

Testes de Secreção de Hormônio de Crescimento e Suas Implicações no Tratamento da Baixa Estatura

atualização

RESUMO

A valorização dos testes de secreção de GH no diagnóstico da baixa estatura continua sendo motivo de discussões. A secreção de GH é considerada um *continuum* entre uma secreção normal e anormal. Situações em que a deficiência de GH é severa, como nos defeitos do gene do GH e no craniofaringeoma, cursam com atraso importante do crescimento e ausência total ou quase total de GH nos testes provocativos. Estas situações poderiam servir como padrão para definir a deficiência total de GH. Entretanto, a deficiência parcial ou menos severa de GH também cursa com atraso do crescimento, porém com um grau variável de resposta nos testes provocativos. Somando-se a isto, devemos considerar que muitos fatores estão envolvidos na secreção de GH e no eixo GH-IGFs. A determinação de valores de corte em um teste não fisiológico que indique onde termina o normal e começa a deficiência é enganosa e pode induzir ao erro. Além disso, a falta de normatização dos diferentes testes e ensaios laboratoriais nas diferentes situações clínicas aumenta a dificuldade para decidir sobre o tratamento de uma criança com baixa estatura baseando-se apenas nos resultados dos testes provocativos. As considerações acima não implicam que os testes de secreção de GH são irrelevantes no diagnóstico da baixa estatura, mas que os resultados destes testes não deveriam ser o determinante final de uma decisão clínica. Eles deveriam ser usados como medidas confirmatórias associadas ao quadro clínico e a todo o leque de exames atualmente disponíveis para avaliar a integridade da região hipotálamo-hipofisária e do eixo GH-IGFs. Reduzir o risco de prescrever um tratamento desnecessário para uma criança com função hipofisária normal ao mesmo tempo em que evita-se o atraso ou o não tratamento de uma criança que poderia se beneficiar do uso do GH biossintético devem ser os princípios que norteiam a decisão do especialista. (Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47/4:303-311)

Descritores: GH; Eixo GH-IGF; Déficit de GH; Testes provocativos; Baixa estatura

ABSTRACT

Growth Hormone Provocative Tests and the Implications for the Treatment of Short Stature.

The use of GH provocative tests to diagnose children with short stature continues to be a controversial issue. GH secretion is considered a *continuum* ranging from absent to normal secretion. When GH deficiency is severe, as in GH gene defects and craniopharyngiomas, there is a very important growth failure and absent or minimal GH response to stimulation tests. These situations could be used as standards to define total GH deficiency. However, partial GH deficiency also can show growth failure, but with variability of GH secretion on provocative tests. Moreover, several factors can influence GH secretion and GH-IGF axis. Determination of cutoff values in a non-physiological test to define normality is erroneous and can induce to error. Moreover, the lack of knowledge of normal values for different tests and assays in each clinical situation increases the difficulty to decide the treatment of a child with short

**Daniela Seick
Margaret C.S. Boguszewski**

*Unidade de Endocrinologia
Pediátrica, Departamento de
Pediatria, Hospital de Clínicas,
Universidade Federal do
Paraná, Curitiba, PR.*

*Recebido em 09/05/03
Aceito em 23/05/03*

stature based only on the results of a GH provocative tests. The considerations above do not mean that GH provocative tests are not important for diagnosis of short stature, but that the results of these tests should not be the final determinant of a clinical decision. They should be used in association with the clinical picture and other laboratory methods available to evaluate the hypothalamo-pituitary region and the GH-IGF axis. To reduce the risk of unnecessary treatment of a child with normal pituitary function and, on the other hand, to avoid delay or no-treatment of a child that could benefit with the use of recombinant human GH should be the principles to orient a medical decision. (Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47/4:303-311)

Keywords: GH; GH-IGF axis; GH deficiency; Provocative tests; Short stature

ARELAÇÃO ENTRE O CRESCIMENTO infantil, as concentrações de hormônio de crescimento (GH, *growth hormone*) obtidas durante testes provocativos e a indicação de tratamento da baixa estatura continua sendo motivo de discussões e controvérsias (1-5). Em um estudo piloto realizado na Unidade de Endocrinologia Pediátrica do Departamento de Pediatria da Universidade Federal do Paraná (6), avaliou-se a correlação entre a resposta do GH durante testes provocativos e o crescimento espontâneo em 78 crianças com baixa estatura. Os testes foram realizados como parte do protocolo de investigação de crianças com baixa estatura. As crianças foram classificadas em três grupos de acordo com os picos máximos de GH obtidos durante dois testes provocativos realizados com diferentes estímulos. No Grupo 1 foram incluídas as crianças com dois testes responsivos (“secreção normal de GH”, n = 30); no Grupo 2 as crianças com dois testes não responsivos (“secreção deficiente de GH”, n = 34), e no Grupo 3 as crianças com um teste responsivo e um não responsivo (n = 14). A classificação foi feita utilizando-se critérios considerados clássicos na literatura, sendo definido como teste responsivo aquele em que a concentração máxima de GH foi maior que 10ng/mL no ensaio laboratorial rotineiramente usado pelo laboratório da instituição no momento da investigação.

