

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Curso de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica

M E S T R A D O

Estudo das Variações do Hormônio Luteinizante,
Hormônio Folículo Estimulante e da Subunidade
Alfa Livre dos Hormônios Glicoprotéicos após
uso do Hormônio Liberador das Gonadotrofinas,
em Meninos Normais e Adultos com
Hipogonadismo Hipogonadotrófico

ALBERTO SCOFANO MAINIERI

Orientadora: Profa. Dra. Regina Helena Elnecape

Porto Alegre, 1996

Biblioteca
FAMILIAROSA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

**ESTUDO DAS VARIAÇÕES DO HORMÔNIO
LUTEINIZANTE, HORMÔNIO FOLÍCULO ESTIMULANTE
E DA SUBUNIDADE ALFA LIVRE DOS HORMÔNIOS
GLICOPROTÉICOS APÓS USO DO HORMÔNIO
LIBERADOR DAS GONADOTROFINAS, EM MENINOS
NORMAIS E ADULTOS COM HIPOGONADISMO
HIPOGONADOTRÓFICO**

ALBERTO SCOFANO MAINIERI

PORTO ALEGRE
1996

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

**ESTUDO DAS VARIAÇÕES DO HORMÔNIO
LUTEINIZANTE, HORMÔNIO FOLÍCULO ESTIMULANTE
E DA SUBUNIDADE ALFA LIVRE DOS HORMÔNIOS
GLICOPROTÉICOS APÓS USO DO HORMÔNIO
LIBERADOR DAS GONADOTROFINAS, EM MENINOS
NORMAIS E ADULTOS COM HIPOGONADISMO
HIPOGONADOTRÓFICO**

ALBERTO SCOFANO MAINIERI

ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. REGINA HELENA ELNECAVE

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Clínica Médica.

PORTO ALEGRE
1996

MFD
T
WK900 M225e 1996

05907458

[000602079] Mainieri, Alberto Scofano. Estudo das variações do hormônio luteinizante, hormônio folículo estimulante e da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos após uso do hormônio liberador das gonadotrofinas, em meninos normais e adultos com hipogonadismo hipogonadotrófico. 1996. 99 f.

M225e Mainieri, Alberto Scofano

Estudo das variações do hormônio luteinizante, hormônio folículo estimulante e da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos após uso do hormônio liberador das gonadotrofinas, em meninos normais e adultos com hipogonadismo hipogonadotrófico / Alberto Scofano Mainieri ; orient. Regina Helena Elnecave. - Porto Alegre : UFRGS, 1996

115 p.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica.

1. Hipogonadismo. 2. LH. 3. FSH. 4. Hormônios glicoprotéicos de subunidade alfa. 5. Hormônio liberador de hormônios hipofisários. I. Elnecave, Regina Helena. II. Título.

CDD 616.68
CRU 616.68



Dedico este trabalho a minha
esposa, por todo o apoio e
compreensão que jamais deixou
faltar, e aos meus filhos pelo
tempo que este estudo lhes
privou do meu convívio.

AGRADECIMENTOS

À minha esposa pelas noites em claro ao meu lado e pela paciência e carinho com que soube conviver com minhas angústias.

Aos meus pais por terem me ensinado o valor do estudo e da luta por nossos ideais.

À Dr.^a Regina Helena Elnecave pela paciência e dedicação na dura arte de fazer este pediatra entender de endocrinologia.

Ao Dr. José Cândido Rosa (*in memoriam*) pelo seu exemplo de paz interior e de compreensão do ser humano.

Ao Dr. Ronald Pagnonceli de Souza pelo seu exemplo como professor e meu mestre.

Ao Dr. Ércio Amaro de Oliveira pelo incentivo que sempre deu ao crescimento profissional da equipe da Clínica para Adolescentes do H.C.P.A.

Às secretárias Ely e Claonice, da zona 07, que muito colaboraram nas marcações dos testes e às auxiliares de enfermagem Ione e Eliane da zona 16 pelo auxílio nas coletas de sangue.

À equipe de cirurgia pediátrica, e ao Dr. João Luiz do serviço de pediatria do H.C.P.A. pelo apoio na seleção e encaminhamento do meninos para a avaliação.

Aos 32 meninos e aos 17 adultos que, aceitando realizar o teste hormonal, viabilizaram este estudo.

SUMÁRIO

RESUMO	VIII
SUMMARY	XII
LISTA DE TABELAS	XV
LISTA DE FIGURAS	XVI
1- INTRODUÇÃO	01
2- JUSTIFICATIVA	10
3- OBJETIVOS	13
3.1- OBJETIVO GERAL	14
3.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
4- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, MENINOS NORMAIS, PACIENTES E MÉTODOS	16
4.1 - DELINEAMENTO DO ESTUDO	17

4.1.1 - População	18
4.2 - CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA	19
4.3 - CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA	20
4.3.1 - Meninos Normais (MN)	20
4.3.2 - Adultos Com Hipogonadismo Hipogonadotrófico (AHH) ..	22
4.4 - CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	24
4.4.1 - Riscos e Benefícios	24
4.4.2 - Termo de Consentimento	25
4.5 - TESTE DE ESTÍMULO COM GnRHs	26
4.6 - VARIÁVEIS EM ESTUDO	27
4.7 - ANÁLISE LABORATORIAL	27
4.7.1 - Hormônio Luteinizante (LH)	28
4.7.2 - Hormônio Folículo Estimulante (FSH)	28
4.7.3 - Subunidade Alfa Livre (SUB α)	29
4.8 - ANÁLISE DOS DADOS	29
5- RESULTADOS	31
5.1- NOS MENINOS NORMAIS	32
5.1.1- Hormônio Luteinizante	32

5.1.2- Hormônio Folículo Estimulante	33
5.1.3- Subunidade Alfa Livre	34
5.1.4- Correlações Entre LH, FSH e SUB α	35
5.2- NOS ADULTOS COM H.H.	36
5.2.1- Hormônio Luteinizante	36
5.2.2- Hormônio Folículo Estimulante	37
5.2.3- Subunidade Alfa Livre	37
5.2.4- Correlação Entre LH, FSH, SUB α	38
5.3- COMPARAÇÕES FEITAS ENTRE MENINOS NORMAIS	
e ADULTOS COM H.H.	42
5.3.1- Hormônio Luteinizante	42
5.3.2- Hormônio Folículo Estimulante	44
5.3.3- Subunidade Alfa Livre	46
6- DISCUSSÃO	53
7- CONCLUSÃO	65
7.1- SOBRE OS MENINOS NORMAIS	66
7.2- SOBRE OS ADULTOS COM H.H.	67

7.3- SOBRE AS COMPARAÇÕES ENTRE OS DOIS GRUPOS	67
8- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA0	69
ANEXOS	

Biblioteca
FAMED/HCPA

RESUMO

RESUMO

Com o intuito de comparar as variações do hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH) e subunidade α livre dos hormônios glicoprotéicos (SUB α) ao estímulo do GnRH sintético, foram estudados 32 meninos normais (MN) com idade média de 7 anos e 3 meses e 17 adultos com hipogonadismo hipogonadotrófico completo (AHH) com idade média de 22 anos e 10 meses. Todos os indivíduos receberam 100 μ g de GnRH sintético em uma aplicação endovenosa realizando coletas de sangue aos 0', 30' e 60' minutos após o estímulo. As dosagens hormonais foram feitas por imunofluorometria. As medianas dos níveis séricos basais de LH, FSH e da SUB α nos MN (0,10 UI/L, 0,29 UI/L e 57,50 ng/L respectivamente) foram iguais as medianas dos níveis basais dos AHH (0,10 UI/L, 0,14 UI/L e 78 ng/L respectivamente). No tempo 30' as medianas dos níveis de LH, FSH e SUB α nos MN (3,20 UI/L, 2,26 UI/L e 435,5 ng/L respectivamente) foram significativamente maiores que nos AHH (0,90 UI/L, 0,41 UI/L e 125 ng/L respectivamente) ($p < 0,001$), o mesmo se observando em relação as medianas dos níveis séricos no tempo 60' (MN: 3,50 UI/L, 3,61 UI/L e 352 ng/L; e nos AHH: 1,10 UI/L, 0,86 UI/L e 113 ng/L respectivamente LH, FSH e SUB α) ($p < 0,001$). A mediana do nível sérico máximo atingido (pico) nos MN (LH=3,52 UI/L, FSH=3,61 UI/L e

SUB α =434,5 ng/L) foram também significativamente maiores do que nos AHH (LH=1,10 UI/L, FSH=0,86 UI/L e SUB α =125 ng/L) ($p<0,001$). Também as medianas do incremento que os níveis séricos apresentaram do basal até o pico (delta) nos MN (LH=3,52 UI/L, FSH=3,20 UI/L e SUB α = 377,5 ng/L) foram maiores que nos AHH (LH= 0,80 UI/L, FSH=0,39 UI/L e SUB α =50 ng/L) ($p<0,001$). Por fim avaliou-se o incremento em número de vezes sendo este valor também maior nos MN (LH=39,0 vezes, FSH= 10,9 vezes e SUB α =7,0 vezes) do que nos AHH (LH=5,5 vezes, FSH=3,0 vezes e SUB α =1,6 vezes) ($p<0,001$). Nos MN os níveis séricos da SUB α apresentaram correlação, em todos os tempos com os níveis séricos tanto com LH (0' - $r=0,67$, 30' - $r=0,80$ e 60' - $r=0,65$) como com FSH (0' - $r=0,44$, 30' - $r=0,65$ e 60' - $r=0,55$). Não houve correlação entre os níveis de LH e da SUB α nos AHH, ocorrendo apenas em relação ao FSH e a SUB α no tempo 30' ($r=0,68$) e no tempo 60' ($r=0,62$). Os níveis séricos da SUB α apresentaram menos sobreposições dos valores entre os dois grupos estudados sendo que o incremento em número de vezes separou MN dos AHH em 94% do total das duas amostras.

Os autores concluem que os MN aumentam os níveis séricos de LH, FSH e SUB α significativamente mais do que os AHH. No entanto as sobreposições dos valores do LH, bem como do FSH, impossibilitam a utilização desse teste como diagnóstico diferencial do hipogonadismo hipogonadotrófico. Por fim demonstram que a SUB α apresenta maior capacidade para diferenciar os dois grupos visto que evidencia menor número de sobreposições dos valores dos indivíduos testados, sendo que um valor da SUB α vezes inferior a 3,3 vezes estabelece o diagnóstico de H.H. em meninos com 100% de especificidade, 97% de sensibilidade e com valor predictivo positivo de 100%.

SUMMARY

SUMMARY

Thirty-two normal boys (NB) with mean age of 7 years and 2 months and 17 adult men with complete hypogonadotropic hypogonadism (AHH) with mean age of 22 years and 10 months were compared for the responses of luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH) and the alpha-subunit of glycoprotein hormones (SUB α) to the stimulus of GnRH. All subjects received a bolus dose of 100 μ g of GnRH and blood samples were drawn at times 0', 30' and 60'. All assays were performed by immunofluorometry. Medians of the serum levels of LH, FSH and SUB α at 0' in the NB (0,10 IU/L, 0,29 IU/L and 57,5 ng/L respectively) were similar to the medians of the corresponding baseline levels in AHH (0,10 IU/L, 0,14 IU/L and 38 ng/L respectively). At 30' the medians of the levels of LH, FSH and SUB α in NB (3,20 IU/L, 2,26 IU/L and 1,25 ng/L respectively) were significantly higher than those of AHH (0,90 IU/L, 0,41 IU/L and 1,25 ng/L) ($p < .001$). The same observation was found for the medians for LH, FSH and SUB α at 60' (NB: 4,50 IU/L, 3,61 IU/L and 352 ng/L; AHH: 1,10 IU/L, 0,86 IU/L and 113 ng/L respectively). ($p < .001$). Medians of the peak levels for NB (LH: 3,51 IU/L, FSH: 3,61 IU/L, SUB α : 434,5 ng/L) were also significantly higher than those of AHH (LH: 1,10 IU/L, FSH: 0,86 IU/L, SUB α : 1,35 ng/L) ($p < .001$). Also, medians of the difference from peak to baseline (delta) in NB (LH: 3,62 IU/L,

FSH: 3,20 IU/L and SUB α : 377,5 ng/L) were higher than those of AHH (LH: 0,80 IU/L, FSH: 0,39 IU/L and SUB α : 50 ng/L) ($p < .001$). The medians of the incremental increase from baseline to peak in NB (LH: 39,0 times, FSH: 10,9 times, SUB α 7,0 times) were significantly higher those that in AHH (LH: 5,5 times, FSH: 3,0 times, SUB α : 1,6 times) ($p < .001$). In NB SUB α and LH levels were positively correlated at all time intervals (0': $r = .67$, 30': $r = .80$, 60': $r = .65$) as well as SUB α and FSH levels (0': $r = .44$, 30': $r = .66$, 60': $r = .55$) No significant correlation could be demonstrated between LH and SUB α levels in AHH at any of the studied points. Significant correlations in AHH were present only between FSH and SUB α at 30' ($r = .68$) and 60' ($r = .62$). There were fewer overlapping values of SUB α between the two groups and they occurred in only 4% of the number of subjects when the incremental increase was considered.

The authors conclude that NB present a greater response of LH, FSH and SUB α to GnRH than AHH. The large number of overlapping results for both LH and FSH exclude these measurements as an appropriate means of identifying individual subjects. Finally they demonstrate that the evaluation of SUB α behavior in the same test can differentiate the two groups. An incremental increase of SUB α from baseline to peak below 3,3 times distinguishes AHH from NB with a 100% of specificity and 97% of sensitivity with a predictive value of 100%.

LISTA DE TABELAS

- TABELA 01:** Medianas dos níveis séricos do LH, FSH e da SUB α de meninos normais, obtidos nos tempos 0', 30' e 60', valores do pico e delta após a injeção de 100 μ g de GnRHs. 40
- TABELA 02:** Medianas dos valores do LHvezes, FSHvezes e da SUB α vezes de meninos normais (MN) e de adultos com H.H. (AHH) obtidos pela divisão do valor do pico pelo basal após a injeção de 100 μ g de GnRHs. 40
- TABELA 03:** Medianas dos níveis séricos do LH, FSH e da SUB α de adultos com H.H., obtidos nos tempos 0', 30' e 60', valores do pico e delta após a injeção de 100 μ g de GnRHs. 40
- TABELA 04:** Correlação entre os valores dos níveis séricos do LH e da SUB α nos meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) nos tempos 0', 30' e 60' minutos após injeção de 100 μ g de GnRHs. 41
- TABELA 05:** Correlação entre os valores dos níveis séricos do FSH e da SUB α nos meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) nos tempos 0', 30' e 60' minutos após injeção de 100 μ g de GnRHs. 41
- TABELA 06:** Correlação entre os valores dos níveis séricos do LH e do FSH nos meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) nos tempos 0', 30' e 60' minutos após injeção de 100 μ g de GnRHs. 41
- TABELA 07:** Comparação entre as medianas dos níveis séricos do LH nos tempos 0', 30' e 60' e dos valores do pico, delta e "vezes" em meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) antes e após injeção de 100 μ g de GnRHs. 44
- TABELA 08:** Comparação entre as medianas dos níveis séricos do FSH nos tempos 0', 30' e 60' e dos valores do pico, delta e

"vezes" em meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) antes e após injeção de 100µg de GnRHs. 46

TABELA 09: Comparação entre as medianas dos níveis séricos da SUB α nos tempos 0', 30' e 60' e dos valores do pico, delta e "vezes" em meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) antes e após injeção de 100µg de GnRHs. 47

TABELA 10: Demonstração das sobreposições dos valores do LH após estímulo com GnRHs 50

TABELA 11: Demonstração das sobreposições dos valores do FSH após estímulo com GnRHs 51

TABELA 12: Demonstração das sobreposições dos valores da SUB α após estímulo com GnRHs. 52

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 01** - Comparação entre as medianas dos níveis séricos do LH antes, 30 e 60 minutos após estímulo com 100µg de GnRHs em meninos normais e adultos hipogonádicos. 43
- Fig. 02** - Comparação entre as medianas do LHpico e do LHdelta dos meninos normais e dos adultos com H.H. após estímulo com 100µg de GnRHs. 43
- Fig. 03** - Comparação entre as medianas dos níveis séricos do FSH antes, 30 e 60 minutos após estímulo com 100µg de GnRHs em meninos normais e adultos com H.H. 45
- Fig. 04** - Comparação entre as medianas do FSHpico e do FSHdelta, após estímulo com 100µg de GnRHs, em meninos normais e adultos com H.H. 45
- Fig. 05** - Comparação entre as medianas dos níveis séricos da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos (SUB α), após estímulo com 100µg de GnRHs, nos tempos 0', 30' e 60' em meninos normais e adultos com H.H. 48
- Fig. 06** - Comparação entre as medianas da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos (SUB α), após estímulo com 100µg de GnRHs, em meninos normais e adultos com H.H. 48
- Fig. 7:** Comparação entre a dispersão dos valores do número de vezes pelo qual os níveis séricos basais de LH, FSH e da SUB α foram multiplicados para atingir o pico. A) valores do LHvezes de cada criança normal (CN) e de cada adulto com H.H. (AHH), B) valores do FSH vezes em CN e AHH, C) valores da SUB α vezes em CN e AHH. A seta indica a mediana. 49

1- INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

A puberdade é uma fase do desenvolvimento humano caracterizada pelo surgimento dos caracteres sexuais secundários e concomitante aceleração da velocidade de crescimento levando o organismo a atingir sua forma e capacidade funcionais de adulto. As modificações endócrinas e genitais dessa fase, que capacitarão o organismo para a reprodução, surgem em decorrência das alterações no funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-gônada (H-H-G), como está descrito a seguir.

No hipotálamo, ao nível do núcleo arqueado, ocorre a síntese do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), liberado em pulsos exclusivamente na circulação porta-hipofisária (49). O GnRH age sobre a hipófise promovendo a síntese e a liberação das gonadotrofinas: hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH). As gonadotrofinas hipofisárias, bem como a gonadotrofina coriônica e a tireotrofina (TSH) são hormônios glicoprotéicos constituídos de duas subunidades, alfa e beta. A subunidade alfa ($SUB\alpha$) é comum aos hormônios glicoprotéicos sendo que a atividade específica de cada um deles é estabelecida pela subunidade beta (49, 45). Sabe-se que a hipófise só responde ao estímulo do GnRH quando esse ocorrer de forma pulsátil, gerando também, a liberação pulsátil de LH e

FSH (5, 49). As gonadotrofinas agirão sobre as gônadas promovendo a secreção dos esteróides sexuais 17β -estradiol no sexo feminino e testosterona no sexo masculino, que atuarão sobre os tecidos alvo promovendo as mudanças físicas típicas do período pubertário. No testículo, o LH agirá principalmente sobre as células de Leydig promovendo a secreção da testosterona e o FSH agirá mais especificamente sobre as células de Sertoli promovendo a maturação dos espermatozóides e concomitante síntese e liberação de inibina. Além das ações descritas acima, as gonadotrofinas atuam sobre o hipotálamo. Os esteróides sexuais e a inibina atuam sobre o hipotálamo e a hipófise promovendo a redução da secreção de GnRH e LH/FSH (6, 49, 71). Tal atividade inibitória é inversamente proporcional aos níveis circulantes desses hormônios e é denominada de “feedback” negativo (49). O sistema nervoso central (SNC) exerce o controle intrínseco, em que neurotransmissores, neuromoduladores e fatores metabólicos agem sobre os neurônios produtores de GnRH alterando sua síntese e liberação (49).

