

Baixa Estatura por Deficiência do Hormônio de Crescimento: Diagnóstico

*Autoria: Sociedade Brasileira de Pediatria e
Sociedade Brasileira de
Endocrinologia e Metabologia*

Elaboração final: 31 de agosto de 2004

Participantes: Jorge AAL, Setian N

O Projeto Diretrizes, iniciativa conjunta da Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, tem por objetivo conciliar informações da área médica a fim de padronizar condutas que auxiliem o raciocínio e a tomada de decisão do médico. As informações contidas neste projeto devem ser submetidas à avaliação e à crítica do médico, responsável pela conduta a ser seguida, frente à realidade e ao estado clínico de cada paciente.

DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE COLETA DE EVIDÊNCIA:

Os dados para realização desta diretriz foram coletados de ampla revisão da literatura (PubMed) pertinente ao tema: Diagnóstico da baixa estatura (BE) por deficiência do hormônio de crescimento (DGH).

GRAU DE RECOMENDAÇÃO E FORÇA DE EVIDÊNCIA:

- A:** Estudos experimentais ou observacionais de melhor consistência.
- B:** Estudos experimentais ou observacionais de menor consistência.
- C:** Relatos de casos (estudos não controlados).
- D:** Opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, estudos fisiológicos ou modelos animais.

OBJETIVOS:

Descrever métodos diagnósticos atuais da DGH e comentar sobre sua importância prática, fornecendo um guia de recomendações principais.

CONFLITO DE INTERESSE:

Nenhum conflito de interesse declarado.

CONCEITO

A deficiência de hormônio de crescimento (DGH) é caracterizada por uma combinação de anormalidades antropométricas, clínicas, bioquímicas e metabólicas causadas, diretamente, pela secreção deficiente de hormônio de crescimento (GH) e, indiretamente, pela redução na geração de hormônios e fatores de crescimento GH-dependentes¹(D).

EPIDEMIOLOGIA E CAUSAS

A frequência de DGH é referida como sendo aproximadamente 1:4.000 crianças²(B). Quanto à apresentação, a DGH pode:

1. Ser idiopática ou orgânica;
2. Aparecer de forma isolada ou combinada com deficiência de outros hormônios hipofisários;
3. Estar associada a uma disfunção primária das células hipofisárias ou pode ser secundária a alguma disfunção na produção do hormônio liberador de GH (GHRH) no hipotálamo;
4. Ser esporádica ou familiar;
5. E, finalmente, a deficiência de GH pode ser completa ou parcial.

AVALIAÇÃO CLÍNICA

Como nenhum teste laboratorial nos dá segurança absoluta do diagnóstico de DGH, eles apenas devem ser considerados como auxiliares no diagnóstico de pacientes que apresentam elementos clínicos que sugerem DGH. No entanto, também não existe um único quadro clínico que define DGH. Tipicamente, o paciente apresenta baixa estatura importante, baixa velocidade de crescimento (VC) e atraso de idade óssea. A magnitude destes achados pode variar, dependendo da duração e da gravidade da DGH³(B).

Os aspectos clínicos clássicos das formas graves de DGH são facilmente caracterizados:

- O recém-nascido apresenta tamanho normal, pode apresentar hipoglicemia (agravada quando à DGH se associam deficiências de ACTH e TSH), icterícia prolongada com

hiperbilirrubinemia direta devido à colestase e à hepatite de células gigantes⁴(B). Podem, ainda, apresentar micropênis, criptorquidia e hipoplasia da bolsa escrotal, principalmente quando à DGH se associa deficiência de gonadotrofina⁵(C).

- A deficiência do crescimento não é expressiva logo após o nascimento, tornando-se evidente após o segundo ano de vida, quando pode atingir valores bastante baixos como -3 ou -4 desvios-padrão (DP) em relação à média para idade e sexo⁶(D).
- As proporções corpóreas são normais⁷(B).
- Outras características como obesidade truncal, aumento da espessura de pregas cutâneas, desenvolvimento muscular diminuído, aparência facial infantil com fronte proeminente e nariz em sela, atraso no fechamento das fontanelas, atraso na dentição, cabelos finos e esparsos, voz aguda e infantil, idade óssea atrasada para idade cronológica, podem ser observadas em crianças com DGH⁶(D).
- Formas clínicas menos evidentes podem ser observadas em crianças com DGH parcial e/ou de início mais tardio na infância. Portanto, o aspecto da DGH não é único, uma vez que pode apresentar-se com graus variáveis de baixa estatura e de diminuição da VC, com discreto até grande atraso da IO e com ou sem outras características fenotípicas³(B).