O crescimento foi avaliado durante um período mínimo de um ano após a realização dos testes, sendo que a velocidade de crescimento foi considerada anormal quando estava abaixo do 25° percentil para a idade e sexo. Das 30 crianças com dois testes responsivos, 19 (63,3%) apresentaram velocidade de crescimento normal enquanto 11 (36,7%) não cresceram adequadamente. Entre as crianças com dois testes não responsivos, 26 (76,5%) apresentaram velocidade de cresci-

mento abaixo do esperado, enquanto 8 (23,5) cresceram dentro do considerado normal para a idade. Já no Grupo 3, com um teste responsivo e outro não, o crescimento foi normal em 57,2 % das crianças.

No estudo em questão, todas as crianças apresentavam baixa estatura. A velocidade de crescimento variou de normal a baixa. Os testes responsivos (“normais”) foram mais freqüentes nas crianças que posteriormente apresentaram velocidade de crescimento normal. Entretanto, algumas crianças, apesar de crescerem dentro do esperado para a idade, apresentaram testes não responsivos. O contrário também foi observado. Os testes não responsivos foram mais freqüentes entre as crianças que posteriormente mantiveram uma baixa velocidade de crescimento. Entretanto, algumas crianças com baixa estatura e velocidade de crescimento abaixo do esperado para a idade apresentaram valores de GH considerados normais nos testes provocativos.

Os dados acima demonstram a dificuldade para determinar a deficiência de GH como causa da baixa estatura e da diminuição da velocidade de crescimento baseando-se apenas nos resultados dos testes provocativos. Some-se a isto o fato da indicação do tratamento com GH sintético depender, na maioria das vezes, das concentrações de GH durante os testes, e tem-se uma situação que pode, no mínimo, estar sujeita a críticas. Reduzir o risco de prescrever um tratamento desnecessário para uma criança com função hipofisária normal e evitar o atraso ou o não tratamento de uma criança que poderia se beneficiar do uso do GH biossintético, devem ser os princípios que norteiam a decisão do especialista.

Em virtude da importância do conhecimento da secreção de GH e fatores de crescimento, dos diferentes testes provocativos usados para avaliar a secreção de GH e dos diferentes métodos laboratoriais utilizados, todos de extrema importância no diagnóstico da baixa estatura, este artigo traz uma revisão sobre estes temas com enfoque nos aspectos mais controversos.

Secreção de GH

O GH é o peptídeo produzido em maior quantidade pela hipófise anterior. A secreção de GH ocorre de forma pulsátil, sendo que os picos de maior amplitude são observados nas fases 3 e 4 do sono profundo. A característica pulsátil é controlada por um mecanismo complexo, envolvendo principalmente duas proteínas hipotalâmicas, o hormônio liberador de GH (GHRH, *growth hormone releasing hormone*), que age estimulando a secreção, e a somatostatina, de ação inibitória. O GHRH e a somatostatina, por sua vez, são influenciados por vários fatores, como atividade física,

nutrição, sono, estresse, esteróides sexuais e hormônios tireoidianos (Revisado em Preece MA, 1986).

O GH secretado pela hipófise representa uma mistura heterogênea de moléculas. A forma principal contém 191 aminoácidos e peso molecular de 22kDa. O GH de 22kDa é considerado o padrão segundo o qual as outras formas são comparadas quanto à estrutura química e atividade biológica. A segunda forma mais abundante, correspondendo a 5-10% do GH hipofisário, é uma variante com peso molecular de 20kDa e 176 aminoácidos. Além destes dois peptídeos principais, monômeros (5kDa, 17kDa, 24kDa e 27kDa), oligômeros e eventuais fragmentos que recirculam após o metabolismo renal do hormônio podem contribuir para a mistura de moléculas de GH na circulação. Na circulação, o GH se liga principalmente a uma proteína de alta afinidade (GHBP, *growth hormone binding protein*), idêntica ao domínio extracelular do receptor do GH. A ação do GH na célula tem início com a dimerização de dois receptores do GH. Na promoção do crescimento, a ação do GH se faz tanto diretamente através de ligação aos seus receptores na placa de crescimento, quanto indiretamente, através do estímulo da produção hepática e tecidual do fator de crescimento insulina símile-1 (IGF-1, *insulin-like growth factor 1*). O IGF-1 tem ações autócrinas, parácrinas e endócrinas, agindo também no mecanismo de retro-alimentação negativa sobre a hipófise. A ação do IGF-1 é modulada por proteínas ligadoras, dentre as quais a mais abundante é a IGFBP-3 (*IGF binding protein-3*) (Revisado em Boguszewski CL, 2001).

Origem dos testes de secreção de GH

O desenvolvimento do radioimunoensaio (RIA) para dosagem de GH no início da década de 60 significou um grande avanço na endocrinologia. Foi possível determinar a característica pulsátil da secreção de GH e também demonstrar que as concentrações séricas de GH observadas entre os pulsos são normalmente muito baixas, muitas vezes abaixo dos limites de detecção da maioria dos ensaios laboratoriais convencionais (< 0,2ng/mL). Com estas observações, ficou evidente que uma dosagem sérica ao acaso de GH não seria útil no diagnóstico da deficiência de GH. Além disso, nesta época, o tratamento do nanismo hipofisário era feito com hormônio extraído de hipófises humanas. Como a disponibilidade da medicação era muito pequena, optou-se por métodos laboratoriais que detectassem os casos mais severos de deficiência de GH que se beneficiariam do suprimento limitado deste hormônio. Alguns procedimentos foram criados como triagem para deficiência de GH, entre eles a sobrecar-