Os neurônios produtores de GnRH têm origem embriológica no núcleo olfatório e migram até o núcleo arqueado durante as primeiras semanas de vida intra-uterina (65). Já a partir da 11ª semana, o hipotálamo secreta GnRH com conseqüente liberação de LH e FSH com maior secreção por volta da 22ª semana de vida intra-uterina (56, 60). No final da gravidez, os níveis de LH e FSH do feto diminuem devido à redução do GnRH e ao aumento da produção de esteróides sexuais pela unidade feto-placentária (49, 65). Até 6 meses de vida no sexo masculino, e 12 meses no sexo feminino (9), ainda há aumentos transitórios de gonadotrofinas e de esteróides sexuais. Inicia-se, a partir daí, um longo período em que o eixo H-H-G será mantido hipofuncionante devido à inibição intrínseca do S.N.C. sobre o hipotálamo bem como pelo aumento da sensibilidade hipotalâmica ao

mecanismo de “feedback” negativo, verificando-se baixos níveis séricos de LH e FSH (49). Alguns estudos demonstram que, mesmo em crianças pré-púberes, evidencia-se um padrão pulsátil de secreção de gonadotrofinas com pulsos de baixa frequência e amplitude (32, 49) sendo os picos presentes durante a noite (23, 28, 71).

Aproximadamente dois anos antes do surgimento dos primeiros sinais físicos de puberdade, a função do eixo H-H-G aumenta gradualmente, e é expressa pelo aumento da amplitude e da frequência dos pulsos de GnRH com conseqüente aumento da secreção de LH e FSH (8, 43, 72). Essa reativação do eixo leva à maturação sexual que corresponderá à puberdade (8).

O primeiro sinal visível de puberdade no sexo feminino é o surgimento do botão mamário e no sexo masculino é o aumento do volume testicular. Habitualmente esses eventos surgem entre os 8 e 13 anos de idade (média 10,5 anos) nas meninas e entre os 9 e 14 anos de idade (média 11,5 anos) nos meninos (41). Tais médias e limites foram determinados por diversos autores havendo pequenas variações nos valores (7, 9, 10, 16, 25). Como os limites acima descritos baseiam-se em dois desvios padrão de distanciamento da média, considera-se como atraso puberal os casos em que não encontramos sinais de puberdade após os limites superiores de idade acima propostos.

O retardo constitucional do crescimento e desenvolvimento puberal (RCCDP) ocorre em cerca de 3% das crianças normais (65). É mais freqüente em homens e ocupa o primeiro lugar entre as causas de atraso puberal correspondendo a 95% dos casos, enquanto que na mulher é a segunda causa sendo responsável por 16% dos casos (70). São indivíduos com maturação mais lenta, atraso de desenvolvimento físico e conseqüentemente permanecem fisiologicamente imaturos por mais tempo.

Nesses casos, o início das modificações hormonais e físicas da puberdade ocorrerá espontaneamente, porém mais tarde (25).

O atraso puberal pode ser uma manifestação de hipogonadismo hipogonadotrófico (H.H.), que se caracteriza pela insuficiência ou ausência de secreção pulsátil de GnRH e/ou LH e FSH, levando à falta de estímulo sobre as gônadas e conseqüente hipodesenvolvimento dos caracteres sexuais secundários (25). A deficiência de gonadotrofinas ou de GnRH pode ter múltiplas causas. Nos indivíduos com H.H., a concentração sérica de gonadotrofinas pode variar desde níveis indetectáveis até a presença de pulsos comparáveis com o período peripuberal normal (11, 46, 65). Como nas crianças pré-púberes os níveis de gonadotrofinas e esteróides sexuais são baixos (20), devido à inibição da atividade do eixo H-H-G, o diagnóstico diferencial do H.H. com o retardo constitucional do crescimento e desenvolvimento puberal (RCCDP) torna-se mais difícil, só sendo estabelecido quando o indivíduo atinge os 18 anos de idade sem sinais iniciais ou progressão de sua puberdade (74). Pacientes com múltiplas deficiências de hormônios hipotalâmicos e/ou hipofisários poderão ter hipogonadismo tornando o diagnóstico ainda mais difícil, pois tanto o déficit de hormônio do crescimento como o hipotireoidismo levam a um atraso na maturação óssea e conseqüente atraso puberal.

A avaliação endocrinológica do paciente com atraso puberal e suspeita de H.H. é feita com base no estudo do funcionamento do eixo H-H-G. Os níveis séricos de GnRH não podem ser medidos já que esse hormônio está presente quase que exclusivamente na circulação porta-hipofisária. As dosagens basais das gonadotrofinas, quando elevadas, caracterizam os casos de falência gonadal

primária porém não são úteis na diferenciação do RCCDP e do H.H., pois ambos têm níveis basais de gonadotrofinas baixos (15).

Com a síntese química do GnRH (GnRHs), tornou-se possível seu uso para o estudo da fisiologia e fisiopatologia das perturbações do eixo H-H-G (26, 29). A injeção endovenosa desse hormônio, com análise da variação das concentrações séricas de LH e FSH antes e após seu uso, constitui-se num teste de estimulação das gonadotrofinas hipofisárias. O teste permite a variação na quantidade e no número de doses usadas de GnRHs, assim como da periodicidade das avaliações dos níveis séricos das gonadotrofinas (18). Os resultados podem ser avaliados pelo valor máximo absoluto atingido pelos hormônios, pela diferença entre os valores basais e máximos, pela porcentagem de aumento máximo, considerando o basal como 100% (18). A dose de GnRHs utilizada nos estudos varia amplamente (3, 73), observando-se que doses maiores desencadeiam respostas maiores (18, 50). Em revisão sobre o assunto, a dose de $100\mu\text{g}/\text{m}^2$ é considerada a que provoca maior resposta hipofisária (50), porém alguns autores contestam o uso de doses elevadas dizendo serem essas respostas supra-fisiológicas (18). As coletas de sangue, além do basal, podem ser feitas por uma ou duas horas com intervalos variáveis (a cada 10, 15 ou 30 minutos) (3, 28, 73). O teste mais comumente utilizado usa de 25 a $100\mu\text{g}$ com coletas aos zero, 15, 30, 45, 60, 90, 120 minutos após estímulo (3). Está demonstrado que o pico máximo de elevação do LH ocorre entre 30 e 45 min e o do FSH entre 60 e 90 min (3, 26). Com isso as coletas 30 e 60 minutos após estímulo possibilitam a detecção do aumento tanto do LH (aos 30 min) como do FSH (aos 60 min). A forma de administração do GnRHs pode ser feita em “bolus”, no tempo zero, ou de forma pulsátil por um tempo determinado (3). Em adultos os testes de estímulo são úteis para o estabelecimento do diagnóstico de H.H., pois a resposta dos

hipogonádicos é marcadamente menor que a dos adultos normais (11). A $SUB\alpha$ também pode ser medida nesse teste. Adultos normais que receberam estímulo do GnRHs por sete dias demonstraram pulsos de secreção da $SUB\alpha$ mais amplos do que do LH (66) e significativamente maiores que os pacientes com H.H.

Na avaliação diagnóstica do atraso puberal em indivíduo pré-púbere, a interpretação desses testes é difícil visto que o eixo H-H-G é fisiologicamente hipofuncionante nessa fase (28), sobrepondo-se os resultados aos encontrados nos pacientes com H.H. (25, 26, 28, 48, 51, 65, 71). A comparação das variações do LH e FSH entre indivíduos com H.H. e com RCCDP foi descrita por diversos autores (14, 15, 23, 26, 30, 36, 44, 48, 57, 58, 71). Alguns estudos realizaram observações das variações espontâneas do LH e FSH realizando coletas seriadas a cada 10 ou 20 minutos por períodos de 12 ou 24 horas (15, 23, 29, 30, 71). Outros avaliaram a resposta ao estímulo do GnRHs com aplicação de uma só dose endovenosa (14, 15, 23, 26, 36, 48, 57, 71) ou ainda após o uso de diversas doses aplicadas com intervalos regulares (44, 48). Os resultados apresentam divergências aparentes já que uns comprovam a diferença no padrão de secreção das gonadotrofinas (14, 15, 26, 44, 48, 57) e outros não (23, 30, 71). Alguns estudos feitos em indivíduos pré-púberes demonstram que os níveis basais de LH e FSH situam-se em torno de 0,05 IU/L e 0,3 IU/L respectivamente (1, 71), com pulsos de baixa amplitude, sendo o LH de 0,16 U/L e FSH de 0,19 U/L em meninos (71). Os pacientes com H.H. não apresentam elevações nos níveis de LH e FSH durante a noite e respondem aos testes de estímulo em menor intensidade (23, 71). Como as variações dos níveis séricos das gonadotrofinas nos indivíduos pré-púberes e nos com H.H. são pequenas, é necessária a utilização de ensaios de alta sensibilidade que consigam detectar essas variações a fim de estabelecer o diagnóstico diferencial.

Uma comparação feita entre os métodos existentes de medidas de gonadotrofinas concluiu que os radioimunoensaios detectam níveis não inferiores a 1,9 IU/L; os bioensaios não detectam níveis inferiores a 0.3 IU/L; e os ensaios imunofluorométricos apresentam sensibilidade de até 0.02 IU/L, sendo então mais sensíveis (2, 26). A imunofluorometria é um método mais sensível por utilizar dois anticorpos (40). O primeiro, específico para a subunidade beta do LH e do FSH, reterá nas paredes dos pocículos de dosagem apenas as moléculas que possuírem a subunidade beta do LH ou FSH e, em um segundo momento, um anticorpo específico para a subunidade alfa, marcado com európio, se unirá ao hormônio fixado ao primeiro anticorpo. As dosagens são feitas pela localização do európio pela técnica da imunofluorometria. A alta sensibilidade do método facilita a demonstração dos pulsos de LH e FSH em crianças normais pré-púberes (71) assim como permite demonstrar as pequenas diferenças existentes nos níveis séricos de gonadotrofinas entre pacientes com H.H. e jovens pré-púberes (26).

A SUB α dos hormônios glicoprotéicos é produzida nos gonadotrofos e nos tireotrofos (67). A transcrição gênica das subunidades α e β do LH e FSH está correlacionada à frequência dos pulsos do GnRH (27). A transcrição da SUB α e da subunidade β do LH (LH β) ocorre mediante o estímulo de pulsos mais frequentes enquanto a subunidade β do FSH (FSH β) ocorre mediante pulsos mais esparsos. A diferença na regulação das subunidades foi demonstrada em dois estudos que utilizaram um agonista do GnRH e demonstraram que os níveis da LH β caem em uma semana de tratamento enquanto que os da SUB α permanecem inalterados (37, 38). A utilização de um antagonista do GnRH reduziu os níveis de LH em dois dias enquanto que os níveis de SUB α apresentam redução parcial após o sétimo dia de tratamento (39). Assim como as gonadotrofinas (21, 33, 43), a concentração da

SUB α no sangue periférico aumenta da peripuberdade para a vida adulta (61). Um estudo em pacientes com H.H. e adultos normais, realizado com estímulo de GnRHs, demonstra a concomitância dos pulsos de LH e SUB α porém com incremento mais exuberantes da SUB α . O mesmo estudo mostra que a amplitude dos pulsos de SUB α é significativamente maior nos indivíduos normais do que nos pacientes com H.H. (66).

O diagnóstico do H.H. em pessoas com menos de dezoito anos ainda representa um desafio. O diagnóstico autoriza investigação etiológica detalhada e instituição de tratamento mais precoce, diminuindo as repercussões físicas e emocionais do problema.

2- JUSTIFICATIVA

2 - JUSTIFICATIVA

O retardo constitucional do crescimento e desenvolvimento puberal (RCCDP) ocorre em 3% por cento da população (65) e no seu diagnóstico diferencial deve ser afastada a possibilidade de hipogonadismo hipogonadotrófico (H.H.). O diagnóstico diferencial entre essas duas entidades clínicas (RCCDP e H.H.) torna-se difícil pela semelhança dos níveis de gonadotrofinas nos dois grupos. Há diferentes trabalhos na literatura cujo objetivo foi diferenciar o H.H. do RCCDP antes dos 18 anos de idade. Porém utilizaram técnicas pouco aplicáveis na prática clínica por envolverem múltiplas coletas de sangue por longos períodos de tempo (15, 23). Testes mais curtos, com uma ou duas horas de duração, utilizando estímulo exógeno de GnRHs, por vezes não eram efetivos, seja pela pouca sensibilidade dos ensaios (30), seja pelas diferenças apenas estatística entre os grupos (57).

Embora exista correlação entre a secreção de LH, FSH (61, 69) e $SUB\alpha$, outros trabalhos demonstram respostas diferentes da $SUB\alpha$ e das gonadotrofinas a estímulos semelhantes (27, 38). A existência de diferenças nos níveis séricos de $SUB\alpha$ entre adultos normais e com H.H. também foi demonstrada (67). Não há trabalhos comparando as variações da $SUB\alpha$, após uso de GnRHs, entre crianças normais e pacientes com H.H.

O serviço de endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (H.C.P.A.) é centro de referência para distribuição governamental de hormônio do crescimento. Assim, acompanha o diagnóstico, a evolução e o tratamento de pacientes com deficiência desse hormônio. Muitos dos portadores de déficit de hormônio do crescimento apresentam também deficiência de outros hormônios hipotalâmicos e/ou hipofisários. A identificação do H.H. auxilia o tratamento desses pacientes.

A inexistência de um teste efetivo para diagnosticar o H.H. na fase pré-puberal, a inexistência de estudos comparativos entre os níveis séricos de SUB α em crianças e A.H.H. associada à necessidade que os autores vêem na determinação do diagnóstico na população que atendem levou à realização desse estudo.

3- OBJETIVOS

3 - OBJETIVOS

3.1 - OBJETIVO GERAL

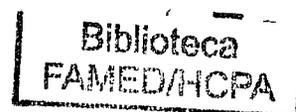
O objetivo desse trabalho foi avaliar se a resposta das gonadotrofinas hipofisárias (LH e FSH) e da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos (SUB α) ao estímulo com GnRHs, medidas pelo método de imunofluorometria, é capaz de diferenciar meninos normais de homens adultos com hipogonadismo hipogonadotrófico completo.

3.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Avaliar o padrão de resposta das gonadotrofinas e da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos ao uso de GnRHs em meninos pré-púberes normais.

- Avaliar o padrão de resposta das gonadotrofinas e da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos ao uso de GnRHs em homens com hipogonadismo hipogonadotrófico completo.
- Comparar as respostas encontradas nos dois grupos para analisar o desempenho do teste no diagnóstico do hipogonadismo hipogonadotrófico.



**4 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL,
MENINOS NORMAIS,
PACIENTES E MÉTODOS**

4 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, MENINOS NORMAIS, PACIENTES E MÉTODOS

4.1 - DELINEAMENTO DO ESTUDO

Realizou-se um teste diagnóstico (55), em que foram comparados dois grupos distintos: meninos normais e pacientes com deficiência completa de gonadotrofinas, com o objetivo de concluir e inferir sobre a população de meninos normais. A seleção dos indivíduos e toda a coleta de dados foi feita após a definição completa do estudo. Foi utilizado um arquivo de pacientes para localizar e retestar aqueles que compuseram o grupo com deficiência de gonadotrofinas. O estudo compara duas populações: uma sabidamente normal e outra sabidamente portadora de H.H.. A primeira serve como padrão ouro de normalidade e a segunda como padrão ouro de H.H..

4.1.1 - População

As populações sobre as quais se desejou inferir os resultados foram aquelas constituídas por meninos pré-púberes normais com idades entre 6 e 9 anos e outra de homens maiores de 18 anos de idade portadores de hipogonadismo hipogonadotrófico completo. A meta foi estabelecer se meninos normais (MN) apresentam resposta diferente a dos adultos com hipogonadismo hipogonadotrófico (AHH) completo ao teste de estímulo com GnRHs.

O surgimento normal da puberdade ocorre devido ao aumento gradual do funcionamento do eixo H.H.G. caracterizado pela elevação também gradual, tanto da amplitude como da frequência, dos pulsos do LH (19, 25). Devido a isso, foi determinado o limite superior de idade em 9 anos, pois a partir desta idade a puberdade pode surgir dentro dos parâmetros da normalidade (7, 9, 10, 16, 25, 41), e a presença de níveis séricos de gonadotrofinas mais altos causaria uma resposta maior dos MN. O limite inferior baseou-se em duas situações: O fato de haver indícios que o eixo H.H.G. está mais suprimido entre 2 e 6 anos (35), o que poderia impedir a diferenciação dos H.H. dos normais, e que meninos maiores teriam maior percepção e discernimento para aceitar o procedimento, facilitando assim a coleta.

A decisão de avaliar apenas o sexo masculino deveu-se ao fato do atraso constitucional do crescimento e desenvolvimento puberal ocorrer com maior frequência no sexo masculino. Dessa forma restringiu-se a esse sexo para evitar vieses nos resultados.

4.2 - CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

O cálculo do tamanho da amostra foi feito com base nas variações do níveis séricos do LH e FSH, dosados por imunofluorometria, descritos em estudos similares a este (23, 71). Como os dados encontrados na literatura apresentavam a variabilidade expressa em erros padrão, foi feita a conversão para desvio padrão resultando estimativas marcadamente diferentes pelo fato dos trabalhos terem utilizado números amostrais bastante diferentes. Baseados em um estudo (23) o número da presente amostra deveria ser de 18 indivíduos em cada grupo. Utilizando-se os valores do outro estudo (71), a amostra deveria conter 135 indivíduos em cada grupo. Optou-se, então, por testar todos os pacientes com deficiência hormonal que fossem localizados e igual número de MN. Dessa forma, previa-se atingir uma amostra com 30 indivíduos em cada grupo. Na realização dos cálculos, utilizou-se como parâmetros um alfa de 0,05 e um erro beta de 0,2.

No decorrer da pesquisa, os critérios de inclusão e exclusão dos pacientes com falência hormonal levou a limitar nossa amostra em 17 pacientes, mantendo-se o objetivo de no mínimo 30 para os normais.

4.3 - CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

4.3.1 - Meninos Normais (MN)

O grupo de MN constituiu-se de uma amostra representativa de todos os MN, com idades entre 6 e 9 anos, que procuram o ambulatório de pediatria e puericultura do H.C.P.A. para acompanhamento clínico periódico ou por problemas comuns da faixa etária. Aceitou-se a premissa que essa população de meninos seria igual à população de meninos normais de outras regiões no que se refere à função hipofisária.

Foram incluídos na amostragem todos os meninos entre 6 e 9 anos de idade com ausência de sinais físicos de puberdade (pré-púberes), com peso e altura dentro da normalidade, que não apresentavam história de distúrbio que pudesse potencialmente afetar os resultados.

Foram excluídos do estudo os meninos com diagnóstico ou suspeita clínica de desnutrição, doenças crônicas, síndromes genéticas, tumores cerebrais, história prévia de traumatismo, cirurgia, e/ou radioterapia craniana. Excluíam-se também os que faziam uso de medicação anticonvulsivante ou qualquer tipo de hormônio.

