



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE PESQUISAS EM ONCOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E
CIÊNCIAS MÉDICAS

Carlliane Lima e Lins Pinto Martins

AVALIAÇÃO DOS PICOS DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO NOS
TESTES DE ESTÍMULO COM INSULINA E CLONIDINA EM
PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE BAIXA ESTATURA

BELÉM-PA
2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE PESQUISAS EM ONCOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E
CIÊNCIAS MÉDICAS

AVALIAÇÃO DOS PICOS DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO NOS
TESTES DE ESTÍMULO COM INSULINA E CLONIDINA EM
PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE BAIXA ESTATURA

Carlliane Lima e Lins Pinto Martins

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, área de concentração: Medicina I do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. João Soares Felício.

Co-orientador: Prof.^a Dr.^a Elizabeth Sumi Yamada.

BELÉM-PA
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB/UFPA)

Martins, Carlliane Lima e Lins Pinto, 1982-

Avaliação dos picos de hormônio do crescimento nos testes de estímulo com insulina e clonidina em pacientes com diagnóstico de baixa estatura. / Carlliane Lima e Lins Pinto Martins; Orientador, Prof. Dr. João Soares Felício. — 2016.

63 f. : il. ; color. ; 30 cm.

Inclui bibliografias.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Pesquisas em Oncologia, Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Belém, 2016.

1. Endocrinologia. 2. Hormônio do crescimento humano. 3. Técnicas de diagnóstico endócrino. I. Felício, João Soares, *orient.* II. Título.

CDD - 23. ed. 616.4098115

Carlliane Lima e Lins Pinto Martins

Avaliação dos picos de hormônio do crescimento nos testes de estímulo com insulina e clonidina em pacientes com diagnóstico de baixa estatura

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da Universidade Federal do Pará, para a obtenção do título de mestre.
Área de concentração: Medicina I.

Aprovado em: ___/___/___

Banca examinadora:

Prof. Dr. João Soares Felício
Universidade Federal do Pará
Orientador

Prof.^a Dr.^a Elizabeth Sumi Yamada
Universidade Federal do Pará
Orientadora

Prof.^a Dr.^a Ândria Kely C. Ribeiro dos Santos
Universidade Federal do Pará
Membro

Prof.^a Dr.^a Samia Demachki
Universidade Federal do Pará
Membro

Prof. Dr. Paulo Pimentel de Assumpção
Universidade Federal do Pará
Membro

*Este trabalho é dedicado:
À minha amada família que por inúmeras
vezes não pôde contar com minha
presença para que eu pudesse hoje
realizar esse projeto individual. Meu
esposo e minhas filhas, obrigada pela
paciência e entendimento, pelo apoio e
suporte. O amor de vocês e por vocês me
fortalece!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo privilégio de renovar minhas forças diariamente para nunca desistir dos desafios e sonhos que ele próprio, com toda sua grandiosidade, me propõe.

A minha amada mãe, Eliane, que com muito amor e dedicação me preparou para a vida e que, mesmo à distância, se faz presente com seus conselhos, incentivo e orações.

Ao meu pai, Carlos, exemplo de retidão e ética. Muito do que sou veio dele.

Às minhas filhas, Manuela e Carolina, tão pequenas e tão preciosas, que enchem minha vida de propósitos e alegrias. Elas me inspiram a querer ser mais do que fui até hoje!

Ao meu esposo, Maurício, incansável em me incentivar a caminhar cada vez mais longe. Seja com palavras, gestos ou ações, ele sempre está ao meu lado, sendo o alicerce da nossa família.

À minha sogra por todo o carinho e apoio emocional e logístico ao longo desses anos.

A toda minha família, uma motivação constante, a segurança de saber que sempre terei amparo.

Aos meus caríssimos pacientes, que como voluntários confiaram sua saúde a esse projeto. Eles são minha motivação de continuar estudando e aperfeiçoando meus conhecimentos.

Aos meus amigos de sempre, por toda vibração positiva, por quererem meu bem e me valorizarem como pessoa. Em especial, agradeço à amiga Karem Mileo, pelos seus conselhos carinhosos e por ser um exemplo de alegria e entusiasmo.

Ao Antônio Figueiredo Júnior, aluno de medicina cuja iniciativa em me ajudar fez toda a diferença para que este trabalho se tornasse realidade.

Ao Fabrício de Souza Resende, aluno de medicina que me ajudou com muita dedicação e esmero na revisão final deste trabalho.

À querida Ismari Perini, amiga que contribuiu com competência e preciosismo para a execução e finalização desse trabalho.

À minha orientadora Dr^a. Elizabeth Yamada, por sua importante e decisiva colaboração na reta final deste trabalho.

Ao meu orientador Dr. João Felício, por seu apoio, amizade e competência. Em especial, agradeço pela paciência que só um irmão mais velho teria com uma irmã mimada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas pela oportunidade de estruturar e ampliar meu conhecimento.

A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.

Arthur Schopenhauer

RESUMO

A baixa estatura (BE) é uma importante causa de encaminhamento para avaliação na endocrinologia pediátrica. A deficiência do hormônio do crescimento (DGH) precisa ser considerada quando outras causas de BE são excluídas, porém há limitações quanto ao estabelecimento de seu diagnóstico definitivo, sendo assunto de vários debates e controvérsias. Apesar de muito questionados, os testes de estímulo de GH ainda são considerados o padrão para a confirmação diagnóstica de DGH. O presente estudo objetivou avaliar a sensibilidade, especificidade e acurácia dos diferentes pontos de corte de pico de GH utilizados para o diagnóstico de DGH, sob o estímulo do teste de tolerância à insulina (TTI) e do teste da clonidina, além de identificar o melhor nível de pico de GH para confirmar o diagnóstico por meio da abordagem da curva ROC (*Receiver Operating Characteristics*). Para este fim, foi realizado um estudo retrospectivo e de caráter observacional, a partir da coleta de dados clínicos e laboratoriais de 62 pacientes do serviço de endocrinologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB). O padrão-ouro considerado para análise de desempenho dos pontos de corte em ambos os testes de estímulo de GH foi a resposta terapêutica. Assim, 26 pacientes que obtiveram acréscimo de altura de pelo menos 0,3 desvio-padrão ao final de um ano de tratamento com o GH recombinante humano (rhGH) foram classificados como DGH. Os pacientes que não obtiveram esse ganho foram classificados como não-DGH. Ambos os grupos partiram de estaturas médias semelhantes ($p = 0,8155$) e obtiveram ganho de estatura ao final do acompanhamento, porém esse ganho foi maior no grupo DGH em comparação ao não-DGH ($20,5 \pm 14,8$ cm vs. $9,2 \pm 6,7$ cm, respectivamente; $p = 0,0064$). O grupo DGH apresentou pico mediano de GH significativamente menor em relação ao grupo não-DGH em ambos os testes ($p < 0,0001$). Foram definidas sensibilidade, especificidade e acurácia dos pontos de corte 3, 5, 7 e 10 ng/mL no TTI e no teste da clonidina, não sendo observada superioridade de um teste sobre o outro. Adicionalmente, foram encontrados os pontos de corte 7,92 ng/mL e 6,78 ng/mL para o TTI e teste da clonidina, respectivamente, a partir da construção da curva ROC, representando os níveis de pico de GH mais sensíveis e específicos para o diagnóstico de DGH. Concluímos que os pontos de corte encontrados neste estudo poderão representar uma ferramenta emergente na seleção de pacientes que provavelmente se beneficiariam do tratamento com rhGH, sendo eles DGH por uma causa conhecida ou mesmo DGH.

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

ABSTRACT

Short stature (SS) is an important referral cause for evaluation in pediatric endocrinology. Growth hormone deficiency (GHD) needs to be considered when other causes of BE are excluded, but there are limitations in establishing its definitive diagnosis, being the subject of several debates and controversies. Although highly questioned, GH stimulation tests are still considered the standard for the diagnostic confirmation of GHD. The present study aimed to evaluate the sensitivity, specificity and accuracy of the different GH peak cut-off points for diagnosis of GHD, in response to stimulus by insulin tolerance test (ITT) and clonidine test, in addition to identifying the best GH peak level to confirm diagnosis using a Receiver Operating Characteristics (ROC) curve analysis. For this purpose, a retrospective and observational study was carried out. Clinical and laboratory data from 62 patients at the endocrinology department of the Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB) were collected. The gold standard considered for performance analysis of cut-off points in both GH stimulation tests was the therapeutic response. Thus, 26 patients who achieved a height increase of at least 0,3 standard-deviation at the end of one year of treatment with recombinant human GH (rhGH) were classified as GHD. The remaining patients who did not obtain this gain formed the group called non-GHD. Both groups had similar mean height ($p = 0,8155$) and gained height at the end of follow-up, but this gain was higher in the GHD group compared to the non-GHD group ($20,5 \pm 14,8$ cm vs. $9,2 \pm 6,7$ cm, respectively, $p = 0,0064$). GHD group had a significantly lower middle GH peak than the non-GHD group in both tests ($p < 0,0001$). Sensitivity, specificity and accuracy of cut-off points 3, 5, 7 and 10 ng/mL were defined in the ITT and in the clonidine test, and there was no superiority of one test over the other. In addition, the cut-off points found were 7,92 ng/mL and 6,78 ng/mL in the ITT and clonidine test, respectively, based on the construction of the ROC curve, representing the most sensitive and specific GH peak levels for the diagnosis of GHD. We conclude that the cut-off points found in this study may represent an emerging tool in the selection of patients who would probably benefit from treatment with rhGH, both in cases of GHD for a known cause and in cases of IGHD.

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

LISTA DE QUADROS

| | |
|--|----|
| Quadro 1 – Causas de baixa estatura. | 16 |
| Quadro 2 – Critérios para investigação de DGH. | 18 |
| Quadro 3 - Avaliação clínica e investigação laboratorial recomendadas em crianças com baixa estatura referenciadas para atenção secundária. | 20 |
| Quadro 4 – Condições clínicas para a predileção da sensibilidade ou da especificidade e aplicabilidade na DGH | 46 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Exemplo de curva de crescimento de um paciente com ACCP (A) e outro com BEF (B)..... | 16 |
| Figura 2- Variação na resposta terapêutica ao rhGH em diferentes desordens do crescimento comparada com DGH grave. | 25 |
| Figura 3 - Comparação da estatura de crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura, de acordo com o grupo e o momento de tomada das medidas..... | 35 |
| Figura 4 – Distribuição dos picos de GH nos testes de estímulo realizados por crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura, de acordo com o grupo e o teste. | 36 |
| Figura 5 - Picos médios de GH e tempo de pico nos testes de estímulo realizados por crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura, de acordo com o grupo e o teste. | 37 |
| Figura 6 - Curva ROC de ponto de corte no Teste de Tolerância à Insulina (TTI) para o diagnóstico de Deficiência do Hormônio do Crescimento (DGH) em crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura. | 38 |
| Figura 7 - Curva ROC de ponto de corte no Teste da Clonidina para o diagnóstico de Deficiência do Hormônio do Crescimento (DGH) em crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura..... | 38 |
| Figura 8 - Curvas ROC do desempenho do Teste de Tolerância à Insulina (TTI) com diferentes pontos de corte para o diagnóstico de Deficiência do Hormônio do Crescimento (DGH) em crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura. | 39 |
| Figura 9 - Curvas ROC do desempenho do Teste da Clonidina com diferentes pontos de corte para o diagnóstico de Deficiência do Hormônio do Crescimento (DGH) em crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura. | 40 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Medidas de qualidade dos testes. | 32 |
| Tabela 2 - Cálculo das medidas de qualidade dos testes. | 32 |
| Tabela 3 - Características clínicas dos pacientes incluídos no estudo de acordo com o diagnóstico..... | 34 |
| Tabela 4 - Sensibilidade, especificidade e acurácia dos testes de estimulação de GH..... | 35 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--------------|--|
| ACCP..... | Atraso constitucional de crescimento e puberdade |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| BE..... | Baixa estatura |
| BEF..... | Baixa estatura familiar |
| BEI..... | Baixa estatura idiopática |
| CDC..... | do inglês <i>Centers of Disease Control and Prevention</i> , Centros de Controle e Prevenção de Doenças |
| DGH | Deficiência de hormônio do crescimento |
| DGHI | Deficiência de hormônio do crescimento idiopática |
| DP..... | Desvio-padrão |
| ESPE..... | do inglês, <i>European Society for Paediatric Endocrinology</i> , Sociedade Europeia de Endocrinologia Pediátrica |
| FDA..... | <i>Food and Drug Administration</i> |
| FN..... | Falso-negativo |
| FP..... | Falso-positivo |
| FSH..... | Hormônio folículo estimulante |
| GH | Hormônio do crescimento |
| GHRH..... | Hormônio liberador de hormônio do crescimento |
| GHRG | do inglês, <i>Growth Hormone Research Society</i> , Sociedade de Pesquisa do Hormônio do Crescimento |
| HUJBB | Hospital Universitário João de Barros Barreto |
| IC | Intervalo de confiança |
| IGF..... | Fator de crescimento semelhante à insulina |
| IGFBP..... | do inglês, <i>Insulin-like growth factor-binding protein</i> , Proteína ligadora de fator de crescimento semelhante à insulina |
| KIGS..... | <i>Kabi International Growth Study</i> |
| LH..... | Hormônio luteinizante |
| PIG..... | Pequeno para idade gestacional |
| rhGH..... | Hormônio do crescimento recombinante humano |
| RM..... | Ressonância magnética |

ROC do inglês *Receiver Operating Characteristics*, Característica de Operação do Receptor

SNC Sistema nervoso central

T4 livre Tiroxina livre

TA..... Termo de Assentimento

TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TSH..... Hormônio estimulante da tireóide

TTI..... Teste de tolerância à insulina

VC..... Velocidade de crescimento

VN Verdadeiro-negativo

VP Verdadeiro-positivo

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 14 |
| 1.1 | Crescimento normal e causas de baixa estatura | 14 |
| 1.2 | Deficiência do hormônio do crescimento | 17 |
| 1.3 | Diagnóstico de rastreio e confirmatório de dgh | 18 |
| 1.4 | Testes de estímulo do hormônio do crescimento | 21 |
| 1.4.1 | PONTOS DE CORTE NOS TESTES DE ESTÍMULO | 23 |
| 1.5 | Resposta terapêutica | 24 |
| 2 | APLICABILIDADE CLÍNICA..... | 27 |
| 3 | OBJETIVOS | 28 |
| 3.1 | Geral | 28 |
| 3.2 | Específicos..... | 28 |
| 4 | MÉTODO..... | 29 |
| 4.1 | Desenho do estudo..... | 29 |
| 4.2 | População estudada | 29 |
| 4.3 | Crítérios de inclusão | 29 |
| 4.4 | Crítérios de exclusão | 30 |
| 4.5 | Coleta de dados | 30 |
| 4.6 | Análise estatística | 32 |
| 5 | RESULTADOS | 34 |
| 6 | DISCUSSÃO | 41 |
| 7 | CONCLUSÃO | 49 |
| 8 | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 50 |
| | REFERÊNCIAS | 51 |
| | APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO | 57 |
| | APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO | 59 |
| | APÊNDICE C – SOLICITAÇÃO DE ISENÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO | 61 |
| | ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEP | 62 |

1 INTRODUÇÃO

O crescimento humano é um processo biológico que envolve aspectos genéticos, hormonais, nutricionais e ambientais (ROSENFELD, 2003). A baixa estatura (BE) é uma queixa comum e uma importante causa de encaminhamento para avaliação na endocrinologia pediátrica (GIOVENALE *et al.*, 2006). A deficiência do hormônio do crescimento (DGH) precisa ser considerada quando outras causas de BE são excluídas (GUO; CHEN, 2013). A ocorrência de DGH tem uma frequência variável entre 1:3000 e 1:4000 nascidos vivos (DE GRAAFF *et al.*, 2009; LINDSAY *et al.*, 1994). Desde que o hormônio do crescimento (GH) da glândula hipófise de humanos se tornou disponível em 1960, o diagnóstico de DGH tem sido assunto de vários debates e controvérsias, havendo ainda limitações quanto ao estabelecimento de seu diagnóstico definitivo. Assim, o debate continua no sentido de buscar meios para o diagnóstico correto, haja vista as implicações de longo prazo para o diagnóstico de DGH e do alto custo da terapia com o GH recombinante humano (rhGH) (SHALET *et al.*, 1998; SIZONENKO *et al.*, 2001).