ga oral de glicose, o uso de estrogênio oral, a dosagem de GH durante o sono profundo e após exercício. Concentrações séricas de GH maiores do que 5ng/mL em um destes procedimentos definia uma secreção normal de GH e o paciente não era submetido a testes provocativos ou tratamento com GH humano. Quando a suspeita clínica e os testes de triagem sugeriam deficiência de GH, o paciente era submetido aos testes provocativos. O primeiro a ser desenvolvido foi o da hipoglicemia insulínica, onde doses de 0,05 a 0,1UI/kg eram utilizadas. Testes como da arginina, glucagon, L-Dopa, entre outros, foram desenvolvidos posteriormente. Como consequência dos resultados discordantes com diferentes estímulos no mesmo paciente, foi estabelecido que a confirmação diagnóstica somente aconteceria nos pacientes com dois testes provocativos não responsivos (< 5ng/mL). O significado fisiológico destes testes era motivo de debates (Revisado em Frasier SD, 1974).

Testes provocativos – situação atual

Os testes provocativos realizados atualmente para o diagnóstico da deficiência de GH são basicamente os mesmos de 40 anos atrás. Mudaram os ensaios laboratoriais para dosagem de GH e aumentou o leque de exames complementares disponíveis (IGF-1, IGFBP-3, GHBP, ressonância nuclear magnética, genética molecular etc.). Além disso, aumentou de forma ilimitada a disponibilidade de GH para tratamento da baixa estatura, agora produzido através de tecnologia de DNA recombinante.

Atualmente, dentre os testes mais comumente realizados, podemos citar o da clonidina, hipoglicemia insulínica, arginina, glucagon e GHRH. Porém, revisando a literatura, é possível verificar que pelo menos 34 testes provocativos foram desenvolvidos e 189 diferentes combinações de testes já foram descritas. Por razões éticas, a maioria dos estudos disponíveis foi realizada em crianças com baixa estatura. São poucos os estudos mostrando valores de referência em crianças normais.

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

como mais sensível que o da hipoglicemia insulínica. Já o teste da arginina estimula a secreção de GH, diminuindo o tônus da somatostatina e também estimulando receptores α -adrenérgicos com posterior liberação de GHRH. A precisão do teste da arginina varia de 86% (nível de corte de 3ng/ml) a 75% (nível de corte de 10ng/ml). Quando combinado ao teste da hipoglicemia insulínica, a precisão desta combinação para diagnosticar a deficiência de GH usando um nível de corte de 10ng/ml é de 100%. Menos freqüentemente usado, o teste do glucagon geralmente é reservado para crianças de baixa idade, uma vez que apresenta menos riscos e é mais tolerado. O glucagon estimula a secreção de GH através da hipoglicemia rebote, que se segue ao estado de hiperglicemia inicial. O tempo de aparecimento do pico de GH depende da via de aplicação do glucagon. Já o teste do GHRH apresenta alta especificidade (95% com nível de corte de 7-10ng/ml), porém sensibilidade de apenas 30%. É utilizado principalmente para diferenciar a deficiência de GH de origem hipofisária da hipotalâmica (4).

Em muitos estudos, os resultados obtidos durante testes provocativos não apresentam correlação com a secreção espontânea de GH avaliada durante 24 horas (10,11). A reprodutibilidade dos testes provocativos também foi questionada (12).

A secreção de GH pode ser considerada um *continuum* entre uma secreção normal e anormal. A determinação de um valor de corte que determine onde termina o normal e começa a deficiência é enganosa e pode induzir ao erro. Quando a deficiência de GH é severa, o diagnóstico fica evidente tanto pelos dados de história e exame físico como pela ausência de resposta do GH durante os testes provocativos. Entretanto, na deficiência menos severa (insuficiência), além dos achados clínicos serem menos evidentes, o valor de GH pode se mesclar entre o normal e o anormal (figura 1). Na literatura, historicamente os valores de corte gradualmente aumentaram de 5ng/mL (14) para 7ng/mL (9) e, mais recentemente, 10ng/mL (2) em testes usando anticorpos policlonais. Em parte, este aumento ocorreu devido à sobreposição dos valores de GH entre as crianças consideradas deficientes e aquelas com crescimento normal. Além disso, a mudança do tratamento anteriormente feito com GH proveniente de hipófises de cadáveres para tratamento com GH sintético permitiu que se tratassem casos menos severos de deficiência de GH, mas que também cursam com baixa estatura, aumentando o valor de corte.

