes como o estímulo por sono e exercício. Os principais efeitos adversos observados a partir da realização do teste de estímulo ao GH por meio da Clonidina são sonolência e hipotensão (JORGE; FONTENELE, 2012).

4 MÉTODO

4.1 Desenho do estudo

Estudo prospectivo, retrospectivo e de caráter observacional. Este estudo é composto por 2 grupos de pacientes distintos:

1. DGH: pacientes que tiveram a confirmação do diagnóstico de DGH pelo acréscimo de pelo menos 0,3 DP na altura ao final de um ano de tratamento com rhGH ou ganho proporcional em um tempo mínimo de seis meses.
2. Não-DGH: pacientes que não preencheram o critério de confirmação diagnóstica de DGH ou que foram diagnosticados como BEI ou RCCP.

4.2 Local

Para adequado desenvolvimento da pesquisa, o local para a execução do projeto deve ser idealmente em hospital de assistência terciária com serviço de referência em Endocrinologia e Metabologia. Para tal, foi escolhida como instituição, o Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB).

4.3 População e amostra do estudo

4.3.1 População: crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura.

4.3.2 Amostra: constituída por 57 crianças ou adolescentes em investigação para baixa estatura que aceitaram participar da pesquisa com o consentimento de um responsável e seu assentimento, caso possuísse entre 12 e 18 anos. Em caso de pacientes falecidos e/ou sem possibilidade de contato, foi solicitada dispensa de obtenção do TCLE.

4.4 Critérios de inclusão

1. Pacientes de ambos os sexos em investigação para baixa estatura (altura < -2 DP para idade e sexo e/ou < -1 DP para altura alvo familiar), em acompanhamento no serviço ambulatorial de endocrinologia no HUIBB.
2. Pacientes que tenham sido submetidos a pelo menos um teste de estímulo para GH (TTI ou Teste da Clonidina) pela técnica de quimioluminescência com anticorpos monoclonais.
3. Pacientes em estágio pré-puberal.
4. Pacientes sem alterações hipofisárias na Ressonância Nuclear Magnética (RNM).
5. Pacientes que estavam fazendo uso de rhGH teriam que apresentar um período de seguimento mínimo de seis meses.
6. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e Termo de Assentimento (TA) (APÊNDICE A e B, respectivamente), esse último quando o paciente for menor de idade, obtidos antes de qualquer procedimento do estudo.

4.5 Critérios de exclusão

1. Maiores de 18 anos e menores de 4 anos de idade.
2. Pacientes em uso de bloqueadores da puberdade.
3. Pacientes que realizaram *priming* hormonal.
4. Pacientes cujos responsáveis não estejam de acordo com a participação no estudo.

4.6 Coleta de dados

Os dados foram coletados através da análise dos prontuários de pacientes sob investigação de baixa estatura, que foram submetidos aos testes de estimulação de GH (TTI e/ou Teste da Clonidina) no laboratório do HUIBB. O diagnóstico de DGH foi confirmado nos pacientes que obtiveram ganho de pelo menos 0,3 DP da altura avaliada pelo índice Z em um período mínimo de 6 meses de terapêutica com rhGH. A dose de rhGH foi estabelecida de forma individualizada, variando de 0,7 a 1 UI/Kg/semana. Adicionalmente, outras causas de baixa estatura, como hipotireoidismo, doenças sistêmicas crônicas, síndrome de Turner, osteopatias, foram descartadas.

Para utilização dos dados de prontuários nesta pesquisa, os pacientes foram contatados por telefone para que autorizassem a reprodução das informações, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Em casos que o paciente era menor de idade, o TCLE foi assinado por seus responsáveis e, se o menor tivesse idade superior ou igual a 12 anos completos, este também esteve de acordo com o Termo de Assentimento (TA). Constituíram parte da análise os seguintes dados de cada paciente: altura, altura alvo, idade cronológica, idade óssea, DP (desvio-padrão) de altura, DP de altura alvo, estadiamento puberal, níveis de TSH, T4 livre, FSH, LH, estradiol, testosterona total, IGF-1, IGFBP-3. A altura dos pacientes foi medida pelo Estadiômetro Harpenden, assim como a altura de seus pais, que também pode ter sido apenas referida no momento da consulta. A idade óssea considerada foi baseada na análise das radiografias de mão e punho esquerdos, usando o método padrão de Greulich & Pyle¹. Para o estadiamento puberal foi usado o método de Tanner².

A altura alvo foi calculada pela média de alturas do pai e da mãe, acrescidos de 6,5 cm no sexo masculino e subtraídos em 6,5 no sexo feminino. Os níveis séricos de GH, IGF-1 e IGFBP-3 foram descritos em números absolutos em $\mu\text{g/L}$, o TSH em mUI/L, FSH e LH em mUI/mL e os demais em ng/dl.

Os pacientes foram submetidos a pelo menos um dos testes de estimulação de GH: 46 pacientes foram submetidos ao TTI, 42 ao teste de clonidina e 30 a ambos os testes. Os testes foram realizados após um jejum de, no mínimo, 8 horas, com início 30 minutos após posicionamento de cateter venoso com infusão salina lenta, e as amostras de sangue colhidas a cada 30 minutos entre o tempo 0 e 120 minutos. A dosagem de GH nos testes foi realizada através da quimioluminescência com anticorpos monoclonais.

O paciente foi classificado como DGH quando obteve ganho de no mínimo 0,3 DP após o tratamento com rhGH, por um período igual ou superior a 6 meses. Os pacientes que apresentaram um período de acompanhamento em uso de rhGH menor que seis meses foram acompanhados durante o período de realização do estudo até alcançarem seis meses de seguimento.

¹GREULICH, W.W.; PYLE, S.I. **Radiographic Atlas of Skeletal Development of the Hand and Wrist**. (2nd ed.) California: Stanford University Press. 1959.

²TANNER, J.M.; WHITEHOUSE, R.H.; MARSHALL, W.A. et al. **Assessment of Skeletal Maturity and Prediction of Adult Height (TW2 Method)**. New York, NY: Academic Press. 1975.

Os pacientes que foram diagnosticados inicialmente como DGH, mas não obtiveram o ganho de estatura estabelecido como corte no primeiro ano de tratamento, foram considerados como baixa estatura por outras causas e incluídos no grupo não-DGH.

Baseado no número de pacientes com diagnóstico confirmado, foram definidos os valores de sensibilidade, especificidade e acurácia do teste de clonidina e do TTI nos pontos de corte 3, 5, 7 e 10 $\mu\text{g/L}$. Também foram definidos os valores e os instantes em que se observaram os picos máximos de GH em ambos os testes (0, 30, 60, 90 ou 120 min.).

A sensibilidade foi calculada pela razão entre os pacientes com DGH que responderam aos testes dentro de cada ponto de corte (verdadeiros-positivos) e todos os pacientes DGH. A especificidade foi calculada pela razão entre os pacientes não-DGH que responderam aos testes acima dos pontos de corte (verdadeiros-negativos) e todos os pacientes não-DGH. A acurácia foi calculada pela soma dos verdadeiros-positivos e verdadeiros-negativos no total de pacientes submetidos aos testes (tabelas 1 e 2).

Tabela 1 - Medidas de qualidade dos testes.

Teste de Estímulo em ponto de corte X			
DGH (Padrão-ouro)	Igual ou menor a X	Maior que X	Total
Positivo	VP (<i>a</i>)	FN (<i>b</i>)	VP+FN (<i>a+b</i>)
Negativo	FP (<i>c</i>)	VN (<i>d</i>)	FP+VN (<i>c+d</i>)
Total	VP+FP (<i>a+c</i>)	FN+VN (<i>b+d</i>)	<i>a+b+c+d=n</i>

VP: Verdadeiro-positivo, FP: Falso-Positivo, FN: Falso-Negativo, VN: Verdadeiro-Negativo e n: Total de participantes.

Fonte: Adaptado de GUIMARÃES, 1985.

Tabela 2 - Cálculo das medidas de qualidade dos testes.

Cálculo das medidas de qualidade		
Sensibilidade = $\frac{a}{a+b}$	Especificidade = $\frac{d}{c+d}$	Acurácia = $\frac{a+d}{n}$

Fonte: Adaptado de GUIMARÃES, 1985.

4.7 Análise Estatística

As variáveis que apresentaram distribuição normal foram descritas como Média \pm Desvio padrão e as variáveis que não apresentaram distribuição normal foram descritas como Mediana (variação mínima e máxima). O teste “*t*” de *Student* para médias independentes (“*t*” não pareado) foi utilizado para comparação de médias de variáveis com distribuição normal em grupos diferentes. O teste de *Mann-Whitney* foi utilizado para a comparação de médias de grupos cujas variáveis não apresentaram distribuição normal. Os testes de *Fisher* e/ou qui-quadrado foram utilizados para comparação de proporções entre grupos. Para avaliar a correlação entre variáveis, foram utilizados os testes de *Pearson* (para variáveis de distribuição normal) e de *Spearman* (para variáveis que não aderem à distribuição normal).

O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Todos os cálculos foram realizados com programas disponíveis comercialmente, *SigmaStat* 3.5 (JandelScientific Corporation, Chicago, Illinois) e *SPSS Statistics* 23.0 (IBM, USA).

5 RESULTADOS

Participaram do estudo 57 pacientes que possuíam $<- 2$ DP de altura para idade e sexo e/ou <-1 DP para estatura alvo, sujeitas a pelo menos um teste de estímulo ao GH, TTI ou Teste da clonidina. Dentre os pacientes avaliados, 43 (73,7%) eram do sexo masculino e 15 (26,3%) do sexo feminino, com idade de $10,7 \pm 2,9$ anos, estatura de $124,2 \pm 15,2$ cm e peso de 26 ± 9 kg.

Os pacientes tiveram confirmação do diagnóstico de DGH pelo acréscimo de pelo menos 0,3 DP na altura ao final de um ano de tratamento com rhGH ou ganho proporcional em um tempo mínimo de 6 meses. Após ser analisada esta resposta, 25 (43,9%) indivíduos receberam a confirmação diagnóstica de DGH. Os 32 (56,1%) pacientes restantes não preencheram o presente critério de confirmação diagnóstica e, portanto, não foram classificados com Deficiência do Hormônio de Crescimento. Dentre esses, 8 (25%) fizeram uso de Hormônio de Crescimento e não obtiveram resposta efetiva com o tratamento, enquanto que 24 (75%) foram diagnosticados como Baixa Estatura Idiopática ou por Retardo Constitucional do Crescimento e Puberdade.

Quando comparamos a estatura dos pacientes DGH inicial e final encontramos um aumento da estatura ($p < 0,001$), sendo observado o mesmo no Grupo Não-DGH. Apesar de ambos os grupos partirem de uma estatura inicial semelhante e obterem ganho de estatura ao final do acompanhamento, este foi maior no grupo DGH (19,3 vs. 9,2, respectivamente). Em relação ao DP da altura, o grupo DGH obteve ganho significativo ao final do estudo. Este ganho não ocorreu no grupo com baixa estatura por outras causas (Tabela 3).

Tabela 3 - Características clínicas dos pacientes com e sem DGH.