1.1 Crescimento normal e causas de baixa estatura

O processo de crescimento depende de fatores genéticos e ambientais que se combinam para determinar a altura do indivíduo. Muitos genes foram identificados nas últimas décadas e são essenciais para o desenvolvimento normal e adequado funcionamento da hipófise. Mutações desses genes mostram-se responsáveis por crescimento anormal e BE. O controle fisiológico do crescimento é uma valiosa oportunidade de se observar as influências hormonais e também outros fatores que afetam o crescimento, como desnutrição e doenças crônicas (HOINEFF; COLLETT-SOLBERG, 2007). Todas essas influências agem sobre uma base potencial genética de crescimento, sendo que a contribuição da hereditariedade é estimada em 80% (BENONISDOTTIR *et al.*, 2016).

O principal fator de crescimento tanto no período pré-natal como no pós-natal é o IGF-1 (IGF: fator de crescimento semelhante à insulina), que age na epífise do crescimento. Ele é produzido no fígado e liberado na circulação e também produzido diretamente na epífise óssea. No período pós-natal, essa produção depende do GH e a ação pode ser modificada pelas

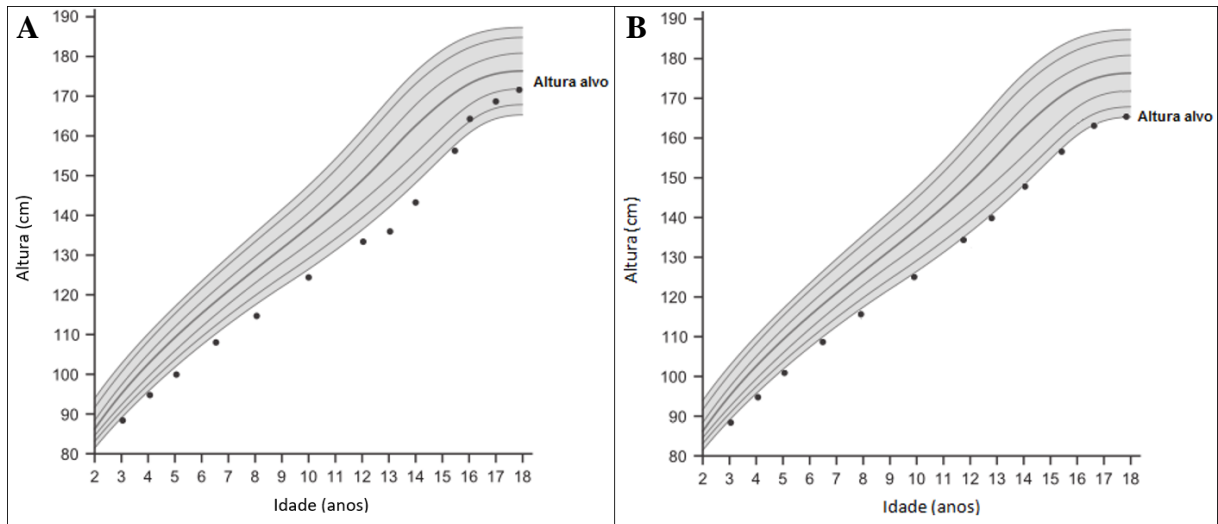
proteínas carreadoras de IGF-1 (IGFBP: proteína ligadora de fatores de crescimento semelhantes à insulina). O GH, cuja produção ocorre na hipófise, também tem ação direta na placa de crescimento. Enquanto o IGF-1 estimula a expansão e a hipertrofia, o GH estimula a diferenciação celular (NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH AND CARE EXCELLENCE, 2010; HOINEFF; COLLETT-SOLBERG, 2007).

Por definição, crescimento normal abrange os 95% do intervalo de confiança (IC) para uma população específica. Quanto mais abaixo de -2 desvios-padrão (DP) o crescimento de um indivíduo cair (percentil 2,5), maior a probabilidade de existir uma condição patológica que o impedirá de atingir sua altura potencial determinada geneticamente. Por outro lado, o fato de uma criança estar, por exemplo, no percentil 25 do gráfico de crescimento, não indica necessariamente que ela esteja normal, uma vez que seu potencial familiar pode corresponder a um percentil maior e sua velocidade de crescimento (VC) pode estar comprometida. Retardo no crescimento se refere a uma deflexão para baixo da VC, com a curva de crescimento resultante cruzando as linhas de percentis (HAYMOND *et al.*, 2013; MAURAS, 2009).

Apesar de ser multifatorial, o crescimento de uma criança usualmente ocorre de maneira previsível. O crescimento normal é, em média, de 25 cm no primeiro ano de vida; 12 cm no segundo; e 8 cm no terceiro. Na infância, entre 3 e 12 anos de idade, ou até o início da puberdade, o crescimento estatural é, em média, de 5 a 6 cm por ano. Já no estirão puberal, que dura aproximadamente 2 anos, apresenta velocidade de crescimento média de 8 cm/ano e 10 cm/ano para meninas e meninos, respectivamente (TONAKA *et al.*, 2002).

Crianças com queixa de BE devem ser seguidas criteriosamente e os dados de peso e altura obtidos em cada consulta devem ser registrados em gráficos de crescimento. Com o monitoramento da BE, muitas crianças são consideradas como variantes da normalidade. Essas crianças não apresentam doença subjacente ou questões psicológicas causando a BE. Algumas dessas crianças têm atraso constitucional do crescimento e puberdade (ACCP), cuja taxa de crescimento é normal, mas a idade óssea é atrasada em relação à cronológica (SPADONI; CIANFARANI, 2010). Muitas delas têm histórico familiar de padrão de crescimento semelhante e, embora muitos possam eventualmente atingir uma altura adulta normal, outros permanecem baixos quando adultos (POYRAZOĞLU *et al.*, 2005). Adicionalmente, se os pais também são baixos, a criança pode ser considerada como tendo baixa estatura genética ou familiar (BEF), sendo essa a principal causa de BE, e cujas VC, desenvolvimento puberal e maturação óssea são compatíveis com a idade cronológica. Caso essas variantes da normalidade (ACCP e BEF) sejam consideradas improváveis, é importante ampliar a investigação para identificar e tratar uma condição médica que pode ser potencialmente grave e cuja manifestação

inicial foi o atraso no crescimento (HAYMOND *et al.*, 2013). A Figura 1 ilustra a curva de crescimento de um paciente com ACCP e BEF.



Fonte: HAYMOND *et al.*, 2013.

Figura 1 – Exemplo de curva de crescimento de um paciente com ACCP (A) e outro com BEF (B).

Existem inúmeras condições que podem levar à redução na VC e/ou BE. A Sociedade Europeia de Endocrinologia Pediátrica, do inglês *European Society for Paediatric Endocrinology* (ESPE), classifica as principais causas de BE em três grupos: i, desordens primárias do crescimento; ii, desordens secundárias do crescimento; e iii, baixa estatura idiopática (BEI), ou seja, quando não se consegue identificar uma causa (WIT; RANKE; KELNAR, 2007). A BEI é uma condição heterogênea cujo conceito clássico não abrange a BEF e o ACCP. Entre as causas de BEI, estão incluídas a deficiência parcial do GH, formas parciais de insensibilidade ao GH e outras doenças ainda não conhecidas (BLAIR *et al.*, 2004; COHEN *et al.*, 2008; WIT *et al.*, 2008). As desordens primárias e secundárias do crescimento estão resumidas no Quadro 1.

Quadro 1 – Causas de baixa estatura.

| Causas de baixa estatura | |
|--|--|
| Desordens primárias do crescimento | |
| Síndromes clinicamente definidas: | |
| Síndrome de Down, Turner, Noonan, Prader-Willi, Silver-Russell | |
| Pequeno para idade gestacional (PIG) com falha na recuperação do crescimento | |
| Displasia óssea congênita, por exemplo, acondroplasia e hipocondroplasia | |
| Desordens secundárias do crescimento | |
| Causas endócrinas: | |

| |
|---|
| DGH congênita ou adquirida (lesões na região hipotalâmica-hipofisária como craniofaringioma ou trauma na cabeça) |
| Deficiência hipofisária múltipla |
| Síndrome de Cushing |
| Hipotireoidismo |
| Consequência de puberdade precoce |
| Outras desordens do eixo GH-IGF-1: |
| Deficiência de IGF-1 |
| Deficiência de ALS (subunidade primária de ácido-lábil) |
| Resistência ao IGF-1 |
| Desordens metabólicas |
| Diabetes descompensado |
| Desordens do metabolismo de lipídios, carboidratos e proteínas, por exemplo, insuficiência renal crônica |
| Desordens orgânicas, por exemplo, cardíaca, pulmonar (fibrose cística), hepática, intestinal (doença celíaca), renal, anemia crônica, artrite juvenil |
| Condições psicossociais como privação emocional, anorexia nervosa |
| Tratamento de malignidade na infância, por exemplo, quimioterapia e radioterapia |

Fonte: HAYMOND *et al.*, 2013.

1.2 Deficiência do hormônio do crescimento

DGH ocorre quando a hipófise não produz quantidade suficiente de GH, sendo esta desordem a principal causa endócrina de baixa estatura (NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH AND CARE EXCELLENCE, 2010). A DGH pode ser de origem congênita (mutações genéticas, defeitos de linha média e de estruturas cerebrais) ou adquirida (tumores selares e perisselares, síndrome de Sheehan, hipofisites, trauma cerebral, irradiação do sistema nervoso central, entre outras), familiar ou esporádica, com defeito genético reconhecido ou ligado a uma disfunção neuroendócrina na secreção de GH, podendo essa disfunção se apresentar como um problema isolado ou em combinação com múltiplas deficiências hormonais hipofisárias (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000; GUO; CHEN, 2013; SIZONENKO *et al.*, 2001). Os casos de DGH sem causa aparente, ou seja, cuja etiologia ainda não está bem estabelecida, definida somente em bases laboratoriais, são chamados de DGH idiopática (DGHI) (GUO; CHEN, 2013; SIZONENKO *et al.*, 2001), correspondendo a aproximadamente 30% dos casos de DGH (NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH AND CARE EXCELLENCE, 2010).

O diagnóstico de DGH na infância requer avaliação clínica e auxológica abrangente, combinada com testes bioquímicos do eixo GH-IGF e avaliação radiológica (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000). Toda essa avaliação deve ser iniciada após a

exclusão de outras potenciais causas de crescimento deficiente, como hipotireoidismo, desnutrição, doenças sistêmicas crônicas, Síndrome de Turner, distúrbios esqueléticos, etc (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000; REITER; ROSENFELD, 2003).

Dados da história e do exame físico que podem indicar a presença de DGH são: (1) no recém-nascido – hipoglicemia, icterícia prolongada, micropênis ou parto traumático; (2) condições predisponentes – irradiação craniana, traumatismo craniano ou infecção do sistema nervoso central; (3) consanguinidade e/ou um membro com DGH na família; (4) anormalidades craniofaciais de linha média, incisivo central único, nistagmo congênito, adiposidade central etc. Outros dados indicativos são taxa de crescimento subnormal, declínio progressivo no percentil da altura e atraso na idade óssea (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000; REITER; ROSENFELD, 2003; ROSENFELD *et al.*, 1995). As recomendações do último consenso da Sociedade de Pesquisa do Hormônio do Crescimento, do inglês *Growth Hormone Research Society* (GHRS) (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000), para se iniciar investigação imediata de DGH estão resumidas no Quadro 2.

Quadro 2 – Critérios para investigação de DGH.

| Critérios para investigação de DGH |
|---|
| 1. BE grave, definida como altura > 3 DP abaixo da média |
| 2. Altura > 2 DP abaixo da média da altura dos pais |
| 3. Altura > 2 DP abaixo da média e VC > 1 DP abaixo da média para idade cronológica, durante 1 ano. Decréscimo no DP da altura de mais de 0,5 durante 1 ano, em crianças cuja idade seja > 2 anos |
| 4. Na ausência de BE, VC > 2 DP abaixo da média durante 1 ano ou > 1,5 DP por 2 anos |
| 5. Evidências de lesão intracraniana |
| 6. Sinais de deficiência múltipla de hormônios hipofisários |
| 7. Sintomas neonatais de DGH |

Fonte: AHMAD; BORCHERT; GEFFNER, 2008.

1.3 Diagnóstico de rastreio e confirmatório de DGH

Por definição, o teste diagnóstico a ser utilizado no rastreamento da DGH deve ser sensível, ou seja, deve oferecer a possibilidade de incluir todos os verdadeiros portadores do distúrbio em uma população avaliada. Além da alta sensibilidade, deve ser de fácil aplicação, baixo custo e pouco invasivo. Usualmente, os testes de triagem são indicados para doenças graves que apresentam fase pré-clínica e cujo diagnóstico, nesta fase, oferece relação custo-benefício favorável. O diagnóstico da DGH em pacientes com BE preenche, sem dúvida, estes critérios para utilização de testes de triagem (DE PAULA; CZEPIELEWSKI, 2008).

Com a demonstração de que uma parte importante das ações do GH se faz a partir da produção endócrina, parácrina e autócrina de fatores de crescimento (IGF-1 e IGF-2) e da importância de suas proteínas ligadoras circulantes (IGFBPs), a mensuração destas passou a ser proposta como ferramenta para triagem diagnóstica da DGH (SIZONENKO *et al.*, 2001).

Depois de serem realizados testes de rastreamento, faz-se necessário utilizar testes que confirmem com segurança o diagnóstico da DGH. Nesta situação, é preciso empregar testes diagnósticos específicos. Quanto maior a especificidade de um teste, maior é a chance de que pessoas sem a doença sejam excluídas pelo teste. Estes aspectos são muito importantes, uma vez que a DGH envolve tratamento por tempo prolongado, com custo elevado e necessita de controles médicos periódicos. Dessa forma, se em um momento de triagem são necessários os testes sensíveis, para a confirmação diagnóstica da DGH se impõe o emprego de testes e pontos de corte específicos (DE PAULA; CZEPIELEWSKI, 2008).

Como vimos, a avaliação clínica e auxológica dos pacientes com BE é essencial e uma taxa de crescimento subnormal é um forte indicador de uma possível DGH. Em 2008, um consenso sobre o manejo de pacientes com BEI recomendou uma série de exames laboratoriais de triagem para serem aplicados na investigação de crianças com BE (COHEN *et al.*, 2008). Uma abordagem semelhante também foi defendida por outros grupos (SAVAGE; BURREN; ROSENFELD, 2010; OOSTDIJK *et al.*, 2009). Al Herbish *et al.* (2016), em um artigo de revisão, apresentaram de forma objetiva as recomendações para a avaliação clínica e laboratorial de crianças com BE referenciadas para um nível de atenção secundária. Estas recomendações estão listadas no Quadro 3. No que tange a questão da avaliação do eixo GH-IGF-1 propriamente dita, Al Herbish *et al.* (2014) não chegaram a um consenso sobre o melhor procedimento para avaliar a integridade funcional do eixo GH-IGF-1 em seu estudo. Dois anos mais tarde, Al Herbish *et al.* (2016) ratificaram que a avaliação do eixo compreende essencialmente as medições de linha de base do IGF-1 e IGFBP-3, em primeiro lugar, e, em segundo lugar, os testes de estimulação de GH.