Como citado anteriormente, os estudos que determinaram a precisão da maioria dos testes para diagnosticar a deficiência de GH foram realizados em

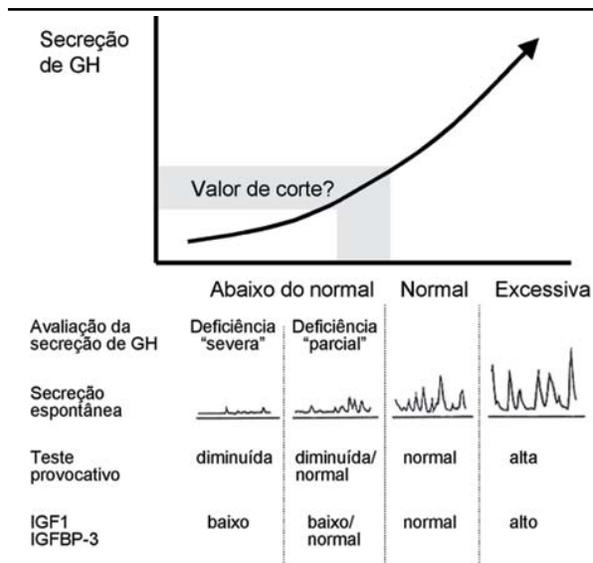


Figura 1: Variação da secreção de GH da deficiência severa à produção excessiva e respostas esperadas nas diferentes formas de avaliar a secreção de GH (Adaptado de Albertsson-Wikland K and Rosberg, 1996).

crianças com baixa estatura e velocidade de crescimento na maioria das vezes abaixo do esperado para a idade. Independente das diferentes respostas do GH durante os testes provocativos e do diagnóstico feito para cada paciente, o quadro clínico da maioria das crianças era semelhante. Apesar dos estudos estarem avaliando a precisão dos testes, muitos levaram em consideração apenas a concentração de GH, não o crescimento das crianças, para dar o diagnóstico e determinar se os testes eram precisos ou não. Assim, se as concentrações de GH ficavam abaixo de um nível de corte pré-estabelecido, o teste era considerado positivo e a criança deficiente de GH. Na situação oposta, mesmo com baixa estatura e quadro clínico semelhante, porém com níveis de GH acima do nível de corte, a criança era considerada não deficiente. Na maioria das vezes não é descrito o crescimento posterior destas crianças, demonstrando se as consideradas deficientes não cresceram e se as com "secreção normal" cresceram e ficaram com altura adequada para o seu potencial genético. Fica a dúvida se os testes eram realmente precisos para determinar quem iria crescer adequadamente.

Recentemente, Bell e Dana (15) avaliaram a resposta ao tratamento com GH sintético em 24843 crianças com baixa estatura registradas no banco de dados do *National Cooperative Growth Study*, Estados Unidos. Apesar das características clínicas serem semelhantes (baixa estatura, baixa velocidade de crescimento, previsão de estatura final abaixo do alvo familiar), os pacientes foram classificados em deficientes de GH

(57%) ou normais (30%) com base na resposta menor do que $10\mu\text{g/L}$ nos testes provocativos. Todos receberam tratamento com GH recombinante. A resposta ao tratamento foi semelhante nos dois grupos. Apenas um pequeno grupo de pacientes ($n = 187$) com velocidade de crescimento normal pré-tratamento apresentou um aumento da velocidade de crescimento no primeiro ano de tratamento que não se manteve no ano seguinte. Os autores sugerem que crianças com velocidade de crescimento normal pré-tratamento não se beneficiarão do mesmo, enquanto consideram os testes provocativos inadequados para o diagnóstico de deficiência de GH e para prever quais crianças responderão melhor ao tratamento.

Métodos laboratoriais para dosagem de GH

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

Os métodos utilizados de rotina para dosagem de GH são os imunoenaios, que têm como característica principal utilizar anticorpos produzidos contra o hormônio que se pretende quantificar. O mecanismo básico dos imunoenaios é a reação entre um antígeno, o hormônio a ser medido, e um anticorpo capaz de se ligar a este antígeno. Para tornar o complexo antígeno-anticorpo mensurável, um marcador é adicionado para produzir o sinal para leitura do resultado. De acordo com o tipo de reação e se o antígeno ou o anticorpo é ligado ao marcador, o imunoenamo pode ser classificado como competitivo ou imunométrico ("ensaio sanduíche"). Dentre os competitivos, o RIA, primeiro a ser desenvolvido, usa como marcador um isótopo radioativo, o ^{125}I ou ^{131}I . Dentre os imunométricos, o Radioimunométrico (IRMA) também utiliza anticorpos marcados com isótopos radioativos, porém é aproximadamente 10 vezes mais sensível que o RIA. Outro ensamo imunométrico, a Quimioimunoluminescência (ICMA), utiliza um reagente químico como marcador, geralmente o acridinium, tendo as vantagens de evitar a radiação e de ser mais rapidamente realizado. A sensibilidade é semelhante à do IRMA. Outros ensaios imunométricos usam como marcadores enzimas, látex, substâncias fluorescentes (IFMAs).

Quanto aos anticorpos utilizados nos ensaios, podem ser mono ou policlonais. Os anticorpos policlonais têm uma capacidade de ligação maior, porém

são menos homogêneos e menos específicos que os monoclonais. Ensaios com anticorpos policlonais resultam em valores superiores aos obtidos nos ensaios monoclonais, uma vez que os anticorpos policlonais reconhecem uma gama de antígenos maior do que os anticorpos monoclonais. Estes, por sua vez, reconhecem epítomos específicos da molécula de GH. A presença das diferentes isoformas de GH circulantes também favorece resultados superiores nos ensaios policlonais. A maioria dos RIA utilizam anticorpos policlonais por ser um tipo de ensamo que exige maior afinidade dos anticorpos. Já os ensaios imunométricos geralmente utilizam anticorpos monoclonais.