Característica	DGH (n = 25)		Não-DGH (n = 32)		p-valor
	Inicial	Final	Inicial	Final	
Idade cronológica (anos)	$9,6 \pm 2,64$	$11,97 \pm 2,85$	$11,52 \pm 2,82$	$13,27 \pm 2,96$	$< 0,0001^\dagger$
Estatura (cm)	$122,5 \pm 17,55$	$141,8 \pm 20,25$	$125,6 \pm 12,42$	$135,27 \pm 14,42$	$< 0,0001^\dagger$
DP estatura	$-2,34 \pm 1,49$	$-1,21 \pm 1,39$	$-3,14 \pm 1,28$	$-3,02 \pm 1,17$	$< 0,001^*$

† Estatisticamente significativo (inicial vs. final dentro de cada grupo). * Estatisticamente significativo (inicial vs. final dentro do grupo DGH).

Foram submetidos ao TTI 46 pacientes, 42 ao teste de clonidina e 31 a ambos os testes. Foram avaliadas sensibilidade, especificidade e acurácia dos testes de estimulação de GH (Tabela 4).

Tabela 4 - Sensibilidade, especificidade e acurácia dos testes de estimulação de GH.

Picos de GH	TTI			Teste da Clonidina		
	Sensib.	Especif.	Acurácia	Sensib.	Especif.	Acurácia
< 3 µg/L	45%	92%	72%	55%	100%	76%
< 5 µg/L	75%	77%	76%	86%	85%	86%
< 7 µg/L	90%	77%	83%	100%	75%	88%
< 10 µg/L	95%	73%	83%	100%	70%	86%

O pico máximo de GH foi menor no grupo DGH em ambos os testes (figura 1), 3,7 vs. 17,2 µg/L no TTI ($p < 0,001$) e 2,8 vs. 20,2 ($p < 0,001$) no Teste da Clonidina. As maiores elevações nos valores de GH ocorreram nos tempos 60/90 minutos para os testes de TTI e clonidina em ambos os grupos. Os valores médios de GH durante os testes de estímulo, em ambos os grupos, estão mostrados na figura 2.

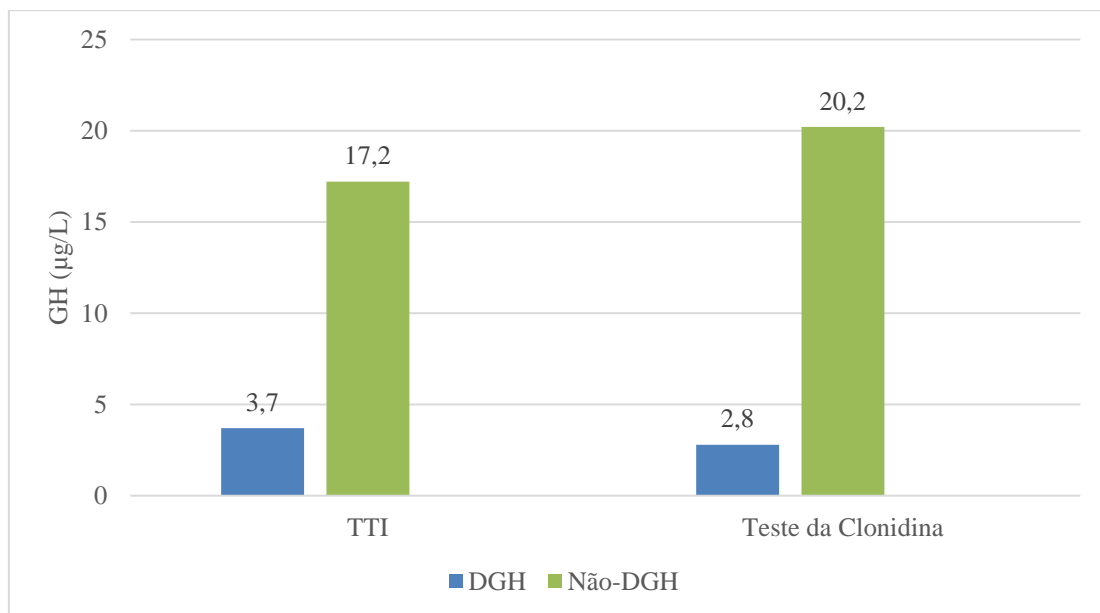


Figura 1 - Pico Máximo (µg/L) de GH nos testes de estímulo

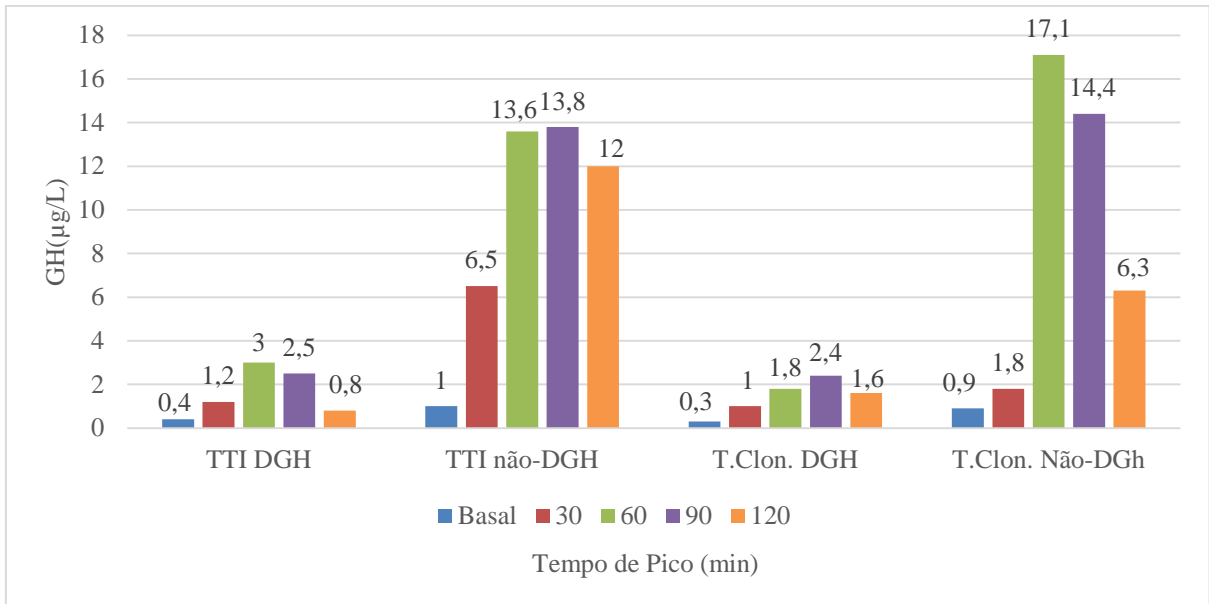


Figura 2 – Valores médios de GH nos testes de estímulo.

6 DISCUSSÃO

Os dados obtidos sugerem que para o TTI os níveis de corte utilizados para o diagnóstico de DGH devam ser de $< 7\mu\text{g/L}$. Quando o teste de clonidina for utilizado, níveis de corte $< 5\mu\text{g/L}$ parecem ser mais adequados. Adicionalmente, o teste da clonidina se mostrou mais sensível que o TTI em todos os pontos de corte.

O valor de especificidade do ponto de corte $< 7\mu\text{g/L}$ no TTI é igual ao ponto de corte $< 5\mu\text{g/L}$, no entanto é 15% mais sensível, além de mais acurado, o que justifica sua escolha. Já no teste de clonidina, o ponto de corte $< 5\mu\text{g/L}$ apesar de ser menos específico que o nível $< 3\mu\text{g/L}$, apresenta sensibilidade e acurácia superiores e, quando comparado ao ponto de corte $< 7\mu\text{g/L}$, apresenta especificidade 10% maior e acurácia semelhante, o que justificam sua escolha, por serem estes os principais parâmetros a serem avaliados em doenças pouco comuns .

Ainda há muitas limitações no diagnóstico de DGH em crianças. Mesmo em centros especializados, 25% das crianças com diagnóstico de DGH tratadas com rhGH tem pico de resposta normal quando testadas no final do crescimento (TILLMANN, 1997). Os valores do *cut-off* do pico do GH ao estímulo variam. Alguns autores advogam que em ensaios laboratoriais mais sensíveis (IFMA, Quimioluminescência) níveis maiores ou iguais a $5\mu\text{g/L}$ já seriam considerados como resposta normal aos testes de estímulo, porém a maioria dos estudos aceita valores a partir de $7\mu\text{g/L}$ ou $10\mu\text{g/L}$ (CZEPIELEWSKY; DE PAULA, 2008). A maior dificuldade na definição do *cut-off* ideal está na sobreposição de resultados que encontramos entre os testes de crianças com DGH e crianças normais, especialmente nas que não tem DGH clássico, sem características fenotípicas ou que iniciam o quadro mais tardiamente, com quadro clínico e laboratorial difícil de distinguir das variantes normais do crescimento.

Existe variação entre os imunoenaios provavelmente pela presença de uma ou mais proteínas ligantes de GH e/ou a heterogeneidade das moléculas circulantes de GH, além da diferença entre os anticorpos, monoclonal e policlonal. Do GH produzido, 75% é 22 KDa, 5-10% é 20 KDa e o restante inclui formas inativas de GH (BAUMANN, 1991). Devido esta variação, o ponto de corte para diagnóstico de DGH deve levar em consideração o ensaio de GH, a potência do estímulo e o considerado “normal” é arbitrário e não leva em consideração

o tipo de teste farmacológico, o ensaio utilizado, idade, massa gorda, estágio puberal. Além disso, acredita-se que o *cut-off* deva ser ajustado para o IMC, principalmente no TTI, devendo ser considerado maior para aqueles com menor IMC e menor para os que apresentam maior IMC e, nos obesos, recomenda-se uma dieta hipocalórica nas 24 horas que precedem o exame, o que aumenta a acurácia dos testes (ROSE, 2007).

Tendo como base os testes de estímulo, uma grande proporção de crianças normais com baixa estatura pode ser equivocadamente diagnosticada como portadora de DGH. Porém mesmo com estas limitações, resposta insatisfatória em dois testes continua sendo o padrão-ouro na decisão clínica sobre tratamento com rhGH em todo o mundo (ROSE, 2007).

Em um estudo de Cheng Guo (2013) 80 pacientes, sendo 31 diagnosticados clinicamente com DGH foram submetidos aos testes de estímulo ao GH (Teste da Clonidina, TTI e ambos combinados). O pico máximo de GH nos testes da Clonidina e de Tolerância à Insulina foi encontrado nos instantes 60/90 minutos. O tempo encontrado para o pico máximo de GH no nosso trabalho foi semelhante ao encontrado nesse estudo. Quando analisados isoladamente o TTI apresentou, para o ponto de corte $< 10\mu\text{g/L}$, sensibilidade, especificidade e acurácia de 76%, 48% e 63%, respectivamente. Todos os valores encontrados no estudo de Cheng Guo foram menores que os determinados por este trabalho. Ao teste da clonidina, a sensibilidade encontrada foi de 79%, especificidade de 65% e acurácia de 73%. Os valores encontrados no nosso estudo apresentaram sensibilidade, especificidade e acurácia superiores (100%, 70% e 86%).