Assim, após avaliação clínica e laboratorial inicial da criança com BE para excluir doenças sistêmicas e/ou genéticas, recomenda-se a dosagem IGF-1 basal. Considerando o IGF-1 dentro da proposta do rastreamento, recomenda-se a utilização de redução de -1 DP, comparado com a média para a idade do paciente, como indicativa de DGH. Caso a criança não apresente outra causa para redução do IGF-1 (doença crônica, desnutrição) e apresentar valor de IGF-1 abaixo de -1 DP para a idade, ela deverá ser submetida ao teste de estímulo da secreção do GH para a potencial confirmação do diagnóstico. Mesmo crianças com IGF-1 abaixo de -1 DP e um teste de estímulo não responsivo na presença de fatores de risco, como

irradiação prévia de sistema nervoso central (SNC), quimioterapia, tumor ou outra doença hipotálamo-hipofisária, alteração de exame de imagem da região hipotálamo-hipofisária ou deficiência de outros hormônios hipofisários, também devem ser diagnosticadas como deficientes de GH. Crianças com IGF-1 maior do que -1 DP dificilmente serão deficientes, porém devem ser acompanhadas para avaliar sua VC, que, se muito baixa, pode indicar a necessidade de reavaliação do eixo GH/IGF-1 (DE PAULA; CZEPIELEWSKI, 2008).

Quadro 3 - Avaliação clínica e investigação laboratorial recomendadas em crianças com baixa estatura referenciadas para atenção secundária.

| Avaliação clínica |
|---|
| História: histórico familiar, inquérito sobre consanguinidade, altura dos pais, peso ao nascer, tempo de gestação, inquérito sistemático para sintomas crônicos |
| Medição precisa da altura usando o estadiômetro de parede, peso, IMC, traçado da altura no gráfico de crescimento comparado com percentis parental de altura |
| Exame físico completo dos sistemas |
| Exame para características dismórficas |
| Investigação laboratorial |
| Hemograma completo |
| Função renal |
| Função hepática |
| Cálcio |
| Fósforo |
| Fosfatase alcalina |
| Idade óssea |
| Raios X esqueléticos (quando a desproporção corporal está presente) |
| Transglutaminase tissular |
| IgA |
| IGF-1 |
| TSH, T4 livre |
| Cariótipo ou FSH (apenas em meninas < 2 anos e > 9 anos se cariótipo não disponível) |

Fonte: AL HERBISH *et al.*, 2016.

O diagnóstico por imagem da região hipotálamo-hipofisária está sempre indicado no momento em que se demonstra a DGH, seja isolada ou associada a outras deficiências hormonais hipofisárias. Este diagnóstico poderá demonstrar alterações que exijam manejo específico, como lesões tumorais, inflamatórias ou congênitas, entre as quais se destacam o craniofaringioma e a hidrocefalia congênita. Com a descoberta de diversos genes relacionados à morfogênese hipofisária, a identificação de suas mutações vem sendo associada a diversas alterações da região hipotálamo-hipofisária e outras regiões do SNC. A caracterização

anatômica destas alterações também é indicação de investigação por imagem (OSORIO *et al.*, 2002).

Com estes objetivos deve-se preferir a ressonância magnética (RM) de alta resolução, com cortes de até 3 mm de espessura, nos planos coronal e sagital, com o uso de gadolínio e, se necessário, com a criança sedada, obtendo-se sequências em T1 e T2. Os pacientes com DGH podem apresentar os seguintes achados na RM: hipófise normal, hipófise hipoplásica ou pequena (< 3 mm de altura), sela vazia, hipoplasia hipofisária associada à neuro-hipófise ectópica e agenesia parcial ou completa da haste hipofisária (DE PAULA; CZEPIELEWSKI, 2008).

A identificação de uma mutação genética é particularmente útil para apoiar o diagnóstico em casos de DGH isolada com uma RM de hipófise normal. Mutações nos genes GH1, GHRHR e RNPC3 foram identificadas em pacientes com DGH isolado, mas existem muitos outros genes associados à DGH combinada com outras deficiências hipofisárias (POU1F1, PROP1, LHX3, LHX4, HESX1, OTX2, SOX2, SOX3, GLI2, GLI3, FGFR1, FGF8 e PROKR2), apresentando características clínicas e radiológicas diferenciadas. Com o aumento da disponibilidade clínica de tecnologias genéticas é provável que haja o crescimento do rastreio de mutações para fornecer confirmação do diagnóstico de DGH (MURRAY *et al.*, 2016).

1.4 Testes de estímulo do hormônio do crescimento

Definir falha de crescimento significa dizer que há uma velocidade de crescimento anormalmente baixa, enquanto que a definição de secreção inadequada de GH deve se basear em evidências mais complexas. Muitos casos de DGH não são acompanhados por outras deficiências hormonais hipofisárias ou desordem hipotálamo-hipofisária conhecida (DGHI) e devem ser diagnosticados medindo os níveis de GH (GRIMBERG *et al.*, 2016).

A partir do isolamento do GH e da possibilidade de sua mensuração por radioimunoensaio, sua dosagem passou a fazer parte da rotina de avaliação de pacientes BE. Nesta situação, identificou-se rapidamente que a dosagem basal não era útil para o diagnóstico de sua deficiência, em virtude da secreção pulsátil e predominantemente noturna do GH. Assim, foram sendo propostos testes de estímulo tanto fisiológicos [hipoglicemia insulínica, exercício, GHRH (Hormônio Liberador do Hormônio do Crescimento), ritmo de secreção de 24 horas] quanto farmacológicos (clonidina, levodopa, arginina, propranolol, glucagon, piridostigmina e

outros), sugerindo-se níveis de GH a serem atingidos (picos) em indivíduos normais em cada um deles (ROSENFELD *et al.*, 1995).

Os testes atualmente recomendados incluem aqueles cujo estímulo é realizado com arginina, clonidina, glucagon, insulina e levodopa. Em crianças menores de 2 anos, o teste do glucagon é preferido pelo perfil de possíveis efeitos colaterais (CHANOINE *et al.*, 1995).

O teste da hipoglicemia insulínica ou teste de tolerância à insulina (TTI) se baseia na resposta hipofisária à hipoglicemia. A hipoglicemia suprime a secreção de somatostatina e estimula receptores α -adrenérgicos. 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. O glucagon estimula a secreção de GH pela hipoglicemia rebote que se segue ao estado de hiperglicemia inicial (GUO; CHEN, 2013; SEICK; BOGUSZEWSKI, 2003). No Brasil, a portaria nº 110 do Ministério da Saúde, de 10 de março de 2010, contempla o “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hipopituitarismo”, documento que regulamenta o uso terapêutico do rhGH nas crianças e adultos. Conforme a portaria, o diagnóstico de DGH em crianças e adolescentes requer dois testes de estímulo (insulina, clonidina, levodopa ou glucagon), com valor de pico de GH < 5 ng/mL, dosados por método de quimioluminescência ou imunofluorometria com anticorpos monoclonais (BRASIL, 2010).

O consenso da GHRS recomenda dois testes de estímulo do GH para confirmar o diagnóstico de DGH (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000), entretanto, muitos especialistas defendem que um único teste combinado com IGF-1 basal e interpretados em conjunto com a avaliação clínica e auxológica, fornecem dados suficientes para excluir ou confirmar a DGH (AL HERBISH *et al.*, 2016).

Devido à secreção de GH ser regulada por múltiplos fatores fisiológicos, incluindo idade, início da puberdade, estado nutricional e peso corporal, a confiabilidade dos testes de estímulos utilizados para a avaliação da secreção de GH tem sido repetidamente questionada (ALBERTSSON-WIKLAND *et al.*, 1994; MAZZOLA *et al.*, 2008). No entanto, esses testes ainda são considerados importantes na confirmação diagnóstica de DGH (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000; SONG *et al.*, 2005; ZADIK *et al.*, 1990), especialmente nos casos de DGHI, devendo o resultado do pico de GH pós-estímulo ser interpretado em conjunto com os achados clínicos e auxológicos (GRIMBERG *et al.*, 2016).

1.4.1 PONTOS DE CORTE NOS TESTES DE ESTÍMULO

A escolha de um valor de corte que determine quando termina o normal e quando começa a deficiência costuma ser arbitrária e pode induzir ao erro. Quando a DGH é grave, o diagnóstico fica evidente tanto pela clínica quanto pela ausência de resposta do GH durante os testes de estímulo. Nesses casos mais graves, quando há alteração hipotalâmica-hipofisária (má-formação, tumor, irradiação) e deficiência de pelo menos mais um hormônio hipofisário, ambas condições associadas aos critérios auxológicos, os testes de estímulo são dispensáveis, conforme sugere o recente consenso da Sociedade de Endocrinologia Pediátrica (GRIMBERG *et al.*, 2016). Entretanto, nos quadros menos intensos (referidos por muitos autores como DGH parcial) e considerados DGHI, além dos achados clínicos serem menos evidentes, há sobreposição dos níveis de GH entre o normal e o anormal (BOGUSZEWSKI, 2001). Por exemplo, foi observado que mesmo crianças sem BE e com crescimento normal podem apresentar respostas menores que 10 ng/mL em testes de estímulo (CAREL *et al.*, 1997, 1998).

Na literatura, historicamente os valores de corte gradualmente aumentaram de 5 ng/mL (KAPLAN *et al.*, 1968) para 7 ng/mL (FRASIER, 1974) e, por último, 10 ng/mL (DRAKE *et al.*, 2001; GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000; GUIDELINES FOR THE USE OF GROWTH HORMONE IN CHILDREN WITH SHORT STATURE, 1995) em testes usando anticorpos policlonais. Em parte, este aumento ocorreu devido à sobreposição dos valores de GH entre as crianças consideradas deficientes e aquelas com crescimento normal. Além disso, a mudança do tratamento anteriormente feito com GH proveniente de hipófises de cadáveres para tratamento com GH sintético permitiu que se tratassem casos com menor grau de deficiência de GH, mas que também cursam com baixa estatura, aumentando o valor de corte (SEICK; BOGUSZEWSKI, 2003).

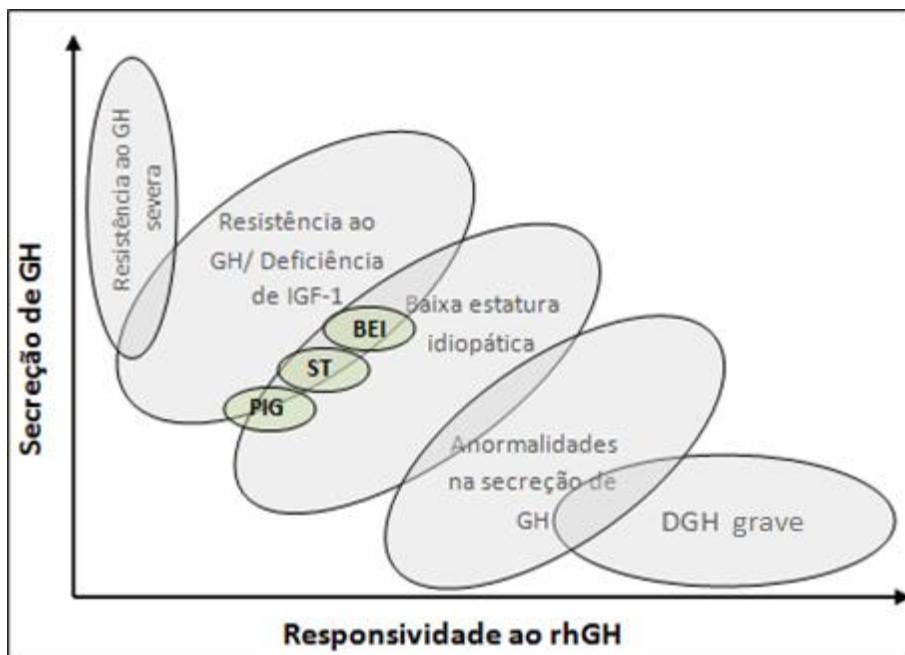
Por outro lado, com o surgimento de metodologias mais sensíveis e específicas, foi se tornando possível dosagens cada vez menores de GH e de suas respectivas formas moleculares. Estes avanços levaram à proposição, como normais, de picos cada vez menores de GH e a necessidade também de estabelecimento de padrões de referência a partir de moléculas sintéticas do hormônio, com peso e estrutura molecular bem definidos, especialmente a forma com 22 kDa (CLEMMONS, 2011). Mesmo com essa tendência, ainda não há dado consistente na literatura que apoie definitivamente o uso de qualquer um dos pontos de corte mencionados em detrimento dos demais. O tradicional ponto de corte de 10 ng/mL se manteve como o mais referido nos artigos de revisão até aproximadamente o ano de 2010 (SAVAGE; BURREN;

ROSENFELD, 2010). O estudo de Wagner *et al.* (2014) trouxe a proposição do ponto de corte de 7 ng/mL, valor atualmente mais usado no Reino Unido. Entretanto, no consenso mais atual (GRIMBERG *et al.*, 2016), não há a recomendação formal de qual seria o melhor valor de corte, sob a justificativa da necessidade de haver estudos controlados baseados na estatura final do paciente na idade adulta. Este mesmo consenso faz críticas à especificidade do ponto de corte de 10 ng/mL e sugere que esse valor deva ser menor.

1.5 Resposta terapêutica

Para avaliar qualquer teste, é necessário usar o padrão-ouro como parâmetro. No caso da DGH, isso se mostra difícil de definir (TILLMANN *et al.*, 1997). Entretanto, alguns autores têm sugerido que uma boa resposta terapêutica seja uma referência segura de que a deficiência hormonal provavelmente exista (BAKKER *et al.*, 2008; RANKE, 2013).

É sólida a informação de que a determinação da resposta terapêutica com rhGH é o parâmetro mais importante na monitorização da criança com DGH. O aumento da altura e a alteração na VC são úteis na prática clínica para avaliar essa resposta (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000). Experiências clínicas mostram que existe uma variabilidade considerável na resposta à terapia com rhGH em crianças com BE, usando o esquema de dosagem padrão baseado no peso (0,1 UI/kg/dia) (BLETHEN *et al.*, 1997; CAREL *et al.*, 2002). Pacientes com DGH grave têm maior sensibilidade e responsividade à terapia com rhGH do que pacientes com deficiência leve ou parcial. Esta variação na responsividade é demonstrada na prática clínica, uma vez que indivíduos severamente deficientes em GH (pico GH < 3 ng/mL) têm respostas de crescimento superior em comparação com casos mais leves (pico de GH entre 3 e 10 ng/mL) (BANG *et al.*, 2011). Observa-se com essa informação que os valores dos picos de GH nos testes de estímulo podem representar um fator de predição da resposta terapêutica (AL HERBISH *et al.*, 2016). A Figura 2 mostra a variação na resposta terapêutica ao rhGH em diferentes desordens do crescimento.



Fonte: Adaptado de AL HERBISH *et al.*, 2016.

Figura 2- Variação na resposta terapêutica ao rhGH em diferentes desordens do crescimento comparada com DGH grave.