Outro fator que influencia de forma importante os resultados é o *standard* utilizado para traçar a curva padrão do ensamo, contra a qual serão comparadas as concentrações das amostras que estão sendo analisadas. Não existe uma padronização internacional sobre quais *standards* devem ser usados, nem a origem dos mesmos é controlada. Existem apenas referências contra as quais eles devem ser calibrados. Assim, a comparação de dosagens de GH obtidas em diferentes laboratórios usando diferentes curvas-padrão fica comprometida. Fazendo uma analogia, é como medir a altura de alguém utilizando diferentes unidades métricas e depois tentar comparar as medidas. Ainda, o *standard* pode ser extraído de hipófises ou recombinante. Nos primeiros ensaios, os *standards* eram derivados de hipófises e calibrados mais comumente contra a referência IRP 66/217 (*International Reference Preparation*) do *National Institute for Biological Standards and Control*, Holly Hill, Reino Unido, e a referência HS2243 E, do *National Hormone and Pituitary Program*, Bethesda, Estados Unidos. A potência biológica destes *standards* era de aproximadamente $1\text{mg} = 2\text{UI}$ ($1\text{ng/mL} = 2\text{mU/L}$). Mais recente, também derivado de hipófise, o *standard* calibrado contra a IRP 80/505 tem uma potência biológica de $1\text{mg} = 2.6\text{UI}$ e os resultados são geralmente expressos em mU/L . Com o desenvolvimento de GH recombinante, foi criado o *standard* biossintético WHO 88/624 ($1\text{mg} = 3.0\text{UI}$), quando foi recomendado que os resultados das dosagens de GH fossem expressos em $\mu\text{g/L}$ ($1\text{ng/mL} = 1\mu\text{g/L} = 3\text{mU/L}$) (4,5,16). Ensaios utilizando *standard* recombinante comumente resultam em valores de GH sérico mais baixos que os ensaios com *standards* derivados de hipófises (17).

Quanto à sensibilidade dos métodos laboratoriais e à interpretação dos testes provocativos, um ensamo será mais sensível quanto menor o valor acima de zero que ele pode detectar. No caso dos testes provocativos, não se está avaliando a menor concentração e

sim o pico de secreção de GH após determinado estímulo. Desta forma, o conhecimento do tipo de anticorpo, se mono ou policlonal, e o *standard* utilizado serão mais importantes na interpretação do teste do que a sensibilidade do método.

Como visto acima, o conhecimento do método utilizado pelo laboratório para dosagem de GH é fundamental para a interpretação do resultado obtido. Em um estudo onde as mesmas amostras de soro foram avaliadas em 4 laboratórios utilizando 6 imunoenaios diferentes, houve uma boa concordância entre os valores considerados normais e anormais, porém os níveis de corte de cada laboratório diferiam de forma acentuada (18). Outro estudo, comparando concentrações de GH dosadas por 5 tipos de IRMA de um mesmo fornecedor (policlonal IRP 66/217, policlonal IRP 80/505, policlonal WHO 88/624, monoclonal IRP 66/217 e monoclonal IRP 80/505) e 2 tipos de ensaios fluorimétricos (monoclonal IRP 80/505 e monoclonal WHO 88/624), demonstrou que as concentrações de GH foram 40% mais baixas com o IRMA monoclonal IRP 80/505 e 20% mais baixas com o fluorimétricos IRP 80/505, e que os fatores de conversão de um método para outro não eram os mesmos indicados pelos fornecedores (16). Assim, a análise da concentração de GH, especialmente considerando um valor de corte específico, só deveria ser feita com o conhecimento do ensaio comercial e *standard* utilizados.

Fatores que podem interferir nos resultados dos testes

Idade e desenvolvimento puberal

A secreção de GH nas 24 horas é influenciada pela idade e desenvolvimento puberal. A secreção é maior no período final da puberdade, entre as idades de 15 e 19 anos, iniciando um declínio após os 20 anos de idade (19). A secreção de GH é particularmente baixa no período pré-puberal, não havendo diferenças importantes na secreção entre meninos e meninas. Com a puberdade ocorre um aumento da secreção, sendo este aumento mais precoce e mais pronunciado nas meninas (20). A secreção mais baixa no período pré-puberal em ambos os sexos e também no início imediato da puberdade nos meninos dificulta o diagnóstico diferencial entre o retardo constitucional do crescimento e da puberdade (RCCP) da deficiência de GH. Jovens com RCCP geralmente apresentam uma secreção diminuída de GH, que pode persistir até o início da puberdade, porém com normalização dos níveis hormonais com a progressão da mesma. Desta forma, foi sugerido que a sensibilização prévia com

hormônios sexuais (*priming*) poderia garantir uma resposta normal durante os testes provocativos em crianças pré-púberes (21). O uso de esteróides sexuais alguns dias antes do teste provocativo poderia distinguir as crianças com RCCP daquelas com deficiência de GH (21-23). O esperado é que a sensibilização prévia com esteróides sexuais não aumente a secreção de GH naqueles com deficiência severa de GH, enquanto estimula uma resposta pronunciada naqueles com RCCP. Entretanto, fora dos extremos da deficiência severa de GH e do RCCP, a sensibilização prévia com esteróides sexuais pode não ser suficiente para estabelecer o diagnóstico diferencial entre a insuficiência parcial de GH e alguns casos de RCCP (24). Além disso, são poucos os estudos disponíveis demonstrando a resposta aos testes provocativos em crianças normais de diferentes idades e estágios puberais. Conseqüentemente, não existe um valor de corte definido para cada fase da puberdade e para testes com uso prévio de esteróides sexuais. A concentração de GH com uso de esteróides sexuais deveria reproduzir a maior secreção de GH que ocorre espontaneamente durante a puberdade.