Os meninos desse grupo foram convidados a participar do estudo por ocasião de sua consulta no ambulatório de pediatria e puericultura do H.C.P.A.. Todas as manhãs, os prontuários eram revisados e eram selecionados aqueles meninos que

preenchiam os critérios de inclusão na pesquisa. Os pediatras que iriam atendê-los estavam orientados para, caso viessem a solicitar algum exame que envolvesse a coleta de sangue daqueles meninos, encaminhá-los para a sala onde seria informado sobre a pesquisa. Chegando lá eram explanados aos responsáveis os detalhes do estudo e solicitado o consentimento. Obtido o consentimento, o exame era marcado para uma manhã às 08 horas em jejum, porém só era iniciado após o menino entender o que seria feito e dar seu consentimento verbal. O consentimento por escrito era obtido do responsável para cada um dos meninos.

Nos casos de obstrução do "butterfly", antes do término das coletas sangüíneas, o teste foi suspenso. Da mesma forma, não foi realizado perante a negativa do menino em fazê-lo. Essas situações foram consideradas como perdas e totalizaram três casos.

Estudou-se um grupo de 32 meninos com idade média de 7 anos e 3 meses \pm 19 meses assim distribuídas: 10 com seis anos, 12 com sete anos e 10 com oito anos. O peso médio do grupo foi de 24,29 kg \pm 11,48 kg com altura média de 118,06 cm \pm 31,88 cm. As características pessoais de cada um dos meninos normais encontram-se no anexo I.

4.3.2 - Adultos Com Hipogonadismo Hipogonadotrófico (AHH)

O grupo de AHH foi constituído da quase totalidade dos pacientes, maiores de 18 anos de idade, portadores de H.H. completo com ou sem deficiência de outros hormônios hipotalâmicos e/ou hipofisários que já haviam sido atendidos no ambulatório de endocrinologia do H.C.P.A..

Foram incluídos na amostra todos os adultos portadores de H.H. completo, maiores de 18 anos. Esse diagnóstico havia sido previamente estabelecido pela comprovação clínica de ausência de puberdade após os 18 anos de idade, com volume testicular menor que 4 ml e níveis séricos baixos de gonadotrofinas basais. Também foi incluído no estudo um jovem de 17 anos e dois meses de idade, portador de panhipopituitarismo, com idade óssea de 14 anos, pelo fato de estar mais de 4 desvios padrões afastado da média brasileira de aparecimento dos primeiros sinais puberais ($10,9 \pm 1,4$ anos) (10), e porque no momento da conclusão do estudo esse jovem, já com 19 anos, não apresentara puberdade espontânea.

Foram excluídos da amostragem os pacientes com tumores da região hipotálamo-hipofisária e/ou submetidos a remoção cirúrgica da glândula hipófise ou que tenham sido submetidos a radioterapia sobre o crânio. Dois pacientes que faziam uso de andrógenos, que não concordaram em descontinuar o uso, foram excluídos do estudo sendo considerados como perdas.

O ambulatório de endocrinologia do H.C.P.A. é local de atendimento de pacientes com H.H. de múltiplas causas, assim como pacientes para investigação de atraso puberal. Desde 1988, o serviço de endocrinologia do H.C.P.A. acompanha um

número significativo de pacientes portadores de deficiência de hormônio do crescimento com ou sem outras deficiências hormonais hipotalâmicas e/ou hipofisárias associadas. Dessa forma, foi aceita a premissa de que esses pacientes, quando portadores de H.H. associado, constituiriam uma amostra representativa da população geral de homens portadores de H.H..

O grupo de pacientes com deficiência de gonadotrofinas foi selecionado através dos arquivos de dados do serviço de endocrinologia do H.C.P.A., onde constam todos os pacientes tratados, ou investigados nesse serviço. Esses pacientes foram avaliados por ocasião de suas consultas de rotina ou foram chamados em suas residências por meio de carta. Os fatores de inclusão ou exclusão eram avaliados pelo prontuário e complementados pelos dados de exame físico. No momento desse encontro, os objetivos da pesquisa eram explicados e solicitado o consentimento. Nos casos de pacientes que vinham fazendo uso de testosterona, foi exposta a necessidade da interrupção do uso por quatro meses. Aqueles pacientes que aceitavam as condições do trabalho foram incluídos no estudo tendo seu exame marcado para um dia às 08 horas em jejum. Após o teste o tratamento com testosterona foi reinstituído

Foi estudado um grupo de 17 adultos portadores de H.H. completo com idade média de 22 anos e 10 meses \pm 63,8 meses, altura média de 146,21 cm \pm 38,10 cm e idade óssea média de 13 anos e 8 meses \pm 81,88 meses, nível sérico médio de testosterona basal de 0,186 ng/mL . Os pacientes com panhipopituitarismo com idade óssea inferior a 16 anos não estavam usando hormônio do crescimento por falta de remessa do governo estadual na época dos testes. As características pessoais de cada um dos AHH encontram-se no anexo I.

4.4 - CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente estudo foi avaliado e aprovado pela Comissão Científica e de Ética em pesquisa em saúde do H.C.P.A. por estar de acordo com as normas éticas de pesquisa e saúde do Conselho Nacional de Saúde do Brasil, em consonância com a resolução de nº 1 datada de 1988.

4.4.1 - Riscos E Benefícios

A literatura descreve como sendo raros os efeitos adversos atribuíveis ao uso de GnRHs. Da mesma forma, não há relato de contra-indicações ao uso (24). O próprio laboratório descreve ausência de teratogenicidade e de toxicidade. O procedimento de coleta de sangue envolveu um risco pequeno e igual ao de qualquer outra coleta de sangue feita rotineiramente. Como havia uma solicitação prévia do pediatra para a retirada de sangue, considerou-se não haver risco adicional ao paciente. O risco de contaminação por microorganismos pela manutenção do "butterfly" inserido em veia do antebraço era mínima e foi prevenido pela utilização de seringas e agulhas descartáveis sem a manipulação do local da inserção. Restava a possibilidade da ocorrência de dor local e/ou sangramento cujo risco não diferia do ato único de coleta que o paciente iria se submeter por solicitação do seu pediatra.

Foi retirado de cada criança um máximo de 15ml de sangue que corresponde a aproximadamente 0,5% da volemia. Dessa forma, não houve risco dessa coleta causar anemias ou distúrbios de saúde.

Não houve um benefício imediato para as pessoas que colaboraram no estudo. Apenas, no caso dos MN, o de ter a oportunidade de comprovação da normalidade do seu eixo hormonal, mas apenas se os resultados dessa pesquisa permitissem tal conclusão.

4.4.2 - Termo De Consentimento

Os responsáveis pelos MN e os AHH. foram informados sobre a pesquisa e seus objetivos, bem como dos procedimentos e riscos a que seus filhos seriam submetidos. Além das explicações verbais, os pais dos meninos e os AHH receberam um texto impresso (anexo II) com detalhes sobre o que estava sendo proposto e, caso não se opusessem, assinavam o Termo de Consentimento Pós Informações.

Os chefes dos serviços de Endocrinologia e de Pediatria, bem como os professores orientadores dos atendimentos nessas duas áreas foram formalmente informados sobre o protocolo de pesquisa e deram seu consentimento por escrito conforme modelo (anexo II).

4.5 - TESTE DE ESTÍMULO COM GnRHs

O teste de estímulo com GnRHs consistiu na injeção endovenosa de 100µg de GnRHs (RELISORM® L, Serono; Barueri, SP). Para as dosagens de LH, FSH e SUB α , foram coletados 5 ml de sangue aos 0 (basal), 30 e 60 minutos após a injeção do GnRHs.

Todos os testes foram realizados pelo autor pela manhã entre às 08h e 10h. No momento da coleta, era introduzido um "butterfly" de número 25 em veia periférica do antebraço do paciente. Imediatamente era iniciada a primeira coleta de sangue que era seguida da aplicação de 100µg de GnRHs. A seguir era utilizado 0,3 ml de solução de heparina que era injetado no "butterfly" de forma a impedir a sua obstrução pelo sangue. Trinta minutos após, removia-se a solução heparinizada do "butterfly" e se procedia a segunda coleta de sangue voltando-se a heparinizá-lo. Aos 60 minutos, repetia-se o processo de coleta sangüínea, com a retirada do "butterfly" logo após.

Os frascos contendo o sangue eram identificados e centrifugados por 10 minutos a uma velocidade de 5000 rpm. Com uma pipeta, o soro era separado dos demais elementos do sangue e acondicionado em tubos de ensaio identificados com um número código do paciente e o tempo da coleta. Terminada a centrifugação das três amostras, o soro era congelado a -20°C e armazenadas até a conclusão dos testes.

4.6 - VARIÁVEIS EM ESTUDO

As três principais variáveis do estudo foram: níveis séricos de LH, de FSH, e da SUB α . Esses foram medidos pelo método de imunofluorometria em amostras coletadas antes e após a injeção de GnRHs

As outras variáveis em estudo foram os tempos de coleta das amostras de sangue em relação ao momento injeção do GnRHs, sendo uma coleta anterior ao estímulo (denominada 0'), a segunda 30 minutos após o estímulo (denominada 30') e a terceira 60 minutos após o estímulo (denominada 60'); o valor máximo atingido por cada um dos hormônios (denominado de "pico"); o valor calculado da diferença entre o valor basal e o pico (denominado de "delta"); o número de vezes que o pico era maior que o valor basal (denominado de "vezes").

Todas essas variáveis foram observadas em relação às duas populações em estudo, normais e hipogonádicos.

4.7 - ANÁLISE LABORATORIAL

Todas as dosagens foram feitas em duplicata e realizadas ao mesmo tempo nos dois grupos.

As dosagens do LH e da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos foram realizadas pela equipe do Dr. José Gilberto Vieira no laboratório de radimunoensaio da Escola Paulista de Medicina na Universidade Federal de São Paulo para onde os frascos com soro foram remetidos congelados. As dosagens de FSH foram realizadas pelo Dr. Francisco Lhullier do H.C.P.A.

4.7.1 - Hormônio Luteinizante (LH)

O LH foi medido por imunofluorometria utilizando a técnica desenvolvida pelo Dr. José Gilberto Vieira da Escola Paulista de Medicina em São Paulo (53), S.P.. O procedimento para as dosagens foi realizado conforme descrito (53). O CV intra-ensaio foi inferior a 5%, e o CV entre ensaios foi inferior a 11%. Os valores foram expressos em UI/L sendo que os padrões foram calibrados pelo primeiro IRP [68/40]. O limite de sensibilidade atingido foi de 0,05 UI/L.

4.7.2 - Hormônio Folículo Estimulante (FSH)

O FSH foi dosado pelo método imunofluorimétrico através da técnica DELFIA (WALLAC, Turku, Finlândia). O procedimento utilizado para as dosagens seguiu

rigorosamente as instruções do manual, com CV intra-ensaio de 3% e entre ensaios de 4,2%. Os valores foram expressos em UI/L sendo que os padrões foram calibrados pelo segundo IRP da hipófise FSH/LH (ICSH) para bioensaios humanos [78/549]. O limite de sensibilidade obtido foi de 0,1 UI/L.

4.7.3 - Subunidade Alfa Livre (SUB α)

As dosagens da SUB α foram feitas pelo método imunofluorimétrico através de técnica desenvolvida pelo Dr. José Gilberto Vieira da Escola Paulista de Medicina em São Paulo, SP (63). O CV intra-ensaio foi inferior a 5% e o CV entre ensaios foi 5%. Os valores foram expressos em ng/L. Os padrões foram calibrados pelo primeiro IRP, [78/569] National Institute for Biological Standards and Control, Potter Bar, UK. O limite de sensibilidade atingido foi de 4 ng/L.

4.8 - ANÁLISE DOS DADOS

O banco de dados foi montado com a utilização do programa DBASE III e os cálculos estatísticos foram feitos com a utilização do programa SPSS - Statistical

Package From Social Sciences. Estabeleceu-se um nível de confiabilidade de no mínimo 95% com um poder de 90%.

Pelo fato de os dados não apresentarem uma distribuição normal, foram utilizados testes não paramétricos e os valores das medianas foram utilizados para a realização dos cálculos. Nas comparações dos dados nos diferentes tempos de coleta, mas dentro da mesma população, utilizou-se o teste de FRIEDMANN por serem dados pareados. Na análise comparativa dos dados entre as duas populações optou-se pelo teste MANN WHITNEY por tratar-se de amostras independentes. O estudo da correlação entre os valores do LH, FSH e SUB α foi feito pelo método de PEARSON. Os resultados foram expressos em mediana seguidos dos valores mínimo e máximo do intervalo.

Considerou-se como sobrepostos todos os valores, das duas populações, que se encontravam dentro do intervalo compreendido pelo menor valor obtido por um MN e o maior valor obtido por um AHH em cada uma das comparações feitas. Para o cálculo da porcentagem de sobreposições foi considerado como 100% o número total de indivíduos das duas populações.

A determinação do ponto de corte para o cálculo da especificidade e sensibilidade foi feita com base na curva de ROC ("receiver operator characteristic") (17).

5- RESULTADOS

5- RESULTADOS

Os valores individuais do LH, FSH e da SUB α , em cada uma das variáveis, tanto dos meninos normais como dos adultos com H.H. encontram-se no anexo III.

5.1 - NOS MENINOS NORMAIS

Os resultados estão detalhados nas tabelas 01e 02.

5.1.1 - Hormônio Luteinizante (LH)

A mediana dos níveis séricos basais do LH (LH0') foi 0,10 UI/L (mínimo de 0,05 UI/L e máximo de 0,50 UI/L). Trinta minutos após estímulo com GnRHs os níveis séricos de LH (LH30') apresentaram um incremento significativo cuja mediana

foi 3,20 UI/L (mínimo de 1,10 UI/L e máximo de 15,20 UI/L), mantendo-se estatisticamente iguais após 60 minutos do estímulo (LH60') com mediana de 3,50 UI/L (mínimo 1,30 UI/L de e máximo de 11,20 UI/L). Os níveis séricos aos 60 minutos foram estatisticamente maiores que os basais ($p < 0,0000$).

A mediana do valor máximo atingido (LHpico) foi 3,65 UI/L (mínimo de 1,30 UI/L e máximo de 15,20 UI/L).

A mediana do valor diferencial (LHdelta) foi 3,52 UI/L (mínimo de 1,25 UI/L e máximo de 14,80 UI).

A mediana do número de vezes que o pico foi maior que o basal (LHvezes) foi de 39,0 vezes (mínimo de 7,7 vezes e máximo de 118 vezes).

5.1.2 - Hormônio Folículo Estimulante (FSH)

A mediana dos níveis séricos basais de FSH (FSH0') foi 0,29 UI/L (mínimo de 0,10 UI/L e máximo 2,41 UI/L). Trinta minutos após o estímulo com GnRHs (FSH30') os níveis séricos do FSH apresentaram um incremento significativo ($p < 0,0000$) cuja mediana foi 2,26 UI/L (mínimo de 0,44 UI e máximo de 6,68 UI/L). A mediana dos níveis séricos do FSH 60 minutos após o estímulo (FSH60') foi 3,61 UI/L (mínimo de 1,22 UI/L e máximo de 8,45 UI/L), valor esse significativamente maior que o basal e que o tempo 30' ($p < 0,0000$).

O valor máximo alcançado (FSHpico) foi igual ao tempo 60' em todos os meninos.

A mediana do valor diferencial (FSHdelta) foi 3,20 UI/L (mínimo de 1,11 UI/L e máximo de 6,04 UI/L).

A mediana do número de vezes que o pico foi maior que o basal (FSHvezes) foi 10,9 vezes (mínimo de 3,3 vezes e máximo de 51,2 vezes).

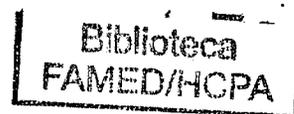
5.1.3 - Subunidade Alfa Livre (SUB α)

A mediana dos níveis séricos basais da SUB α (SUB α 0') foi de 57,5 ng/L (mínimo de 29 ng/L e máximo de 233 ng/L). Trinta minutos após estímulo com GnRHs os níveis da SUB α (SUB α 30') foram significativamente maiores que o basal com mediana de 434,5 ng/L (mínimo de 185 ng/L e máximo de 1353 ng/L) ($p < 0,0000$). No tempo 60' (SUB α 60') observou-se redução estatisticamente significativa nos níveis séricos da SUB α , com mediana de 352 ng/L (mínimo de 162 ng/L e máximo de 834 ng/L). Mesmo com a redução, a SUB α 60' foi significativamente maior que no basal.

A mediana do valor máximo alcançado (SUB α pico) ocorreu no tempo 30' em 30 dos 32 meninos, sendo 434,5 ng/L (mínimo de 185 ng/L e máximo de 1353 ng/L).

A mediana do valor diferencial (SUB α delta) foi 377,5 ng/L (valor mínimo de 142 ng/L e máximo de 1131 ng/L).

A mediana do número de vezes que o pico foi maior que o basal (SUB α vezes) foi 7,0 vezes (mínimo de 3,4 vezes e máximo de 17,6 vezes).



5.1.4 - Correlação Entre LH, FSH E SUB α

Os níveis séricos do LH e da SUB α apresentaram correlação positiva tanto no tempo 0' (r=0,67) como no 30 (r=0,80) e 60 (r=0,65) minutos após o estímulo com GnRHs (p<0,000). (tabela 04)

Os níveis séricos do FSH e da SUB α apresentaram correlação positiva tanto no tempo. 0' (r=0,44) como no 30' (r=0,65) e 60 (r=0,55) minutos após o estímulo com GnRHs (p<0,006). (tabela 05).

Os níveis séricos do LH e do FSH apresentaram correlação positiva tanto no tempo 0' (r=0,47) como no 30' (r=0,72) e 60 (r=0,60) minutos após o estímulo com GnRHs (p<0,003). (tabela 06).

5.2 - NOS ADULTOS COM HIPOGONADISMO HIPOGONADOTRÓFICO

Os resultados estão nas tabelas 02 e 03.

5.2.1 - Hormônio Luteinizante (LH)

A mediana dos níveis basais do LH (LH0') foi 0,10 UI/L (mínimo de 0,05 UI/L e máximo de 2,50 UI/L). Trinta minutos após estímulo com GnRHs a mediana dos valores dos níveis séricos do LH (LH30') foi 0,90 UI/L (mínimo de 0,07 UI/L e máximo de 8,80 UI/L), valores esses significativamente maiores que no basal ($p < 0,0000$). Sessenta minutos após o estímulo (LH60') a mediana manteve-se estatisticamente igual ao tempo 30', com valor de 1,10 UI/L (mínimo de 0,10 UI/L e máximo de 10,30 UI/L), porém estatisticamente superior ao valor basal ($p < 0,0000$).

A mediana dos valores máximos alcançados (LHpico) ocorreu no tempo 60' em 16 dos 17 adultos sendo 1,10 UI/L (mínimo de 0,20 UI/L e máximo de 10,30 UI/L).

A mediana do valor diferencial (LHdelta) foi 0,80 UI/L (valor mínimo de 0,10 UI/L e máximo de 9,80 UI/L).

A mediana do número de vezes que o pico foi maior que o basal (LHvezes) foi de 5,5 vezes (mínimo de 1,3 vezes e máximo de 38,0 vezes).

5.2.2 - Hormônio Folículo Estimulante (FSH)

A mediana dos níveis basais do FSH (FSH0'), foi estatisticamente igual a obtida 30 minutos (FSH30') após o estímulo com GnRHs onde as medianas foram 0,14 UI/L (mínimo de 0,10 UI/L e máximo de 2,47 UI/L) e 0,41 UI/L (mínimo de 0,10 UI/L e máximo de 2,22 UI/L) respectivamente. Sessenta minutos após o estímulo os níveis do FSH (FSH60') foram significativamente maiores ($p < 0,0009$) que no basal e no tempo 30', apresentando uma mediana de 0,86 UI/L (mínimo de 0,10 UI/L e máximo de 3,74 UI/L).