Assim, reconhecer a resposta inadequada ao tratamento é de extrema importância, pois demanda ação imediata, tanto no sentido de modificar o tratamento quanto de revisar o diagnóstico de DGH. Infelizmente, não existe nenhum consenso internacional que defina de forma clara e precisa o que de fato seria uma resposta inadequada ao final do primeiro ano de tratamento com rhGH. Bakker *et al.* (2008) sugerem que o paciente com DGH com VC do primeiro ano de tratamento menor que -1 DP deverá ser taxado como respondedor ruim. De modo semelhante, Ranke *et al.* (2010) concluíram que uma baixa resposta ao tratamento também equivale a um ganho de altura < 0,4 DP em pacientes com DGH severa e ganho < 0,3 DP em pacientes com DGH parcial. O mesmo foi observado por Cohen *et al.* (2008), ratificando que o ganho de altura < 0,3 a 0,5 DP define uma resposta terapêutica inadequada.

A DGH propriamente dita deixou de ser a razão maior da indicação do tratamento, vide as indicações de tratamento já aprovadas na Síndrome de Turner, Prader-Willi, Noonan, na restrição do crescimento associada à insuficiência renal crônica e em crianças que nasceram pequenas para idade gestacional (PIG) e que não apresentaram recuperação do crescimento até os 4 anos de idade. Assim, a indicação em muitos centros passou a ser a BE 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 de estímulo, apesar das suas limitações, continuam sendo usados como critério decisivo para a indicação do tratamento com rhGH 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 (SEICK; BOGUSZEWSKI, 2003).

Apesar das conhecidas limitações e questionamentos quanto ao uso dos testes de estímulo de GH como determinante final de uma decisão clínica, e também da falta de definição de qual ponto de corte seria mais acurado, esses testes ainda representam uma ferramenta importante no diagnóstico de BE, na medida em que fornecem um dado pujante e que deve ser interpretado em conjunto com os achados clínicos, auxológicos, radiológicos e bioquímicos (GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000; SEICK; BOGUSZEWSKI, 2003). Ainda, considerando que a resposta no primeiro ano de tratamento se correlaciona com o benefício do mesmo em longo prazo (RANKE, 2013) e que o nível de pico de GH nos testes de estímulo possivelmente possuem um valor preditivo da resposta terapêutica (AL HERBISH *et al.*, 2016; WIT *et al.*, 2013), estabelecer um ponto de corte mais acurado seria de grande relevância, não só para a confirmação do diagnóstico de DGH clássica, mas também na seleção de pacientes com deficiência menos grave e que também se beneficiariam com o tratamento.

Dessa forma, reconhecendo o importante papel dos testes de estímulo de GH, o presente estudo objetivou estabelecer valores de sensibilidade, especificidade e acurácia dos diferentes pontos de corte para diagnóstico de DGH usados na prática clínica e mencionados na literatura, tanto no teste de tolerância à insulina quanto no da clonidina, além de identificar qual seria o melhor valor para confirmar o diagnóstico, levando-se em consideração a resposta terapêutica como parâmetro.

2 APLICABILIDADE CLÍNICA

Os testes de estímulo, apesar de estarem longe de serem ideais, permanecem como importante ferramenta, quando associados à criteriosa avaliação clínica, no diagnóstico de crianças com DGH e continuam sendo o padrão-ouro para a decisão clínica sobre tratamento com rhGH em todo o mundo (ROSE, 2007). De fato, 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 rhGH, devem ser os princípios que norteiam a decisão do especialista.

Portanto, a aplicabilidade de nosso estudo seria justamente a de trazer mais segurança aos médicos que lidam com esta doença, fornecendo-lhes uma ferramenta diagnóstica com pontos de corte mais acurados, reproduzíveis e uniformes. Mais que isso, nosso estudo poderá ser o embasamento teórico fundamental para uma possível proposta de modificação do ponto de corte utilizado pelo Ministério da Saúde para liberar a medicação, pois a acurácia do ponto de corte que encontramos foi baseada na seleção de pacientes que certamente se beneficiaram com o tratamento, independentemente se apresentavam DGH por uma causa conhecida ou DGHI. Dessa forma, nossos resultados contribuiriam para a otimização dos gastos públicos com o fornecimento do rhGH, atendendo ao princípio básico do emergente conceito de farmacoeconomia.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar os picos de GH nos testes de estímulo com insulina e clonidina em pacientes com diagnóstico de baixa estatura acompanhados no Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto, Belém-PA.

3.2 Específicos

1- Definir pontos de corte do pico de GH mais sensíveis, específicos e acurados no diagnóstico de DGH, sob o estímulo do TTI e do teste da clonidina, utilizando a abordagem da curva ROC.

2- Estimar valores de sensibilidade, especificidade e acurácia para os diferentes pontos de corte de pico de GH usados para o diagnóstico de DGH e praticados na literatura, sob o estímulo do TTI e do teste da clonidina, comparando esses valores com os obtidos com a curva ROC.

3- Comparar a eficácia do TTI e do teste da clonidina no diagnóstico de crianças com baixa estatura por DGH.

4 MÉTODO

4.1 Desenho do estudo

Estudo retrospectivo e de caráter observacional, composto por dois grupos:

- 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.
- Não-DGH: pacientes que não preencheram o critério de confirmação diagnóstica de DGH ou que foram diagnosticados como BEF ou ACCP.

4.2 População estudada

Crianças e adolescentes em investigação de BE atendidos no ambulatório de endocrinologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB) de fevereiro de 2003 até julho de 2016. Os pacientes que ainda estavam em acompanhamento durante o andamento do estudo foram seguidos e tiveram seus registros atualizados até o término desse período. Participaram desta pesquisa 62 indivíduos.

4.3 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 dos pais), em acompanhamento no serviço ambulatorial de endocrinologia no HUIBB;
- 2- Pacientes que tenham sido submetidos a pelo menos um teste de estímulo para GH na investigação do diagnóstico de baixa estatura;
- 3- Pacientes em estágio pré-puberal;
- 4- Pacientes que estavam fazendo uso de rhGH teriam que apresentar um período de seguimento mínimo de seis meses;

- 5- 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.

4.4 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 cujos responsáveis não estejam de acordo com o TA;
- 4- Pacientes com diagnóstico de doenças sistêmicas crônicas ou síndromes genéticas como causas da BE.

4.5 Coleta de dados

Os dados foram coletados nos 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. Os pacientes que ainda estavam em acompanhamento durante o andamento do estudo foram seguidos e tiveram seus registros atualizados até o término desse período. Adicionalmente, outras causas de baixa estatura, como hipotireoidismo, doenças sistêmicas crônicas, síndrome de Turner, osteopatias, foram descartadas.

Antes de qualquer análise dos dados do estudo, os responsáveis dos pacientes estavam cientes do conteúdo da pesquisa e respaldados com a assinatura do TCLE e/ou TA em duas vias originais. Todas as dúvidas dos pacientes e responsáveis foram previamente esclarecidas pelo pesquisador responsável, sendo que uma via do TCLE ficou com o paciente e a outra via ficou arquivada com o pesquisador do estudo. Os pacientes que preencheram a todos os critérios de inclusão e não tiverem nenhum critério de exclusão, tiveram seus dados incluídos no estudo.

Assim, foram incluídos no estudo pacientes que possuíam ≤ -2 DP de altura para idade e sexo e/ou ≤ -1 DP para estatura alvo e que tivessem realizado ao menos um teste de estímulo de GH, TTI ou teste da clonidina.

Constituíram parte da análise os seguintes dados de cada paciente: altura, altura alvo, idade cronológica, idade óssea, DP (desvio-padrão) de altura, DP médio de altura, DP de altura alvo, DP médio 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 por Estadiômetro Harpende, assim como a altura de seus pais. 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 ng/mL, o TSH em mUI/L, FSH e LH em mUI/mL e os demais em ng/dl.

Além dos dados descritos acima, os resultados dos testes de estímulos (TTI e teste da clonidina) também foram analisados e constituíram o foco principal da pesquisa. Os pacientes foram submetidos a pelo menos um dos testes de estimulação de GH: 48 pacientes foram submetidos ao TTI, 45 ao teste de clonidina e 29 a ambos os testes. Estes 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. O ensaio laboratorial padronizado no HUIBB e utilizado para a dosagem de GH nos testes foi a quimioluminescência com anticorpos monoclonais.

Foi considerado como paciente portador de DGH aquele que apresentou um acréscimo de pelo menos 0,3 DP (Índice Z) na altura ao final de um ano de tratamento com rhGH ou ganho proporcional em um tempo mínimo de seis meses (BAKKER *et al.*, 2008; COHEN *et al.*, 2008). Os pacientes que apresentavam um período de acompanhamento em uso de GH menor que seis meses foram acompanhados durante o período de realização do estudo até alcançarem seis meses de seguimento. Os pacientes que foram diagnosticados inicialmente como DGH, mas não obtiveram o ganho estatural estabelecido como corte no primeiro ano de tratamento, foram considerados como baixa estatura por outras causas e incluídos no grupo não-DGH. Com base nessa classificação, foram definidos os valores de sensibilidade, especificidade, valores preditivos, razão de verossimilhança e acurácia dos pontos de corte 3, 5, 7 e 10 ng/mL no TTI e no teste de clonidina. Foram definidos também os valores e os instantes em que se observaram os picos máximos de GH em ambos os testes (0, 30, 60, 90 ou 120 minutos).

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

² TANNER, 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.

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).

Adicionalmente, com os dados obtidos, foi possível construir a curva ROC (*Receiver Operating Characteristics*) para definir qual seria o melhor ponto de corte de pico de GH após estímulo em ambos os testes estudados.

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 (a) | FN (b) | VP+FN (a+b) |
| Negativo | FP (c) | VN (d) | FP+VN (c+d) |
| Total | VP+FP (a+c) | FN+VN (b+d) | a+b+c+d=n |

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.

4.6 Análise estatística

Os dados referentes às características clínicas e epidemiológicas foram tratados utilizando estatística descritiva, expressos sob a forma de Média \pm Desvio Padrão, Intervalo de Confiança de 95% e/ou de frequências absoluta e relativa, conforme o caso, e apresentados em tabelas e/ou gráficos.

O teste *t* de Student para amostras independentes foi utilizado para comparação de médias de variáveis com distribuição normal em grupos diferentes e as médias de grupos relacionados foram comparadas pelo teste *t* de Student para amostras pareadas. O teste de

Mann-Whitney foi utilizado para a comparação de dois grupos independentes cujas variáveis não apresentaram distribuição normal e para a comparação de três ou mais grupos relacionados foi utilizada a Análise de Variância de Friedman.

A sensibilidade, a especificidade e acurácia para os pontos de corte previamente estabelecidos foram estimadas pelo *Screening test* (teste do Crivo). O melhor ponto de corte foi definido através do índice de Youden (J), correspondendo ao de maior valor na equação [(sensibilidade + especificidade) – 1] e, adicionalmente, foi construída uma *Receiver Operating Characteristic Curve* (curva ROC). O ponto de corte com máxima sensibilidade e especificidade na curva ROC foi definido como o menor valor da equação [(1 - sensibilidade)² + (1 – especificidade)²] e a acurácia foi estimada através da área sob a curva ROC. Os valores preditivos e as razões de verossimilhança também foram calculados a partir dos valores de sensibilidade e especificidade.

Todos os testes foram executados com o auxílio do software BioEstat 5.4 (AYRES *et al.*, 2008), e resultados com $p \leq 0,05$ (bilateral) foram considerados significativos.

5 RESULTADOS

O nosso grupo de estudo consistiu de 45 homens (72,6%) e 17 mulheres (27,4%), com uma idade média de $10,9 \pm 2,8$ anos. A estatura média observada foi de $125,8 \pm 14,5$ cm e a média de peso foi igual a $27,2 \pm 8,9$ kg.

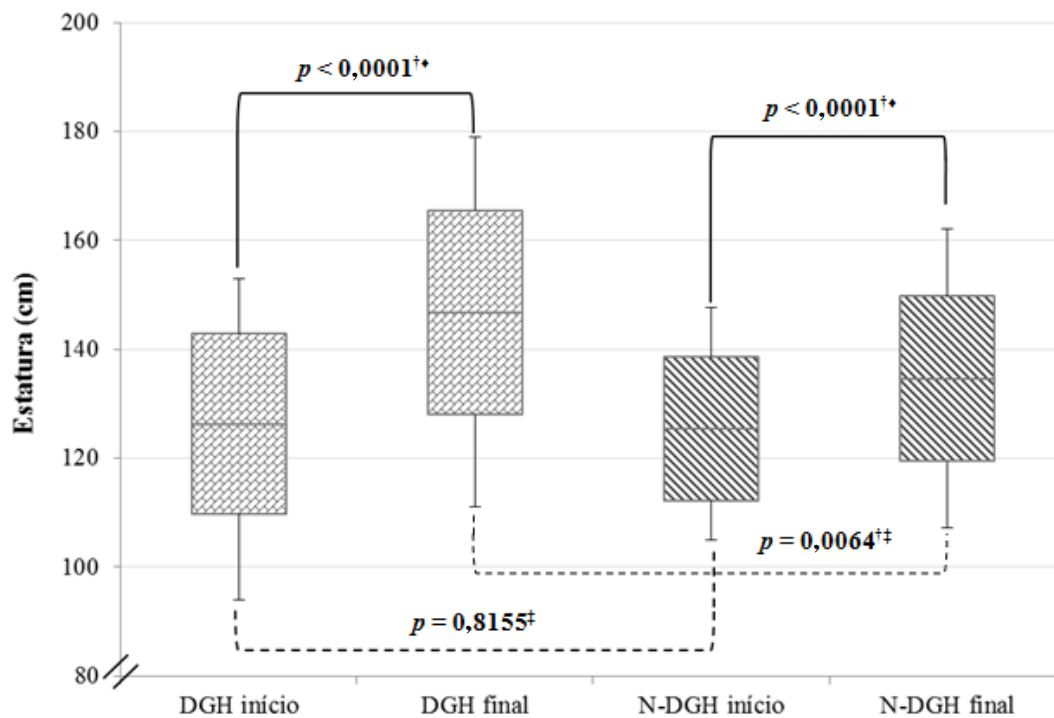
Considerando o critério de ganho de pelo menos 0,3 DP na altura ao final de um ano de tratamento com rhGH, 26 indivíduos (41,9%) receberam a confirmação diagnóstica de DGH, sendo que apenas 2 (7,7%) apresentavam alteração à RM. Dentre os 36 pacientes (58,1%) sem DGH, nove (25%) fizeram uso de GH sem obter resposta efetiva com o tratamento, enquanto que 27 (75%) foram diagnosticados como portadores de BEF ou ACCP.

A idade cronológica e a estatura mensuradas no início e ao final do seguimento são apresentadas na Tabela 3. Quando comparadas as médias de estatura do início e final do seguimento nos grupos DGH e Não-DGH se observou aumento da estatura em ambos os grupos ($p < 0,0001$). Apesar de possuírem inicialmente estaturas médias semelhantes ($p = 0,8155$) e obterem ganho de estatura ao final do acompanhamento, este foi maior no grupo DGH quando comparado ao grupo com BE por outras causas ($20,5 \pm 14,8$ cm vs. $9,2 \pm 6,7$ cm, respectivamente; $p = 0,0064$). Em relação ao DP da altura, o grupo DGH apresentou menores valores no início do tratamento e obteve ganho ao final do estudo. Este ganho não ocorreu no grupo com BE por outras causas (não-DGH). A Figura 3 ilustra a comparação da estatura inicial e final em cada um dos grupos de estudo.