Alguns autores, ainda, acreditam que valores de pico de GH após teste de estímulo entre $7\mu\text{g/L}$ e $10\mu\text{g/L}$ seriam considerados subnormais, e estes apresentariam deficiência parcial ou insuficiência de GH. Outros sugerem que níveis menores que $10\mu\text{g/L}$ seriam indicativos de DGH e níveis menores de $5\mu\text{g/L}$ refletiriam deficiência mais severa de GH (MOORE, 1993). Crianças com baixa estatura, IGF-1, IGFBP-3 normais e um teste subnormal, deveriam ser submetidas à um segundo teste, se subnormal considerar insuficiência de GH (SHALET, 1998).

Quanto às diferenças entre os dois testes utilizados nos nossos trabalhos, poucos estudos os comparam diretamente. Alguns autores consideram como padrão ouro o TTI (RODRIGUES et al., 2004), enquanto outros afirmam que o teste da clonidina é mais sensível

que o TTI (SEICK; BOGUSZEWSKI, 2003). Nossos resultados confirmam que o teste da clonidina possui maior sensibilidade que o TTI para o diagnóstico de DGH.

Em estudo de Borges et al. (2016), foram comparados três grupos, classificados como estatura normal (n=56), BEI (n=143) e DGH (n=26), sendo todos submetidos ao teste estimulatório de GH por clonidina. As médias de pico máximo de GH encontrada nos grupos foram de 8 µg/L, 9 µg/L e 10 µg/L, respectivamente. Assim como em nosso estudo, o grupo DGH apresentou média de pico máximo de GH significativamente menor que os demais. Nesse trabalho, Borges et al. também identificaram o ponto de corte < 3µg/L como o mais adequado para o diagnóstico de DGH, o que não foi observado em nosso trabalho, visto que apesar de possuir boa especificidade (100%), deixaria de diagnosticar 45% dos pacientes que necessitariam de tratamento com rhGH. Ademais, é proposta a coleta de sangue para o exame em apenas 3 amostras, a basal e nos instantes 60 e 90 minutos, que assim como em nosso estudo, são os momentos em que ocorrem as maiores concentrações séricas de hormônio de crescimento.

Rhee et al. (2015) desenvolveram um estudo em que 120 crianças foram submetidas a dois testes de estímulo, sendo um deles o TTI. Destas, 83 foram classificadas como DGH e 37 como BEI. Assim como em nosso trabalho, o pico médio do grupo DGH sob TTI foi significativamente menor que o grupo não DGH (4.03 vs. 14.71 µg/L). São identificados valores de especificidade e acurácia de 78,4% e 93,6% para o TTI no ponto de corte < 10µg/L. Ambos os valores são superiores aos encontrados em nosso estudo (73% e 83%), no entanto, o padrão-ouro utilizado no estudo de Rhee et al. para comparar as medidas de qualidade dos testes não é bem delineado.

Moore (1993) estudando 47 crianças com baixa estatura extrema, sendo 5 DGH, avaliou a resposta ao tratamento com GH nos dois grupos e verificou que o aumento sustentado da velocidade de crescimento foi maior nos grupo DGH, porém também foi significativo no grupo não DGH, concluindo que crianças com baixa estatura extrema, a exceção das DGH clássicas, são difíceis de serem classificadas pelos critérios clínicos e bioquímicos atuais e que a maioria das crianças do estudo apresentou resposta positiva ao tratamento com GH.

O principal aspecto que difere o presente trabalho dos demais é que a maioria dos estudos se baseia nas formas clássicas de DGH, que apresentam alteração radiológica, como

agenesia de hipófise e lesões expansivas ou então, são classificados segundo os critérios atuais das *guidelines*, portanto, comparam os testes de estímulo entre si. Como os testes são o alvo do estudo, o nosso critério diagnóstico adotado como padrão-ouro no DGH foi a prova terapêutica. Bakker et al. (2008) e Cohen et al. (2008) propõem como resposta satisfatória ao tratamento com rhGH, o ganho maior que 0,3DP após um ano de tratamento.

A melhor abordagem na investigação da criança com baixa estatura tem sido objeto de muita discussão e estudos (HINDMARSH, 1995). Os testes são utilizados para confirmar laboratorialmente a DGH como causa da baixa estatura, já que critérios clínicos como taxas de crescimento insatisfatórias têm baixa sensibilidade (69%) e especificidade (63%). Se utilizarmos o pico de concentração de GH em resposta aos testes para definir doença, pelo menos 25% destes terão secreção normal de GH quando adultos jovens (NICOLSON, 1996; CLAYTON, 1987).

Por tratar-se de um tratamento que demanda alto custo financeiro, o Ministério da Saúde Brasileiro instituiu um controle rigoroso para a dispensa de rhGH subsidiado pelo governo. Em 2010, foi reduzido o *cut-off* dos testes de estímulo de 7 para 5µg/L como exigência para obtenção do medicamento (BRASIL, 2010). No entanto, baseado nos dados deste trabalho levando em consideração o TTI, ao praticar essa redução não haveria ganho em especificidade, porém uma redução importante na acurácia e sensibilidade do teste, deixando de tratar 15% de crianças portadoras de DGH, que possuem uma doença tratável e estigmatizante quando não manejada adequadamente (OSWIECIMSKA, 2014). Portanto, faz-se necessário uma revisão dos pontos de corte adotados pelo Ministério da Saúde.

Na amostra do presente estudo, foi observada melhor acurácia com nível de corte de 7 e 10µg/L no TTI, enquanto que no teste da clonidina, os valores foram próximos para os pontos de corte 5, 7 e 10µg/L. Como a especificidade é o parâmetro mais adequado a ser empregado no diagnóstico de doenças incomuns (GOULART; CHIARI, 2007), o melhor ponto de corte a ser adotado para o teste da clonidina é o de 5µg/L e para o TTI, o nível de 7µg/L.

Um teste com alta especificidade possui um baixo número de resultados falso-positivos, ou seja, uma vez positivo o teste confirma o diagnóstico da patologia. Estes parâmetros são mais importantes que a sensibilidade, pois se trata de uma patologia incomum. Os pacientes que não forem diagnosticados por uma menor sensibilidade do teste ainda

poderiam ser acompanhados e reavaliados, podendo receber intervenção terapêutica posteriormente, de acordo com sua evolução clínica.

O uso isolado da sensibilidade ou da especificidade na avaliação de um teste diagnóstico pode ser indicado em algumas condições, como as listadas no quadro abaixo (Quadro 1). Para a DGH, a aplicabilidade dessa forma de avaliação é questionável. Na análise do quadro abaixo, juntamente com o que já foi discutido, verifica-se que é necessário obter o equilíbrio entre essas duas variáveis quando se trata de DGH.

Quadro 1 – Condições clínicas para a predileção da sensibilidade ou da especificidade e aplicabilidade na DGH

Conceito	Condições clínicas	DGH
Sensibilidade	1- Doença tratável.	A
	2- Doença grave que não pode passar despercebida.	A
	3- Resultados errados (falsos) não determinam nenhum trauma psicológico, econômico ou social para o indivíduo.	N/A
Especificidade	1- Doença é importante, mas incurável ou difícil de tratar.	N/A
	2- Resultados errados podem provocar traumas psicológicos, econômicos ou sociais.	A
	3- O fato de não saber se possui a doença tem importância sanitária e psicológica.	A

DGH: deficiência do hormônio do crescimento; A: se aplica; N/A: não se aplica.

Fonte: Adaptado de GREENHALGH, 1997.

Usar um valor de corte diagnóstico com alta sensibilidade e baixa especificidade/acurácia levaria a um tratamento desnecessário de uma grande parte desses indivíduos, o que não seria deletério do ponto de visto individual, dado a segurança do tratamento. No entanto, poderia acarretar implicações econômicas significativas na saúde pública devido ao alto custo mensal que seria dispensado desnecessariamente.

7 CONCLUSÃO

A análise dos dados indica que há um ponto de corte nos testes de estímulo ao GH mais fidedigno ao diagnóstico de DGH, quando comparado a outros valores. O pico máximo médio é significativamente menor no grupo DGH, em relação ao não-DGH em ambos os testes. Os instantes em que ocorre a maior concentração de GH após os testes de estímulo são 60 e 90 minutos.

Os dados deste estudo sugerem que para o TTI os níveis de corte utilizados para o diagnóstico de DGH devam ser de $< 7\mu\text{g/L}$. Quando o teste de clonidina for utilizado níveis de corte $< 5\mu\text{g/L}$ parecem ser mais adequados. Adicionalmente, o teste da clonidina se mostrou mais sensível que o TTI em todos os pontos de corte.

8 REFERÊNCIAS

ALATZOGLOU, K. S. ; DATTANI, M.T. Genetic causes and treatment of isolated growth hormone deficiency-an update. **Nat Rev Endocrinol**. 2010 Oct; 6(10):562-76.

ALATZOGLOU, K. S.; DATTANI, M.T. Autosomal Dominant Growth Hormone Deficiency (Type II). **PediatrEndocrinol Rev**. 2015 Jun;12(4):347-55.

AL HERBISH, A. S. et al. Growth hormone therapy and treatment outcomes: current clinical practice of the Gulf Cooperation Council. **Expert Review of Endocrinology & Metabolism**, v. 9, n. 4, p. 319–325, 16 jul. 2014

AL HERBISH, A. S. et al. Diagnosis and management of growth disorders in Gulf Cooperation Council (GCC) countries: Current procedures and key recommendations for best practice. **International Journal of Pediatrics and Adolescent Medicine**, 2016.

ARGENTE, J. Challenges in the Management of Short Stature. **Horm Res Pediatr** 2016; 85:2–10.

BAKER, J. et al. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. **Cell**. 1993; 75 (1):73 -82.

BAKKER, B. et al. Height Velocity Targets from the National Cooperative Growth Study for First-Year Growth Hormone Responses in Short Children. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 93, n. 2, p. 352–357, fev. 2008.

BAUMANN, G.P. Growth hormone isoforms. **GrowthHorm IGF Res**. 2009 Aug; 19 (4):333-40.

BIRLA, S. et al. Identification of novel GHRHR and GH1 mutations in patients with isolated growth hormone deficiency. **GrowthHorm IGF Res**.2016 Aug; 29:50-6. Epub 2016 Apr 16.

BOGUSZEWSKI, C.L. Genética molecular do eixo GH-IGF1. **Arq Bras Endocrinol Metab** vol.45 no.1 São Paulo Jan./Feb. 2001.

BORGES, M.F., et al. GH values after stimulation with clonidine. **Clinics** 2016; 71(4):226-231.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Deficiência de hormônio do crescimento – Hipopituitarismo. **Portaria SAS/MS nº 110, de 10 de março de 2010**. Republicada em 12.05.10.

CHENG GUO, M.D.; LI CHEN, M.D. Diagnostic Value of Provocative Test by Insulin Combined with Clonidine for Growth Hormone Deficiency in Children. **Iran J Pediatr** Jun 2013; Vol 23 (No 3), Pp: 315-320.