Em todos os indivíduos, menos um, o nível sérico máximo (FSHpico) foi atingido aos 60 minutos, sendo o valor da mediana igual ao FSH60'.

A mediana dos valores diferenciais (FSHdelta) foi 0,39 UI/L (valor mínimo de 0 UI/L e máximo de 2,28 UI/L).

A mediana do número de vezes que o pico foi maior que o basal (FSHvezes) foi 3,0 vezes (mínimo de 1,0 vez e máximo de 19,1 vezes).

5.2.3 - Subunidade Alfa Livre (SUB α)

A mediana dos níveis séricos basais da SUB α (SUB α 0') foi 78,0 ng/L (mínimo de 19 ng/L e máximo de 230 ng/L). Trinta minutos após estímulo com GnRHs os

níveis da SUB α (SUB α 30') foram significativamente ($p < 0,0000$) maiores que no basal com mediana de 125 ng/L (mínimo de 30 ng/L e máximo de 311 ng/L). No tempo 60' (SUB α 60') a mediana foi de 113 ng/L (mínimo de 30 ng/L e máximo de 263 ng/L) valor esse estatisticamente igual ao tempo 30' mas maior que o basal ($p < 0,0000$).

Todos os adultos com H.H. tiveram o valor máximo atingido (SUB α pico) no tempo 30'.

A mediana do valor diferencial (SUB α delta) foi 50 ng/L (mínimo de 8 ng/L e máximo de 174 ng/L).

A mediana do número de vezes que o pico foi maior que o basal (SUB α vezes) foi 1,6 vezes (mínimo de 0,6 vezes e máximo de 3,6 vezes).

5.2.4 - Correlação Entre LH, FSH E SUB α

Os níveis séricos do LH e da SUB α não apresentaram correlação tanto no tempo 0' ($r=0,11$) como no 30' ($r=0,18$) e 60 minutos ($r=0,19$) após o estímulo com GnRHs. (tabela 04)

Os níveis séricos basais do FSH e da SUB α não apresentaram correlação ($r=0,03$). Houve correlação positiva entre o FSH e a SUB α 30 ($r=0,68$) e 60 minutos ($r=0,62$) após o estímulo ($p < 0,003$). (tabela 05)

Os níveis séricos basais do LH e do FSH não apresentaram correlação ($r=0,36$). O mesmo se observou 30 minutos após o estímulo ($r=0,19$). No entanto apresentaram correlação positiva 60 minutos após o estímulo com GnRHs ($r=0,48$ e $p<0,03$). (tabela 06)

TABELA 01 Medianas dos níveis séricos do LH, FSH e da SUB α de meninos normais, obtidos nos tempos 0', 30' e 60', valores do pico e delta após a injeção de 100 μ g de GnRHs.

	LH (UI/L)			FSH (UI/L)			SUB α (ng/L)		
	Mínimo	Mediana	Máximo	Mínimo	Mediana	Máximo	Mínimo	Mediana	Máximo
0'	0,05	0,10	0,50	0,10	0,29	2,41	29	57,5	233
30'	1,10	3,20	15,20	0,44	2,26	6,68	185	435,5	1353
60'	1,30	3,50	11,20	1,22	3,61	8,45	162	352,0	834
pico	1,30	3,65	15,20	1,22	3,61	8,45	185	434,5	1353
delta	1,25	3,52	14,80	1,11	3,20	6,04	142	377,5	1131

TABELA 02 Medianas dos valores do LHvezes, FSHvezes e da SUB α vezes de meninos normais (MN) e de adultos com H.H. (AHH) obtidos pela divisão do valor do pico pelo basal após a injeção de 100 μ g de GnRHs.

	LHvezes (vezes)			FSHvezes (vezes)			SUB α vezes		
	Mínimo	Mediana	Máximo	Mínimo	Mediana	Máximo	Mínimo	Mediana	Máximo
MN	7,7	39,0	118,0	3,3	10,9	51,2	3,4	7,0	17,6
AHH	1,3	5,55	38,0	1,0	3,0	19,1	0,6	1,6	3,6

TABELA 03 Medianas dos níveis séricos do LH, FSH e da SUB α de adultos com H.H., obtidos nos tempos 0', 30' e 60', valores do pico e delta após a injeção de 100 μ g de GnRHs.

	LH (UI/L)			FSH (UI/L)			SUB α (ng/L)		
	Mínimo	Mediana	Máximo	Mínimo	Mediana	Máximo	Mínimo	Mediana	Máximo
0'	0,05	0,10	2,50	0,10	0,14	2,47	19	78	230
30'	0,07	0,90	8,80	0,10	0,41	2,22	30	125	311
60'	0,10	1,10	10,30	0,10	0,86	3,74	30	113	263
Pico	0,20	1,10	10,30	0,10	0,86	3,74	30	125	311
Delta	0,10	0,80	9,80	0,00	0,39	2,28	8	50	174

TABELA 04 Correlação entre os valores dos níveis séricos do LH e da SUB α nos meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) nos tempos 0', 30' e 60' minutos após injeção de 100 μ g de GnRHs.

	LH0'		LH30'		LH60'	
	MN	AHH	MN	AHH	MN	AHH
SUB α 0'	r=0,67 p<0,000	r=0,11 NS	-	-	-	-
SUB α 30'	-	-	r=0,80 p<0,000	r=0,18 NS	-	-
SUB α 60'	-	-	-	-	r=0,65 p<0,000	r=0,19 NS

TABELA 05 Correlação entre os valores dos níveis séricos do FSH e da SUB α nos meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) nos tempos 0', 30' e 60' minutos após injeção de 100 μ g de GnRHs.

	FSH0'		FSH30'		FSH60'	
	MN	AHH	MN	AHH	MN	AHH
SUB α 0'	r=0,44 p<0,006	r=0,03 NS	-	-	-	-
SUB α 30'	-	-	r=0,65 p<0,000	r=0,68 p<0,001	-	-
SUB α 60'	-	-	-	-	r=0,55 p<0,001	r=0,62 p<0,003

TABELA 06 Correlação entre os valores dos níveis séricos do LH e do FSH nos meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) nos tempos 0', 30' e 60' minutos após injeção de 100 μ g de GnRHs.

	LH0'		LH30'		LH60'	
	MN	AHH	MN	AHH	MN	AHH
FSH0'	r=0,47 p<0,003	r=0,36 NS	-	-	-	-
FSH30'	-	-	r=0,72 p<0,000	r=0,19 NS	-	-
FSH60'	-	-	-	-	r=0,60 p<0,000	r=0,48 p=0,003

5.3 - COMPARAÇÕES FEITAS ENTRE MENINOS NORMAIS E ADULTOS PORTADORES DE HIPOGONADISMO HIPOGONADOTRÓFICO

As tabelas 07, 08 e 09 detalham os valores e as comparações feitas entre os dois grupos.

5.3.1 - Hormônio Luteinizante

O valor do LH basal (LH0') não diferiu estatisticamente entre as duas populações ($p > 0,185$), sendo que esse resultado tem um poder maior que 0,85. Os meninos normais apresentaram tanto o LH30' maior que os adultos com H.H. ($p < 0,0002$), assim como o LH60' maior que os adultos com H.H. ($p < 0,0004$). (figura 01)

Nos meninos normais tanto o LHpico como o LHdelta e o LHvezes foram maiores do que nos adultos com H.H. (respectivamente $p < 0,0002$, $p < 0,0000$, $p < 0,0000$). (figura 02 e 07)

A sobreposição dos valores do LH, nos dois grupos, 30 e 60 minutos após o estímulo com GnRHs foi de 77% e 79,6% respectivamente. Com relação ao LHpico, LHdelta e LHvezes a porcentagem de sobreposições foi de 79,6%, 75,5% e 44,8% respectivamente. (tabela 10)

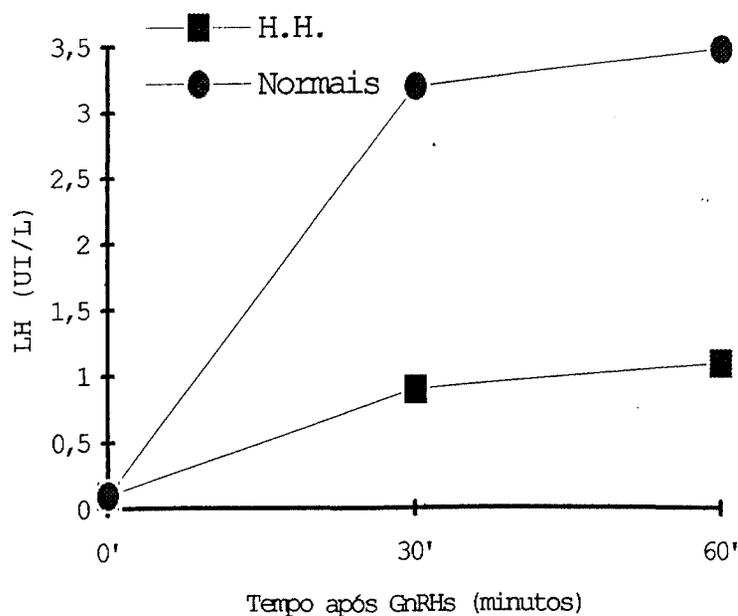


Fig. 01 - Comparação entre as medianas dos níveis séricos do LH antes, 30 e 60 minutos após estímulo com 100 μ g de GnRHs em meninos normais e adultos H.H..

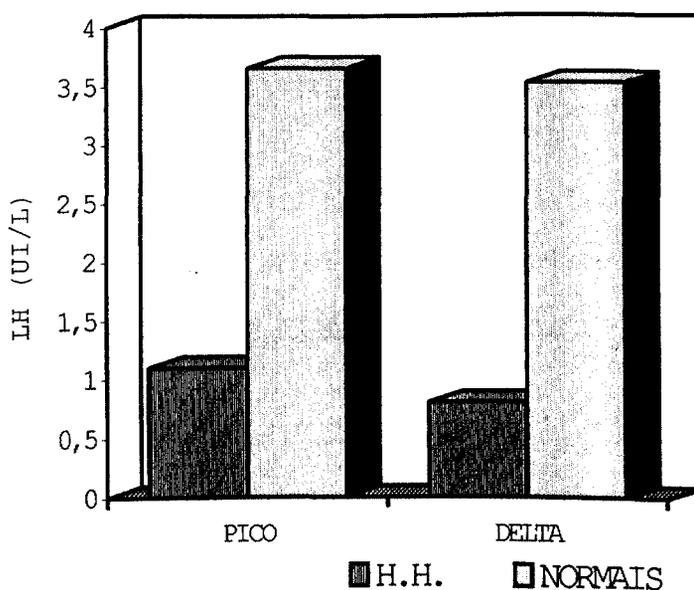


Fig. 02 - Comparação entre as medianas do LHpico e do LHdelta dos meninos normais e dos adultos com H.H. após estímulo com 100 μ g de GnRHs.

TABELA 07 Comparação entre as medianas dos níveis séricos do LH nos tempos 0', 30' e 60' e dos valores do pico, delta e "vezes" em meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) antes e após injeção de 100µg de GnRHs.

	0' (U/L)	30' (U/L)	60' (U/L)	Pico (U/L)	Delta (U/L)	Vezes (vezes)
MN	0,10	3,20	3,50	3,65	3,52	39,0
AHH	0,10	0,90	1,10	1,10	0,80	5,55
p	NS	<0,0002	0,0004	<0,0000	<0,0000	<0,0000

5.3.2 - Hormônio Folículo Estimulante

O valor do FSH basal (FSH0') não diferiu entre os dois grupos ($p > 0,50$), sendo que o resultado desse teste tem um poder maior que 0,85. Os meninos normais apresentaram um FSH30', bem como um FSH60' maior que os adultos com H.H. ($p < 0,0000$). (figura 03)

Nos meninos normais o FSHpico, bem como o FSHdelta e o FSHvezes foram maiores que nos adultos com H.H. ($p < 0,00000$). (figura 04 e 07).

A sobreposição dos valores do FSH, nos dois grupos, 30 e 60 minutos após o estímulo com GnRHs foi de 46,9% e 46,9% respectivamente. Com relação ao FSHpico, FSHdelta e FSHvezes a porcentagem de sobreposições foi de 46,9%, 24,5% e 38,8% respectivamente. (Tabela 11)

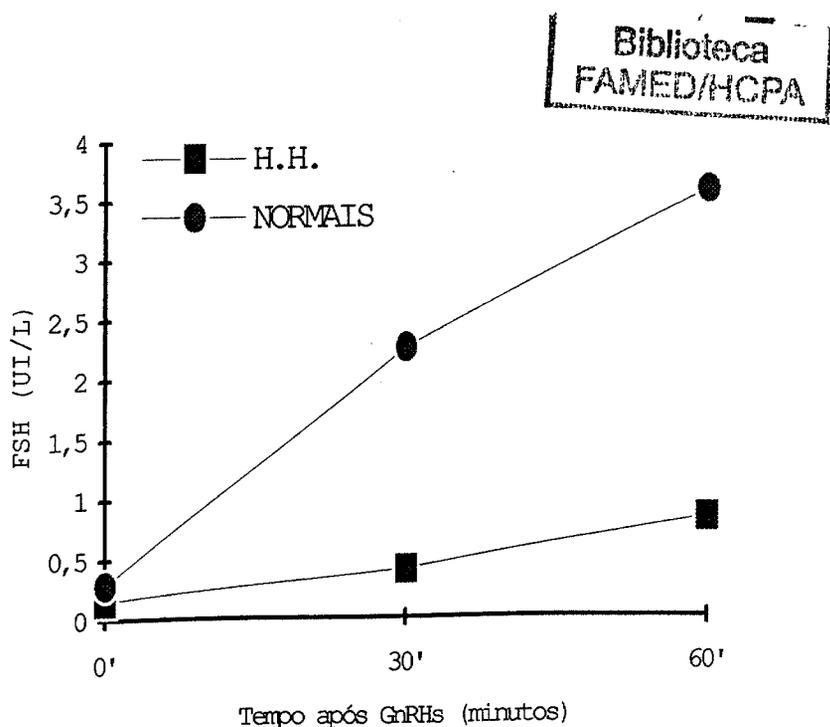


Fig. 03 - Comparação entre as medianas dos níveis séricos do FSH antes, 30 e 60 minutos após estímulo com 100 μ g de GnRHs em meninos normais e adultos com H.H.

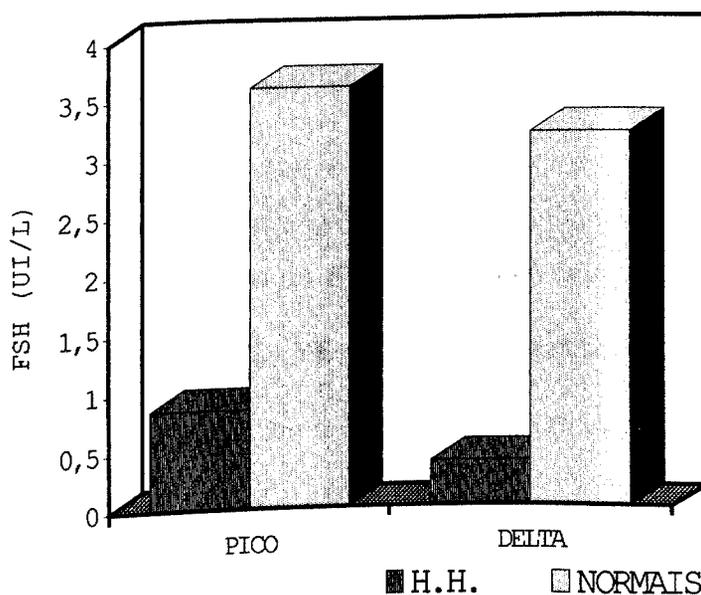


Fig. 04 - Comparação entre as medianas do FSHpico e do FSHdelta, após estímulo com 100 μ g de GnRHs, em meninos normais e adultos com H.H.

TABELA 08 Comparação entre as medianas dos níveis séricos do FSH nos tempos 0', 30' e 60' e dos valores do pico, delta e "vezes" em meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) antes e após injeção de 100µg de GnRHs.

	0' (U/L)	30' (U/L)	60' (U/L)	Pico (U/L)	Delta (U/L)	Vezes (vezes)
MN	0,29	2,26	3,61	3,61	3,20	10,88
AHH	0,14	0,41	0,86	0,86	0,39	3,05
p	NS	<0,0000	<0,0000	<0,0000	<,0000	<0,0000

5.3.3 - Subunidade Alfa Livre

O valor da SUB α 0' não diferiu entre os dois grupos ($p>0,84$), sendo que o resultado desse teste tem um poder maior que 0,85. Os meninos normais apresentaram tanto a SUB α 30' quanto a SUB α 60' maiores que os adultos com H.H. ($p<0,0000$). (figura 05).

Os meninos normais tiveram tanto a SUB α pico como a SUB α delta e a SUB α vezes maior que os adultos com H.H. ($p<0,0000$). (Figura 06 e 07).

A sobreposição dos valores do SUB α , nos dois grupos, 30 e 60 minutos após o estímulo com GnRHs foi de 26,5% e 24,5% respectivamente. Com relação ao SUB α pico, SUB α delta e SUB α vezes a porcentagem de sobreposições foi de 24,5%, 6,1% e 4% respectivamente. (tabela 12)

Os pontos centrais da curva de ROC para a SUB α delta foram: 130 ng/L, 150 ng/L, 160 ng/L e 180 ng/L. Considerando o ponto de corte em 130 ng/L obteve-se

uma sensibilidade de 88%, especificidade de 100%, valor predictivo positivo de 100% e valor predictivo negativo de 94%. Considerando o ponto de corte em 150 ng/L obteve-se uma sensibilidade de 88%, especificidade de 97%, valor predictivo positivo de 94% e valor predictivo negativo de 94%. Considerando o ponto de corte em 160 ng/L obteve-se uma sensibilidade de 94%, especificidade de 97%, valor predictivo positivo de 94% e valor predictivo negativo de 97%. Considerando o ponto de corte em 180 ng/L obteve-se uma sensibilidade de 100%, sensibilidade de 97%, valor predictivo positivo de 94% e valor predictivo negativo de 100%.

Os pontos centrais da curva de ROC para a SUB α vezes foram: 3,3 vezes, 3,5 vezes e 3,7 vezes. Considerando o ponto de corte em 3,3 vezes obteve-se uma sensibilidade de 94%, especificidade de 100%, valor predictivo positivo de 100% e valor predictivo negativo de 97%. Considerando o ponto de corte em 3,5 vezes obteve-se uma sensibilidade de 94%, especificidade de 97%, valor predictivo positivo de 100% e valor predictivo negativo de 97%. Considerando o ponto de corte em 3,7 vezes obteve-se uma sensibilidade de 100%, especificidade de 97%, valor predictivo positivo de 94% e valor predictivo negativo de 100%.

TABELA 09 Comparação entre as medianas dos níveis séricos da SUB α nos tempos 0', 30' e 60' e dos valores do pico, delta e "vezes" em meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) antes e após injeção de 100 μ g de GnRHs.