Nutrição

A secreção de GH está diminuída em crianças e adultos obesos e a resposta aos testes provocativos também é prejudicada. Uma explicação para a menor secreção de GH nestes pacientes seria o *feedback* negativo exercido pela insulina e provavelmente pela leptina sobre a secreção de GH (25). Especula-se que a leptina sérica poderia diminuir a resposta dos somatotrófos ao GHRH. Por outro lado, na desnutrição crônica, a secreção de GH está aumentada, porém com níveis baixos de IGF1 (26).

Glicocorticóides

Crianças em uso crônico de glicocorticóides podem sofrer diminuição do crescimento com resposta anormal do GH durante os testes provocativos. A patogênese da supressão do crescimento e da secreção do GH pelos glicocorticóides é multifatorial, incluindo a supressão da pulsatilidade do GH através do aumento do tônus da somatostatina, diminuição da expressão do receptor do GH e diminuição da bioatividade do IGF1 (27).

Quem testar?

A indicação bem orientada para a realização dos testes provocativos facilitará a interpretação dos resultados obtidos. Testes realizados sem uma indicação precisa, além de submeter o paciente a um risco desnecessário,

poderão ter resultados diversos que dificultarão a interpretação. A indicação deve ser baseada principalmente em critérios auxológicos e observação da velocidade de crescimento. Crianças com baixa estatura e velocidade de crescimento diminuída e que já tiveram outras causas de baixa estatura excluídas deverão ser avaliadas. Sinais e sintomas associados como hipoglicemia, icterícia neonatal, microfalus, criptorquidia, alterações de linha média, poliúria, entre outros, sugestivos de outras deficiências hipofisárias, também sugerem investigação da secreção de GH. A desaceleração do crescimento associada a sinais ou sintomas sugestivos de lesão em sistema nervoso central, como tumor ou história de irradiação, é motivo de investigação mesmo em crianças sem baixa estatura evidente. Finalmente, crianças portadoras de síndromes genéticas que passam a crescer menos do que o esperado para a síndrome também devem ser investigadas.

Pesquisas sobre ensaios para dosagem de GH entre endocrinologistas

Com o objetivo de avaliar o conhecimento dos ensaios para dosagem de GH entre especialistas, foi realizada uma pesquisa entre endocrinologistas na Europa. 63% deles responderam que sabiam qual o método usado pelo laboratório. Entretanto, aproximadamente 50% deles não sabiam o *standard* utilizado. Entre os que sabiam o *standard* utilizado, 40% usava o IRP 80/505, onde a potência é de $1\text{mg} = 2.6\text{UI}$. Mesmo assim, a conversão mais comumente feita entre os que sabiam o *standard* utilizado era a de $1\text{mg} = 3.0\text{UI}$ (5). Entretanto, independentemente de saber o ensaio utilizado e o fator de conversão, a maioria dos endocrinologistas utilizava os níveis de corte de 10ng/mL ou 20mU/L , baseando-se apenas em tradição e não no conhecimento do ensaio.

Pesquisa semelhante foi realizada entre os participantes do V Congresso Brasileiro Pediátrico de Endocrinologia e Metabologia em Recife, abril de 2003. Cento e trinta e quatro participantes responderam ao questionário, sendo que 114 eram endocrinologistas, 71 com especialização em endocrinologia pediátrica. A grande maioria (93%) utiliza dois testes provocativos para diagnosticar deficiência de GH, sendo que o teste da clonidina (92%) e o da hipoglicemia insulínica (84,8%) foram os mais citados. Também foi citada a dosagem de GH após exercício (13,6%) e o teste do glucagon (8,8%). Quanto ao nível de corte para confirmar a deficiência de GH, 36,4% dos participantes responderam que usam o valor de corte de 10ng/mL , 30% o valor de 7ng/mL e 18% o valor de 5ng/mL . Aproximadamente 8% respondeu que usa

7 ou 10ng/mL , 5 ou 7ng/mL e 5 ou 10ng/mL , dependendo se o ensaio utiliza anticorpos mono ou policlonais, se a criança estava ou não em puberdade ou se o diagnóstico era de deficiência total ou parcial. 12% responderam que não usam um valor de corte para confirmar a deficiência, enquanto 3,4% usam o valor de corte de 3ng/mL . Entre os médicos com especialização em endocrinologia pediátrica que referiram apenas um valor de corte, praticamente metade usa o valor de 10ng/mL e metade usa valores menores do que 7ng/mL . Já entre os endocrinologistas gerais, 63% usam valores de corte de 7ng/mL ou menos contra 26% que usam valor de corte de 10ng/mL . Os demais referiram diferentes valores de corte dependendo do ensaio laboratorial e do estágio da puberdade. Quanto aos ensaios utilizados, 71% disseram conhecer o ensaio utilizado, sendo que 45% referiram usar o RIA e 55% um ensaio imunométrico. A maioria não soube especificar qual ensaio imunométrico era utilizado, se IRMA, ICMA ou outro. Quanto aos anticorpos, 16% do total dos participantes referiram ser monoclonal. Apenas 4 sabiam o *standard* utilizado. Apesar do *standard* não ser conhecido pela maioria, 34% citaram fatores de conversão de ng/mL para mU/L , sendo o fator de conversão ligado ao *standard* WHO 88/624 o mais citado ($1\text{ng/mL} = 3\text{mU/L}$).