Tabela 3 - Características clínicas dos pacientes incluídos no estudo de acordo com o diagnóstico.

| Característica | DGH (n = 26) | | Não-DGH (n = 36) | | p-valor |
|--------------------------------|------------------|------------------|---------------------|------------------|--------------------|
| | Inicial | Final | Inicial | Final | |
| Idade cronológica ^a | $10,2 \pm 2,7$ | $13,0 \pm 2,7$ | $11,3 \pm 2,8$ | $13,7 \pm 3,0$ | $< 0,0001^\dagger$ |
| Estatura ^b | $126,3 \pm 16,5$ | $146,8 \pm 18,8$ | $125,4 \pm 13,2$ | $134,6 \pm 15,1$ | $< 0,0001^\dagger$ |
| DP estatura | $-2,22 \pm 1,75$ | $-1,28 \pm 1,74$ | $-3,03 \pm 1,24$ | $-2,92 \pm 1,11$ | $< 0,001^*$ |

[†]Estatisticamente significativo (inicial vs. final dentro de cada grupo). *Estatisticamente significativo (inicial vs. final dentro do grupo DGH). ^aem anos. ^bem cm.



†Estatisticamente significativo. *Teste t de Student para amostras relacionadas. ‡ Teste t de Student para amostras independentes. N-DGH: Não-DGH.

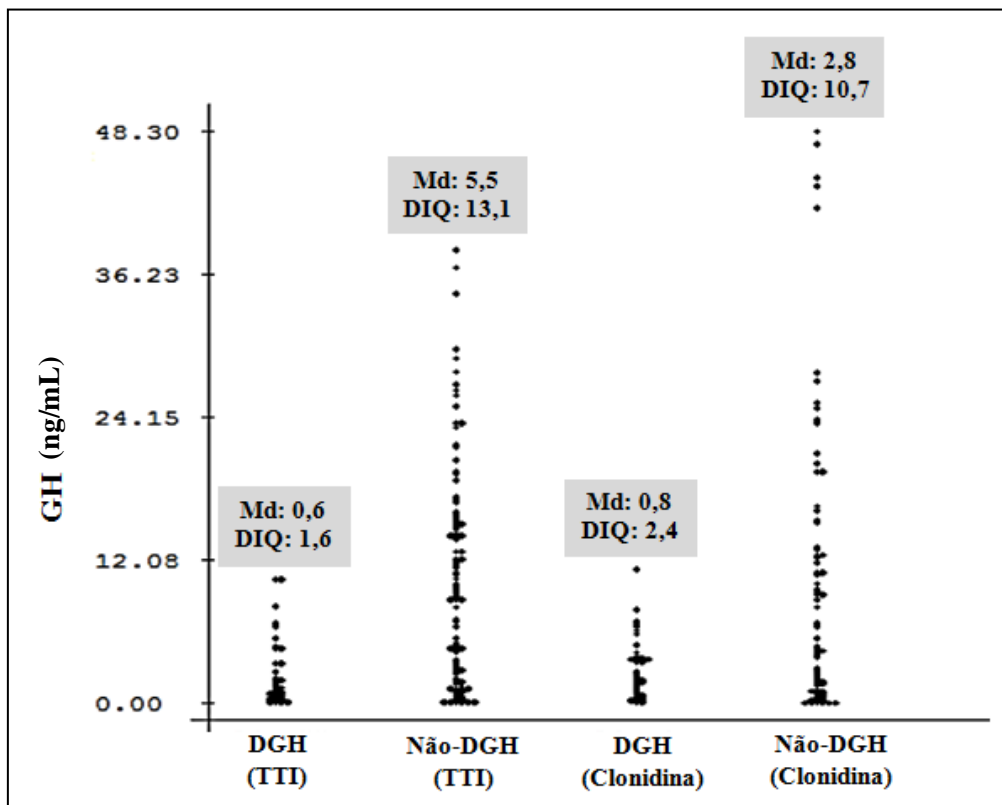
Figura 3 - Comparação da estatura de crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura, de acordo com o grupo e o momento de tomada das medidas.

Foram avaliadas a sensibilidade, especificidade e acurácia para os quatro pontos de corte pré-estabelecidos de picos de GH no TTI e no teste da clonidina (Tabela 4). Não foi observada superioridade de um teste sobre o outro.

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

| Picos de GH | TTI | | | Teste da Clonidina | | |
|-------------|---------------|----------------|----------|--------------------|----------------|----------|
| | Sensibilidade | Especificidade | Acurácia | Sensibilidade | Especificidade | Acurácia |
| ≤ 3 ng/mL | 42% | 85% | 68% | 52% | 91% | 74% |
| ≤ 5 ng/mL | 73% | 78% | 76% | 68% | 75% | 72% |
| ≤ 7 ng/mL | 89% | 75% | 80% | 84% | 66% | 74% |
| ≤ 10 ng/mL | 94% | 67% | 78% | 89% | 62% | 74% |

Ao avaliarmos a distribuição do pico mediano de GH de acordo com o grupo e o teste (Figura 4), nota-se que este foi menor no grupo DGH tanto no teste da clonidina (0,6 vs. 5,5; $p < 0,0001$) quanto no TTI (2,4 vs. 2,8; $p < 0,0001$).

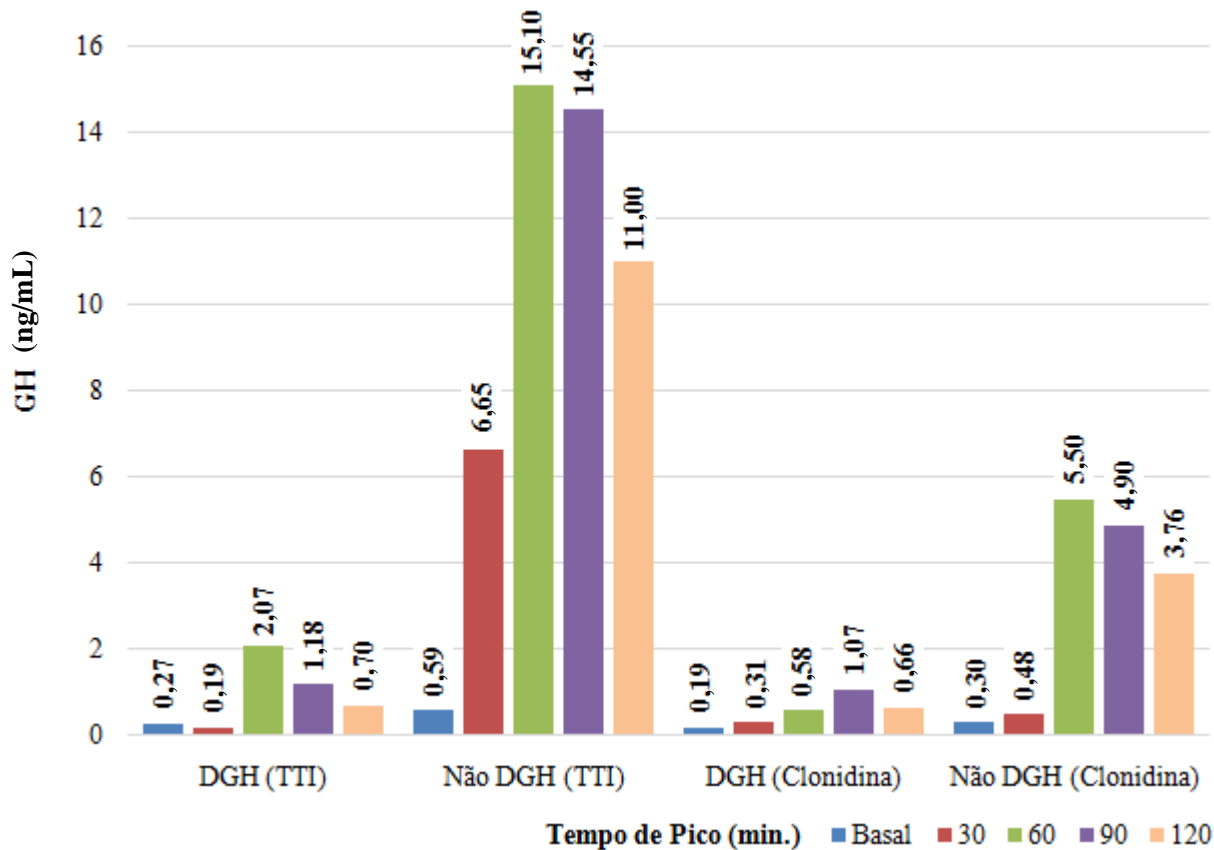


DGH vs. Não-DGH: $p < 0,0001^\dagger$ (TTI); $p < 0,0001^\dagger$ (Clonidina). † Estatisticamente significativo. DGH: deficiência de hormônio do crescimento. Não-DGH: baixa estatura por outras causas. GH: hormônio do crescimento.

Figura 4 – Distribuição dos picos de GH nos testes de estímulo realizados por crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura, de acordo com o grupo e o teste.

Dentre os pacientes com diagnóstico de DGH, o pico mediano no teste da clonidina, considerando o tempo zero (0,19 ng/mL), aumentou significativamente a partir de 60 até 120 minutos ($p < 0,05$), tendo sido observada diferença também entre os tempos 30 e 90 minutos (0,31 vs. 1,07 ng/mL). Quanto ao TTI, somente os picos apresentados nos tempos zero (0,27 ng/mL) e 60 minutos (2,07 ng/mL) foram diferentes entre si ($p < 0,05$) (Figura 5).

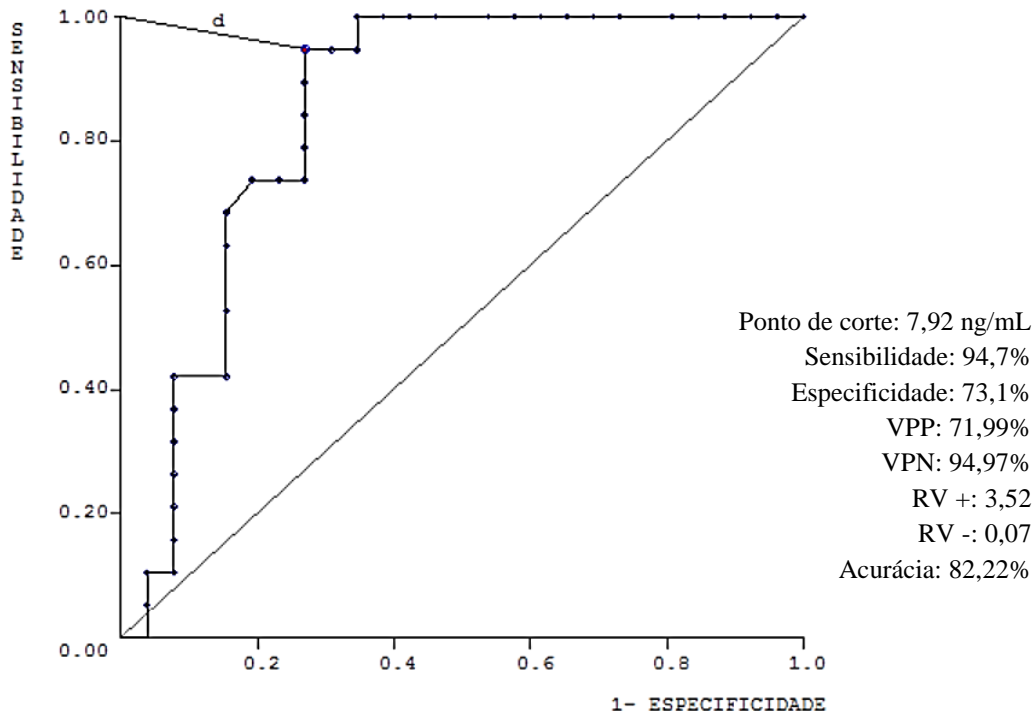
Em relação ao grupo Não-DGH no teste da clonidina, o pico no tempo zero (0,30 ng/mL) foi significativamente inferior aos picos em 60 minutos (5,50 ng/mL) e 90 minutos (4,90 ng/mL) ($p < 0,05$). No segundo teste, ambos os picos em 60 minutos (15,10 ng/mL) e 90 minutos (14,55 ng/mL) foram superiores aos picos nos tempos zero (0,59 ng/mL) e 30 minutos (6,65 ng/mL) ($p < 0,05$) (Figura 5).



Comparações significativas: DGH (clonidina, $n = 12$): 0 vs. 60, 0 vs. 90, 0 vs. 120 e 30 vs. 90 ($p < 0,05$). DGH (TTI, $n = 23$): 0 vs. 60 ($p < 0,05$). Não-DGH (clonidina, $n = 12$): 0 vs. 60, 0 vs. 90 e 30 vs. 90 ($p < 0,05$). Não-DGH (TTI, $n = 22$): 0 vs. 60, 0 vs. 90, 0 vs. 120, 30 vs. 90 e 30 vs. 120 ($p < 0,05$).

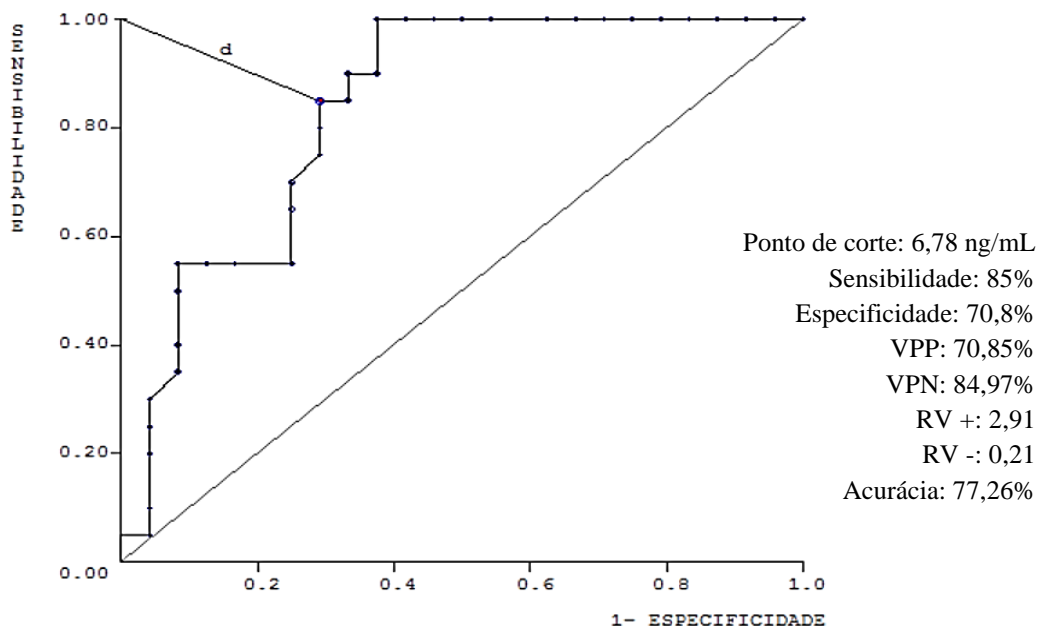
Figura 5 - Picos médios de GH e tempo de pico nos testes de estímulo realizados por crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura, de acordo com o grupo e o teste.

Em nosso estudo buscamos definir o melhor ponto de corte dos picos de GH nos testes de estímulo e para isso realizamos a análise da curva ROC. As Figuras de 6 e 7 ilustram as curvas ROC dos pontos de corte no TTI e no teste da clonidina, respectivamente, assim como os valores de sensibilidade, especificidade, valores preditivos, razões de verossimilhança e acurácia. O ponto de corte que melhor representou o equilíbrio entre a sensibilidade e a especificidade no TTI foi 7,92 mg/dl, enquanto que no teste da clonidina foi 6,78 ng/mL.



VPP = Valor Preditivo Positivo. VPN = Valor Preditivo Negativo. RV + = Razão de Verossimilhança positiva. RV - = Razão de Verossimilhança negativa.