	0' (ng/L)	30' (ng/L)	60' (ng/L)	Pico (ng/L)	Delta (ng/L)	Vezes (vezes)
MN	57,5	435,5	352	434,5	377,5	7,03
AHH	78	125	113	125	50	1,58
p	NS	<0,0000	<0,0000	<0,0000	<,0000	<0,000

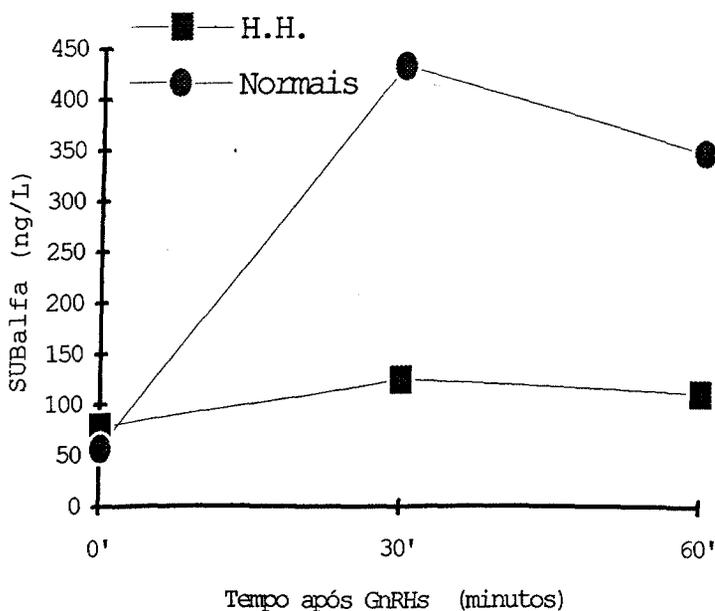


Fig. 05 - Comparação entre as medianas dos níveis séricos da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos ($SUB\alpha$), após estímulo com $100\mu\text{g}$ de GnRHs, nos tempos 0', 30' e 60' em meninos normais e adultos com H.H.

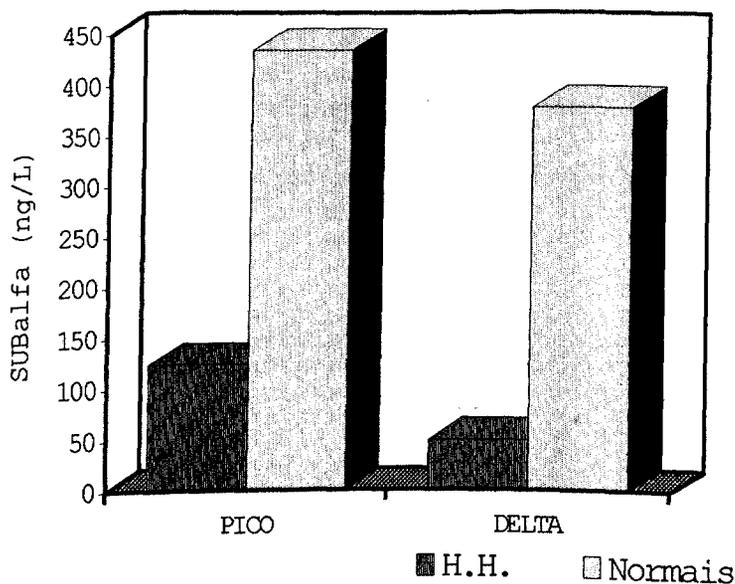


Fig. 06 - Comparação entre as medianas da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos ($SUB\alpha$), após estímulo com $100\mu\text{g}$ de GnRHs, em meninos normais e adultos com H.H.

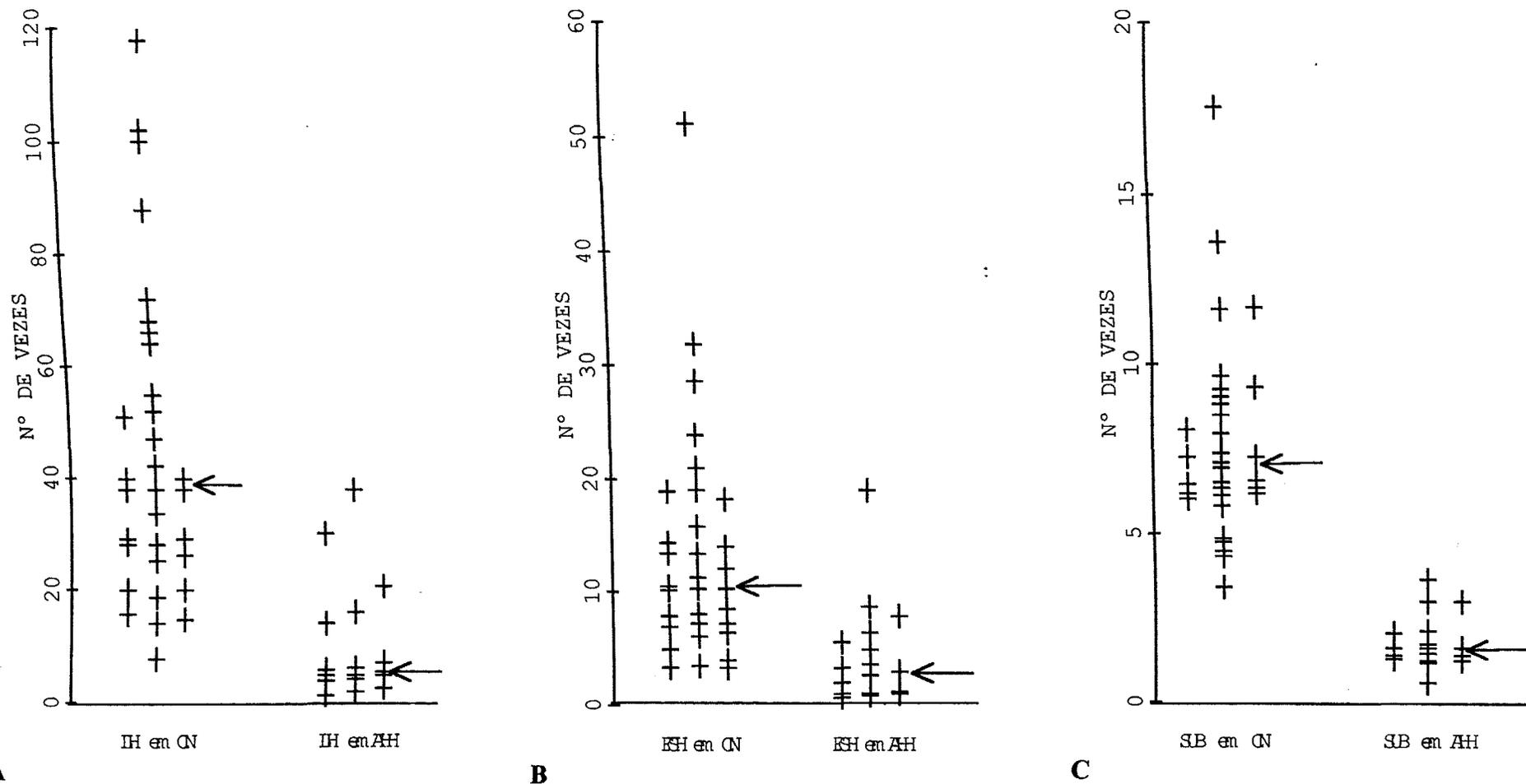


FIG.07 Comparação entre a dispersão dos valores do LHvezes, FSHvezes e da SUB α vezes. A) valores do LHvezes de cada menino normal (MN) e de cada adulto com H.H. (AHH), B) valores do FSH vezes em MN e AHH, C) valores da SUB α vezes em MN e AHH. A seta indica a mediana.

Tabela 10 DEMONSTRAÇÃO DAS SOBREPOSIÇÕES DOS VALORES DO LH APÓS ESTÍMULO COM GnRHs

LH30'		LH60'		LHpico		LHdelta		LHvezes	
AHH	MN	AHH	MN	AHH	MN	AHH	MN	AHH	MN
(UI/L)		(UI/L)		(UI/L)		(UI/L)		(vezes)	
0,07		0,10		0,20		0,10		1,3	
0,20		0,20		0,30		0,15		1,8	
0,30		0,40		0,40		0,25		2,5	
0,30		0,40		0,40		0,33		3,7	
0,40		0,50		0,50		0,41		4,0	
0,40		0,70		0,70		0,60		4,7	
0,50		0,70		0,70		0,65		4,7	
0,70		0,80		0,80		0,75		4,9	
0,90		1,10		1,10		0,80		5,5	
1,10			1,30		1,30	1,10		5,7	
1,10	1,10	1,40	1,40	1,40		1,10		6,0	
1,20	1,20	1,40	1,40	1,40	1,40		1,25		
	1,50		1,40	1,50			1,35		7,7
	1,50	1,50		1,90	1,90	1,45		14,0	14,0
1,70	1,70	1,90	19,90		2,00	1,70			14,6
1,80	1,80		2,00		2,00	1,85	1,85		15,6
	1,90		2,10		2,10		1,90	16,0	
	2,00		2,40		2,50		1,95		18,5
	2,00		2,60		2,60	2,00			20,0
	2,20		2,60	2,80	2,80		2,05		20,0
	2,50	2,80	2,80		2,90		2,40	20,6	
	2,60		2,90		2,90		2,55		25,0
	2,60		2,90		3,10		2,60		26,0
3,00	3,00		3,10		3,20		2,70		28,0
	3,10		3,20		3,30		2,80		28,0
	3,10		3,30		3,40		2,80		29,0
	3,30		3,40		3,60		3,15		29,0
	3,50		3,60		3,70		3,25	30,0	
	3,60		3,70		3,80		3,35		33,5
	3,60		3,90		4,00	3,50	3,50		38,0
	3,70		4,00		4,40		3,54		38,0
	3,70	4,40	4,40	4,40			3,70	38,0	38,0
	3,80	4,50		4,50	4,70		3,90		40,0
4,50			4,70		5,00		4,32		40,0
	4,60		5,00		5,10		4,60		42,0
	5,10		5,10		5,90		4,95		47,0
	5,80		5,90		6,00		5,05		51,0
	6,00		6,00		6,26		5,70		52,0
	6,26		6,70		6,70		5,85		55,0
	7,21		7,20		7,20		5,86		64,0
	8,50		7,30		7,30		6,50		66,0
	8,70		7,60		8,50		6,80		68,0
8,80			8,80		8,80		7,05		72,0
	15,20	10,30		10,30			8,20		88,0
		11,20			15,20		8,70		100,0
						9,80			102,0
							14,80		118,0

Tabela 11 DEMONSTRAÇÃO DAS SOBREPOSIÇÕES DOS VALORES DO FSH APÓS ESTÍMULO COM GnRHs

FSH30'		FSH60'		FSHpico		FSHdelta		FSHvezes	
AHH	MN	AHH	MN	AHH	MN	AHH	MN	AHH	MN
(UI/L)		(UI/L)		(UI/L)		(UI/L)		(vezes)	
0,10		0,10		0,10		0		0,8	
0,10		0,10		0,10		0		1,0	
0,10		0,12		0,12		0		1,0	
0,10		0,15		0,15		0		1,0	
0,10		0,36		0,36		0,02		1,0	
0,10		0,48		0,48		0,02		1,2	
0,12		0,49		0,49		0,26		2,0	
0,22		0,57		0,57		0,34		2,7	
0,41		0,86		0,86		0,39		3,0	
0,43		1,06		1,06		0,47			3,3
	0,44	1,08		1,08		0,68		3,4	
0,49			1,22		1,22	0,76			3,5
	0,65	1,34		1,34			1,11	3,6	
0,66			1,41		1,41	1,13			3,9
0,68			1,44		1,44		1,31	4,9	
	1,04		1,58		1,58		1,34		5,0
	1,08	1,67		1,67		1,38		5,67	
	1,10		1,82		1,82	1,46			6,1
	1,14		1,98		1,98		1,48		6,4
1,24		2,06		2,06			1,72	6,4	
1,44		2,16		2,24			1,80		6,8
	1,46		2,40		2,40	1,86			7,2
	1,56	2,41		2,41			2,25		7,3
	1,65		2,45		2,45	2,28			7,8
1,69			2,47		2,47		2,29	8,0	8,0
	1,82		2,86		2,86		2,30		8,5
	1,89		3,03		3,03		2,53	8,6	
	2,06		3,12		3,12		2,76		10,2
	2,07		3,41		3,41		2,85		10,3
	2,12		3,46		3,46		2,93		10,3
	2,18		3,54		3,54		3,02		10,5
2,22			3,61		3,61		3,02		11,3
	2,30		3,62		3,62		3,04		12,1
	2,34	3,74		3,74			3,36		13,4
	2,45		3,96		3,96		3,43		13,4
	2,97		3,98		3,98		3,58		14,1
	3,12		3,99		3,99		3,59		14,4
	3,34		4,22		4,22		3,68		15,8
	3,39		4,47		4,47		4,20		18,2
	3,42		4,53		4,53		4,24		18,9
	3,75		5,12		5,12		4,29	19,1	19,1
	4,35		5,15		5,15		4,40		21,1
	4,41		5,21		5,21		4,96		23,9
	4,67		5,75		5,75		5,02		28,6
	4,85		5,91		5,91		5,09		30,3
	5,73		6,03		6,03		5,19		31,2
	6,00		6,27		6,27		5,32		51,2
	6,68		6,49		6,49		5,66		
			8,45		8,45		6,04		

6- DISCUSSÃO

6- DISCUSSÃO

A confirmação do diagnóstico de hipogonadismo hipogonadotrófico (H.H.), em homens, antes dos 18 anos de idade é bastante difícil por diversos motivos. Um deles é que cerca de 3% dos meninos normais apresentam retardo constitucional do crescimento e desenvolvimento puberal (RCCDP) (65), que se caracteriza por baixos níveis de secreção de gonadotrofinas e ausência de sinais puberais após o limite normal máximo de idade em que se espera o início da puberdade. Outra dificuldade no diagnóstico é o padrão de liberação das gonadotrofinas nos H.H. que pode variar desde níveis muito baixos até a presença de concentrações séricas semelhantes ao período peripuberal (11, 46, 65). Na literatura, diversos trabalhos procuraram uma maneira de diferenciar o RCCDP do H.H. antes dos 18 anos de idade. Alguns evidenciaram diferenças nos níveis séricos de gonadotrofinas através da realização de coletas de sangue seriadas por períodos de 12 ou 24 horas (15, 22, 23). A realização de tantas coletas dificulta a utilização como método diagnóstico na prática médica. Outros se valeram da aplicação de GnRHs com coletas sangüíneas a cada 30 minutos por uma ou duas horas (22, 26, 36, 57). No entanto, seus resultados não são comparáveis por terem utilizado populações, dose de GnRHs, e/ou técnicas de dosagens hormonais diferentes.

O presente trabalho estudou as variações do hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH) e da subunidade alfa livre ($SUB\alpha$) em meninos normais (MN) e adultos com H.H. (AHH) utilizando o teste de estímulo com GnRHs com apenas três coletas de sangue. O teste envolveu a aplicação de um medicamento acessível, sem efeitos colaterais, fazendo as dosagens hormonais pelo método da imunofluorometria, ensaio com maior sensibilidade que os utilizados anteriormente (26). Os MN apresentaram níveis séricos basais de LH ($LH0'$) e FSH ($FSH0'$) próximos ao limite de detecção dos ensaios. Os níveis séricos do LH e do FSH tiveram incremento significativo após uso do GnRHs sendo que o LH atingiu seu pico aos 30 minutos e o FSH, aos 60 minutos. Os AHH também responderam ao estímulo de forma significativa. A presença de resposta ao teste de estímulo, tanto em meninos como em pacientes com H.H., confirma o que foi demonstrado por Wu e *cols.* em 1991 (71) e por Goji e Tanikase em 1992 (23). Esses dois trabalhos também demonstraram que tanto crianças como pacientes com H.H. apresentam variações espontâneas dos níveis séricos noturnos de gonadotrofinas. Em crianças, os níveis séricos atingidos durante o sono se assemelham aos obtidos pelo teste de estímulo com GnRHs (23). A resposta maior do LH aos 30 minutos e do FSH aos 60 minutos após o estímulo já havia sido demonstrada em outros estudos (13, 50, 52).

Os mesmos trabalhos já citados de Wu e *cols.* em 1991 e Goji e Tanikase em 1992 não conseguiram demonstrar diferenças entre crianças normais e AHH na resposta das gonadotrofinas ao teste de estímulo com GnRHs (23, 71). Porém utilizaram doses mais baixas de GnRHs e/ou crianças com idade inferior a 6 anos. A resposta das gonadotrofinas a diferentes doses de GnRHs foi mostrada por Barcena e *cols.*, em 1993, quando estudaram adultos, concluindo que o FSH responde melhor a doses mais altas, porém o LH apresenta ampla variabilidade nas diferentes doses

(3). Duas revisões sobre o tema referem que doses baixas provocam resposta parcial da hipófise (18) e que a dose de $100\mu\text{g}/\text{m}^2$ seria a que produz maior resposta do LH (29). Em 1989, Ehrmann e cols. avaliaram 8 indivíduos com H.H. e 3 jovens com RCCDP e demonstraram diferença estatística entre os níveis de LH e FSH após estímulo com agonista do GnRHs (Nafarelina) (15). Porém, a idade média dos jovens com RCCDP era de $16,2\pm 0,8$ anos. Também em 1989, Lanes e cols. compararam 10 AHH e 12 jovens com RCCDP, com idade entre 13 e 17,8 anos e demonstraram diferença nos níveis de gonadotrofinas após estímulo com GnRHs (36). Todos os jovens testados por Lanes entraram em puberdade 4 meses após as coletas de sangue. Em 1990, Haavisto e cols. compararam jovens com idade média de $15,8\pm 1,3$ anos e pacientes com H.H. e, utilizando ensaio mais sensível, comprovaram a diferença entre os dois grupos sem haver sobreposições de dados (26). Todos esses trabalhos, no entanto, comparam jovens com idade próxima ou até iniciando a puberdade. Isso facilita a distinção entre os dois grupos, visto que está demonstrado que a secreção noturna de gonadotrofinas aumenta gradualmente com a proximidade da puberdade (4, 8, 25, 33). Nenhum desses estudos determinou se os jovens, cuja puberdade normal demoraria mais tempo para surgir, responderiam diferentemente dos pacientes com H.H.. O presente estudo demonstra essa diferença em uma fase da vida em que se esperam baixos níveis de secreção das gonadotrofinas. Tais resultados não contradizem os achados negativos de Goji e Tanikase em 1992 (23) e Wu e cols. em 1991 (71), pois a faixa etária foi outra e utilizou-se ensaios ultrasensíveis. O presente estudo completa os resultados referidos por Haavisto e cols. (26), Ehrmann e cols. (15) e Lanes e cols. (36) ao confirmar que o teste de estímulo, mesmo em pacientes cuja puberdade está distante, possibilita diferenciar MN dos AHH.

Além dos valores atingidos 30 e 60 minutos após estímulo, esse estudo avaliou a resposta máxima (pico) do LH e do FSH assim como o incremento (delta) ocorrido dos níveis basais até o pico e o número de vezes que o pico foi maior que o basal (LHvezes FSHvezes). Os resultados demonstraram que, tanto em relação ao LH como em relação ao FSH, os valores do pico, do delta e do "vezes" foram diferentes nos dois grupos estudados.