Do exposto acima, verificamos que a maioria dos especialistas usa os testes provocativos para confirmar ou não a deficiência de GH em crianças. Diferentes valores de corte são utilizados. Alguns citam a puberdade e o tipo de ensaio utilizado como fatores que influenciam o resultado do teste. Entretanto, a maioria não conhece ou não sabe citar o tipo de ensaio utilizado. Baseando-se apenas nos resultados dos testes, muitas crianças consideradas deficientes de GH e tratadas por alguns não seriam tratadas por outros. Esta pesquisa, apesar de abranger uma pequena parcela dos endocrinologistas do Brasil, mostra a dificuldade para fazer um diagnóstico baseando-se apenas em valores de corte de um exame não conhecido totalmente pela maioria. Além disso, mostra a necessidade de um esclarecimento maior dos especialistas quanto aos diferentes métodos utilizados para dosagem de GH.

Em outra pesquisa sobre o tema realizada nos Estados Unidos, 251 endocrinologistas pediátricos responderam sobre suas práticas quanto ao diagnóstico da baixa estatura e decisão sobre o tratamento com GH sintético (28). 80% dos participantes afirmaram que realizam pelo menos dois testes provocativos na avaliação de uma criança com baixa estatura, 73% usam um valor de corte de 10ng/mL , 24% um valor de corte menor do que 8ng/mL , e apenas 6% indicam a sensibi-

lização prévia com esteróides sexuais. Quanto ao tipo de ensaio, 37% não sabia citar qual era utilizado. A despeito das respostas acima, 82% dos participantes responderam que indicam o tratamento com GH sintético independentemente dos resultados dos testes provocativos, valorizando principalmente a velocidade de crescimento. A conduta apontada nesta pesquisa vai de encontro com a decisão tomada desde 1988 por médicos especialistas na Austrália, onde a indicação para tratamento da baixa estatura com GH sintético baseia-se apenas em critérios auxológicos, não havendo necessidade de realização de testes provocativos (29).

Considerações finais

Até 1985, a escassez de hormônio de crescimento derivado de hipófises humanas permitia que apenas casos extremos de baixa estatura com deficiência severa de GH fossem tratados. Para permitir o diagnóstico e orientar a distribuição da medicação para aqueles que mais se beneficiariam dela, foram criados os testes provocativos para dosagem de GH e estabelecidos valores de corte que estabelecessem a deficiência severa de GH. Hoje, o suprimento ilimitado de GH sintético permite o tratamento da baixa estatura em crianças com deficiência parcial de GH e também naquelas não deficientes. A deficiência de GH propriamente dita deixou de ser a razão maior da indicação do tratamento, vide as indicações de tratamento já aprovadas na Síndrome de Turner e na insuficiência renal crônica, e em fase de aprovação na baixa estatura conseqüente ao retardo de crescimento intrauterino. A indicação em muitos centros passou a ser a baixa estatura e os problemas dela advindos. Entretanto, considerações sobre efeitos colaterais ainda não conhecidos, o alto custo da medicação e considerações filosóficas restringem a indicação do tratamento aos mais deficientes. Dentro deste painel, os testes provocativos, apesar das suas limitações, continuam sendo usados como critério decisivo para a indicação do tratamento com GH sintético. A definição do valor de corte, na maioria das vezes, reflete a filosofia dos médicos responsáveis pelo tratamento, não existindo um consenso nacional ou internacional sobre o assunto. Por todo o exposto acima, consideramos os testes de secreção de GH importantes no diagnóstico da baixa estatura, mas questionamos o seu uso como determinante final de uma decisão clínica. Diferente de outras situações tradicionais em endocrinologia, onde apenas o hormônio deficiente deve ser repostado, a indicação do tratamento com GH pode acontecer mesmo em não deficientes. A somatória dos achados clínicos, psicológicos, laboratoriais, radiológicos e evolutivos do

paciente deveria nortear o diagnóstico e a indicação de tratamento em uma criança que, mesmo sem a chamada deficiência clássica de GH, não está crescendo bem.