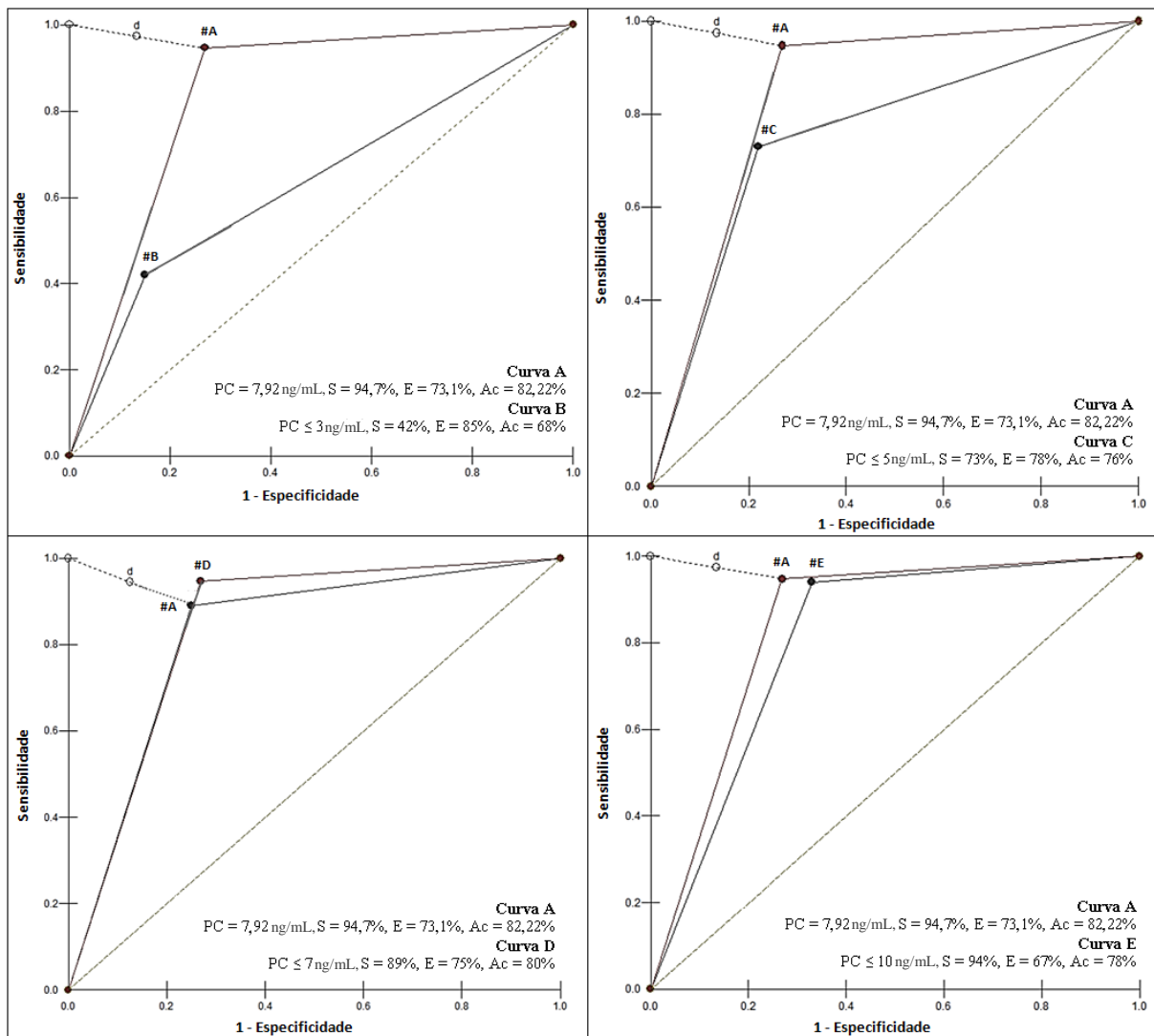
Figura 6 - Curva ROC de ponto de corte no Teste de Tolerância à Insulina (TTI) para o diagnóstico de Deficiência do Hormônio do Crescimento (DGH) em crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura.



VPP = Valor Preditivo Positivo. VPN = Valor Preditivo Negativo. RV + = Razão de Verossimilhança positiva. RV - = Razão de Verossimilhança negativa.

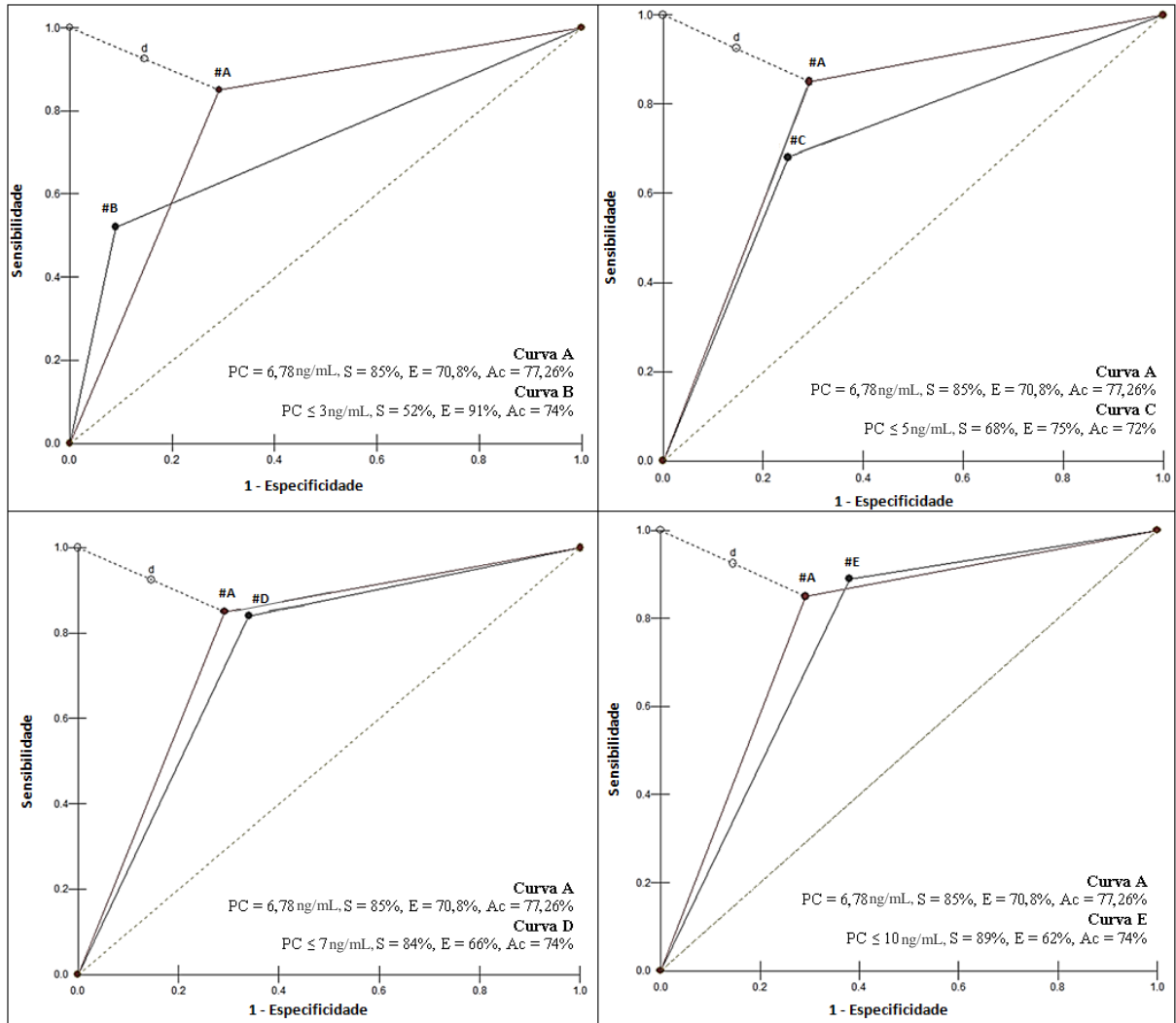
Figura 7 - Curva ROC de ponto de corte no Teste da Clonidina para o diagnóstico de Deficiência do Hormônio do Crescimento (DGH) em crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura.

As Figuras 8 e 9 ilustram a comparação, para ambos os testes diagnósticos, entre o melhor ponto de corte, calculado a partir dos dados obtidos no estudo, e os pontos de corte 3 ng/mL, 5 ng/mL, 7 ng/mL e 10 ng/mL, assim como os valores sensibilidade, especificidade e acurácia. Nota-se que a validade (acurácia) obtida a partir do cálculo dos pontos de corte foi maior em ambos os testes (TTI e clonidina), o que denota maior capacidade de determinar o verdadeiro valor da estimativa, ou seja, o pico de GH que separa corretamente pacientes DGH e não-DGH.



PC = Ponto de Corte. S = Sensibilidade. E = Especificidade. Ac = Acurácia.

Figura 8 - Curvas ROC do desempenho do Teste de Tolerância à Insulina (TTI) com diferentes pontos de corte para o diagnóstico de Deficiência do Hormônio do Crescimento (DGH) em crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura.



PC = Ponto de Corte. S = Sensibilidade. E = Especificidade. Ac = Acurácia.

Figura 9 - Curvas ROC do desempenho do Teste da Clonidina com diferentes pontos de corte para o diagnóstico de Deficiência do Hormônio do Crescimento (DGH) em crianças e adolescentes em investigação para baixa estatura.

6 DISCUSSÃO

Nossos dados sugerem que para o TTI o melhor ponto de corte para confirmar o diagnóstico de DGH foi 7,92 ng/mL. Quando o teste de clonidina foi utilizado, o nível de corte 6,78 ng/mL pareceu ser mais adequado. Adicionalmente, não foram observadas diferenças importantes na sensibilidade, especificidade e acurácia no que se refere ao poder de estímulo de ambos os testes.

Este é um estudo piloto que buscou demonstrar a sensibilidade, especificidade e acurácia dos diferentes pontos de corte mencionados na literatura como sendo adequados para o diagnóstico de DGH, assunto amplamente debatido e ainda alvo de muitas controvérsias. Além disso, e principalmente, o presente estudo buscou encontrar o ponto de corte mais adequado para ser usado no TTI e no teste da clonidina, partindo da análise da resposta terapêutica com rhGH, parâmetro este ainda pouco explorado na maioria dos estudos de referência.

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 (TILLMAN *et al.*, 1997). Os valores de corte do pico do GH ao estímulo variam nesses centros e geralmente são escolhidos arbitrariamente. Alguns autores defendem que em ensaios laboratoriais mais sensíveis (Imunofluorimétrico e Quimioluminescência) níveis maiores que 5 ng/mL já seriam considerados como resposta normal aos testes de estímulo, porém a maioria dos estudos aceita valores maiores que 7 ng/mL ou 10 ng/mL. A maior dificuldade na definição do ponto de corte 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. Essa descrição se enquadra na definição de BEI.

Muitos estudos que avaliaram a precisão dos testes consideraram apenas a concentração de GH para dar o diagnóstico e determinar se os testes eram precisos ou não; não consideraram, portanto, o crescimento das crianças. Assim, se as concentrações de GH ficavam abaixo de um nível de corte pré-estabelecido, o teste era considerado positivo (não responsivo) e a criança deficiente de GH. Na situação oposta, mesmo com BE e quadro clínico semelhante, porém com níveis de GH acima do nível de corte (teste responsivo), a criança era considerada não deficiente. Como nesses estudos o crescimento posterior da criança não é descrito, não há a

demonstração de que as crianças deficientes não cresceram e que as não deficientes cresceram e ficaram com altura adequada para o seu potencial genético. Fica a dúvida se os testes e os pontos de corte utilizados eram realmente precisos para determinar quem iria crescer adequadamente.

Tillman *et al.* (1997) concluíram que o teste de estímulo de GH com pico > 10 ng/mL foi o critério isolado mais útil para excluir o diagnóstico de DGH. Em contrapartida, De Paula e Czepielewski (2008) comentaram em seu artigo de revisão que o ponto de corte de 10 mg/mL produz número extremamente elevado de falsos-positivos (46,1%) nos testes de estímulo com clonidina, e especificidade relativamente baixa, entre 54,3% a 77,1%. Neste mesmo artigo, os autores recomendam que o diagnóstico deve ser firmado e o tratamento instituído quando crianças apresentarem dois testes de estímulo com resposta inferior a 5 ng/mL, quando utilizado ensaio quimioluminescente monoclonal para medida do GH.

A análise do banco de dados do *Kabi International Growth Study* (KIGS) de 16.327 crianças com DGH demonstrou que o grupo de pacientes com resposta aos testes de estímulo > 10 ng/mL apresentou crescimento igual ao grupo de pacientes com resposta entre 5 e 10 ng/mL. A melhor VC e o melhor ganho de altura durante todo o tratamento só foi maior no grupo com pico até 5 ng/mL e nos pacientes com pan-hipopituitarismo (TAUBER, 2007). Esse achado parece reforçar a possível utilização de critérios diagnósticos inapropriados, entre os quais o do ponto de corte do pico de GH ao teste de estímulo. Observamos então, que o ponto de corte de 10 ng/mL apresenta limitações relevantes, apesar de usualmente ser aceito e recomendado na literatura (DRAKE *et al.*, 2001; GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000).

Outro aspecto a ser considerado, é a existência de 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”, como dito anteriormente, é arbitrário (≤ 3 ng/mL, ≤ 5 ng/mL, ≤ 7 ng/mL ou ≤ 10 ng/mL) e não leva em consideração o tipo de teste farmacológico, o ensaio utilizado, idade, adiposidade, estágio puberal. O método para dosagem do GH e os testes de estímulo que utilizamos em nossa pesquisa estão de acordo com o recomendado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2010). Como a secreção de GH também é influenciada pelo desenvolvimento puberal, sendo o pico de GH em resposta aos testes de estímulo inferior em crianças pré-púberes

(GROWTH HORMONE RESEARCH SOCIETY, 2000), estar num estágio pré-puberal foi um importante critério de inclusão em nossa pesquisa, com o objetivo de uniformizar os resultados.

Em nosso estudo, avaliamos a sensibilidade, especificidade e acurácia dos pontos de corte mais usados para confirmação de DGH na literatura, tanto aplicando o teste da clonidina como o TTI. Encontramos que, dentre estes valores arbitrários, o mais acurado foi o ponto de corte ≤ 7 ng/mL (80%) no TTI. Já no teste de clonidina, a acurácia foi semelhante em todos os pontos de cortes estudados (74%), havendo superioridade do ponto de corte ≤ 3 ng/mL se levarmos em consideração sua especificidade (91%), muito superior à de todos os outros valores, sendo este o principal parâmetro de escolha de um teste diagnóstico em doenças incomuns (GOULART; CHIARI, 2007). Entretanto, a sensibilidade do ponto de corte ≤ 3 ng/mL ficou aquém do ideal, com risco grande de subdiagnóstico. Os nossos valores de acurácia dos diferentes pontos de corte estão de acordo com os encontrados por Martínez *et al.* (2000) e Tillman *et al.* (1997).

Com o objetivo de uma melhor avaliação de desempenho dos testes de estímulo de GH, fizemos uso da análise ROC, útil para validar testes diagnósticos e determinar pontos de cortes mais acurados. Essa análise supõe a existência de um indicador confiável de que a doença realmente existe, para que possa ser usado como parâmetro de comparação. Em pesquisa clínica, entretanto, o padrão-ouro é muitas vezes difícil de estabelecer. Essa dificuldade é particularmente significativa em pacientes com BE, cujo diagnóstico preciso é habitualmente baseado na associação de diferentes critérios (clínicos, auxológicos, radiológicos e bioquímicos), incluindo o teste de estímulo de GH. Em nosso estudo, o padrão de referência utilizado foi o acréscimo de altura final após um ano de tratamento, tendo sido classificado como DGH o paciente que obteve o ganho de altura de pelo menos 0,3 DP.