Pode-se dizer que os MN respondem diferentemente dos AHH ao estímulo do GnRHs. Essa constatação, no entanto, não é suficiente para que esse teste seja usado para o diagnóstico diferencial entre esses dois grupos. A utilização de testes provocativos, ou mesmo coletas seriadas por longos períodos, apesar de terem demonstrado diferenças estatísticas entre os indivíduos normais e os H.H., não o fizeram de forma total visto que, comparados um a um, os valores de parte dos indivíduos testados nos dois grupos se sobrepõem. No caso do estudo feito por Smals em 1994, que avaliou 16 pacientes com H.H. e 17 jovens com RCCDP, a sobreposição dos resultados chegou a 50% (57). Na prática clínica, é necessário uma técnica diagnóstica que possa determinar em cada paciente se ele é ou não portador de H.H.. Ghai e *co/s.*, em 1995, avaliaram a resposta hipofisária ao estímulo de Nafarelina em 11 jovens entre 13 e 17 anos de idade com RCCDP e 10 homens com H.H. e conseguiram distinguir os H.H. do RCCDP (22). O teste empregado tem duração de, no mínimo, 4 horas com realização de várias coletas de sangue e administrando um medicamento de custo superior ao utilizado no presente estudo. A diferença desse estudo em relação aos demais é que o número de sobreposições dos níveis de LH nos dois grupos foi pequeno e os autores concluíram que um aumento dos níveis séricos de LH inferior a 7,2 UI/L, bem como um incremento nos níveis séricos de LH inferiores a 4,8% é diagnóstico de H.H. com 90% de

sensibilidade e 100% de especificidade. Esse tipo de dado, fornecido por Ghai e cols., é necessário para a avaliação individual do paciente, no entanto todos os estudos citados nessa discussão não referenciam nenhum dado similar.

Constatou-se, no presente estudo, um grande número de sobreposições dos valores do LH e do FSH nas diversas formas com que foram avaliados. Apesar de os níveis séricos do LH e FSH, 30 e 60 minutos após o estímulo com GnRHs, serem estatisticamente diferentes entre AHH e MN, não servem para o diagnóstico em situações individuais, pois há AHH cujos níveis de gonadotrofinas atingiram valores próximos ao máximo evidenciado nas crianças. Esses achados encontram respaldo nos trabalhos citados anteriormente (15, 36, 57) que também demonstraram diferenças estatísticas entre as populações estudadas, mas sempre com um significativo número de sobreposições, o que não permite a utilização do teste para o diagnóstico individual de H.H.. A observação das sobreposições nos valores máximos atingidos (pico) pelo LH, FSH, bem como do delta evidencia tantos entrecruzamentos quanto os valores absolutos atingidos nos três tempos. Os valores do LH e FSH encontrados pela divisão do pico pelo basal (LHvezes e FSHvezes) apresentaram menos sobreposições, porém a redução não foi suficiente para viabilizar a utilização desse cálculo como critério diferenciador de MN e AHH.

Pode-se dizer que, mesmo com a utilização de ensaio ultra-sensível, os níveis séricos de LH e de FSH, após estímulo com GnRHs não possibilitam a confirmação se uma determinada criança é ou não portadora de H.H..

A subunidade alfa dos hormônios glicoprotéicos é comum às gonadotrofinas hipofisárias assim como ao TSH (49) e é produzida tanto nos gonadotrofos como nos tireotrofos (67, 69). Winters e Troen, em 1988, estudaram 4 adultos com deficiência

exclusiva de gonadotrofinas e demonstraram que os níveis séricos de SUB α não se alteravam após a supressão do TSH pelo T₄ (69). Os mesmos autores, em 1990, demonstraram que os níveis basais de SUB α em homens normais são três vezes maiores que dos adultos com deficiência exclusiva de gonadotrofinas e que a resposta ao teste de estímulo com hormônio estimulante da tireotrofina (TRH) provoca igual incremento nos níveis de SUB α nos dois grupos (67). Esses dois trabalhos demonstram ser o gonadotrofo o principal local de síntese da SUB α livre. Em 1986, Spratt e cols. trataram 6 adultos com H.H. com pulsos de GnRHs semelhantes aos que os adultos normais produzem, e demonstraram que o GnRH exerce marcante influência na liberação de SUB α (59). Considerando o principal local de origem da SUB α e a influência do GnRH, o presente estudo avaliou a resposta da SUB α nos mesmos moldes que o fez com o LH e o FSH. Após estímulo com GnRHs, tanto os MN como os AHH tiveram elevação nos níveis de SUB α , sendo máximo aos 30 minutos. Styne e cols., em 1980, estudaram a resposta de indivíduos pré-púberes, púberes e adultos ao teste de estímulo com GnRHs e demonstraram que aqueles em puberdade e adultos respondem a esse estímulo, mas as crianças pré-púberes apresentaram níveis próximos ou abaixo do limite de sensibilidade do ensaio (61). A baixa sensibilidade do ensaio utilizado por Styne pode justificar a ausência de resposta das crianças normais. Em 1985, Winters e Troen demonstraram que adultos têm secreção pulsátil de SUB α (68). As variações da SUB α em pacientes com H.H. foram comprovadas pelos mesmos autores em 1988 quando demonstraram a existência de até 3 pulsos em 24 horas nesses pacientes (69). Não há trabalhos publicados na literatura indexada nos últimos 15 anos comparando a resposta da SUB α , ao estímulo do GnRHs, em MN e AHH. O presente estudo

demonstra que os MN apresentam elevação maior dos níveis séricos da SUB α do que os AHH após uso de GnRHs. Também fica evidente que os demais parâmetros avaliados (SUB α pico, SUB α delta e SUB α vezes) são significativamente maiores nos MN.

Avaliando as sobreposições dos níveis séricos da SUB α 30 e 60 minutos após o estímulo, bem como o valor da SUB α pico, encontramos menos sobreposições nos dois grupos do que foi observado em relação ao LH e ao FSH. O poder discriminatório maior da SUB α fica mais evidente na comparação da SUB α delta e SUB α vezes nos dois grupos. Apenas 1 MN tem SUB α delta inferior ao maior valor atingido por um AHH e 2 AHH obtiveram níveis maiores que o menor valor dos MN (6,12% das duas amostras). No caso da SUB α vezes, ocorreu a sobreposição de 1 MN e 1 AHH (4% do total) sendo que seus valores foram bastante semelhantes (3,37 e 3,59 vezes respectivamente). O menor número de sobreposições entre os níveis séricos da SUB α alcançados nos dois grupos possibilita a utilização da SUB α , dosada por ensaios ultra-sensíveis, como teste diagnóstico de H.H..

Para a dosagem da SUB α ser utilizada como teste diagnóstico na prática médica, é necessário estabelecer um valor que delimite a população de AHH dos MN, a exemplo do que fez Ghai e cols., em 1995 (22). A avaliação dos valores da SUB α delta evidencia a possibilidade de 4 valores passíveis de serem utilizados como ponto de corte (130 ng/L, 150 ng/L, 160 ng/L e 180 ng/L) Com a utilização da curva de ROC define-se como sendo 180 ng/L o melhor ponto de corte, por ter a maior especificidade (97%) sem perda da sensibilidade (100%). No entanto, esse valor permite 3% de resultados falso positivos. O diagnóstico de hipogonadismo hipogonadotrófico implica na realização de extensa investigação das causas do H.H..

Frente a isso, no caso desse diagnóstico, é preferível um teste com menor sensibilidade mas com 100% de especificidade, evidenciando um valor preditivo positivo de 100%. No caso da SUB α delta, o valor de 130 ng/L apresenta essas características mas com 88% de sensibilidade.

A avaliação da SUB α vezes evidencia a possibilidade de apenas 3 pontos de corte (3,3 vezes, 3,5 vezes e 3,7 vezes). O valor de 3,3 vezes possibilita 100% de especificidade e 94% de sensibilidade com valor preditivo positivo de 100% e valor preditivo negativo de 97%. Isto demonstra que a SUB α vezes é mais discriminadora das duas populações que a SUB α delta.

A alta sensibilidade do ensaio imunofluorimétrico utilizado foi um fator decisivo na viabilização dessas conclusões, visto que, tanto os valores da SUB α delta como da SUB α vezes estão baseados nos níveis séricos basais. Em nenhum indivíduo testado os níveis basais se aproximaram do limite do ensaio, o que permite afirmar que os valores de SUB α delta e SUB α vezes expressam realmente o incremento provocado pelo estímulo com GnRHs. Ensaio menos sensíveis podem comprometer a eficácia desse teste.

Os autores mostram que um valor da SUB α delta inferior a 130 ng/L ou um valor da SUB α vezes inferior a 3,3 vezes, medidas por ensaio imunofluorimétrico ultra-sensível, após estímulo com GnRHs, estabelece o diagnóstico de H.H. em meninos.

A correlação entre a secreção do LH e da SUB α , evidenciada no presente estudo, já havia sido demonstrada por outros autores (54, 59, 66), inclusive com a constatação de que 40 % dos pulsos ocorrem antes, 54 % concomitantemente e 6 %

após aos do LH (68). O gonadotrofo é o principal local de síntese da SUB α (69). Em 1975, Prentice e Ryan demonstraram em extratos de hipófises que a SUB α era mais abundante que as subunidades β (47). Esse fato foi também demonstrado em fetos e recém-nascidos, em 1976, por Kaplan e cols. ao estudarem a concentração da SUB α em hipófises de fetos e no sangue do cordão umbilical (31). Em 1980, Kourides e cols., ao estudarem a hipófise de 13 homens que morreram de causas não endócrinas, demonstraram que a proporção entre a concentração da SUB α e o somatório das demais subunidades β variava de 1,29 até 8,31 (34).

O controle da secreção da SUB α difere, em parte, daquele do LH, já que determinados estímulos inibidores da secreção do LH não interferem na secreção da SUB α . Lendner e cols., em 1990, utilizaram um antagonista do GnRH em cinco homens adultos e demonstraram a redução dos níveis de LH em dois dias, porém com redução de apenas 50% dos níveis séricos da SUB α após sete dias de tratamento (39). No ano seguinte, Lemay e Lourdusamy trataram 10 mulheres, portadoras de endometriose, com um agonista do GnRH (Buserelina) por um período de 6 meses e demonstraram que os níveis séricos do LH β e o LH bioativo diminuíram após uma semana enquanto os níveis da SUB α se elevaram, efeito que persistiu por todo o período do tratamento (38). Em 1987, Lahlou e cols. avaliaram a resposta ao teste de estímulo de GnRHs, em 12 meninas com puberdade precoce antes e após 12 meses de tratamento com agonista do GnRH (LHRH-A; Ipsen-Biotech, Paris, France), e também demonstraram que havia supressão dos níveis de LH, mas não da SUB α (37). Pode-se dizer que o agonista conseguiu suprimir a formação do LH principalmente pela diminuição da produção da subunidade β , porém

não reduziu todas as funções do gonadotrofo, visto que os níveis da SUB α permaneceram elevados.

A síntese de LH envolve várias etapas, entre elas a síntese da SUB α e da LH β (45). A subunidade β é produzida em menor quantidade (34, 47) sendo ela que limita o processo de síntese do LH (42). Papavasiliou e cols., no mesmo estudo de 1986, dosaram LH, LH β e SUB α em ratos após o uso de diferentes doses de GnRHs em pulsos (de 10 a 250 ng/m²) e demonstraram que o RNAm da SUB α aumentou em resposta a todas as doses utilizadas, porém o RNAm do LH β só respondeu ao estímulo quando os pulsos de GnRHs foram de 25 ng/m², e que doses maiores produziram pequeno aumento. Demonstraram também que a secreção de LH respondeu da mesma forma que o LH β . Devido à observação de que o LH só é secretado mediante o estímulo capaz de sintetizar a SUB β , os autores concluíram ser a síntese de LH β o fator limitante da secreção de LH (42).

Na literatura, com a utilização de ensaios pouco sensíveis para a SUB α , os níveis séricos de SUB α também estão elevados no recém-nascido, próximos ao limite dos ensaios na infância e sobem gradualmente do período pubertário até a vida adulta (20, 61). Esse fato demonstra que os níveis séricos da SUB α apresentam variação diretamente proporcional ao nível de atividade dos gonadotrofos. O presente estudo demonstrou que a resposta da SUB α ao estímulo do GnRHs, medida por ensaio imunofluorimétrico ultrasensível, é mais eficaz em demonstrar diferença na resposta entre meninos pré-púberes e AHH do que os hormônios completos LH e FSH. Essa resposta em MN foi maior do que a dos AHH. Aliados a esses achados, os trabalhos acima citados colaboram para firmar a hipótese de que a SUB α é um melhor marcador da integridade funcional do gonadotrofo.

A amostra de AHH, no presente estudo, foi constituída em grande parte por pacientes com deficiências hormonais hipotálamo e/ou hipofisárias múltiplas e possivelmente, em alguns, decorrente de alterações hipofisárias. No entanto o H.H. pode ser decorrente da ausência ou insuficiência de secreção hipotalâmica de GnRH (12, 64). Pode-se supor que, por não possuírem dano hipofisário, apresentariam secreção normal de SUB α . Whitcomb e cols., em 1990, e Spratt e cols., em 1986, examinaram adultos com H.H. com deficiência exclusiva de gonadotrofinas e constataram que os níveis séricos de SUB α eram baixos, elevando-se após o uso persistente de GnRHs de forma pulsátil (59, 66). Na amostra de AHH do presente estudo, havia 3 pacientes com H.H. idiopático e, mesmo apresentando valores de SUB α delta e SUB α vezes entre os mais altos obtidos pelo grupo de AHH, os valores foram claramente inferiores aos demonstrados pelos MN. Nesses casos, a diminuição da resposta da SUB α pode ser em decorrência da falta de sensibilização prévia da glândula (62).

O presente estudo mostra que a medida da SUB α , por método imunofluorimétrico de alta sensibilidade, após estímulo com GnRHs, diferencia MN dos AHH e, assim, abre um novo e promissor caminho no diagnóstico diferencial do atraso puberal.

7- CONCLUSÃO

7 - CONCLUSÃO

7.1 - SOBRE OS MENINOS NORMAIS

- I. Os níveis séricos do hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH) e da subunidade alfa livre dos hormônios glicoprotéicos ($SUB\alpha$) elevam-se significativamente após um único estímulo endovenoso com hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRHs).
- II. Tanto o LH como a $SUB\alpha$ atingem seus níveis máximos após 30 minutos do estímulo, enquanto o FSH o faz 60 minutos após.
- III. Sessenta minutos após o estímulo, os níveis séricos de LH mantêm-se inalterados em relação a valores alcançados aos 30 minutos, enquanto os de FSH se elevam e os níveis da $SUB\alpha$ diminuem significativamente.
- IV. Existe significativa correlação entre os níveis do LH, do FSH e da $SUB\alpha$ basais e após o uso de GnRHs, sendo mais evidente 30 minutos após o estímulo.

7.2 - SOBRE OS ADULTOS COM HIPOGONADISMO HIPOGONADOTRÓFICO

- I. Os níveis séricos do LH, FSH e da SUB α elevam-se significativamente após um único estímulo endovenoso com GnRHs.
- II. Tanto o LH como a SUB α atingem seus níveis máximos após 30 minutos do estímulo, enquanto o FSH o faz 60 minutos após.
- III. Sessenta minutos após o estímulo, os níveis séricos de LH e da SUB α mantêm-se inalterados em relação a valores alcançados aos 30 minutos, enquanto o FSH apresenta elevação de seus níveis.
- IV. Existe significativa correlação entre os níveis do FSH e da SUB α 30 e 60 minutos após o estímulo com GnRHs. O mesmo se verifica em relação aos níveis de LH e FSH 60 minutos após o estímulo. Não há correlação entre os níveis séricos do LH e da SUB α em qualquer um dos tempos bem como do LH e do FSH basais e 30 minutos após o estímulo.

7.3 - SOBRE AS COMPARAÇÕES ENTRE OS DOIS GRUPOS

- I. Os níveis séricos basais do LH, FSH e da SUB α são iguais nos dois grupos.

- II. Os níveis séricos do LH, FSH e da SUB α são significativamente maiores nos meninos normais do que nos adultos com H.H. completo tanto 30 como 60 minutos após o estímulo com GnRHs.
- III. O nível sérico máximo atingido após o estímulo (pico), o valor diferencial entre o nível basal e o pico (delta) assim como o número de vezes que o pico foi maior que o basal (vezes), de todas as dosagens, foram significativamente maiores nas crianças normais do que nos adultos com H.H. completo.
- IV. A SUB α apresentou menos sobreposições do que o LH e o FSH ao serem avaliados os valores diferenciais entre o pico e o basal (SUB α delta) e o número de vezes que o pico foi maior que o basal (SUB α vezes).
- V. Valores da SUB α delta inferiores a 130 ng/L estabelecem o diagnóstico de hipogonadismo hipogonadotrófico em meninos pré-púberes com 100% de especificidade e 88% de sensibilidade tendo um valor predictivo positivo de 100% e um valor predictivo negativo de 94%.
- VI. Valores da SUB α vezes inferiores a 3,3 vezes estabelecem o diagnóstico de hipogonadismo hipogonadotrófico em meninos pré-púberes com 100% de especificidade e 94% de sensibilidade tendo um valor predictivo positivo de 100% e um valor predictivo negativo de 97%.

8- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

8- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- 1 - APTER,D.; CACCIATORE,B.; ALFTHAN,H. et alii. Serum luteinizing hormone concentrations increase 100-fold in females from 7 years of age to adulthood, as measured by time-resolved immunofluorometric assay. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 68 (1):53-57, 1989.
- 2 - APTER,D. Ultrasensitive new immunoassays for gonadotropins in evaluation of puberty. **Current Opinion in Pediatrics**, 5:481-487,1993.
- 3 - BARCENA,D. G.; KASTIN,A J.; SCHALCH,D.S. et alii. Synthetic LH-Releasing Hormone (LH-RH) administered to normal men by different routes. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 37 (3):481-484, 1973.
- 4 - BECK,W.; WUTTKE,W. Diurnal variations of plasma luteinizing hormone,follicle-stimulating hormone,and prolactin in boys and girls from birth to puberty. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 50 (4):635-639, 1980.
- 5 - BELCHETZ,P.E.; PLANT,T.M.; NAKAI,Y. et alii. Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. **Science**, 202: 631-633, 1978.

- 6 - CHIPKEVITCH, E. Variações neuro-hormonais. In: CHIPKEVITCH, E. **Puberdade & Adolescência** : aspectos biológicos, clínicos e psicossociais. São Paulo: Roca, 1994. p. 85-99.
- 7 - CHIPKEVITCH, E. Maturação sexual e óssea. In: CHIPKEVITCH, E. **Puberdade & Adolescência** : aspectos biológicos, clínicos e psicossociais. São Paulo: Roca, 1994. p.53-85.
- 8 - COLLI, A.S. Crescimento e desenvolvimento físico do adolescente. In: MAAKAROUN, M.F.; SOUZA, R.P.; CRUZ, A.R. ed. **Tratado de adolescência: um estudo multidisciplinar.** Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1991. p.243-257.
- 9 - COLLI, A. Maturação sexual. In: SETIAN,N. ed. **Endocrinologia pediátrica: aspectos físicos e metabólicos do recém-nascido ao adolescente.** São Paulo: Sarvier, 1989. p.36-44.
- 10 - COLLI, A.S.; BERQUÓ, E.; MARQUES, R.M. **Crescimento e Desenvolvimento Pubertário em Crianças e Adolescentes Brasileiros IV - Volume Testicular.** São Paulo: Editora Brasileira de Ciência, 1984, p. 67
- 11 - CROWLEY, W.F.; FILICORI,M.; SPRATT,D.I. et alii. The physiology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion in men and women.**Recent Progress In Hormone Research**, 41:473-526, 1985.
- 12 - CROWLEY, W.F.; WHITCOMB,R.W. Gonadotropin-releasing hormone deficiency in men:diagnosis and treatment with exogenous gonadotropin-releasing hormone. **Am J Obstet Gynecol.**, 163:1752-1758, 1990.