Toda a criança deve ter, ao longo de todo o seu processo de crescimento, visitas regulares ao pediatra, para acompanhamento do crescimento, assim permitindo identificação precoce de qualquer tipo de anormalidade. Recomendamos visitas com intervalo de 6 meses, com avaliação da altura e determinação da VC. A altura e a VC devem ser analisadas por meio de

gráficos apropriados e/ou pelo cálculo do Z (escore de desvio padrão em relação à idade e ao sexo)⁸(D).

Situações Especiais

- Crianças que sofreram irradiação craniana devem ter avaliação clínica e laboratorial com maior frequência, verificando altura de pé e sentada, estágio puberal e função hipofisária e tireoidiana. Crianças com taxa de crescimento normal devem ser reavaliadas clinicamente a cada três ou quatro meses. O tratamento com GH deve ser considerado: se a velocidade de crescimento observada durante o período de um ano for abaixo do esperado; se a altura prevista estiver abaixo do percentil 10; se houver precocidade puberal; ou se houver evidências de DGH nos testes de estímulo¹(D).
- Crianças submetidas à radiação corpórea total (TBI - *total body irradiation*): devem ser avaliadas a cada três ou quatro meses. Após um ano do tratamento, deve ser feita uma avaliação endocrinológica completa e tratar apropriadamente a disfunção tireoidiana e supra-renal¹(D).
- A DGH pode instalar-se com a quimioterapia particularmente intratecal, mesmo que a irradiação não seja usada⁹(B).
- Formas transitórias de DGH podem ser observadas antecedendo o estirão da puberdade e, freqüentemente, são acompanhadas de puberdade tardia. A pulsatilidade do GH pode ser restabelecida com a administração de doses baixas de esteróides sexuais (estrógenos eqüinos conjugados 0,3 mg VO 12/12 horas, nos dois dias que antecedem o teste, 40 µg/m² de superfície corpórea/dia ou 100 mg de testosterona depot dose única IM, três dias antes do teste)¹⁰(B).

- A deficiência transitória de GH por privação psicossocial é observada em crianças emocionalmente afetadas e seu crescimento é recuperado quando são afastadas do ambiente hostil.
- DGH isolado de causa genética pode apresentar herança autossômica dominante¹¹(B), autossômica recessiva¹²(B) e ligada ao X, esta última associada à hipogamaglobulinemia¹³(C).

AVALIAÇÃO LABORATORIAL

O diagnóstico de deficiência de hormônio de crescimento (DGH) deve ser baseado pela associação de dados clínicos compatíveis com DGH e a presença de exames laboratoriais que apontem para uma menor secreção de GH¹⁴(D).

São indicações para a avaliação laboratorial para DGH¹⁵(D):

- Recém-nascido com quadro de hipoglicemia, independente do seu tamanho e peso ao nascimento;
- Criança com altura inferior ao percentil 2,5 ou que apresenta Z de altura < -2;
- Criança, independentemente da altura atual, que apresenta desaceleração do crescimento representado pelo Z da velocidade de crescimento < -1 para idade e sexo, observado por um período igual ou superior a 1 ano;
- Criança que possui altura dentro da faixa de normalidade, porém incompatível com a altura familiar (Z da altura < -2 em relação ao Z da altura alvo);
- Sinal indicativo de lesão intracraniana ou criança submetida a cirurgia ou radioterapia da região hipotálamo-hipofisária;
- Afastadas outras causas conhecidas de déficit de crescimento que podem justificar a baixa estatura observada.

A investigação laboratorial da DGH baseia-se na análise direta da secreção do GH ou, indiretamente, por dosagens do fator de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I, *Insulin-like growth factor-I* ou Somatomedina-C) e de sua proteína ligadora (IGFBP-3), que apresentam as suas concentrações séricas dependentes da ação do GH.