CHIGO, E.; BELLONE, J.; AIMARETTI, G.; LOCHE, S.; CAPPÀ, M.; et al. Reliability of provocative tests to assess growth hormone secretory status. Study in 472 normally growing children. **J ClinEndocrinolMetab.**1996;81(9):3323-27.

COHEN, P. et al. ISS Consensus workshop participants. Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with Idiopathic Short Stature: A summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the European Society for Pediatric Endocrinology Workshop. **J ClinEndocrinolMetab.**2008 Nov;93(11):4210-7. Doi: 10.1210/jc.2008-0509. Epub 2008 Sep 9.

CUNEO, R.C. et al. The growth hormone deficiency syndrome in adults. **ClinicalEndocrinology** Vol. 37, Issue5November 1992 Pages 387 – 397.

CZEPIELEWSKI, M.A.; DE PAULA, L.P. Avaliação dos Métodos Diagnósticos para Deficiência de GH (DGH) na Infância: IGFs, IGFbPs, Testes de Liberação, Ritmo de GH e Exames de Imagem. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2008; 52/5:734-744.

DE ONIS, M.; ONYANGO, A.W., BORGHI, E.; SIYAM, A.; NISHIDA, C. & SIEKMANN, J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bulletinofthe World Health Organization.** 2007;85:660-667.

DE PAULA, L.P. Estudos Prospectivos no diagnóstico diferencial da baixa estatura e da deficiência de hormônio de crescimento em crianças. Orientador: Mauro A Czepielewski. [Tese: doutorado] Faculdade de Medicina, UFRGS, 2007. p. 103.

DECHIARA, T.M.; EFSTRATIADIS, A.; ROBERTSON, E.J. A growth-deficiency phenotype in heterozygous mice carrying an insulin-like growth factor II gene disrupted by targeting. **Nature**. 1990; 345(6270):78-80.

DEVESA, J.; DIAZ, M.J.; TRESGUERRES, J.A., ARCE, V.; LIMA L. Evidence that alpha 2-adrenergic pathways play a major role in growth hormone (GH) neuroregulation: alpha 2-adrenergic agonism counter acts the inhibitory effect of muscarinic cholinergic receptor blockade on the GH response to GH-releasing hormone, while alpha 2-adrenergic blockade diminishes the potentiating effect of increased cholinergic to neon such stimulation in normal men. **J ClinEndocrinolMetab**. 1991 Aug;73(2):251-6.

DÍEZ, J.J. ;CORDIDO, F. Benefits and risks of growth hormone in adults with growth hormone deficiency. **MedClin (Barc)**. 2014 Oct 21;143(8):354-9. Epub 2014 Jan 28.

DRAKE, W.M., HOWELL, S.J., MONSON, J.P., SHALET, S.M. Optimizing GH therapy in adults and children. **Endocr Rev**. 2001; 22(4):425-450.

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

GIOVENALE, D. et al. The Prevalence of Growth Hormone Deficiency and Celiac Disease in Short Children. **Clin Med Res**. 2006 Sep; 4(3): 180–183.

GLUCKMAN, P.D. Endocrine and nutritional regulation of prenatal growth. **ActaPaediatr Suppl**. 1997, 423:153-7.

GREEN, H. ; MORIKAWA, M. ; NIXON, T. A dual effector theory of growth hormone action. **Differentiation**. 1985; 29(3):195-8.

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 1. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, n. 11, p. 3990–3993, nov. 2000.

GUO, C.; CHEN L.; Diagnostic value of provocative tests by insulin combined with clonidine for growth hormone deficiency in children. **Iran J Pediatr**. 2013 Jun;23>315-20.

HAYMOND, M.; KAPPELGAARD, A.M.; CZERNICHOW, P.; BILLER, B.M.; TAKANO, K.; KIESS, W. Global Advisory Panel Meeting on the Effects of Growth Hormone. Early recognition of growth abnormalities permitting early intervention. **Acta Pediatr**. 2013 Aug;102(8):787-96.

HOECK, H.C. et al 2005. Diagnosis of Growth Hormone (GH) Deficiency in Adults with Hypothalamic-Pituitary Disorders: Comparison of Test Results Using Pyridostigmine Plus GH-Releasing Hormone (GHRH), Clonidine Plus GHRH, and Insulin-Induced Hypoglycemia as GH Secretagogues. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**.85(4), 1467-1472.

JORGE, A. A. L. Fisiologia do crescimento normal. In: DAMIANI, D. **Endocrinologia na Prática Pediátrica**. São Paulo: Manole, 2011. p.13 – 27.

JORGE, A. A. L.; FONTENELE, E.G.P. Diagnóstico hormonal. In: Mendonça, Berenice Bilharinho de; Arnhold, Ivo J. P. (eds); Duarte, Alberto José da Silva (coord). **Investigação da baixa estatura: do fenótipo ao genótipo**. SÃO PAULO: Atheneu, 2012. p.15-24.

KATO, Y. et al. Regulation of human growth hormone secretion and its disorders. **Intern Med**. 2002 Jan;41(1):7-13.

KAVITHA, S.R.; CATRIN, L.; FIONA, R. Gh and Igf-1 Physiology in Childhood. **Endotext [Internet]**. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. 2015 Nov 20.

LARON, Z. Insulin like factor 1 (IGF1): a growth hormone. **MolPathol**. 2001 Oct; 54(5): 311–316.

LÉGER, J. How should we investigate children with growth failure? **Ann Endocrinol (Paris)** 2017.

LIU, J.P. et al. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). **Cell**. 1993; 75(3): 59-72

MAURAS, N.; HAYMOND, M.W. Are metabolic effects of GH and IGF1 separable? **Growth Horm IGF Res**. 2005 Feb;15(1):19-27.

MOLITCH, M. E. Adeno-hipófise Anterior. In: CECIL, R.L. et al. **Cecil: Tratado de Medicina Interna**. 22^a ed. Rio de Janeiro. Ed. Elsevier, p.1594-7.

NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH CLINICAL. Evidence Human growth hormone (somatotropin) for the treatment of growth failure in children (review). 2010. **Technology appraisal guidance** 188.

NILSSON, O. et al. Endocrine regulation of the growth plate. **Horm Res**. 2005; 64(4):157-65.

OBARA-MOSZYNSKA, M., NIEDZIELA, M. The usefulness of the GHRH stimulation test in the diagnostics of growth hormone deficiency in children. **Endokrynol Pol**. 2015; 66;0423–104.

OLLE G. et al. Mechanism of the stimulatory effects of growth hormone on longitudinal bone growth. **Endocrine Reviews** 2008 Nov Vol. 8, Issue 4.

OSWIECIMSKA, J. et al. Growth hormone deficiency in children and young adults. **Postepy Hig Med Dosw (Online)**. 2016 Sep 13;70 (0):928-937.

OSWIECIMSKA, J.M. et al. Quality of life in transition phase in adolescents and young adults with severe and partial growth hormone deficiency. **NeuroEndocrinol Lett** 2014;35(8):676-83.

RANKE, M. B. Treatment of children and adolescents with idiopathic short stature. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 9, n. 6, p. 325–334, 23 abr. 2013.

REITER, E.O.; ROSENFELD, R.G. Normal and aberrant growth. **Williams Textbook of Endocrinology**. 9.ed. 1998. p: 1427-1509.

RHEE, N.; OH, K.Y., YANG, E.M.; KIM, C.J. Growth Hormone responses to provocative tests in children with short stature. **Chonnam Med J**. 2015 Apr; 51(1): 33-8.

RICHMOND, E.J.; ROGOL, A.D. Growth Hormone deficiency in children. **Pituitary**. 2008; 11:115-120.

RODRIGUES, E.B.N., VIEIRA, J.G.H., MACIEL, R.M.B. Dosagens Hormonais. In: ANRIOLO, A. **Medicina Laboratorial**. Ed. Manole. p.89. 2004.

ROELFSEMA, V.; CLARK, R.G. The growth hormone and insulin like growth factor axis: its manipulation for the Benefit of Growth Disorders in Renal Failure. **JASN** June 1, 2001 vol. 12 no. 6 1297-1306.

ROGOL, A.D., HAYDEN, G.F. Etiologies and early diagnosis of short stature and growth failure in children and adolescents. **J.Pediatr** vol 164, nº5, 2014.

ROSENFELD, R.G. Insulin-like growth factors and the basis of growth. **N Engl J Med** 2003;349: 2184–2186.

ROSENFELD, R.G.; ALBERTSSON-WIKLAND K.; CASSORLA, F.; FRASIER, S.D.; HASEGAWA, Y.; HINTZ, R.L., LAFRANCHI, S., LIPPE, B.; LORIAUX, L.; MELMED, S., et al. Diagnostic controversy: the diagnosis of childhood growth hormone deficiency revisited. **J ClinEndocrinolMetab**.1995 May; 80(5): 1532-40.

ROSICKÁ, M. et al. Ghrelin – a New Endogenous Growth Hormone Secretagogue. **Physiol. Res**. 51: 435-441, 2002.

SALGADO, L.R. et al. **Tratado de Endocrinologia Clínica**. 1ª ed. São Paulo. Livraria Roca, p. 181-231. 1992.

ROSSKAMP, R.; BECKER, M.; TEGELER, A.; KLUMP, J. Effect of insulin-induced hypoglycemia on circulating levels of plasma growth hormone-releasing hormone and somatostatin in children. **Horm Res**. 1987; 27 (3):121-5.

SAVAGE, M.O. et al. Early detection, referral, investigation and diagnosis of children with growth disorders. **Horm Res Paediatr** April 8, 2016.

SEICK, D., BOGUSZEWSKI, M.C.S. Testes de Secreção de Hormônio de Crescimento e Suas Implicações no Tratamento da Baixa Estatura. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. 47(4), 303-11. 2003.

SHALET, S.M., TOOGOOD, A., RAHIM, A., BRENNAN, B.M.D. The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults. **Endocr Rev**. 1998; 19(2): 203-223.

SHALET, S.M. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of growth hormone (GH) deficiency in childhood and adolescence: summary statement of the GH Research Society. **J ClinEndocrinolMetab**. 2000;85:3990-3.

WIDEMAN, L. et al. Effects of gender on exercise induced growth hormone release. **J ApplPhysiol** (1985). 1999 Sep;87(3):1154-62.

WEISE, M. et al. Effects of estrogen on growth plate senescence and epiphyseal fusion. **ProcNatlAcadSci USA**. 1997; 98 (12):6871-6.

YUEN, K.C.J. Growth Hormone Stimulation Tests in Assessing Adult Growth Hormone Deficiency. **Endotext [Internet]**. South Dartmouth (MA):MDText.com, Inc.; 2000-.2016 Aug 1.

9 APÊNDICES

9.1 APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.

TÍTULO DA PESQUISA: “Comparação entre o teste de tolerância à insulina e o teste da clonidina no diagnóstico de crianças com baixa estatura por deficiência do Hormônio de Crescimento”.

NOME DOS PESQUISADORES: João Soares Felício, Antônio Bentes de Figueiredo Júnior, Ana Luiza Prieto Farinassi.