REFERÊNCIAS

1. Rosenfeld RG, Albertsson-Wikland K, Cassorla F, Frasier SD, Hasegawa Y, Hintz RL, et al. Diagnostic controversy: the diagnosis of childhood growth hormone deficiency revisited. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1532-40.
2. Guidelines for the use of growth hormone in children with short stature: a report of the Drug and Therapeutic Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. *J Pediatr* 1995;127:857-67.
3. Saggese G, Ranke MB, Saenger P, Rosenfeld RG, Tanaka T, Chaussain JL, et al. Diagnosis and treatment of growth hormone deficiency in children and adolescents: towards a consensus. *Horm Res* 1998;50:320-40.
4. Sizonenko PC, Clayton PE, Cohen P, Hintz RL, Tanaka T, Laron Z. Diagnosis and management of growth hormone deficiency in childhood and adolescence. Part 1: diagnosis of growth hormone deficiency. *Growth Hormone & IGF Research* 2001;11:137-65.
5. Jull A, Bernasconi S, Clayton PE, Kiess K, Schrama SD. European audit of current practice in diagnosis and treatment of childhood growth hormone deficiency. *Horm Res* 2002;58:233-41.
6. Kohara SK, De Lacerda L, Sandrini R. Correlation between growth and growth hormone provocative tests of patients with short stature. *Anais da IV Reunião Anual da Sociedade Latinoamericana de Endocrinologia Pediátrica*, Recife, Brasil, Novembro de 1990.
7. Preece MA. Prepubertal and pubertal endocrinology. In: *Human Growth. A comprehensive treatise*. Falkner F, Tanner JM, eds. Plenum Press, New York 2, 1986, 211-24.
8. Boguszewski CL. Genética molecular da eixo GH-IGF1. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2001;45/1:5-14.
9. Frasier SD. A review of growth hormone stimulation tests in children. *Pediatrics* 1974;53/6:929-37.
10. Bercu BB, Shulman D, Root AW, Spiliotis BE. Growth hormone (GH) provocative testing frequently does not reflect endogenous GH secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;63:709-16.
11. Rochiccioli P, Pienkowski C, Tauber M-T, Uboldi F, Enjaume C. Association of pharmacological tests and study of 24-hour growth hormone secretion in the investigation of growth retardation in children: analysis of 257 cases. *Horm Res* 1991;35:70-5.
12. Zadik Z, Chalew SA, Gilula Z, Kowarski AA. Reproducibility of growth hormone testing procedures: a comparison between 24-hour integrated concentration and pharmacological stimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:1127-30.
13. Albertsson-Wikland K, Rosberg S. Methods of evaluating spontaneous growth hormone secretion. In: *Diagnostics of endocrine function in children and adolescents*. Ranke MB, ed. Edition J & J, Heidelberg, Leipzig, 1996;149-75.

14. Kaplan SL, Abrams CA, Bell JJ, Conte FA, Grumbach MM. Growth and growth hormone. I. Changes in serum level of growth hormone following hypoglycemia in 134 children with growth retardation. **Pediatr Res** 1968;243-63.
15. Bell JJ, Dana K. Lack of correlation between growth hormone provocative test results and subsequent growth rates during growth hormone therapy. **Pediatrics** 1998;102:518-20.
16. Jansson C, Boguszewski CL, Rosberg S, Carlsson L, Albertsson-Wikland K. Growth hormone (GH) assays: influence of standard preparations, GH isoforms, assay characteristics, and GH-binding protein. **Clin Chem** 1997;43:950-6.
17. Strasburger C. Use of an immunofunctional assay in GH stimulation testing. **International Growth Monitor** 2001;11(3):10-2.
18. Andersson AM, Orskov H, Ranke MB, Shalet SM, Skakkebaek NE. Interpretation of GH provocative tests: comparison of cut-off values in four European laboratories. **Eur J Endocrinol** 1995;132:340-3.
19. Zadik Z, Chalew SA, McCarter Jr RJ, Meistas M, Kowarski AA. The influence of age on the 24-hour integrated concentration of growth hormone in normal individuals. **J Clin Endocrinol Metab** 1985;60:513-6.
20. Albertsson-Wikland K, Rosberg S, Karlberg J, Groth T. Analysis of 24-hour growth hormone profiles in healthy boys and girls of normal stature: relation to puberty. **J Clin Endocrinol Metab** 1994;78:1195-201.
21. Marin G, Domené HM, Barnes KM, Blackwell BJ, Cassola FG, Cutler GB Jr. The effect of estrogen priming on puberty on the growth hormone response to standardized treadmill exercise and arginine-insulin in normal boys and girls. **J Clin Endocrinol Metab** 1994;79:537-41.
22. Deller JJ, Boulis MW, Harriss WE, Hutsell TC, Garcia JF, Linfoot JA. Growth hormone response patterns to sex hormone administration in growth retardation. **Am J Med Sci** 1970;259:292-6.
23. Moll G, Rosenfield R, Fang V. Administration of low-dose estrogen rapidly and directly stimulates growth hormone production. **Am J Dis Child** 1986;140:124-7.
24. Shalet SM, Toogood A, Rahim A, Brennan BMD. The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults. **Endoc Rev** 1998;19(2):203-23.
25. Coutant R, Lahlou N, Bouvattier C, Bougnères P. Circulating leptin level and growth hormone response to stimulation tests in obese and normal children. **Europ J Endocrinol** 1998;139:591-7.
26. Thissen JP, Ketelslegers JM, Underwood LE. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. **Endocr Rev** 1994;15:80-101.
27. Allen DB, Julius JR, Breen TJ, Attie KM. Treatment of glucocorticoid-induced growth suppression with growth hormone. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:2824-9.
28. Wyatt DT, Mark D, Slyper A. Survey of growth hormone treatment practices by 251 pediatric endocrinologists. **J Clin Endocrinol Metab** 1995;80:3292-5.
29. Werther GA. Growth hormone measurements vs. auxology in treatment decisions: the Australian experience. **J Pediatr** [Suppl]128:S47-51.

Endereço para correspondência:

Margaret C.S. Boguszewski
Unidade de Endocrinologia Pediátrica
Rua Padre Camargo 250
80060-240 Curitiba, Paraná
Fone/Fax (41) 262-3837
e.mail: margabogus@bol.com.br