Considerações Sobre os Ensaios para Determinação do GH, IGF-I e IGFBP-3

- Para a dosagem de GH é recomendada a utilização de ensaios que empregam anticorpos monoclonais específicos para a detecção do GH 22-kDa e calibrados para o padrão de referência preparado com GH recombinante humano 22-kDa (WHO 88/624, potência 3UI = 1mg)¹⁶(D).
- Uma mesma amostra de sangue pode apresentar resultados distintos na dosagem de GH, quando determinados por ensaios diferentes¹⁷(B). Tal discrepância pode chegar até 40% e pode ocorrer tanto entre ensaios policlonais e monoclonais, como entre dois diferentes ensaios monoclonais¹⁸(B).
- O IGF-I sofre grande influência do estado nutricional do indivíduo, além de ser um ensaio com maior complexidade metodológica¹⁹(B).
- As dosagens de IGF-I e IGFBP-3 devem ser analisadas utilizando-se valores de referência para sexo e idade do paciente²⁰(B).

Avaliação da Secreção de GH

- A dosagem de GH basal não diferencia pacientes com ou sem DGH²¹(B).
- A determinação da secreção espontânea de GH pelo ritmo de GH noturno ou de 24 horas não acrescenta vantagens adicionais quando comparadas aos testes farmacológicos.

lógicos de liberação de GH, além de serem dispendiosas e pouco práticas²²(B).

Testes de Estímulo da Secreção de GH (Tabela 1)

- Testes de liberação de GH fisiológicos, como o exercício físico²³(C) ou o sono²⁴(B), apresentam alta incidência de falsos positivos para DGH, não sendo mais empregados na prática clínica²⁵(B).
- Os principais testes farmacológicos rotineiramente empregados (hipoglicemia, clonidina, arginina e glucagon) são comparáveis quanto à sensibilidade e à

especificidade²⁶(B) e a escolha do teste a ser empregado depende da experiência de cada centro e da disponibilidade dos mesmos.

- Dois testes de estímulos (seqüenciais ou em dias separados) devem ser realizados para comprovar a deficiência de GH¹⁵(D).
- Em crianças com diagnóstico de tumor da região hipotálamo-hipofisária, antecedente de cirurgia e/ou irradiação desta região, deficiência de outros hormônios hipofisários (FSH, LH, ACTH, TSH, PRL e ADH) ou, ainda, com causa genética comprovada de deficiência do GH (mutação nos genes

Tabela 1

Principais testes farmacológicos de estímulo utilizados para avaliar a secreção do GH²⁶(B)

Teste	Descrição	Comentários
Clonidina	Clonidina VO 0,1 a 0,15mg/m ² de superfície corpórea. Coletas - 30', 0', 60', 90' e 120'.	Efeito colateral: sonolência (35%) ²³ (C) e hipotensão. Bom teste inicial.
Hipoglicemia (ITT)	Insulina regular 0,1U/kg de peso EV em "bolo". Coletas nos tempos -30', 0', 15', 30', 45', 60' e 90'. (Dosar além do GH, a glicemia e o cortisol)	Riscos e desconfortos inerentes a hipoglicemia. Contra-indicado para pacientes convulsivos. Pode avaliar a reserva de corticotrófos.
Arginina	Arginina 0,5 g/kg de peso (máximo de 30 g) infusão EV em 30'. Coletas 0', 30', 45', 60' e 90'.	Efeito colateral: náuseas, vômitos (2%) ²³ (C).
Glucagon	Glucagon 0,03 mg/kg de peso EV em "bolo" ou IM. Coletas 0', 30', 60', 90', 120', 150' e 180' (Dosar além do GH, a glicemia e o cortisol).	Efeito colateral: náuseas, vômitos e dor abdominal (15%) ²³ (C). Pode avaliar a reserva de corticotrófos.
Levodopa	L-dopa VO 125 mg (criança < 15 kg), 250 mg (15-30 kg) ou 500 mg (>30 kg). Coletas 0', 60' e 90'.	Efeito colateral: náuseas, vômitos, vertigem e astenia (25%) ²³ (C). Altos índices de falsos negativos.

Obrigatória a presença do médico acompanhando todos os testes dinâmicos.