NOME DO ORIENTADOR: João Soares Felício.

Natureza da pesquisa: O Sr (a) está sendo convidada (o) a permitir que o seu filho (a) _____ participe da pesquisa acima citada, que terá seus resultados publicados posteriormente.

Participantes da pesquisa: Crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB).

Envolvimento na pesquisa: a participação do seu filho (a) ocorrerá através do levantamento de dados clínicos e laboratoriais junto ao seu prontuário, em protocolos próprios, os quais serão mantidos em sigilo. O(a) Sr(a) tem a liberdade de se recusar a permitir a participação de seu filho(a) até que o trabalho seja publicado, sem qualquer prejuízo para o(a) sr(a) ou seu filho(a). Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre este trabalho através do telefone dos pesquisadores. Se necessário, poderá pedir esclarecimentos através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.

Riscos e desconforto: a participação nesta pesquisa não traz complicações legais. O seu filho (a) não será submetido a nenhum risco ou desconforto durante a pesquisa, pois as informações utilizadas serão obtidas apenas através da revisão do prontuário médico. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº. 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Esta pesquisa não oferece riscos à sua dignidade ou de seu filho.

Confidencialidade: todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores e o orientador terão conhecimento dos dados.

Benefícios: ao participar desta pesquisa a (o) sra. (sr.) não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo traga informações importantes sobre a resposta da secreção de GH ao Teste de Tolerância à Insulina e ao Teste da Clonidina em crianças e adolescentes com baixa estatura, onde os pesquisadores se comprometem a divulgar os resultados obtidos na literatura científica.

Pagamento: a (o) sra. (sr.) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para permitir a participação de seu filho(a) na pesquisa. Para tanto, preencha por favor, os itens que se seguem:

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu,....., RG nº. (órgão expedidor / estado) de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento para a participação de meu filho _____ na pesquisa “Comparação entre o teste de tolerância à insulina e o teste da clonidina no diagnóstico de crianças com baixa estatura por deficiência do Hormônio de Crescimento”.

_____ Belém, ___/___/_____

Assinatura do Responsável

_____ Belém, ___/___/_____

Assinatura do Pesquisador

_____ Belém, ___/___/_____

Assinatura do Orientador

Agradecemos a sua autorização e colocamo-nos à disposição para esclarecimentos adicionais.

Pesquisadores:

Antônio Bentes de Figueiredo Júnior (91) 98127-4311

Ana Luiza Prieto Farinassi (91) 98012-3100

Orientador:

João Soares Felício (91) 99988-2972

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua dos Mundurucus, 4487 FONE: (91) 32016754 – E-mail: cephujbb@yahoo.com.br.

9.2 APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO

TERMO DE ASSENTIMENTO – INFORMAÇÕES PARA CRIANÇAS ALFABETIZADAS

TÍTULO DA PESQUISA: “Comparação entre o teste de tolerância à insulina e o teste da clonidina no diagnóstico de crianças com baixa estatura por deficiência do Hormônio de Crescimento”.

NOME DOS PESQUISADORES: João Soares Felício, Antônio Bentes de Figueiredo Júnior, Ana Luiza Prieto Farinassi.

NOME DO ORIENTADOR: João Soares Felício.

Natureza da pesquisa: Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa acima citada, a qual pretende comparar a resposta da secreção de GH ao Teste de Tolerância à Insulina e ao Teste da Clonidina em crianças e adolescentes com baixa estatura atendidas no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB)/Universidade Federal do Pará (UFPA), bem como divulgar os resultados obtidos na literatura científica.

Participantes da pesquisa: Crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB).

Envolvimento na pesquisa: a sua participação ocorrerá através do levantamento de dados clínicos e laboratoriais junto ao seu prontuário, em protocolos próprios, os quais serão mantidos em sigilo. Você tem a liberdade de se recusar a participar da pesquisa até que o trabalho seja publicado, sem qualquer prejuízo a você. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre este trabalho através do telefone dos pesquisadores. Se necessário, poderá pedir esclarecimentos através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.

Riscos e desconforto: a sua participação nesta pesquisa não traz complicações legais. Você não será submetido a nenhum risco ou desconforto durante a pesquisa, pois as informações utilizadas serão obtidas apenas através da revisão do prontuário médico. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº. 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Esta pesquisa não oferece riscos à sua dignidade.

Confidencialidade: todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores e o orientador terão conhecimento dos dados.

Benefícios: ao participar desta pesquisa você não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo traga informações importantes sobre a resposta da secreção de GH ao Teste de Tolerância à Insulina e ao Teste da Clonidina em crianças e adolescentes com baixa estatura, onde os pesquisadores se comprometem a divulgar os resultados obtidos na literatura científica.

Pagamento: você não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar da pesquisa. Para tanto, preencha, por favor, os itens que se seguem:

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu,....., RG n°. (órgão expedidor / estado) de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento para a participação na pesquisa “Comparação entre o teste de tolerância à insulina e o teste da clonidina no diagnóstico de crianças com baixa estatura por deficiência do Hormônio de Crescimento”.

Belém, ___/___/_____

Assinatura do Participante

Belém, ___/___/_____

Assinatura do Pesquisador

Belém, ___/___/_____

Assinatura do Orientador

Agradecemos a sua autorização e colocamo-nos à disposição para esclarecimentos adicionais.

Pesquisadores:

Antônio Bentes de Figueiredo Júnior (91) 98127-4311

Ana Luiza Prieto Farinassi (91) 98012-3100

Orientador:

João Soares Felício (91) 99988-2972

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua dos Mundurucus, 4487 FONE: (91) 32016754 – E-mail: cephujbb@yahoo.com.br.

9.3 APÊNDICE C – TERMO DE ACEITE DO ORIENTADOR

TERMO DE ACEITE DO ORIENTADOR

Eu, João Soares Felício, aceito orientar o Trabalho de Conclusão de Curso – TCC do curso de Medicina da UFPA, intitulado: “Comparação entre o teste de tolerância a insulina e o teste da clonidina para o diagnóstico de Deficiência do Hormônio de Crescimento Idiopática em crianças com baixa estatura”, que será desenvolvido pelos discentes Ana Luiza Prieto Farinassi e Antônio Bentes de Figueiredo Junior, comprometendo-me a dedicar o tempo mínimo de 2 (duas) horas semanais para o acompanhamento da pesquisa, assim como, de participar da defesa do trabalho como membro examinador, devendo presidir a banca examinadora. Informo também, ter ciência que a orientação deverá estar de acordo com o manual das orientações para apresentação do trabalho e que, na eventual ocorrência de algum fato que prejudique o processo de orientação, este deverá ser formalmente comunicado a coordenação da pesquisa.

Belém, ___ de _____ de _____.

Assinatura do Orientador

9.4 APENDICE D – ARTIGO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia

Título: **Comparação entre o teste de tolerância à insulina e o teste da clonidina para o diagnóstico de deficiência do hormônio de crescimento idiopática em crianças com baixa estatura.**

Ana Luiza Prieto Farinassi¹

Antônio Bentes de Figueiredo Junior¹

João Soares Felício¹

¹Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Av. Generalíssimo Deodoro, 01, Umarizal, Belém, Pará, Brasil, 66050-160.

Autores: Ana Luiza Prieto Farinassi e Antônio Bentes de Figueiredo Junior

E-mail: analuizaprietof@gmail.com; bentesjr@gmail.com

Endereço: Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Av. Generalíssimo Deodoro, 01, Umarizal, Belém, Pará, Brasil, 66050-160.

Número de telefone e fax: +55 (91) 3201-6808.

RESUMO

Objetivos

Estabelecer valores de sensibilidade, especificidade e acurácia para diferentes pontos de corte no teste de tolerância à insulina (TTI) e teste da clonidina para diagnóstico de DGH.

Material e Métodos

Estudo retrospectivo, prospectivo e de caráter observacional envolvendo a análise de 57 crianças e adolescentes, em investigação de baixa estatura, atendidos no ambulatório de Endocrinologia e Metabologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto. A comparação entre os testes provocativos de GH (ITT e/ou Teste da clonidina) compreendeu o período de agosto de 2002 a

fevereiro de 2017. Todos os pacientes foram submetidos a, pelo menos, um dos testes provocativos. O nível sérico do GH foi medido até de imunoensaio.

Resultados

Todos os pacientes tinham altura < -2 DP da média para idade e sexo e/ou < -1 DP em relação à altura alvo familiar. Os resultados deste estudo mostraram que o valor de especificidade do ponto de corte $< 7\mu\text{g/L}$ no TTI é igual ao ponto de corte $< 5\mu\text{g/L}$, no entanto é 15% mais sensível, além de mais acurado, o que justifica sua escolha. Já no teste de clonidina, o ponto de corte $< 5\mu\text{g/L}$ apesar de ser menos específico que o nível $3\mu\text{g/L}$, apresenta sensibilidade e acurácia muito superior e, quando comparado ao ponto de corte $< 7\mu\text{g/L}$, apresenta especificidade 10% maior e acurácia semelhante, o que justificam sua escolha, por serem estes os principais parâmetros a serem avaliados em doenças pouco comuns, como a DGH. As maiores elevações nos valores de GH ocorreram nos tempos 60/90 minutos para os testes de TTI e clonidina em ambos os grupos (DGH e não-DGH).

Conclusão

Os dados deste estudo sugerem que para o TTI os níveis de corte utilizados para o diagnóstico de DGH devam ser de $< 7\mu\text{g/L}$. Quando o teste de clonidina for utilizado níveis de corte $< 5\mu\text{g/L}$ parecem ser mais adequados. Adicionalmente, o teste da clonidina se mostrou mais sensível que o TTI em todos os pontos de corte.

Palavras-chave: Baixa estatura; Hormônio de crescimento; Deficiência do hormônio de crescimento; Teste de estímulo do GH.

INTRODUÇÃO

O crescimento humano é um processo biológico que envolve aspectos genéticos, hormonais, nutricionais e ambientais (1). Para classificar o processo de crescimento em normal ou anormal, são utilizados parâmetros baseados na estatura média da população para a idade e sexo e na velocidade em que o crescimento ocorre. Crianças cuja altura esteja dois desvios padrões abaixo da média para idade e sexo e/ou apresente uma baixa velocidade de crescimento e/ou um déficit de altura maior que um desvio padrão em relação à altura alvo familiar devem ser encaminhadas para uma avaliação pediátrica completa (2). Tal avaliação consiste na pesquisa da história pessoal, familiar e social, exame físico, exames laboratoriais gerais e/ou especializados, exames radiológicos, testes genéticos, entre outros (3).

Após considerar e excluir outras causas de baixa estatura e, os dados auxológicos obtidos sugerirem Deficiência do Hormônio de Crescimento (DGH), esta deverá ser investigada. O diagnóstico deve ser confirmado por meio de testes de estimulação, utilizando provocação fisiológica ou farmacológica da secreção de GH. A estimulação farmacológica inclui o Teste de Tolerância à Insulina (TTI) e o Teste da Clonidina (4).