Chaler *et al.* (2006) usaram a pontuação de DP da VC do primeiro ano de tratamento com rhGH como marcador biológico para confirmar o diagnóstico de DGH nos testes de estímulo com clonidina e arginina. Esse estudo usou um limiar de 1,91 SD para classificar os pacientes e encontrou o nível de corte de 5,4 ng/mL como sendo o mais acurado. Em contrapartida, Bryant *et al.* (2007) discutiram em seu artigo que a altura final tem sido considerada o melhor indicador de eficácia do tratamento com rhGH na promoção do crescimento, devido à variação natural na VC. Com base nessas informações e considerando que a maioria dos pacientes do nosso estudo não apresentavam alterações fenotípicas e de imagem, optamos por usar o DP do ganho de altura após um ano de tratamento em detrimento do DP da VC, diferentemente do proposto por Chaler *et al.* (2006) em sua pesquisa.

Ainda não há na literatura uma recomendação formal e clara do que seria a definição de uma resposta terapêutica satisfatória. Bakker *et al.* (2008) e Cohen *et al.* (2008) sugerem em seus estudos que o melhor parâmetro para caracterizar a não responsividade ao tratamento com rhGH em pacientes com DGH seria o ganho de altura menor que 0,3 a 0,5 DP ao final do primeiro ano de tratamento, estando de acordo com o critério usado em nosso estudo para classificar os pacientes e proceder nossa avaliação.

Com a construção da curva ROC, considerando o pico de GH no teste da clonidina, encontramos uma taxa de falso-positivo (FP) com pico de GH ≤ 10 ng/mL, o ponto de corte mais tradicionalmente usado na literatura. A melhor acurácia do teste da clonidina foi obtida usando o pico de GH $\leq 6,78$ ng/mL como ponto de corte (FP de 29,2%). Já no TTI, a taxa de FP foi de 33% com pico ≤ 10 ng/mL e o ponto de corte mais acurado foi o pico $\leq 7,92$ ng/mL (FP de 26,9%). No estudo de De Paula (2007), a taxa de falso-positivo no teste da clonidina foi de 46,1% com o nível de corte de 10 ng/mL. Nesse mesmo estudo, o autor sugeriu o valor de 4 ng/mL como ponto de corte, tanto no teste da clonidina como no TTI, divergindo dos nossos achados, porém, o padrão-ouro considerado pelo autor para construção da curva ROC foi um conjunto de variáveis clínicas e laboratoriais, não incluindo a resposta terapêutica ao rhGH. De qualquer forma, pudemos observar que o ponto de corte ≤ 10 ng/mL de fato produz um número mais elevado de falso-positivos, sendo picos menores cada vez mais recomendados. Sendo assim, consegue-se evitar um maior número de diagnósticos desnecessários de uma doença de tratamento prolongado e, de certa forma, estigmatizante. Soma-se a isto, o fato do rhGH ser uma medicação de alto custo e que, diante da situação econômica precária de nosso país e da crescente importância dada a uma nova área de estudo chamada farmacoeconomia, torna-se imprescindível conciliar as necessidades terapêuticas com as possibilidades de custeio.

Por outro lado, o uso de testes com baixa sensibilidade também preocupa, uma vez que gera muitos falsos-negativos (FN), resultando na perda de oportunidade de diagnóstico de uma doença tratável que, no caso da DGH, implicaria num crescimento insatisfatório com risco de grande e irreversível impacto psicossocial na vida da criança. Em nosso estudo, mesmo com o diagnóstico de DGH, alguns pacientes obtiveram picos de resposta maiores que os níveis de corte de cada teste (FN), sendo três indivíduos no teste da clonidina e um no TTI, representando 15% e 5,3% dos submetidos aos testes, respectivamente. Observamos com isso, que mesmo usando pontos de corte menores do que o de 10 ng/mL, a sensibilidade se manteve alta com a consequente ocorrência de poucos casos de FN em nossa pesquisa.

O estudo de Kohara, Lacerda e Sandrini (1990) demonstrou a dificuldade para determinar a DGH como causa da BE e da diminuição da VC baseando-se apenas nos resultados

dos testes de estímulo usando o ponto de corte ≤ 10 ng/mL (FP 33,3% e FN 36,7%). Mais uma vez, fica evidente a necessidade de estabelecer e recomendar pontos de cortes menores, tais quais encontramos em nosso estudo.

Portanto, o ponto de corte que recomendamos é aquele que apresentou a maior acurácia, usando a abordagem da curva ROC. Nessa abordagem, o valor encontrado é o equilíbrio entre sensibilidade e especificidade. No TTI, a sensibilidade do ponto de corte de 7,92 ng/mL foi de 94,7%, a especificidade de 73,1% e a acurácia de 82,2%. Já no teste da clonidina, a sensibilidade do ponto de corte de 6,78 ng/mL foi de 85%, a especificidade de 70,8% e a acurácia de 77,3%. A razão de verossimilhança encontrada com a análise ROC em ambos os testes de estímulo ratifica o aumento da probabilidade de ocorrer doença para além da probabilidade pré-teste. Avaliando-se a sensibilidade e a especificidade separadamente, observamos que o ponto de corte que encontramos não é o mais sensível e nem o mais específico dentre os valores citados na literatura, mas justificamos sua recomendação baseada na acurácia, que é a proporção de acertos. A DGH é uma doença importante, mas tratável, com a possibilidade de haver consequências graves na identificação tanto de FP quanto de FN, conforme já discutido. A constatação dessas características é fundamental para entender a escolha da acurácia como melhor parâmetro para determinar o melhor ponto de corte a ser usado.

Observa-se que a perda de performance da especificidade foi mais notória do que a da sensibilidade, implicando em um maior número de FP. Entretanto, o diagnóstico de DGH não é mais estigmatizante do que a existência da BE por si só. O desdobramento de um FP seria a instituição do tratamento em uma criança com BE por outras causas e isso não seria considerado algo deletério do ponto de vista individual, devido a sua segurança e, principalmente, às chances reais de uma boa resposta terapêutica mesmo que não haja a DGH (LONGUI, 2008). De modo geral, a BEI representa cerca de 80% dos casos de pacientes com BE que procuram atendimento médico, sendo o uso terapêutico do rhGH liberado para esse quadro pelas agências reguladoras americana e brasileira *Food and Drug Administration* (FDA) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), respectivamente (AL HERBISH *et al*, 2016; LONGUI, 2008). Dados da literatura colaboram para essa indicação, pois a taxa de resposta satisfatória com o tratamento específico chega a 60-70% (BANG *et al.*, 2011). No quadro abaixo (Quadro 4) estão listadas as condições em que se enquadra o uso isolado da sensibilidade ou da especificidade como principal parâmetro a ser considerado na avaliação de um teste diagnóstico e se discute sua aplicabilidade na DGH. A análise do quadro em questão, somado ao que já foi discutido, demonstra a importância em se obter o equilíbrio entre essas duas variáveis quando se tratar de DGH.

Quadro 4 – Condições clínicas para a predileção da sensibilidade ou da especificidade e aplicabilidade na DGH

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

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

Fonte: Adaptado de GREENHALGH, 1997.

Nos últimos anos o Ministério da Saúde aumentou o rigor na elegibilidade do paciente candidato a receber o tratamento com rhGH subsidiado pelo governo, quando modificou seu ponto de corte de 7 para 5 ng/mL a partir de 2010 (BRASIL, 2010). Na Austrália, um país de referência no estudo de desordens do crescimento, existe um programa de tratamento com rhGH que é subsidiado pelo governo. Ele difere significativamente da maioria dos outros programas de dispensação de rhGH ao redor do mundo. A diferença mais notável é o uso extensivo da avaliação auxológica. Os pacientes que recebem o rhGH subsidiado pelo governo australiano precisam ter BE com DGH bioquimicamente comprovada, cujo critério é o pico de GH $\leq 3,3$ ng/mL em resposta a dois testes de estímulo ou um teste e outras evidências clínicas de DGH, ou simplesmente apresentar o critério auxológico, altura menor que o percentil 3 (gráfico CDC, Centros de Controle e Prevenção de Doenças, do inglês *Centers of Disease Control and Prevention*) ou VC menor que o percentil 25 para idade óssea e sexo, sendo enquadrados neste caso como portadores de BEI (HUGHES *et al.*, 2012). Se por um lado o governo australiano utiliza um critério de pico de GH bastante rígido e pouco sensível, por outro, ele admite o

critério auxológico isoladamente para permitir a indicação mais abrangente e célere de rhGH quando comparados aos programas com base restrita nos testes de estímulo, como no caso do Brasil. Assim, essa divisão entre DGH bioquimicamente identificada e BEI é meramente acadêmica e conceitual, já que ambas as condições são contempladas no programa australiano, tendo importância para definir o incremento de dose de rhGH durante o tratamento e não para indicá-lo no princípio. Como o rigor do critério brasileiro não apresenta contrapartida, como ocorre na Austrália, seria prudente reavaliar o critério utilizado em nosso país e considerar a proposição de pontos de corte mais acurados.

Adicionalmente, verificamos com nossa pesquisa que o grupo classificado como DGH, de fato, apresentou um pico de GH significativamente menor do que a que ocorreu no grupo de BE por outras causas (não-DGH), em ambos os testes de estímulo. Isso demonstra que, apesar de muito criticados, os testes de estímulo são úteis para eleger quais são os pacientes sob maior risco de apresentar uma BE clinicamente importante, ratificando a existência da DGH. Destaca-se ainda o fato de que o grupo DGH de nosso estudo é composto principalmente por pacientes com DGHI (24/26; 92,3%), fazendo com que os pontos de corte obtidos sejam relevantes especialmente neste subgrupo de pacientes, cujo diagnóstico é mais difícil, e uma vez aplicados, esses pontos de corte contemplariam aqueles pacientes que provavelmente iriam se beneficiar do tratamento. Adicionalmente, tanto no grupo DGH quanto no não-DGH, observamos que o pico máximo de GH nos testes da clonidina e no TTI ocorreu nos instantes 60 e 90 minutos, resultado semelhante ao encontrado por Guo e Cheng (2013) e Ghigo *et al.* (1996).

Quanto às diferenças entre os dois testes utilizados no nosso trabalho, poucos estudos os comparam diretamente. Alguns autores consideram como padrão-ouro o TTI e o defendem por produzir uma resposta mais fisiológica (RODRIGUES; VIEIRA; MACIEL, 2004), enquanto outros afirmam que o teste da clonidina é mais sensível e bem tolerado do que o TTI (SEICK; BOGUSZEWSKI, 2003). Nossos resultados não demonstram diferença significativa em sensibilidade, especificidade e acurácia entre o teste de clonidina e o TTI para o diagnóstico de DGH.

Os dados do presente estudo, associados à revisão da literatura, confirmam a necessidade da modificação do ponto de corte do pico de GH para níveis diferentes dos usados nas pesquisas e na prática clínica. Estes costumam ser escolhidos de forma arbitrária e, como vimos, não representam o ponto de corte de maior acurácia. Adicionalmente, a não existência de uma recomendação formal atualizada de um ponto de corte que seja considerado o mais eficaz, faz com que os estudos tenham resultados bastante heterogêneos, com baixa

reprodutibilidade, comprometendo a validação destes testes como ferramenta diagnóstica isolada e justificando o fato dos mesmos serem tão criticados e alvos de tanta controvérsia. Buscando a eficácia e a uniformidade, nosso estudo apresentou como diferencial o uso do DP do ganho de altura no primeiro ano de tratamento com rhGH como parâmetro de referência. Assim, observamos que o ponto de corte de 7,92 ng/mL para o TTI e o de 6,78 ng/mL para o teste da clonidina se mostraram mais acurados no diagnóstico de DGH. Um outro diferencial de nosso estudo foi o fato de nosso grupo de DGH ser composto quase que na sua totalidade por casos de DGHI, cujo diagnóstico é mais difícil por não haver achados clínicos que colaborem para a confirmação da doença, aumentando a importância da comprovação bioquímica da deficiência mediante os testes de estímulo.

Como é de nosso conhecimento, o nosso trabalho foi o primeiro a usar o DP da altura final (índice Z) como parâmetro para validar o melhor ponto de corte de pico de GH para confirmar o diagnóstico de DGH, sendo este parâmetro o mais indicado para determinar a boa resposta terapêutica. Neste sentido, outros estudos devem ser realizados com o objetivo de ratificar nossos achados, o que traria maior segurança na comprovação diagnóstica de DGH e na indicação de seu tratamento específico.

7 CONCLUSÃO

1. Nossos dados sugerem que a partir da análise da resposta terapêutica, os pontos de corte para o pico de GH de 7,92 ng/mL e 6,78 ng/mL no TTI e no teste da clonidina, respectivamente, usando o ensaio quimioluminescência com anticorpos monoclonais, são os mais acurados para o diagnóstico de DGH.
2. O pico máximo de GH, tanto no TTI, quanto no teste da clonidina, foi maior nos instantes 60 e 90 minutos.
3. O TTI não se mostrou superior ao teste da clonidina, pois ambos apresentaram sensibilidade, especificidade e acurácia equivalentes, não justificando a escolha de um teste em detrimento do outro com base na eficácia.
4. A acurácia dos pontos de corte habitualmente usados na literatura foi inferior quando comparada à acurácia dos pontos de corte encontrados nesta pesquisa, para ambos os testes aplicados.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O nosso trabalho foi o primeiro a usar o DP da altura final (índice Z) como parâmetro para validar o melhor ponto de corte de pico de GH para confirmar o diagnóstico de DGH, sendo este parâmetro o mais indicado para determinar a boa resposta terapêutica. Assim, o uso dos nossos pontos de corte poderá representar uma ferramenta emergente na seleção de pacientes que provavelmente se beneficiariam do tratamento com rhGH, sendo eles DGH por uma causa conhecida ou mesmo DGHI.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, T.; BORCHERT, M.; GEFFNER, M. Optic nerve hypoplasia and hypopituitarism. **Pediatric endocrinology reviews : PER**, v. 5, n. 3, p. 772–7, mar. 2008.
- 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.
- ALBERTSSON-WIKLAND, K. *et al.* Analysis of 24-hour growth hormone profiles in healthy boys and girls of normal stature: relation to puberty. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 78, n. 5, p. 1195–1201, maio 1994.
- AYRES, M.; AYRES JR., M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. *BioEstat 5.4*. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. **Sociedade Civil de Mamirauá, Belém, PA**. 2008.
- 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.
- BANG, P. *et al.* A Comparison of Different Definitions of Growth Response in Short Prepubertal Children Treated with Growth Hormone. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 75, n. 5, p. 335–345, 2011.
- BAUMANN, G. Growth Hormone Heterogeneity: Genes, Isohormones, Variants, and Binding Proteins. **Endocrine Reviews**, v. 12, n. 4, p. 424–449, nov. 1991.
- BENONISDOTTIR, S. *et al.* Epigenetic and genetic components of height regulation. **Nature Communications**, v. 7, n. 13490, p. 1-10, nov. 2016.
- BLAIR, J. C. *et al.* Standard and low-dose IGF-I generation tests and spontaneous growth hormone secretion in children with idiopathic short stature. **Clinical endocrinology**, v. 60, n. 2, p. 163–8–2, fev. 2004.
- BLETHEN, S. L. *et al.* Adult Height in Growth Hormone (GH)-Deficient Children Treated with Biosynthetic GH. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 82, n. 2, p. 418–420, fev. 1997.
- BOGUSZEWSKI, C.L. Análise crítica dos testes para o diagnóstico da deficiência do hormônio de crescimento. In: Vilar L, Castelar E, Moura E, Leal E *et al* (Eds). **Endocrinologia Clínica**. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Medsi. 2001:137-42.