GH-1, PROP-1, PIT-1, GHRH-R, etc), apenas um teste de estímulo, associado a quadro clínico compatível, é suficiente para o diagnóstico de DGH¹⁵(D).

- Devemos ter em mente que 10% a 35% das crianças sem DGH podem falhar em obter uma resposta adequada durante um teste de liberação de GH²³(C). E mesmo quando submetidos a dois testes distintos, 3% a 10% das crianças normais podem falhar em demonstrar uma resposta normal em ambos os testes²³(C).
- O uso de medicações como corticóides, privação psicossocial, hipotireoidismo não tratado²⁷(B), obesidade²⁸(B) e crianças em idade peripuberais²⁹(B) são condições que podem aumentar a taxa de falso diagnóstico de DGH baseado apenas nos testes de estímulo.
- Em crianças pré-púberes em idade próxima da entrada na puberdade, ocorre com maior frequência falha de resposta do GH aos testes de estímulo²⁹(B). Por esta razão, alguns autores advogam o tratamento com esteróides sexuais (*priming*) por poucos dias antes da realização dos testes de liberação de GH (estrógenos equinos conjugados 0,3 mg 12/12 horas por dois dias antes do teste). Este *priming* diminuiria o número de falsos diagnósticos de DGH nestas faixas etárias²⁹(B). Contudo, não existem dados que estabeleçam valores normais de resposta aos testes de estímulo após *priming*, o que não permite o uso dos esteróides sexuais antes da execução dos testes de estímulo rotineiramente¹⁵(D).

Interpretando um Teste de Estímulo

- O valor de corte mais comumente utilizado na análise de um teste de estímulo para diferenciar a suficiência da deficiência de GH

foi definido de forma arbitrária e foram alterados conforme o aumento na disponibilidade do GH recombinante humano para tratamento³⁰(D).

- Em um teste de estímulo, a presença de um pico de GH ≤ 10 ng/ml, independente do ensaio utilizado, afasta o diagnóstico de DGH²⁶(B).
- Valores de GH em dois testes de estímulos < 5 ng/ml em ensaios utilizando anticorpos policlonais²⁶(B) ou $< 3,3$ ng/ml em ensaio utilizando anticorpos monoclonais³¹(B) são indicativos de deficiência de GH.
- Valores intermediários de resposta de GH nos testes de estímulo, principalmente quando utilizados ensaios que empregam anticorpos monoclonais, apresentam grande intersecção com resultados obtidos em crianças normais²³(C) e, por esta razão, o diagnóstico deve se basear também na história, quadro clínico, avaliação de imagem da região hipotálamo-hipofisária e os valores de IGF-I e IGFBP-3.
- Crianças que apresentam resposta de GH nos testes de estímulo entre 5 a 10 ng/ml, geralmente, apresentam resposta de crescimento com o tratamento com hGH comparáveis com crianças que apresentam respostas acima de 10 ng/ml³²(B).

Dosagens de IGF-I e IGFBP-3

- Valores de IGF-I e IGFBP-3 inferiores a -2 DP fortemente sugerem a presença de DGH²²(B).
- Uma parcela das crianças com DGH pode apresentar valores de IGF-I e IGFBP-3 dentro da normalidade³³(B), principalmente pacientes com deficiência parcial de GH³³(B), pacientes intrapúberes³⁴(B) e crianças submetidas a radioterapia e/ou cirurgia da região hipotálamo-hipofisária³⁵(C).

- Utilizando como valor de corte para o diagnóstico de DGH um Z IGF-I e Z IGFBP-3 < -2, observamos uma sensibilidade de 59% e especificidade de 76% para as dosagens de IGF-I e 47% e 88% para as dosagens de IGFBP-3, respectivamente³⁶(D).
- Quando se pretende utilizar as dosagens de IGF-I e IGFBP-3 como método de triagem para selecionar crianças que deverão realizar teste de estímulo da secreção de GH é recomendado empregar um valor de corte de Z IGF-I ou Z IGFBP-3 < -1³³(B).