- 13 - DICKERMAN, Z.; PRAGER-LEWIN, R.; LARON, Z. Response of plasma LH and FSH to synthetic LH -RH in children at various pubertal stages. **Am. J. Dis. Child.**, 130:634-638, 1976.
- 14 - DUNKEL,L.; PERHEENTUPA,J.; VIRTANEN,M. et alii. GnRH and HCG tests are both necessary in differential diagnosis of male delayed puberty. **AJDC**, 139:494-498, 1985.
- 15 - EHRMANN,D.A.; ROSENFELD,R.L.; CUTTLER,L. et alii. A new test of combined pituitary-testicular function using the gonadotropin-releasing hormone agonist nafarelin in the differentiation of gonadotropin deficiency from delayed puberty:pilot studies. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 69 (5):963-967, 1989.
- 16 - EISENSTEIN, E. Puberdade e processo de controle neuroendócrino. In: MAAKAROUN, M.F.; SOUZA, R.P.; CRUZ, A.R. ed. **Tratado de adolescência: um estudo multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1991. p.258-269.
- 17 - FLETCHER, R.H.; FLETCHER S.W. WAGNER,E.H. **Epidemiologia Clínica: bases científicas da conduta médica**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1989.
- 18 - FRANCHIMONT, P.; DEMOULIN, A.; BOURGUIGNON, J. P. Clinical use of LH-RH test as a diagnostic tool. **Hormone Res.** , 6 (3):177-191, 1975.
- 19 - FUENTES, A.R.; VELDHUIS, J.D. Neuroendocrine physiology of the normal gonadal axis. **Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.**, 22 (1):93-124, 1993
- 20 - GARNIER, P.E.; CHAUSSAIN, J.L.; BINET, E. et alii. Effect of synthetic luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) on the release of

gonadotrophins in children and adolescents. VI. relations to age, sex and puberty., *Acta Endocrinol.*, 77:422-434, 1974.

- 21 - GHAI,K.; ROSENFELD,R.L. Maturation of the normal pituitary-testicular axis, as assessed by gonadotropin-releasing hormone agonist challenge. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 78 (6):1336-1340,1994.
- 22 - GHAI,K.; CARA,J.F.; ROSENFELD,R.L. Gonadotropin releasing hormone agonist (Nafarelin) test to differentiate gonadotropin deficiency from constitutionally delayed puberty in teen-age boys - a clinical research center study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 80 (10):2980-2986, 1995.
- 23 - GOJI,K.; TANIKAZE,S. Comparison between spontaneous gonadotropin concentration profiles and gonadotropin response to low-dose gonadotropin-releasing hormone in prepubertal and early pubertal boys and patients with hypogonadotropic hypogonadism: assessment by using ultrasensitive, time-resolved immunofluorometric assay. *Pediatr. Res.*, 31 (5):535-539, 1992.
- 24 - GREENPAN, F.S.; FORSHAM, P.H. **Basic e Clinical Endocrinology.** California, Lange Medical Publicatios. 1983
- 25 - GRUMBACH, M.M.; STYNE, D.M. Puberty: ontogeny, neuroendocrinology, physiology and disorders. In: WILSON, J.D.; FOSTER, D.W. ed. **Williams textbook of endocrinology.** 8.ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1992. p.1139-1222.
- 26 - HAAVISTO,A.M.; DUNKEL,L.; PETTERSSON,K. et alii. LH measurements by in vitro biossay and a highly sensitive immunofluorometric assay improve the

- distinction between boys with constitutional delay of puberty and hypogonadotropic hypogonadism. **Pediatr. Res.**, 27(3):211-214, 1990.
- 27 - HAISENLEDER,D.J.; DALKIN,A.C.; ORTOLANO,G.A. et alii. A pulsatile gonadotropin-releasing hormone stimulus is required to increase transcription of the gonadotropin subunit genes:evidence for differential regulation of transcription by pulse frequency in vivo. **Endocrinology**, 128 (1):509-517, 1991.
- 28 - JAKACKI,R.I.; KELCH,R.P.; SAUDER,S.E. et alii. Pulsatile secretion of luteinizing hormone in children. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 55 (3):453-458, 1982.
- 29 - JOB,J.C.; CHAUSSAIN,J.L.; GARNIER,P.E. The use of luteinizing hormone-releasing hormone in pediatric patients. **Hormone res.**, 8 (3):171-187, 1977.
- 30 - JOHANSON,A. Fluctuations of gonadotropin levels in children. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 39 (1):154-159, 1974.
- 31 - KAPLAN, S.L.; GRUMBACH, M.M.; AUBERT, M.L. α and β glycoprotein hormone subunits (hLH, hFSH, hCG) in the serum and pituitary of the human fetus. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 42 (5):995-998, 1976.
- 32 - KLETTER,G.B.; KELCH,R.P. Disorders of puberty in boys. **Endocrinol. Metab. Clin. North Am.**, 22 (3):455-477, 1993.
- 33 - KLETTER,G.B.; PADMANABHAN,V.; BROWN,M.B. et alii. Serum bioactive gonadotropins during male puberty:a longitudinal study. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 76 (2):432-438, 1993.

- 34 - KOURIDES, I. A.; LANDON, M. B.; HOFFMAN, B. J. et alii. Excess free alpha relative to beta subunits of the glycoprotein hormones in normal and abnormal human pituitary glands. **Clin. Endocrinol.**, 12:407 - 416, 1980.
- 35 - KULIN,H.E. Editorial:puberty:when? **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 76 (1):24-25, 1993.
- 36 - LANES,R.; PALACIOS,A.; AVENDANO,E. et alii. The metoclopramide test: a useful tool with the luteinizing hormone-releasing hormone test in distinguishing between constitutional delay of puberty and hypogonadotropic hypogonadism. **Fertil. Steril.**, 52 (1):55-59, 1989.
- 37 - LAHLOU,N.; ROGER,M.; CHAUSSAIN,J.L. et alii. Gonadotropin and α -subunit secretion during long term pituitary suppression by D-Trp-luteinizing hormone-releasing hormone microcapsules as treatment of precocious puberty. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 65 (5):946-953, 1987.
- 38 - LEMAY,A.; LOURDUSAMY,M. Gonadotrophin releasing hormone agonist suppressive treatment of ovarian function decreases serum LH- α and bioactive LH but maintains elevated levels of LH- α . **Clin. Endocrinol.**, 34:191-196, 1991.
- 39 - LINDNER,J.; RIVIER,J.E.; VALE,W.W. et alii. Regulation of pituitary glycoprotein α -subunit secretion after administration of a luteinizing hormone-releasing hormone antagonist in normal men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 70 (4):1219-1224, 1990.

- 40 - LOVGREN,T.; HEMMILA,I.; PETTERSSON,K. et alii. Determination of hormones by time-resolved fluoroimmunoassay. *Talanta*, 31 (10B):909-916, 1984.
- 41 - NICHOLSON, A.B.;HANLEY C. Indices of physiological maturity: derivation and interrelationships. *Child Development*, 24:3-38, 1953.
- 42 - PAPAVALIOU, S.S.; ZMEILI, S.; KHOURY, S. et alii. Gonadotropin-releasing hormone differentially regulates expression of the genes for luteinizing hormone alpha and beta subunits in male rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 83 (11):4026-4029, 1986.
- 43 - PARKER,D.C.; JUDD,H.L.; ROSSMAN,L.G. et alii. Pubertal sleep-wake patterns of episodic LH, FSH and testosterone release in twin boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 40 (6):1099-1109, 1975.
- 44 - PARTSCH,C.J.; HERMANUSSEN,M.; SIPPELL,W.G. Differentiation of male hypogonadotropic hypogonadism and constitutional delay of puberty by pulsatile administration of gonadotropin-releasing hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 60 (6):1196-1203, 1985.
- 45 - Pierce, J. G.; Parsons, T.F. Glycoprotein hormones: structure and function. *Annu Rev. Biochem.*, 50:465 - 472, 1981.
- 46 - PLYMATE,S. Hypogonadism. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 23 (4):749-722, 1994.
- 47 - PRENTICE, L. G.; RYAN, R. J. LH and its subunits in human pituitary, serum and urine. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 40 (2):303 - 312, 1975.

- 48 - RADZAN, A.K.; FANG, V.S.; RICH, B.H. et alii. Gonadotropin-releasing hormone infusion test in the distinction of hypopituitary patients from normal subjects. **Fertil. Steril.**, 31 (5):507-512, 1979.
- 49 - REICHLIN, S. Neuroendocrinology. In: WILSON, J.D.; FOSTER, D.W. ed. **Williams textbook of endocrinology**. 8.ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1992. p.135-220.
- 50 - REITER, E.O.; ROOT, A.W.; DUCKETT, G.E. The response of pituitary gonadotropes to a constant infusion of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in normal prepubertal and pubertal children and in children with abnormalities of sexual development. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 43 (2):400-411, 1976.
- 51 - ROSENFELD, R.L. Diagnosis and management of delayed puberty. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 70 (3):559-562, 1990.
- 52 - ROTH, J.C.; GRUMBACH, M.M.; KAPLAN, S.L. Effect of synthetic luteinizing hormone-releasing factor on serum testosterone and gonadotropins in prepubertal, pubertal and adult males. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 37 (5):680-686, 1973.
- 53 - RUSSO, E.M.K.; NOGUTI, K.O.; PORTES, E.S. et alii. Correlations of serum LH levels measure by an immunofluorometric assay and different maturation parameters in normal boys. **Clin. Chemistry**, 38 (6):946, 1992.
- 54 - SAMUELS, M.H.; VELDHUIS, J.D.; HENRY, P. et alii. Pathophysiology of pulsatile and copulsatile release of thyroid-stimulating hormone, luteinizing hormone,

- follicle-stimulating hormone, and α -subunit. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 71 (2):425-432, 1990.
- 55 - SCHMIDT, M.I.; DUNCAN, B.B. O Método Epidemiológico na Conduta e na Pesquisa Clínica. **Epidemiologia e Saúde**
- 56 - SETIAN, N. Neuroendocrinologia do crescimento. In: SETIAN, N. ed. **Endocrinologia pediátrica: aspectos físicos e metabólicos do recém-nascido ao adolescente.** São Paulo, Sarvier, 1989. p.69-94.
- 57 - SMALS, A.G.H.; HERMUS, A.R.M.; BOERS, G.H.J. et alii. Predictive value of luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) bolus testing before and after 36-hour pulsatile LHRH administration in the differential diagnosis of constitutional delay of puberty and male hypogonadotropic hypogonadism. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 78 (3):602-608, 1994.
- 58 - SPRATT, D.I.; CARR, D.B.; MERRIAM, G.R. et alii. The spectrum of abnormal patterns of gonadotropin-releasing hormone secretion in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism: clinical and laboratory correlations. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 64 (2):283-291, 1987.
- 59 - SPRATT, D.I.; CHIN, W.W.; RIDGWAY, E.C. et alii. Administration of low dose pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH) to GnRH-deficient men regulates free α -subunit secretion. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 62 (1):102-108, 1986.
- 60 - STYNE, D.M. Puberty and its disorders in boys. **Endocrinol. Metab. Clin. North Am.**, 20 (1):43-69, 1991.

- 61 - STYNE,D.M.; KAPLAN,S.L.; GRUMBACH,M.M. Plasma glycoprotein hormone α -subunit in the neonate and in prepubertal and pubertal children: effects of luteinizing hormone-releasing hormone. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 50 (3):450-455,1980.
- 62 - VALK,T.W.; CORLEY,K.P.; KELCH,R.P. at alii. Hypogonadotropic hypogonadism:hormonal responses to low dose pulsatile administration of gonadotropin-releasing hormone. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 51 (4):730-738, 1980.
- 63 - VIEIRA, J.G.H.; NISHIDA, S.K.; L'OMBARDI, M.T. et alli. Monoclonal antibodies specific for the free alpha subunit of glycoprotein hormones and their use in the development of a sensitive immunofluorometric assay. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 28 (6):633-636, 1995.
- 64- WEINSTEIN,R.L.; REITZ,R.E. Pituitary-testicular responsiveness in male hypogonadotropic hypogonadism. **J. Clin. Investigation**, 53:408-415, 1974.
- 65 - WHITCOMB, R.W.; CROWLEY JR. W.F. Male hypogonadotropic hypogonadism. **Endocrinol. Metab. Clin. North Am.**,22 (1):125-144,1993.
- 66 - WHITCOMB, R.W.; O'DEA, L.S.; FINKELSTEIN, J.S. et alli - Utility of Free Alpha-subunit as an Alternative Neuroendocrine Marker of Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Stimulation of The Gonadotropin in the Human: Evidence from Normal and GnRH-Deficient Men. **J-Clin-Endocrinol-Metab**, 70 (6):1654-61, 1990.

- 67 - WINTERS,S.J.; TROEN,P. Pituitary glycoprotein hormone α -subunit secretion after thyrotropin-releasing hormone stimulation in normal men and men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 70 (2):544-547, 1990.
- 68 - WINTERS,S.J.; TROEN,P. Pulsatile secretion of immunoreactive α -subunit in man. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 60 (2):344-348, 1985.
- 69 - WINTERS,S.J.; TROEN,P. α -subunit secretion in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 66 (2):338-342, 1988.
- 70 - WOOD, D.F.; FRANKS,S. Delayed puberty. **Br. J. Hospital Med.**, 41:223-230, 1989.
- 71 - WU,F.C.W.; BUTLER,G.E.; KELNAR,C.J.H. et alii. Patterns of pulsatile luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion in prepubertal (midchildhood) boys and girls and patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism (Kallmann's syndrome): a study using an ultrasensitive time-resolved immunofluorometric assay. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 72 (6):1229-1237, 1991.
- 72 - WU,F.C.W.; BORROW,S.M.; NICOL,K. et alii. Ontogeny of pulsatile gonadotrophin secretion and pituitary responsiveness in male puberty in man:a mixed longitudinal and cross-sectional study. **J. Endocrinol.**, 123:347-359, 1989.

- 73 - WU,F.C.W.; BUTLER,G.E.; KELNAR,C.J.H. et alii. Patterns of pulsatile luteinizing hormone secretion before and during the onset of puberty in boys: a study using an immunoradiometric assay. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 70 (3):629-637, 1990.
- 74 - WYNGAARDEN, J.B.; SMITH, I.H.Jr. **Tratado de medicina interna - Cecil**. 18.ed. Rio de Janeiro Guanabara Koogan S.A., 1990.

ANEXO I

CARACTERÍSTICAS INDIVIDUAIS DOS MENINOS NORMAIS

MENINOS	IDADE	PESO	ALTURA	ALTURA	TEST.
Nº	(anos-meses)	(kg)	(cm)	(%)*	(ml)**
11	9 / 0	28,0	134	65	2
12	8 / 3	30,0	133.5	80	2
13	7 / 4	25.4	123	50	1
15	6 / 0	-	116	50	2
18	7 / 0	27.2	132	95	3
19	7 / 2	35,0	125.7	50	2
21	8 / 5	17.5	119.6	10	2
22	8 / 0	43.5	136	99	3
27	7 / 7	24,0	120	25	2
30	9 / 0	31,0	134	50	3
31	9 / 0	59,0	149	99	2
32	6 / 9	22.3	116	37	2
34	6 / 4	19,0	132	99	2
36	6 / 8	20,0	119	50	2
38	8 / 8	40,0	133.3	75	2
41	7 / 6	26.7	126	70	2
42	6 / 7	-	117	50	3
43	7 / 11	21.3	126	5	2
44	6 / 11	21,0	122	62	2
45	9 / 0	30,0	133	50	2
46	7 / 1	24,0	124	75	2
47	6 / 3	23.4	119	75	2
49	8 / 2	30,0	122	25	2
51	6 / 2	21,0	117	50	2
52	7 / 9	28,0	129	75	2
54	6 / 5	22.2	120	75	1
55	7 / 5	21.3	119	25	3
56	7 / 9	24.5	117	10	2
57	6 / 10	18,0	116	25	2
58	7 / 1	24,0	130	95	2
59	7 / 2	20,0	119	25	2
60	8 / 3	-	132	75	2

* Baseado no gráfico de Marcondes, E. *et alii*

** determinado por comparação com o orquidômetro de Prader

CARACTERÍSTICAS INDIVIDUAIS DOS ADULTOS COM HIPOGONADISMO HIPOGONADOTRÓFICO

PAC ^{TE}	IDADE	IO	Altura	T=0	TEST	MEDIC.	OBSER-	DIAGNÓS-
Nº código	(anos/meses)	(anos/meses)	(cm)	(ng/ml)	(ml)	em uso	vações	TICO
02	18 / 7	12 / 9	133,0	0,03	1	T ₄	-	Panhipo
05	21 / 1	13 / 6	128,2	0,72*	1	T ₄	7m s/T=0	Panhipo
07	18 / 6	13 / 6	154,9	0,56*	2	T ₄	6m s/T=0	Panhipo
08	17 / 2	14 / 2	158,2	0,47*	1	T ₄ -Pd-GH	-	Panhipo
14	19 / 4	17 / 0	161,8	0,38*	2	T ₄	4m s/T=0	Panhipo
16	25 / 3	17 / 0	157,7	0,25	2	T ₄	4m s/T=0	Panhipo
25	20 / 1	16 / 8	169,8	0,02	1	T ₄ -Pd	-	Panhipo
26	24 / 11	16 / 6	160,0	<0,01	4	T ₄ -Pd	4m s/T=0	Panhipo
28	23 / 8	18 / 0	147,0	0,26	4	T ₄	-	Panhipo
29	22 / 0	16 / 0	161,6	0,02	4	T ₄	4m s/T=0	Panhipo
33	22 / 5	-	157,5	0,05	3	T ₄	4m s/T=0	Panhipo
37	27 / 2	18 / 0	152,0	0,02	4	T ₄ -Pd	4m s/T=0	Panhipo
39	26 / 8	19 / 0	159,0	0,02	2	-	-	Panhipo
40	39 / 1	18 / 0	150,8	0,02	2	T ₄ -Pd	4m s/T=0	Panhipo
03	19 / 2	15 / 6	163,0	0,05	1	-	-	Isolado
17	27 / 0	-	166,4	0,12	1	-	-	Isolado
61	23 / 7	-	164,0	0,16	3	-	-	Isolado

T₄: Puram T₄[®]; Pd: Prednisona; GH: Hormônio do Crescimento; T=0: Testosterona; Panhipo: panhipopituitarismo. * dosagens realizadas em São Paulo, TEST= testículos com volume determinado por comparação com o orquidômetro de Prader.

ANEXO II

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÕES

MENINOS NORMAIS

São diversos os problemas de saúde apresentados pelas crianças, e todos eles exigiram muitos estudos e pesquisas para serem entendidos e resolvidos pelos médicos.