Segundo o Ministério da Saúde (5), o diagnóstico de DGH em crianças e adolescentes requer dois testes de estímulo com valor de pico de GH $< 5 \mu\text{g/L}$, dosados por método de quimioluminescência ou imunofluorimetria com anticorpos monoclonais.

Nenhum dos testes disponíveis é considerado o padrão-ouro para o diagnóstico de DGH, pois apresentam risco de fornecer resultados falsos (6). Alguns autores sugerem que uma boa resposta terapêutica com o GH recombinante humano (rhGH) seja uma prova segura de que provavelmente exista a deficiência hormonal (7,8). O aumento da altura final e a alteração na velocidade de crescimento são úteis para avaliar essa resposta clinicamente (9).

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo retrospectivo, prospectivo e de caráter observacional, realizado através da análise de prontuários de crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura, que foram atendidos no ambulatório de Endocrinologia e Metabologia do HUIBB. Esses pacientes foram submetidos a testes de estimulação da secreção do GH (TTI e/ou teste da clonidina) no período de agosto de 2002 a fevereiro de 2017. Participaram do estudo 57 pacientes, com altura < -2 DP abaixo da média para idade e/ou < -1 DP em relação à altura alvo familiar. Todos os pacientes foram submetidos a, pelo menos, um teste provocativo do GH. Todos apresentavam função tireoidiana normal, Ressonância magnética de crânio sem alterações e outras causas de deficiência de crescimento excluídas.

Os testes foram realizados após um jejum de, no mínimo, 8 horas, com início 30 minutos após posicionamento de cateter venoso com infusão salina lenta, e as amostras de sangue colhidas a cada 30 minutos entre o tempo 0 e 120 minutos. A dosagem de GH nos testes foi realizada através da quimioluminescência com anticorpos monoclonais.

Constituíram parte da análise os seguintes dados de cada paciente: altura, altura alvo, idade cronológica, idade óssea, DP (desvio-padrão) de altura, DP de altura alvo, estadiamento puberal, níveis de TSH, T4 livre, FSH, LH, estradiol, testosterona total, IGF-1, IGFBP-3. A altura dos pacientes foi medida pelo Estadiômetro Harpende, assim como a altura de seus pais, que também pode ter sido apenas referida no momento da consulta. A idade óssea considerada foi baseada na análise das radiografias de mão e punho esquerdos, usando o método padrão de Greulich & Pyle. Para

o estadiamento puberal foi usado o método de Tanner. A altura alvo foi calculada pela média de alturas do pai e da mãe, acrescidos de 6,5 cm no sexo masculino e subtraídos em 6,5 no sexo feminino. Os níveis séricos de GH foram descritos em números absolutos em $\mu\text{g/L}$.

Na análise estatística as variáveis que apresentaram distribuição normal foram descritas como Média \pm Desvio padrão e as variáveis que não apresentaram distribuição normal foram descritas como Mediana. O teste “*t*” de *Student* para médias independentes foi utilizado para comparação de médias de variáveis com distribuição normal em grupos diferentes. O teste de *Mann-Whitney* foi utilizado para a comparação de médias de grupos cujas variáveis não apresentaram distribuição normal. Os testes de *Fisher* e/ou qui-quadrado foram utilizados para comparação de proporções entre grupos. Para avaliar a correlação entre variáveis, foram utilizados os testes de *Pearson* e de *Spearman*. O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Participaram do estudo 57 pacientes que possuíam < -2 DP de altura para idade e sexo e/ou < -1 DP para estatura alvo, sujeitas a pelo menos um teste de estímulo ao GH, TTI ou Teste da clonidina. Dentre os pacientes avaliados, 43 (73,7%) eram do sexo masculino e 15 (26,3%) do sexo feminino, com idade de $10,7 \pm 2,9$ anos, estatura de $124,2 \pm 15,2$ cm e peso de 26 ± 9 kg.

Os pacientes tiveram confirmação do diagnóstico de DGH pelo acréscimo de pelo menos 0,3 DP na altura ao final de um ano de tratamento com rhGH ou ganho proporcional em um tempo mínimo de 6 meses. Após ser analisada esta reposta, 25 (43,9%) indivíduos receberam a confirmação diagnóstica de DGH. Os 32 (56,1%) pacientes restantes não preencheram o presente critério de confirmação diagnóstica e, portanto, não foram classificados com Deficiência do Hormônio de Crescimento. Dentre esses, 8 (25%) fizeram uso de Hormônio de Crescimento e não obtiveram resposta efetiva com o tratamento, enquanto que 24 (75%) foram diagnosticados como Baixa Estatura Idiopática ou por Retardo Constitucional do Crescimento e Puberdade.

Quando comparamos a estatura dos pacientes DGH inicial e final encontramos um aumento da estatura ($p < 0,001$), sendo observado o mesmo no Grupo Não-DGH. Apesar de ambos os grupos partirem de uma estatura inicial semelhante e obterem ganho de estatura ao final do acompanhamento, este foi maior no grupo DGH (19,3 vs. 9,2, respectivamente). Em relação ao DP da altura, o grupo DGH obteve ganho significativo ao final do estudo. Este ganho não ocorreu no grupo com baixa estatura por outras causas (Tabela 1).

Tabela 1 - Características clínicas dos pacientes com e sem DGH.

Característica	DGH (n = 25)		Não-DGH (n = 32)		p-valor
	Inicial	Final	Inicial	Final	
Idade cronológica (anos)	9,6 ± 2,64	11,97 ± 2,85	11,52 ± 2,82	13,27 ± 2,96	< 0,0001 [†]
Estatura (cm)	122,5 ± 17,55	141,8 ± 20,25	125,6 ± 12,42	135,27 ± 14,42	< 0,0001 [†]
DP estatura	-2,34 ± 1,49	-1,21 ± 1,39	-3,14 ± 1,28	-3,02 ± 1,17	< 0,001*

[†]Estatisticamente significativo (inicial vs. final dentro de cada grupo). *Estatisticamente significativo (inicial vs. final dentro do grupo DGH).

Foram submetidos ao TTI 46 pacientes, 42 ao teste de clonidina e 31 a ambos os testes. Foram avaliadas sensibilidade, especificidade e acurácia dos testes de estimulação de GH (Tabela 2).

Tabela 2 - Sensibilidade, especificidade e acurácia dos testes de estimulação de GH.

Picos de GH	TTI			Teste da Clonidina		
	Sensib.	Especif.	Acurácia	Sensib.	Especif.	Acurácia
< 3 µg/L	45%	92%	72%	55%	100%	76%
< 5 µg/L	75%	77%	76%	86%	85%	86%
< 7 µg/L	90%	77%	83%	100%	75%	88%
< 10 µg/L	95%	73%	83%	100%	70%	86%

O pico máximo de GH foi menor no grupo DGH em ambos os testes (figura 1), 3,7 vs. 17,2 µg/L no TTI (p < 0,001) e 2,8 vs. 20,2 (p < 0,001) no teste da clonidina. As maiores elevações nos valores de GH ocorreram nos tempos 60/90 minutos para os testes de TTI e clonidina em ambos os grupos. Os valores médios de GH durante os testes de estímulo, em ambos os grupos, estão mostrados na figura 2.

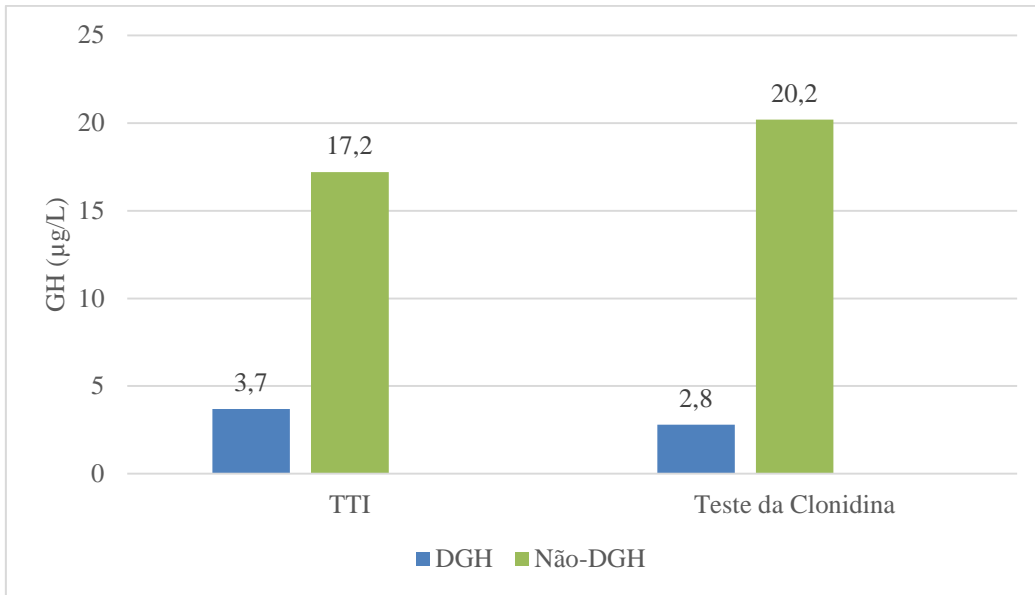


Figura 1 - Pico Máximo (µg/L) de GH nos testes de estímulo

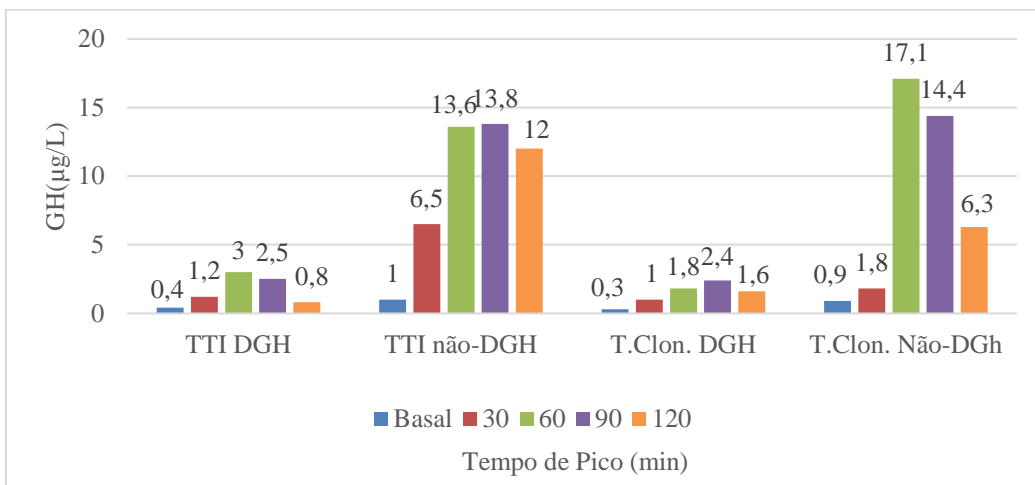


Figura 2 – Valores médios de GH nos testes de estímulo.

DISCUSSÃO

Os dados obtidos sugerem que para o TTI os níveis de corte utilizados para o diagnóstico de DGH devam ser de $< 7\mu\text{g/L}$. Quando o teste de clonidina for utilizado, níveis de corte $< 5\mu\text{g/L}$ parecem ser mais adequados. Adicionalmente, o teste da clonidina se mostrou mais sensível que o TTI em todos os pontos de corte.