Investigação Radiológica

- Crianças com o diagnóstico de DGH devem realizar exames de imagem, preferencialmente ressonância magnética, da região hipotálamo-hipofisária para avaliação de possíveis alterações anatômicas¹⁵(D).
- A avaliação da região hipotálamo-hipofisária por ressonância magnética pré e após infusão de gadolínio é superior que a avaliação por tomografia computadorizada e constitui o mais sensível método de diagnóstico de alterações anatômicas desta região³⁷(B).

Investigação Complementar

- Toda criança diagnosticada como tendo DGH deve ser avaliada quanto à função dos outros hormônios hipofisários.
- Uma deficiência hormonal diagnosticada na criança não necessariamente permanecerá como única, isoladamente³⁸(C). Assim, a DGH pode ser a primeira manifestação de um pan-hipopituitarismo e, posteriormente, manifestarem-se as outras deficiências. Portanto, devemos estar atentos para a necessidade de reavaliações diagnósticas¹(D).

- Determinações de fatores de risco cardiovasculares devem estar incluídas na avaliação metabólica de pacientes com DGH na adolescência ou no adulto jovem¹(D).

Investigação Genética – Molecular

- Quadro clínico clássico de DGH, a presença de outros casos na família, história de progenitores consanguíneos e exames de imagem mostrando integridade da haste hipofisária são indícios da presença de causas genéticas de deficiência isolada ou combinada de GH³⁹(B).
- A deficiência isolada de GH hereditária é causada em 24% dos casos por mutações ou deleções do gene GHRHR e GH-1³⁹(B). Diversos genes responsáveis por codificar fatores de transcrição foram implicados na etiologia da deficiência combinada dos hormônios hipofisários (pan-hipopituitarismo), sendo o gene *PROP-1* o mais freqüentemente envolvido⁴⁰(D).
- Pacientes com quadro clássico de DGH que apresentam uma resposta transitória ao tratamento com hormônio de crescimento, seguido do desenvolvimento de altos níveis de anticorpos anti-GH, que impedem o crescimento, devem ser pesquisados quanto à presença de deleção em homozigose do gene do GH-1⁴¹(C).

Resumo das Recomendações para Investigação da Deficiência de GH

A determinação de IGF-I e IGFBP-3 pode ajudar na seleção de pacientes que deverão ser submetidos a testes de estímulos para avaliar a secreção de GH^{22,33,34}(B). Porém, valores normais destes peptídeos não afastam DGH,

principalmente em crianças submetidas a cirurgia ou radioterapia da região hipotálamo-hipofisária ou pacientes intrapúberes³⁵(C). Aqueles pacientes com valores de IGF-I e/ou IGFBP-3 reduzidos para idade e sexo são submetidos inicialmente a um teste da clonidina, arginina ou glucagon. Pacientes que apresentam pico de GH inferior ao limite de corte do método são sub-

metidos a um segundo teste confirmatório para DGH, geralmente um ITT. Apenas pacientes que apresentam dois testes de estímulo com todos os valores abaixo do valor de corte são diagnosticados como DGH²⁶(B). Uma vez estabelecido o diagnóstico hormonal, é solicitada ressonância magnética (RM) da região hipotálamo-hipofisária para avaliação anatômica³⁷(B).