Estamos pesquisando uma forma de detectar, o mais cedo possível, quais as crianças que, por serem portadoras de uma determinada alteração hormonal, atingirão a idade adulta sem desenvolver seu aparelho reprodutor (seios, pêlos, pênis, útero, etc.) e, devido a isto, incapacitadas de ter relações sexuais ou mesmo ter filhos. A descoberta destes casos precocemente, favorece um melhor e mais adequado tratamento possibilitando a resolução do problema.

Para desenvolvermos nosso estudo necessitaremos avaliar o comportamento hormonal de varias crianças normais, saudáveis como o seu filho. O estudo consiste na aplicação de uma pequena dose do hormônio responsável pelo desencadeamento da puberdade e, da coleta subsequente de 3 (três) amostras de sangue com intervalos de 30 (trinta) minutos entre cada uma delas. Este hormônio já foi amplamente testado e é largamente usado neste tipo de teste, sendo aprovado mundialmente para este fim. A dose que nós usaremos é a habitual e não apresentam qualquer risco para a saúde, nem mesmo estão relatados efeitos colaterais. Para as coletas de sangue colocaremos um *BUTTERFLY* (pequena agulha) no dorso da mão da criança, por onde aplicaremos o hormônio e também faremos as três coletas de sangue. Desta forma a criança sentirá apenas uma picada da agulha semelhante a qualquer exame de sangue rotineiro. O risco desta coleta é

extremamente pequeno e igual a qualquer outra coleta de sangue feita rotineiramente. Usaremos seringas e agulhas descartáveis em todas as coletas de sangue.

Será retirado de cada criança um máximo de 15ml de sangue que corresponde a aproximadamente 0,5% do total de sangue existente no corpo. Desta forma não há risco desta coleta causar anemias ou distúrbios de saúde. O teste terá uma duração de uma hora, porém nos intervalos das três coletas a criança poderá caminhar e/ou brincar com alguma coisa sem problemas.

Considerando o fato do seu filho ser uma criança normal, gostaríamos de aproveitar este momento e contar com a sua colaboração e a do seu filho para realizarmos nele o teste acima citado. Para nós, sua colaboração será de enorme valia e viabilizará nossa pesquisa que, por fim, ajudará no diagnóstico de problemas em muitas outras crianças. Os senhores serão informados dos resultados dos testes.

Caso concorde em colaborar com nossos estudos, solicitamos que assine o termo abaixo para que conste do nosso projeto.

Eu,....., fui informado(a) dos objetivos especificados acima e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual meu filho estará envolvido, dos desconfortos ou riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento, bem como poderei retirar meu consentimento de participar na pesquisa caso volte atrás em minha decisão.

Fui informado(a) que caso existam danos à saúde de meu filho, causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Foi-me garantido que todas as informações fornecidas aos pesquisadores, bem como todos os resultados de exames referentes ao meu filho serão mantidos sob sigilo só sendo utilizados no âmbito científico da pesquisa.

assinatura do responsável pelo paciente

assinatura do investigador

assinatura do orientador

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÕES

ADULTOS COM H.H.

São diversos os problemas de saúde apresentados pelas crianças, e todos eles exigiram muitos estudos e pesquisas para serem entendidos e resolvidos pelos médicos.

Estamos pesquisando uma forma de detectar, o mais cedo possível, quais as crianças que, por serem portadoras de uma determinada alteração hormonal, atingirão a idade adulta sem desenvolver seu aparelho reprodutor (seios, pêlos, pênis, útero, etc.) e, devido a isto, incapacitadas de ter relações sexuais ou mesmo ter filhos. A descoberta destes casos precocemente, favorece um melhor e mais adequado tratamento possibilitando a resolução do problema.

Para desenvolvermos nosso estudo necessitaremos avaliar o comportamento hormonal de varias crianças normais e de várias pessoas portadoras de deficiência hormonal como você. O estudo consiste na aplicação de uma pequena dose do hormônio responsável pelo desencadeamento da puberdade e, da coleta subsequente de 3 (três) amostras de sangue com intervalos de 30 (trinta) minutos entre cada uma delas. Este hormônio já foi amplamente testado e é largamente usado neste tipo de teste, sendo aprovado mundialmente para este fim. A dose que nós usaremos é a habitual e não apresenta qualquer risco para a saúde, nem mesmo estão relatados efeitos colaterais. Sem dúvida você já realizou este teste em outra oportunidade, já estando familiarizado com ele. Para as coletas de sangue colocaremos um *BUTTERFLY* (pequena agulha) no antebraço, por onde aplicaremos o hormônio e também faremos as três coletas de sangue. Desta forma só será

sentida uma picada da agulha semelhante a qualquer exame de sangue rotineiro. O risco desta coleta é extremamente pequeno e igual a qualquer outra coleta de sangue feita rotineiramente. Usaremos seringas e agulhas descartáveis em todas as coletas de sangue.

Será retirado de cada paciente um máximo de 30ml de sangue que corresponde a aproximadamente 0,5% do total de sangue existente no corpo. Desta forma não há risco desta coleta causar anemias ou distúrbios de saúde. O teste terá uma duração de uma hora.

Tendo isto posto gostaríamos solicitar a sua colaboração nesta importante pesquisa concordando em realizar o teste acima citado. Para nós, sua colaboração será de enorme valia e viabilizará nossa pesquisa que por fim ajudará no diagnóstico de problemas em muitas crianças. O senhor será informado dos resultados dos testes.

Caso concorde em colaborar com nossos estudos, solicitamos que assine o termo abaixo para que conste do nosso projeto.

Eu,....., fui informado dos objetivos especificados acima e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual estarei envolvido, dos desconfortos ou riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento, bem como poderei

retirar meu consentimento de participar na pesquisa caso volte atrás em minha decisão.

Fui informado que caso existam danos a minha saúde, causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Foi-me garantido que todas as informações por mim fornecidas aos pesquisadores, bem como todos os meus resultados de exames serão mantidos sob sigilo só sendo utilizados no âmbito científico da pesquisa.

assinatura do paciente

assinatura do investigador

assinatura do orientado

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA PESQUISA EM PACIENTES

Eu,....., Médico assistente do setor de
....., conheço o protocolo de pesquisa desenvolvido pelos
Drs. REGINA ELNECAVE e ALBERTO SCOFANO MAINIERI, conheço seus
objetivos e a metodologia de pesquisa que será desenvolvida e autorizo a
participação dos pacientes sob meus cuidados no momento.

MÉDICO ASSISTENTE:.....

Eu,....., chefe do serviço de
.....responsável pela área de, conheço o protocolo
de pesquisa desenvolvido pelos Drs. REGINA ELNECAVE e ALBERTO SCOFANO
MAINIERI, conheço seus objetivos e a metodologia de pesquisa que será
desenvolvida e autorizo a participação dos pacientes sob responsabilidade do
serviço de.....

CHEFE DO SERVIÇO/RESPONSÁVEL PELA ÁREA:.....

ANEXO III

HORMÔNIO LUTEINIZANTE EM MENINOS NORMAIS.
VALORES INDIVIDUAIS DOS NÍVEIS SÉRICOS ANTES (0'), TRINTA (30') E
SESSENTA (60') MINUTOS APÓS ESTÍMULO COM GnRHs, O VALOR MÁXIMO
ATINGIDO (PICO), APÓS ESTÍMULO, DIFERENCIAL ENTRE O PICO E O BASAL
(DELTA) E O NÚMERO DE VEZES QUE O PICO É MAIOR QUE O BASAL
(VEZES)

MENINOS nº código	0' (UI/L)	30' (UI/L)	60' (UI/L)	PICO (UI/L)	DELTA (UI/L)	VEZES (vezes)
11	0,05	3,60	5,90	5,90	5,85	118,0
12	0,40	3,00	3,10	3,10	2,70	7,7
13	0,40	6,26	5,10	6,26	5,86	15,6
15	0,05	1,20	1,40	1,40	1,35	28,0
18	0,05	1,70	1,90	1,90	1,85	38,0
19	0,05	2,60	3,30	3,30	3,25	66,0
21	0,20	6,00	6,70	6,70	6,50	33,5
22	0,10	3,80	2,60	3,80	3,70	38,0
27	0,30	5,80	6,00	6,00	5,70	20,0
30	0,40	15,20	11,20	15,2	14,80	38,0
31	0,10	3,70	4,70	4,70	4,60	47,0
32	0,10	3,60	4,00	4,00	3,90	40,0
34	0,30	8,50	7,60	8,50	8,20	28,0
36	0,08	3,70	4,40	4,40	4,32	55,0
38	0,10	2,60	2,90	2,90	2,80	29,0
41	0,10	1,50	2,00	2,00	1,90	20,0
42	0,05	3,10	3,40	3,40	3,35	68,0
43	0,10	2,50	2,40	2,50	2,40	25,0
44	0,20	3,50	3,70	3,70	3,50	18,5
45	0,05	1,90	2,60	2,60	2,55	52,0
46	0,20	2,20	2,80	2,80	2,60	14,0
47	0,10	8,70	8,80	8,80	8,70	88,0
49	0,05	5,10	3,90	5,10	5,05	102,0
51	0,05	1,80	3,20	3,20	3,15	64,0
52	0,50	7,21	7,30	7,30	6,80	14,6
54	0,05	3,10	3,60	3,60	3,54	72,0
55	0,05	2,00	1,40	2,00	1,95	40,0
56	0,05	4,60	5,00	5,00	4,95	100,0
57	0,10	2,00	2,90	2,90	2,80	29,0
58	0,14	3,30	7,20	7,20	7,06	51,0
59	0,05	1,10	1,30	1,30	1,25	26,0
60	0,05	1,50	2,10	2,10	2,05	42,0

HORMÔNIO FOLÍCULO ESTIMULANTE EM MENINOS NORMAIS.
 VALORES INDIVIDUAIS DOS NÍVEIS SÉRICOS ANTES (0'), TRINTA (30') E
 SESSENTA (60') MINUTOS APÓS ESTÍMULO COM GnRHs, O VALOR MÁXIMO
 ATINGIDO (PICO), APÓS ESTÍMULO, DIFERENCIAL ENTRE O PICO E O BASAL
 (DELTA) E O NÚMERO DE VEZES QUE O PICO É MAIOR QUE O BASAL
 (VEZES)

MENINOS n° código	0' (UI/L)	30' (UI/L)	60' (UI/L)	PICO (UI/L)	DELTA (UI/L)	VEZES (vezes)
11	0,34	3,34	4,53	4,53	4,20	13,4
12	0,10	2,06	3,12	3,12	3,02	31,2
13	1,30	4,35	6,49	6,49	5,19	5,0
15	0,18	1,45	2,47	2,47	2,30	13,4
18	0,10	1,65	2,40	2,40	2,30	24,0
19	0,20	1,14	2,45	2,45	2,25	12,1
21	0,56	2,48	3,41	3,41	2,85	6,1
22	0,12	0,65	1,22	1,22	1,11	10,5
27	2,41	6,68	8,45	8,45	6,04	3,5
30	1,46	5,73	5,75	5,75	4,29	3,9
31	0,39	2,97	3,98	3,98	3,57	10,2
32	0,75	3,75	5,15	5,15	4,40	6,8
34	0,81	4,67	5,91	5,91	5,09	7,3
36	0,55	2,07	3,99	3,99	3,43	7,2
38	0,53	2,12	4,22	4,22	3,69	8,0
41	0,10	1,04	1,58	1,58	1,48	15,8
42	0,10	2,18	3,03	3,03	2,93	30,3
43	0,10	0,44	1,44	1,44	1,34	14,4
44	0,24	3,45	4,47	4,47	4,24	19,0
45	0,56	1,89	3,61	3,61	3,04	6,4
46	0,71	3,39	6,03	6,03	5,32	8,5
47	0,10	4,85	5,12	5,12	5,02	51,2
49	0,61	6,00	6,27	6,27	5,66	10,3
51	0,18	2,30	3,54	3,54	3,36	19,2
52	0,25	4,41	5,21	5,21	4,96	21,1
54	0,10	1,10	1,82	1,82	1,72	18,2
55	0,10	2,22	2,86	2,86	2,76	28,6
56	0,44	3,12	3,46	3,46	3,02	7,8
57	1,09	1,56	3,62	3,62	2,53	3,3
58	0,39	2,34	3,96	3,96	3,57	10,3
59	0,17	1,82	1,98	1,98	1,80	11,3
60	0,10	1,08	1,41	1,41	1,31	14,3

SUBUNIDADE ALFA LIVRE DOS HORMÔNIOS GLICOPROTEICOS
EM MENINOS NORMAIS.

VALORES INDIVIDUAIS DOS NÍVEIS SÉRICOS ANTES (0'), TRINTA (30') E
SESSENTA (60') MINUTOS APÓS ESTÍMULO COM GnRHs, O VALOR MÁXIMO
ATINGIDO (PICO), APÓS ESTÍMULO, DIFERENCIAL ENTRE O PICO E O BASAL
(DELTA) E O NÚMERO DE VEZES QUE O PICO É MAIOR QUE O BASAL (VEZES)

MENINOS n° código	0' (ng/L)	30' (ng/L)	60' (ng/L)	PICO (ng/L)	DELTA (ng/L)	VEZES (vezes)
11	34	597	559	597	563	17,6
12	38	444	324	444	406	11,7
13	90	1046	572	1046	956	11,6
15	58	281	237	281	223	4,8
18	59	382	364	382	323	6,5
19	50	483	350	483	433	9,7
21	54	505	346	505	451	9,3
22	75	662	387	662	587	8,8
27	102	727	461	727	625	7,1
30	233	1353	681	1353	1120	5,8
31	66	480	443	480	414	7,3
32	56	413	260	413	357	7,4
34	116	1055	687	1055	939	9,1
36	47	376	354	376	329	8,0
38	89	300	254	300	211	3,4
41	49	240	205	240	191	6,9
42	45	279	279	279	234	6,2
43	56	347	280	347	291	6,2
44	86	547	441	547	461	6,4
45	69	425	343	425	356	6,2
46	65	401	424	424	359	6,5
47	57	487	376	487	430	8,5
49	42	572	232	572	530	13,6
51	54	393	321	393	339	7,3
52	160	1291	834	1291	1131	8,1
54	55	245	188	245	190	4,4
55	89	539	356	539	450	6,1
56	29	267	212	267	238	9,3
57	50	241	318	318	268	6,4
58	71	467	407	467	396	6,6
59	82	388	361	388	306	4,7
60	43	185	162	185	142	4,3

HORMÔNIO LUTEINIZANTE EM ADULTOS COM H.H..
 VALORES INDIVIDUAIS DOS NÍVEIS SÉRICOS ANTES (0'), TRINTA (30') E
 SESENTA (60') MINUTOS APÓS ESTÍMULO COM GnRHs, O VALOR MÁXIMO
 ATINGIDO (PICO), APÓS ESTÍMULO, DIFERENCIAL ENTRE O PICO E O BASAL
 (DELTA) E O NÚMERO DE VEZES QUE O PICO É MAIOR QUE O BASAL (VEZES)

Pacientes nº código	0' (UI/L)	30' (UI/L)	60' (UI/L)	PICO (UI/L)	DELTA (UI/L)	VEZES (vezes)
02	0,10	0,50	0,70	0,70	0,60	7,0
05	2,50	4,50	4,50	4,50	2,00	1,8
07	0,05	0,07	0,20	0,20	0,15	4,0
08	0,07	0,20	0,40	0,40	0,33	5,7
14	0,30	0,40	0,40	0,40	0,10	1,3
16	0,90	3,00	4,40	4,40	3,50	4,9
25	0,05	0,30	0,10	0,30	0,25	6,0
26	0,09	0,40	0,50	0,50	0,41	5,5
28	1,10	1,70	2,80	2,80	1,70	2,5
29	0,30	0,90	1,10	1,10	0,80	3,7
33	0,30	1,20	1,40	1,40	1,10	4,7
37	0,30	1,10	1,40	1,40	1,10	4,7
39	0,05	0,70	0,80	0,80	0,75	16,0
40	0,05	0,30	0,70	0,70	0,65	14,0
03	0,50	8,80	10,30	10,30	9,80	20,6
17	0,05	1,80	1,90	1,90	1,85	38,0
61	0,05	1,10	1,50	1,50	1,45	30,0

HORMÔNIO FOLÍCULO ESTIMULANTE EM ADULTOS COM H. H.
 VALORES INDIVIDUAIS DOS NÍVEIS SÉRICOS ANTES (0'), TRINTA (30') E
 SESSENTA (60') MINUTOS APÓS ESTÍMULO COM GnRHs, O VALOR MÁXIMO
 ATINGIDO (PICO), APÓS ESTÍMULO, DIFERENCIAL ENTRE O PICO E O BASAL
 (DELTA) E O NÚMERO DE VEZES QUE O PICO É MAIOR QUE O BASAL
 (VEZES)

Pacientes nº código	0' (UI/L)	30' (UI/L)	60' (UI/L)	PICO (UI/L)	DELTA (UI/L)	VEZES (vezes)
02	0,10	0,10	0,36	0,36	0,26	3,6
05	1,03	0,43	1,06	1,06	0,03	1,0
07	0,10	0,10	0,12	0,12	0,02	1,2
08	0,10	0,10	0,10	0,10	0	1,0
14	0,19	0,12	0,15	0,15	0	0,8
16	1,88	2,22	3,74	3,74	1,86	2,0
25	0,10	0,10	0,10	0,10	0	1,0
26	0,10	0,10	0,57	0,57	0,47	5,7
28	0,68	0,68	2,06	2,06	1,38	3,0
29	0,10	0,66	0,86	0,86	0,76	8,6
33	0,39	0,22	1,08	1,08	0,68	2,7
37	0,14	0,41	0,48	0,48	0,34	3,4
39	0,21	1,24	1,34	1,34	1,13	6,4
40	0,10	0,10	0,49	0,49	0,39	4,9
03	0,21	0,49	1,67	1,67	1,46	8,0
17	0,13	1,69	2,41	2,41	2,28	19,1
61	2,24	1,44	2,16	2,24	0	1,0

SUBUNIDADE ALFA LIVRE DOS HORMÔNIOS GLICOPROTEICOS
EM ADULTOS COM H.H.

VALORES INDIVIDUAIS DOS NÍVEIS SÉRICOS ANTES (0'), TRINTA (30') E
SESENTA (60') MINUTOS APÓS ESTÍMULO COM GnRHs, O VALOR MÁXIMO
ATINGIDO (PICO), APÓS ESTÍMULO, DIFERENCIAL ENTRE O PICO E O BASAL
(DELTA) E O NÚMERO DE VEZES QUE O PICO É MAIOR QUE O BASAL
(VEZES)

Pacientes n° código	0' (ng/L)	30' (ng/L)	60' (ng/L)	PICO (ng/L)	DELTA (ng/L)	VEZES (vezes)
02	25	44	35	44	19	0,6
05	80	105	93	105	25	1,3
07	32	36	50	50	18	1,6
08	19	30	30	30	11	1,6
14	25	50	51	51	26	2,0
16	89	263	239	263	174	3,0
25	39	47	45	47	8	1,2
26	86	166	95	166	80	2,1
28	230	280	249	280	50	1,2
29	99	125	119	125	26	1,3
33	78	106	95	106	28	1,4
37	120	206	253	253	113	1,7
39	224	311	263	311	87	1,4
40	86	131	136	136	50	1,6
03	52	142	113	142	90	1,6
17	77	229	157	229	152	3,0
61	35	124	121	124	89	3,5

Biblioteca
FAMED/HCPA

DR1



SABi



UFRGS

05907458