O valor de especificidade do ponto de corte $< 7\mu\text{g/L}$ no TTI é igual ao ponto de corte $< 5\mu\text{g/L}$, no entanto é 15% mais sensível, além de mais acurado, o que justifica sua escolha. Já no teste de clonidina, o ponto de corte $< 5\mu\text{g/L}$ apesar de ser menos específico que o nível $< 3\mu\text{g/L}$, apresenta sensibilidade e acurácia superior e, quando comparado ao ponto de corte $< 7\mu\text{g/L}$, apresenta especificidade 10% maior e acurácia semelhante, o que justificam sua escolha, por serem estes os principais parâmetros a serem avaliados em doenças pouco comuns .

Ainda há muitas limitações no diagnóstico de DGH em crianças. Mesmo em centros especializados, 25% das crianças com diagnóstico de DGH tratadas com rhGH tem pico de resposta normal quando testadas no final do crescimento (10). Os valores do *cut-off* do pico do GH ao estímulo variam. Alguns autores advogam que em ensaios laboratoriais mais sensíveis (IFMA, Quimioluminescência) níveis maiores ou iguais a $5\mu\text{g/L}$ já seriam considerados como resposta normal aos testes de estímulo, porém a maioria dos estudos aceita valores a partir de $7\mu\text{g/L}$ ou $10\mu\text{g/L}$ (11). A maior dificuldade na definição do *cut-off* ideal está na sobreposição de resultados que encontramos entre os testes de crianças com DGH e crianças normais, especialmente nas que não tem DGH clássico, sem características fenotípicas ou que iniciam o quadro mais tardiamente, com quadro clínico e laboratorial difícil de distinguir das variantes normais do crescimento.

Em um estudo de Cheng Guo (12) 80 pacientes, sendo 31 diagnosticados clinicamente com DGH foram submetidos aos testes de estímulo ao GH (Teste da Clonidina, TTI e ambos combinados). O pico máximo de GH nos testes da Clonidina e de Tolerância à Insulina foi encontrado nos instantes 60/90 minutos. O tempo encontrado para o pico máximo de GH no nosso trabalho foi semelhante ao encontrado nesse estudo. Quando analisados isoladamente o TTI apresentou, para o ponto de corte $< 10\mu\text{g/L}$, sensibilidade, especificidade e acurácia de 76%, 48% e 63%, respectivamente. Todos os valores encontrados no estudo de Cheng Guo (12) foram menores que os determinados por este trabalho. Ao teste da clonidina, a sensibilidade encontrada foi de 79%, especificidade de 65% e acurácia de 73%. Os encontrados no nosso estudo apresentaram sensibilidade, especificidade e acurácia superiores (100%, 70% e 86%).

Alguns autores, ainda, acreditam que valores de pico de GH após teste de estímulo entre $7\mu\text{g/L}$ e $10\mu\text{g/L}$ seriam considerados subnormais, e estes apresentariam deficiência parcial ou insuficiência de GH. Outros sugerem que níveis menores que $10\mu\text{g/L}$ seriam indicativos de DGH e níveis menores de $5\mu\text{g/L}$ refletiriam deficiência mais severa de GH (13). Crianças com baixa estatura, IGF-1, IGFBP-3 normais e um teste subnormal, deveriam ser submetidas à um segundo teste, se subnormal considerar insuficiência de GH (14).

Quanto às diferenças entre os dois testes utilizados nos nossos trabalhos, poucos estudos os comparam diretamente. Alguns autores consideram como padrão ouro o TTI (15), enquanto outros afirmam que o

teste da clonidina é mais sensível que o TTI (16). Nossos resultados confirmam que o teste da clonidina possui maior sensibilidade que o TTI para o diagnóstico de DGH.

Em estudo de Borges et al. (17), foram comparados três grupos, classificados como estatura normal (n=56), BEI (n=143) e DGH (n=26), sendo todos submetidos ao teste estimulatório de GH por clonidina. As médias de pico máximo de GH encontrada nos grupos foram de 8 µg/L, 9 µg/L e 10 µg/L, respectivamente. Assim como em nosso estudo, o grupo DGH apresentou média de pico máximo de GH significativamente menor que os demais. Nesse trabalho, Borges et al. também identificaram o ponto de corte < 3µg/L como o mais adequado para o diagnóstico de DGH, o que não foi observado em nosso trabalho, visto que apesar de possuir boa especificidade (100%), deixaria de diagnosticar 45% dos pacientes que necessitariam de tratamento com rhGH. Ademais, é proposta a coleta de sangue para o exame em apenas três amostras, a basal e nos instantes 60 e 90 minutos, que assim como em nosso estudo, são os momentos em que ocorrem as maiores concentrações séricas de hormônio de crescimento.

Rhee et al. (18) desenvolveram um estudo em que 120 crianças foram submetidas a dois testes de estímulo, sendo um deles o TTI. Destas, 83 foram classificadas como DGH e 37 como BEI. Assim como em nosso trabalho, o pico médio do grupo DGH sob TTI foi significativamente menor que o grupo não DGH (4.03 vs. 14.71 µg/L). São identificados valores de especificidade e acurácia de 78,4% e 93,6% para o TTI no ponto de corte < 10µg/L. Ambos os valores são superiores aos encontrados em nosso estudo (73% e 83%), no entanto, o padrão-ouro utilizado para comparar as medidas de qualidade dos testes não é bem delineado no trabalho em questão.

Moore (13) estudando 47 crianças com baixa estatura extrema, sendo 5 DGH, avaliou a resposta ao tratamento com GH nos dois grupos e verificou que o aumento sustentado da velocidade de crescimento foi maior nos grupo DGH, porém também foi significativo no grupo não DGH, concluindo que crianças com baixa estatura extrema, a exceção das DGH clássicas, são difíceis de serem classificadas pelos critérios clínicos e bioquímicos atuais e que a maioria das crianças do estudo apresentou resposta positiva ao tratamento com GH.

O principal aspecto que difere o nosso trabalho dos demais é que a maioria dos estudos se baseia nas formas clássicas de DGH, que apresentam alteração radiológica, como agenesia de hipófise e lesões expansivas ou então, são classificados segundo os critérios atuais das *guidelines*, portanto, comparam os testes de estímulo entre si. Como os testes são o alvo do estudo, o nosso critério diagnóstico adotado como padrão-ouro no DGH foi a prova terapêutica. Bakker et al. (7) e Cohen et al. (19) propõem como resposta satisfatória ao tratamento com rhGH, o ganho maior que 0,3DP após um ano de tratamento.

Por se tratar de um tratamento que demanda alto custo financeiro, o Ministério da Saúde Brasileiro instituiu um controle rigoroso para a dispensa de rhGH subsidiado pelo governo. Em 2010, foi reduzido o *cut-off* dos testes de estímulo de 7 para 5µg/L como exigência para obtenção do medicamento (5). No entanto, baseado nos dados deste trabalho levando em consideração o TTI, ao praticar essa redução não haveria ganho em especificidade, porém uma redução importante na acurácia e sensibilidade do teste, deixando de tratar 15% de crianças portadoras de DGH, que possuem uma doença tratável e estigmatizante quando não manejada adequadamente (20). Portanto, faz-se necessário uma revisão dos pontos de corte adotados pelo Ministério da Saúde.

Na amostra do presente estudo, foi observada melhor acurácia com nível de corte de 7 e 10µg/L no TTI, enquanto que no teste da clonidina, os valores foram próximos para os pontos de corte 5, 7 e 10µg/L. Como a especificidade é o parâmetro mais adequado a ser empregado no diagnóstico de doenças incomuns (21), o melhor ponto de corte a ser adotado para o teste da clonidina é o de 5 µg/L e para o TTI, o nível de 7 µg/L.

Um teste com alta especificidade possui um baixo número de resultados falso-positivos, ou seja, uma vez positivo o teste confirma o diagnóstico da patologia. Estes parâmetros são mais importantes que a sensibilidade, pois se trata de uma patologia incomum. Os pacientes que não forem diagnosticados por uma menor sensibilidade do teste ainda poderiam ser acompanhados e reavaliados, podendo receber intervenção terapêutica posteriormente, de acordo com sua evolução clínica.

O uso isolado da sensibilidade ou da especificidade na avaliação de um teste diagnóstico pode ser indicado em algumas condições. O uso isolado da sensibilidade pode ser aplicado no caso de doenças tratáveis, doenças graves que não podem passar despercebidas e naquelas em que resultados falsos não determinam nenhum trauma psicológico, social ou financeiro ao indivíduo. Por sua vez, o uso isolado da especificidade é indicado em doenças com importância clínica, mas que são incuráveis ou de difícil tratamento, naquelas em que resultados errados podem provocar traumas psicológicos, econômicos ou sociais e quando o fato de não saber se possui a doença tem importância sanitária e psicológica. Para a DGH, a aplicabilidade dessa forma de avaliação é questionável, sendo necessário obter o equilíbrio entre essas duas variáveis.

Usar um valor de corte diagnóstico com alta sensibilidade e baixa especificidade/acurácia levaria a um tratamento desnecessário de uma grande parte desses indivíduos, o que não seria deletério do ponto de vista individual, dado a segurança do tratamento. No entanto, poderia acarretar implicações econômicas significativas na saúde pública devido ao alto custo mensal que seria dispensado desnecessariamente.

CONCLUSÃO

A análise dos dados indica que há um ponto de corte nos testes de estímulo ao GH mais fidedigno ao diagnóstico de DGH, quando comparado a outros valores. O pico máximo médio é significativamente menor no grupo DGH, em relação ao não-DGH em ambos os testes. Os instantes em que ocorre a maior concentração de GH após os testes de estímulo são 60 e 90 minutos.

Os dados deste estudo sugerem que para o TTI os níveis de corte utilizados para o diagnóstico de DGH devam ser de $< 7\mu\text{g/L}$. Quando o teste de clonidina for utilizado níveis de corte $< 5\mu\text{g/L}$ parecem ser mais adequados. Adicionalmente, o teste da clonidina se mostrou mais sensível que o TTI em todos os pontos de corte.

REFERÊNCIAS

1. ROSENFELD, R.G. Insulin-like growth factors and the basis of growth. **N Engl J Med** 2003;349: 2184–2186.
2. NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH CLINICAL. Evidence Human growth hormone (somatotropin) for the treatment of growth failure in children (review). 2010. **Technology appraisal guidance** 188.
3. ROGOL, A.D., HAYDEN, G.F. Etiologies and early diagnosis of short stature and growth failure in children and adolescents. **J.Pediatr** vol 164, nº5, 2014.
4. HOECK, H.C. et al 2005. Diagnosis of Growth Hormone (GH) Deficiency in Adults with Hypothalamic-Pituitary Disorders: Comparison of Test Results Using Pyridostigmine Plus GH-Releasing Hormone (GHRH), Clonidine Plus GHRH, and Insulin-Induced Hypoglycemia as GH Secretagogues. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. 85(4), 1467-1472.
5. BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Deficiência de hormônio do crescimento – hipopituitarismo. **Portaria SAS/MS nº 110, de 10 de março de 2010**. Republicada em 12.05.10.
6. OBARA-MOSZYNSKA, M., NIEDZIELA, M. The usefulness of the GHRH stimulation test in the diagnostics of growth hormone deficiency in children. **EndokrynolPol**. 2015; 66;0423–104.