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.

BRYANT, J. *et al.* Recombinant growth hormone for idiopathic short stature in children and adolescents. In: BRYANT, J. (Ed.). . **Cochrane Database of Systematic Reviews**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2007. p. CD004440.

CAREL, J. C. *et al.* Pharmacological testing for the diagnosis of growth hormone deficiency. **Growth hormone & IGF research : official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society**, v. 8 Suppl A, p. 1–8, fev. 1998.

CAREL, J.-C. *et al.* Growth Hormone Testing for the Diagnosis of Growth Hormone Deficiency in Childhood: A Population Register-Based Study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 82, n. 7, p. 2117–2121, jul. 1997.

CAREL, J.-C. *et al.* Adult height after long term treatment with recombinant growth hormone for idiopathic isolated growth hormone deficiency: observational follow up study of the French population based registry. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 325, n. 7355, p. 70, 13 jul. 2002.

CHALER, E. A. *et al.* Differences in Serum GH Cut-Off Values for Pharmacological Tests of GH Secretion Depend on the Serum GH Method. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 66, n. 5, p. 231–235, 20 out. 2006.

CHANOINE, J. P. *et al.* Glucose, growth hormone, cortisol, and insulin responses to glucagon injection in normal infants, aged 0.5-12 months. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 80, n. 10, p. 3032–3035, out. 1995.

CLEMMONS, D. R. Consensus Statement on the Standardization and Evaluation of Growth Hormone and Insulin-like Growth Factor Assays. **Clinical Chemistry**, v. 57, n. 4, p. 555-559, 2011.

COHEN, P. *et al.* 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. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 93, n. 11, p. 4210–4217, nov. 2008.

DE GRAAFF, L. C. G. *et al.* Genetic screening of a Dutch population with isolated GH deficiency (IGHD). **Clinical Endocrinology**, v. 70, n. 5, p. 742–750, maio 2009.

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.

DE PAULA, L. P. DE; CZEPIELEWSKI, M. A. Avaliação dos métodos diagnósticos para deficiência de GH (DGH) na infância: IGFs, IGFBPs, testes de liberação, ritmo de GH e exames de imagem. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 5, p. 734–744, jul. 2008.

DRAKE, W. M. *et al.* Optimizing GH Therapy in Adults and Children. **Endocrine Reviews**, v. 22, n. 4, p. 425–450, ago. 2001.

FRASIER, S. D. A Review of Growth Hormone Stimulation Tests in Children. **Pediatrics**, v. 53, n. 6, 1974.

GHIGO, E. *et al.* Reliability of provocative tests to assess growth hormone secretory status. Study in 472 normally growing children. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 81, n. 9, p. 3323–3327, set. 1996.

GIOVENALE, D. *et al.* The prevalence of growth hormone deficiency and celiac disease in short children. **Clinical medicine & research**, v. 4, n. 3, p. 180–3, set. 2006.

GOULART, B. N. G. DE; 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, jun. 2007.

GREENHALGH, T. How to read a paper. Papers that report diagnostic or screening tests. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 315, n. 7107, p. 540–3, 30 ago. 1997.

GRIMBERG, A. *et al.* Guidelines for Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-I Treatment in Children and Adolescents: Growth Hormone Deficiency, Idiopathic Short Stature, and Primary Insulin-Like Growth Factor-I Deficiency. **Horm Res Paediatr**, p. 1-37, nov. 2016.

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.

GUIDELINES FOR THE USE OF GROWTH HORMONE IN CHILDREN WITH SHORT STATURE. Guidelines for the use of growth hormone in children with short stature. A report by the Drug and Therapeutics Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. **The Journal of pediatrics**, v. 127, n. 6, p. 857–67, dez. 1995.

GUIMARÃES, C. M. S. Exames de Laboratório: Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 18, n. 2, p. 117–120, 1985.

GUO, C.; CHEN, L. Diagnostic value of provocative test by insulin combined with clonidine for growth hormone deficiency in children. **Iranian journal of pediatrics**, v. 23, n. 3, p. 315–20, jun. 2013.

HAYMOND, M. *et al.* Early recognition of growth abnormalities permitting early intervention. **Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)**, v. 102, n. 8, p. 787–96, ago. 2013.

HOINEFF, C.; COLLETT-SOLBERG, P. Crescimento normal e alterado. In: LOPEZ, F. A, CAMPOS JUNIOR, D. **Tratado de Pediatria - Sociedade Brasileira de Pediatria**. 1ª Ed. São Paulo: Manole. 2007. p. 677-89.

HUGHES, I. P. *et al.* Growth hormone regimens in Australia: analysis of the first 3 years of

treatment for idiopathic growth hormone deficiency and idiopathic short stature. **Clinical endocrinology (Oxford)**, v. 77, n.1, p.62-71, jul. 2012.

KAPLAN, S. L. *et al.* Growth and Growth Hormone: I. changes in Serum Level of Growth Hormone Following Hypoglycemia in 134 children with Growth Rctardation. **Pediatric Research**, v. 2, n. 1, p. 43–63, jan. 1968.

KOHARA, S. K.; 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.

LINDSAY, R. *et al.* Utah Growth Study: growth standards and the prevalence of growth hormone deficiency. **The Journal of pediatrics**, v. 125, n. 1, p. 29–35, jul. 1994.

LONGUI, C. A. Uso de GH em pacientes com baixa estatura idiopática. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 5254, n. 21, 2008.

MARTÍNEZ, A. S. *et al.* Estrogen Priming Effect on Growth Hormone (GH) Provocative Test: A Useful Tool for the Diagnosis of GH Deficiency. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, n. 11, p. 4168–4172, nov. 2000.

MAURAS, N. Strategies for Maximizing Growth in Puberty in Children with Short Stature. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 38, n. 3, p. 613–624, set. 2009.

MAZZOLA, A. *et al.* Unreliability of classic provocative tests for the diagnosis of growth hormone deficiency. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 31, n. 2, p. 159–162, 22 fev. 2008.

MURRAY, P. G.; DATTANI, M. T.; CLAYTON, P. E. Controversies in the diagnosis and management of growth hormone deficiency in childhood and adolescence. **Arch Dis Child**, v. 1, n. 101, p. 96-100, dez. 2016.

NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH AND CARE EXCELLENCE. Human growth hormone (somatropin) for the treatment of growth failure in the treatment of growth failure in children. **Technology appraisal guidance**. Disponível em <<http://www.nice.org.uk/guidance/TA188>>. Publicado em 26 de maio de 2010.

OOSTDIJK, W. *et al.* Diagnostic Approach in Children with Short Stature. **Hormone Research**, v. 72, n. 4, p. 206–217, 2009.

OSORIO, M. G. F. *et al.* Pituitary Magnetic Resonance Imaging and Function in Patients with Growth Hormone Deficiency with and without Mutations in *GHRH-R*, *GH-1*, or *PROP-1* Genes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 87, n. 11, p. 5076–5084, nov. 2002.

POYRAZOĞLU, S. *et al.* Constitutional Delay of Growth and Puberty: From Presentation to Final Height. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 18, n. 2, p. 171–179, 2005.

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.

RANKE, M.B.; LINDBERG, A. KIGS International Board. Observed and predicted growth responses in prepubertal children with growth disorders: guidance of growth hormone treatment by empirical variables. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, p. 1229-1237, 2010.

REITER, E. O.; ROSENFELD, R. Williams textbook of endocrinology. In: **Larsen: Williams textbook of endocrinology**. 10^a. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2003. p. 1003–14.

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

ROSE, S. R. Growth hormone deficiency: Growth hormone tests and growth hormone measurements. In: RANKE, M. B.; PRICE, D. A.; REITER, E. O. (Eds). **Growth Hormone Therapy in Pediatrics-20 Years of KIGS**. Basel, Karger. 2007; 38-46.

ROSENFELD, R. G. *et al.* Diagnostic controversy: the diagnosis of childhood growth hormone deficiency revisited. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 80, n. 5, p. 1532–1540, maio 1995.

ROSENFELD, R. G. Insulin-like Growth Factors and the Basis of Growth. **New England Journal of Medicine**, v. 349, n. 23, p. 2184–2186, 4 dez. 2003.

SAVAGE, M. O.; BURREN, C. P.; ROSENFELD, R. G. The continuum of growth hormone-IGF-I axis defects causing short stature: diagnostic and therapeutic challenges. **Clinical Endocrinology**, v. 72, n. 6, p. 721–728, 29 dez. 2009.

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 & Metabologia**, v. 47, n. 4, p. 303–311, ago. 2003.

SHALET, S. M. *et al.* The Diagnosis of Growth Hormone Deficiency in Children and Adults. **Endocrine Reviews**, v. 19, n. 2, p. 203–223, abr. 1998.

SIZONENKO, P. C. *et al.* Diagnosis and management of growth hormone deficiency in childhood and adolescence. **Growth Hormone & IGF Research**, v. 11, n. 3, p. 137–165, jun. 2001.

SONG, A. K. *et al.* Serum IGF-I and IGFBP-3 in 919 Healthy Korean Children and Adolescents: Normal Values and Correlations with Age, Sex, Height, Body Mass Index and Bone Age. **J Korean Soc Pediatr Endocrinol**, v. 10, n. 1, p. 35–41, 2005.

SPADONI, G. L.; CIANFARANI, S. Bone Age Assessment in the Workup of Children with Endocrine Disorders. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 73, n. 1, p. 2–5, 2010.

TAUBER, M. Growth hormone testing in Kigs. In: RANKE, M. B; PRICE, D. A; REITER, E. O (Eds). **Growth hormone therapy in pediatrics – 20 years of Kigs**. Basel, Karger, 2007: 54-85.

TILLMANN, V. *et al.* Biochemical Tests in the Diagnosis of Childhood Growth Hormone

Deficiency. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 82, n. 2, p. 531–535, fev. 1997.

TONAKA, T. *et al.* Diagnosis and management of growth hormone deficiency in childhood and adolescence - Part 2: Growth hormone treatment in growth hormone deficient children. **Growth Horm IGF Res**, v.1, n. 12, p. 323-41, 2002.

WAGNER, I. V. *et al.* Clinical evidence-based cutoff limits for GH stimulation tests in children with a backup of results with reference to mass spectrometry. **Eur J Endocrinol**, v. 171, n. 3, p. 389–97, 2014.

WIT, J. M. *et al.* Idiopathic short stature: Definition, epidemiology, and diagnostic evaluation. **Growth Hormone & IGF Research**, v. 18, n. 2, p. 89–110, abr. 2008.

WIT, J. M.; RANKE, M. B.; KELNAR, C. J. H. **ESPE Classification of Paediatric Endocrine Diagnoses Espe Meeting, Helsinki, June-july 2007**. [s.l.] S Karger Pub, 2007.

WIT, J. M. *et al.* Personalized approach to growth hormone treatment: clinical use of growth prediction models. **Horm Res Paediatr**, v. 79, p. 257–70, 2013.

ZADIK, Z. *et al.* Reproducibility of Growth Hormone Testing Procedures: A Comparison between 24-hour Integrated Concentration and Pharmacological Stimulation. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 71, n. 5, p. 1127–1130, nov. 1990.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DA PESQUISA: “Avaliação dos picos de hormônio do crescimento nos testes de estímulo com insulina e clonidina em pacientes com diagnóstico de baixa estatura”.

NOME DOS PESQUISADORES: João Soares Felício, Carlliane Lima e Lins Pinto Martins, 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 (HUJBB).

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.

1. **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.
2. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores e o orientador terão conhecimento dos dados.
3. **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.
4. **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 “Avaliação dos picos de hormônio do crescimento nos testes de estímulo com insulina e clonidina em pacientes com diagnóstico de baixa estatura”.

Assinatura do Responsável

Belém, ___/___/_____

Assinatura do Pesquisador

Belém, ___/___/_____

Assinatura do Orientador

Belém, ___/___/_____

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

Pesquisadores:

Carlliane Lima e Lins Pinto Martins (91) 98116-1940

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.

APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DA PESQUISA: “Avaliação dos picos de hormônio do crescimento nos testes de estímulo com insulina e clonidina em pacientes com diagnóstico de baixa estatura”.

NOME DOS PESQUISADORES: João Soares Felício, Carlliane Lima e Lins Pinto Martins, 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 (HUJBB)/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 (HUJBB).

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.

1. **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.
2. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores e o orientador terão conhecimento dos dados.
3. **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.

4. **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:

Assentimento 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 na pesquisa “Avaliação dos picos de hormônio do crescimento nos testes de estímulo com insulina e clonidina em pacientes com diagnóstico de baixa estatura”.

_____ 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:

Carlliane Lima e Lins Pinto Martins (91) 98116-1940

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.

**APÊNDICE C – SOLICITAÇÃO DE ISENÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO
LIVRE E ESCLARECIDO**

**SOLICITAÇÃO DE ISENÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E
ESCLARECIDO**

TÍTULO DA PESQUISA: “Avaliação dos picos de hormônio do crescimento nos testes de estímulo com insulina e clonidina em pacientes com diagnóstico de baixa estatura”.

NOME DOS PESQUISADORES: João Soares Felício, Carlliane Lima e Lins Pinto Martins, Antônio Bentes de Figueiredo Júnior, Ana Luiza Prieto Farinassi

NOME DO ORIENTADOR: João Soares Felício

Ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB):

Vimos por meio deste documento solicitar a dispensa de obtenção de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) do projeto intitulado “Avaliação dos picos de hormônio do crescimento nos testes de estímulo com insulina e clonidina em pacientes com diagnóstico de baixa estatura” proposto por João Soares Felício para os participantes falecidos e/ou sem possibilidades de contato (sem acompanhamento regular na instituição, sem endereço residencial válido e/ou sem contato telefônico após pelo menos três tentativas frustradas), com base na Res. CNS 466/12 item IV.8 que contempla a dispensa do TCLE em situações de impossibilidade de obtenção do mesmo.

Ainda, a dispensa do uso de TCLE se fundamenta por ser um estudo de caráter retrospectivo, por se tratar de levantamento de dados junto aos prontuários, os quais serão mantidos em sigilo, sem adição de riscos aos participantes de pesquisas ou prejuízos ao bem-estar dos mesmos.

O investigador principal e demais colaboradores envolvidos no projeto acima se comprometem, individual e coletivamente, a utilizar os dados provenientes deste, apenas para os fins descritos e a cumprir todas as diretrizes e normas regulamentadoras descritas na Res. CNS N° 466/12, e suas complementares, no que diz respeito ao sigilo e confidencialidade dos dados coletados.

Belém, ____ de _____ de 2016.

João Soares Felício

Pesquisador Responsável

ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEP

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

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: 2

CAAE: 52465515.0.0000.0017

Instituição Proponente: Hospital Universitário João de Barros Barreto - UFPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.842.523

Apresentação do Projeto:

Emenda visa informar o acréscimo da pesquisadora Carlliane Lima Lins Pinto Martins, que participou da elaboração e na coleta de dados.

Objetivo da Pesquisa:

Informar o acréscimo de pesquisador.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Mantidos os aprovados no protocolo aprovado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Emenda adequada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

De acordo com as Resoluções vigentes.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda aprovada.

Considerações Finais a critério do CEP:

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

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: 1.842.523

Nacional de Saúde/MS.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|--------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_816347 E1.pdf | 26/10/2016 13:05:43 | | 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

BELEM, 29 de Novembro de 2016


Assinado por:

Kátia Regina Silva da Fonseca
(Coordenador)

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