REFERÊNCIAS

1. Saggese G, Ranke MB, Saenger P, Rosenfeld RG, Tanaka T, Chaussain JL, et al. Diagnosis and treatment of growth hormone deficiency in children and adolescents: towards a consensus. Ten years after the Availability of Recombinant Human Growth Hormone Workshop held in Pisa, Italy, 27-28 March 1998. *Horm Res* 1998;50:320-40.
2. Vimpani GV, Vimpani AF, Lidgard GP, Cameron EH, Farquhar JW. Prevalence of severe growth hormone deficiency. *Br Med J* 1977;2:427-30.
3. Hanew K, Tachibana K, Yokoya S, Fujieda K, Tanaka T, Igarashi Y, et al. Studies of very severe short stature with severe GH deficiency: from the data registered with the foundation for growth science. *Endocr J* 2005;52:37-43.
4. Pena-Almazan S, Buchlis J, Miller S, Shine B, MacGillivray M. Linear growth characteristics of congenitally GH-deficient infants from birth to one year of age. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5691-4.
5. Setian N, Aguiar CH, Galvao JA, Crivellaro CE, Dichtchekenian V, Damiani D. Rathke's cleft cyst as a cause of growth hormone deficiency and micropenis. *Childs Nerv Syst* 1999;15:271-3.
6. Ogilvy-Stuart AL. Growth hormone deficiency (GHD) from birth to 2 years of age: diagnostic specifics of GHD during the early phase of life. *Horm Res* 2003;60:2-9.
7. Sargo W, Zachmann M, Tassinari D, Fernandez F, Prader A. Longitudinal anthropometric measurements in patients with growth hormone deficiency. Effect of human growth hormone treatment. *Eur J Pediatr* 1982;138:38-45.
8. Gibson AT, Carney S, Cavazzoni E, Wales JK. Neonatal and post-natal growth. *Horm Res* 2000;53(Suppl 1): 42-9.
9. Ahmed SF, Wallace WH, Kelnar CJ. An anthropometric study of children during intensive chemotherapy for acute lymphoblastic leukaemia. *Horm Res* 1997; 48:178-83.
10. Marin G, Domene HM, Barnes KM, Blackwell BJ, Cassorla FG, Cutler GB Jr. The effects of estrogen priming and puberty on the growth hormone response to standardized treadmill exercise and arginine-insulin in normal girls and boys. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:537-41.
11. Wagner JK, Eble A, Hindmarsh PC, Mullis PE. Prevalence of human GH-1 gene alterations in patients with isolated growth hormone deficiency. *Pediatr Res* 1998; 43:105-10.
12. Hayashida CY, Gondo RG, Ferrari C, Toledo SP, Salvatori R, Levine MA, et al. Familial growth hormone deficiency with mutated GHRH receptor gene: clinical and hormonal findings in homozygous and heterozygous individuals from Itabaianinha. *Eur J Endocrinol* 2000;142:557-63.
13. Stewart DM, Notarangelo LD, Kurman CC, Staudt LM, Nelson DL. Molecular

- genetic analysis of X-linked hypogammaglobulinemia and isolated growth hormone deficiency. *J Immunol* 1995; 155:2770-4.
14. Sizonenko PC, Clayton PE, Cohen P, Hintz R, Tanaka T, Laron Z. Diagnosis and management of growth hormone deficiency in childhood and adolescence. Part 1: Diagnosis of growth hormone deficiency. *Growth Horm IGF Res* 2001;11:137-65.
 15. Growth Hormone Research Society. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of growth hormone (GH) deficiency in childhood and adolescence: summary statement of the GH Research Society. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:3990-3.
 16. Wyatt DT. Ad Hoc Committee for Standardization of Growth Hormone Assays. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:3389-90.
 17. Hauffa BP, Lehmann N, Bettendorf M, Mehls O, Dorr HG, Partsch CJ, et al. Central reassessment of GH concentrations measured at local treatment centers in children with impaired growth: consequences for patient management. *Eur J Endocrinol* 2004;150:291-7.
 18. Rakover Y, Lavi I, Masalah R, Issam T, Weiner E, Ben-Shlomo I. Comparison between four immunoassays for growth hormone (GH) measurement as guides to clinical decisions following GH provocative tests. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13:637-43.
 19. Chevenne F, Saragoussi D, Thalassinos C, Monceaux F, Souberbielle J, Brauner R. Study of the within-subject variability of serum IGF-I. *Pediatr Res* 2001;49:42A.
 20. Kawai N, Kanzaki S, Takano-Watou S, Tada C, Yamanaka Y, Miyata T, et al. Serum free insulin-like growth factor I (IGF-I), total IGF-I, and IGF-binding protein-3 concentrations in normal children and children with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:82-9.
 21. Rose SR, Ross JL, Uriarte M, Barnes KM, Cassorla FG, Cutler GB Jr. The advantage of measuring stimulated as compared with spontaneous growth hormone levels in the diagnosis of growth hormone deficiency. *N Engl J Med* 1988;319:201-7.
 22. Juul A, Kasrup KW, Pedersen SA, Skakkebaek NE. Growth hormone (GH) provocative retesting of 108 young adults with childhood-onset GH deficiency and the diagnostic value of insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-3. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:1195-201.
 23. Ghigo E, Bellone J, Aimaretti G, Bellone S, Loche S, Cappa M, et al. Reliability of provocative tests to assess growth hormone secretory status. Study in 472 normally growing children. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3323-7.
 24. Tassoni P, Cacciari E, Cau M, Colli C, Tosi M, Zucchini S, et al. Variability of growth hormone response to pharmacological and sleep tests performed twice in short children. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:230-4.