7. BAKKER, B. et al. Height Velocity Targets from the National Cooperative Growth Study for First-Year Growth Hormone Responses in Short Children. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 93, n. 2, p. 352–357, fev. 2008.
8. RANKE, M. B. Treatment of children and adolescents with idiopathic short stature. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 9, n. 6, p. 325–334, 23 abr. 2013.
9. 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 1. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, n. 11, p. 3990–3993, nov. 2000.
10. TILLMANN, V. et al. Biochemical Tests in the Diagnosis of Childhood Growth Hormone Deficiency. **J. Clin. Endocrinol. Metab**; 82: 531 - 535.
11. CZEPIELEWSKI, M.A.; DE PAULA, L.P. Avaliação dos Métodos Diagnósticos para Deficiência de GH (DGH) na Infância: IGFs, IGFbPs, Testes de Liberação, Ritmo de GH e Exames de Imagem. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2008; 52/5:734-744.
12. CHENG GUO, M.D.; LI CHEN, M.D. Diagnostic Value of Provocative Test by Insulin Combined with Clonidine for Growth Hormone Deficiency in Children. **Iran J Pediatr** Jun 2013; Vol 23 (No 3), Pp: 315-320.
13. MOORE, W.V. et al. Clinical diagnoses of children with extremely short stature and their response to growth hormone. **J Pediatr**, 1993;122: 687-92.
14. SHALET, S.M., TOOGOOD, A., RAHIM, A., BRENNAN, B.M.D. The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults. **Endocr Rev**. 1998; 19(2): 203-223.
15. RODRIGUES, E.B.N., VIEIRA, J.G.H., MACIEL, R.M.B. Dosagens Hormonais. In: ANRIOLO, A. **Medicina Laboratorial**. Ed. Manole. p.89. 2004.
16. SEICK, D., BOGUSZEWSKI, M.C.S. Testes de Secreção de Hormônio de Crescimento e Suas Implicações no Tratamento da Baixa Estatura. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. 47(4), 303-11. 2003.
17. BORGES, M.F., et al. GH values after stimulation with clonidine. **Clinics** 2016;71(4):226-231.

18. RHEE, N.; OH, K.Y., YANG, E.M.; KIM, C.J. Growth Hormone responses to provocative tests in children with short stature. **Chonnam Med J.** 2015 Apr; 51(1): 33-8.

19. COHEN, P. et al. ISS Consensus workshop participants. Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with Idiopathic Short Stature: A summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the European Society for Paediatric Endocrinology Workshop. **J ClinEndocrinolMetab.**2008 Nov; 93(11):4210-7. Doi: 10.1210/jc.2008-0509. Epub 2008 Sep 9.

20. OSWIECIMSKA , J.M. et al. Quality of life in transition phase in adolescents and young adults with severe and partial growth hormone deficiency. **NeuroEndocrinolLett** 2014; 35(8):676-83.

21. GOULART, B. N. G.; CHIARI, B. M. Testes de rastreamento x testes de diagnóstico: atualidades no contexto da atuação fonoaudiológica. **Pró-Fono Revista de Atualização Científica**, v. 19, n. 2, p. 223-232, 2007.

10 ANEXOS

10.1 ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEP

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Comparação entre o teste de tolerância à insulina e o teste da clonidina no diagnóstico de crianças com baixa estatura por deficiência do Hormônio de Crescimento.

Pesquisador: João Soares Felício

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 52465515.0.0000.0017

Instituição Proponente: Hospital Universitário João de Barros Barreto - UFPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.440.654

Apresentação do Projeto:

Os pacientes submetidos aos testes provocativos de GH no período pré-estabelecido serão abordados por meio de contato telefônico a partir de seu cadastro no hospital e, então, fornecidos as devidas informações e esclarecimentos sobre a pesquisa, seus riscos e benefícios e solicitada a autorização de sua participação por meio do TCLE ou Termo de Assentimento, este para pacientes entre 12 e 18 anos. A pesquisa será realizada por meio da coleta de dados dos prontuários em protocolos próprios.

Seguindo critérios clínicos e laboratoriais, serão selecionados pacientes que foram classificados com DGH e será analisado o efeito terapêutico do tratamento com Hormônio do Crescimento que foi prescrito a eles. Será confirmado o diagnóstico de Deficiência de GH aos pacientes que obtiveram ganho de pelo menos 0.5 DP da altura relatada no início do tratamento. Baseado no número de pacientes com diagnóstico confirmado, serão definidos os valores de sensibilidade, especificidade e acurácia do teste de clonidina e do TTI nos pontos de corte 3, 5, 7 e 10 g/L, bem como o poder de estímulo de cada teste e a comparação entre eles. Será definido também os valores e os instantes em que se observaram os picos máximos de GH em ambos os testes (0, 30, 60, 90 ou 120min.). Este estudo visa comparar a resposta da secreção de GH ao TTI e ao teste da clonidina em crianças e

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487
Bairro: GUAMA CEP: 66.073-000
UF: PA Município: BELEM
Telefone: (91)3201-6754 Fax: (91)3201-6663 E-mail: cephujbb@yahoo.com.br

Página 01 de 05

Olmas Luiza Pinto
31/03/2016

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



Continuação do Parecer: 1.440.654

adolescentes com baixa estatura (altura -2DP para idade e sexo ou -1.5 DP para altura-alvo) atendidas no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB)/Universidade Federal do Pará (UFPA).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Comparar o TTI e o Teste da Clonidina no diagnóstico de crianças com baixa estatura.

Objetivo Secundário:

Estabelecer valores de sensibilidade, especificidade e acurácia para diferentes pontos de corte no TTI e Teste da Clonidina para diagnóstico de DGH;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A pesquisa terá como risco para o sujeito em estudo a possível identificação, divulgação de informações pessoais e conseqüente constrangimento do paciente. Para evitar tal risco e assegurar o sigilo sobre tudo o que se refere à participação do pesquisado, será utilizado apenas o número do prontuário do participante e, além disso, as informações obtidas serão analisadas em conjunto com as de outros pacientes, não sendo divulgada qualquer informação que possa levar a sua identificação. As informações coletadas neste projeto de pesquisa serão mantidas em sigilo e somente os investigadores terão acesso. Além disso, os pacientes poderão, em qualquer momento, optar por desistir de participar da pesquisa. A participação dos indivíduos é voluntária e o consentimento será estabelecido por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) ou Termo de assentimento, no caso de pacientes entre 12 e 18 anos. A não assinatura deste implica apenas na não inclusão do sujeito no estudo e não acarreta nenhum prejuízo ao paciente. Como esta pesquisa é realizada com base na coleta de dados de prontuários, um risco para os pesquisadores consiste no fato de poder haver erro ou omissão nesse material, favorecendo, assim, a possibilidade de não se ter uma total precisão nas informações coletadas. Para evitar tal risco, os prontuários em que forem detectados erros ou ausência de algum dado serão excluídos da pesquisa.

Benefícios:

A pesquisa terá como benefício para os sujeitos o conhecimento da população em estudo, possibilitando o melhor acompanhamento dos mesmos, além de possibilitar a análise do teste provocativo de GH mais eficaz no diagnóstico de deficiência do hormônio de crescimento. A pesquisa contribuirá também para a aquisição e aprimoramento de conhecimento dos

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487
Bairro: GUAMA CEP: 66.073-000
UF: PA Município: BELEM
Telefone: (91)3201-6754 Fax: (91)3201-6663 E-mail: cephujbb@yahoo.com.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



Continuação do Parecer: 1.440.654

pesquisadores a cerca do tema abordado, o qual é de grande relevância para o crescimento profissional. Não haverá nenhum benefício para os investigadores. Além disso, fornecerá material teórico para a comunidade científica, com informações adicionais em relação ao tema em discussão. E ainda, servirá como estímulo para a realização de novos estudos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante e poderá possibilitar a análise dos testes provocativos de GH de maneira mais eficaz no diagnóstico de deficiência do hormônio de crescimento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos apresentados e de acordo com a legislação vigente do Sistema CEP-CONEP/CNS/MS.

Recomendações:

Recomendamos a coordenação que mantenha atualizados todos os documentos pertinentes ao projeto.

Deverá também ser informado ao CEP:

Relatório Semestral;

Relatório Final;

Envio de Relatório de Cancelamento;

Envio de Relatório de Suspensão de projeto;

Comunicação de Término do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Protocolo aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, este Colegiado manifesta-se pela APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa por estar de acordo com a Resolução nº466/2012 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde/MS.

Ainda em atendimento a Res. 466/2012 esclarecemos que a responsabilidade do pesquisador é indelegável, indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais. Além de apresentar o protocolo devidamente instruído ao CEP ou à CONEP, aguardando a decisão de aprovação ética, antes de iniciar a pesquisa; de elaborar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

Cabe ainda ao pesquisador:

1- desenvolver o projeto conforme delineado;

2- Em acordo com a Resolução 466/12 CNS, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa,

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487
Bairro: GUAMA CEP: 66.073-000
UF: PA Município: BELEM
Telefone: (91)3201-6754 Fax: (91)3201-6663 E-mail: cephujbb@yahoo.com.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



Continuação do Parecer: 1.440.654

contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa. Os relatórios deverão ser inseridos no Sistema Plataforma Brasil pelo ícone "Inserir Notificação" disponível para projetos aprovados.

- 3- apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP, a qualquer momento;
- 4- manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 05 anos após o término da pesquisa;
- 5- encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto;
- 6- justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_593017.pdf	15/10/2015 16:02:43		Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_clon_itt.pdf	15/10/2015 16:01:27	Antonio Bentes de Figueiredo Junior	Aceito
Orçamento	orcamento.docx	15/10/2015 15:33:39	Ana Luiza Prieto Farinassi	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_detalhado.docx	15/10/2015 15:32:26	Ana Luiza Prieto Farinassi	Aceito
Cronograma	cronograma.docx	15/10/2015 15:29:12	Ana Luiza Prieto Farinassi	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	todos_termos.docx	17/09/2015 23:09:46	Antonio Bentes de Figueiredo Junior	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487
Bairro: GUAMA CEP: 66.073-000
UF: PA Município: BELEM
Telefone: (91)3201-6754 Fax: (91)3201-6663 E-mail: cephujbb@yahoo.com.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



Continuação do Parecer: 1.440.654

BELEM, 07 de Março de 2016


Assinado por:

Cleonardo Augusto da Silva
(Coordenador)

Kátia Regina Silva da Fonseca
Coordenador Adjunto do
CEP / HUIBB-UFPA

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487
Bairro: GUAMA CEP: 66.073-000
UF: PA Município: BELEM
Telefone: (91)3201-6754 Fax: (91)3201-6663 E-mail: cepujbb@yahoo.com.br