25. Zadik Z, Chalew SA, Gilula Z, Kowarski AA. Reproducibility of growth hormone testing procedures: a comparison between 24-hour integrated concentration and pharmacological stimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:1127-30.
26. Rochiccioli P, Enjaume C, Tauber MT, Pienkowski C. Statistical study of 5473 results of nine pharmacological stimulation tests: a proposed weighting index. *Acta Paediatr* 1993;82:245-8.
27. Chernausek SD, Turner R. Attenuation of spontaneous, nocturnal growth hormone secretion in children with hypothyroidism and its correlation with plasma insulin-like growth factor I concentrations. *J Pediatr* 1989;114:968-72.
28. Argente J, Caballo N, Barrios V, Pozo J, Munoz MT, Chowen JA, et al. Multiple endocrine abnormalities of the growth hormone and insulin-like growth factor axis in prepubertal children with exogenous obesity: effect of short- and long-term weight reduction. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2076-83.
29. Martinez AS, Domene HM, Ropelato MG, Jasper HG, Pennisi PA, Escobar ME, et al. Estrogen priming effect on growth hormone (GH) provocative test: a useful tool for the diagnosis of GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:4168-72.
30. Shalet SM, Toogood A, Rahim A, Brennan BM. The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults. *Endocr Rev* 1998;19:203-23.
31. Silva EG, Shlessarenko N, Arnhold JJ, Batista MC, Estefan V, Osorio MG, et al. GH values after clonidine stimulation measured by immunofluorometric assay in normal prepubertal children and GH-deficient patients. *Horm Res* 2003; 59:229-33.
32. Hoos MB, Westerterp KR, Gerver WJ. Short-term effects of growth hormone on body composition as a predictor of growth. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:2569-72.
33. Nunez SB, Municchi G, Barnes KM, Rose SR. Insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-3 concentrations compared to stimulated and night growth hormone in the evaluation of short children—a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1927-32.
34. Boquete HR, Sobrado PG, Fideleff HL, Sequera AM, Giaccio AV, Suarez MG, et al. Evaluation of diagnostic accuracy of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3 in growth hormone-deficient children and adults using ROC plot analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4702-8.
35. Sklar C, Sarafoglou K, Whittam E. Efficacy of insulin-like growth factor binding protein 3 in predicting the growth hormone response to provocative testing in children treated with cranial irradiation. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1993; 129:511-5.
36. Sizonenko PC, Clayton PE, Cohen P, Hintz RL, Tanaka T, Laron Z. Diagnosis and management of growth hormone

- deficiency in childhood and adolescence. Part 1: diagnosis of growth hormone deficiency. *Growth Horm IGF Res* 2001; 11:137-65.
37. Maghnie M, Triulzi F, Larizza D, Scotti G, Beluffi G, Cecchini A, et al. Hypothalamic-pituitary dwarfism: comparison between MR imaging and CT findings. *Pediatr Radiol* 1990;20:229-35.
38. Mendonca BB, Osorio MG, Latronico AC, Estefan V, Lo LS, Arnhold IJ. Longitudinal hormonal and pituitary imaging changes in two females with combined pituitary hormone deficiency due to deletion of A301, G302 in the PROP1 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:942-5.
39. Osorio MG, Marui S, Jorge AA, Latronico AC, Lo LS, Leite CC, et al. Pituitary magnetic resonance imaging and function in patients with growth hormone deficiency with and without mutations in GHRH-R, GH-1, or PROP-1 genes. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:5076-84.
40. Parks JS, Brown MR, Hurley DL, Phelps CJ, Wajnrajch MP. Heritable disorders of pituitary development. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4362-70.
41. Arnhold IJ, Osorio MG, Oliveira SB, Estefan V, Kamijo T, Krishnamani MR, et al. Clinical and molecular characterization of Brazilian patients with growth hormone gene deletions. *Braz J Med Biol Res* 1998;31:491-7.

