

Ensaio para a Medida de Hormônio do Crescimento (GH) e IGF-I: Aspectos Metodológicos e Suas Implicações no Diagnóstico e Seguimento da Acromegalia

RESUMO

A dosagem do GH no soro é essencial para confirmar ou excluir o seu excesso. Na acromegalia, a ausência de critérios clínicos suficientemente sensíveis para monitorizar o sucesso do tratamento faz com que o GH sérico seja o procedimento de escolha e, para isso, é essencial que a sua dosagem seja realizada de forma confiável, capaz de permitir interpretações uniformes. Vários critérios hormonais têm sido propostos para caracterizar remissão da acromegalia, incluindo níveis séricos de GH randômico inferior a 2,5 µg/l, nadir de GH durante o teste de tolerância oral a glicose inferior a 1,0 µg/l e IGF-I normal para sexo e idade. A importância do tratamento adequado consiste na possibilidade de reverter a mortalidade prematura da acromegalia através da diminuição dos níveis de GH para valores menores que 2,5 µg/l. Com o surgimento de ensaios ultra-sensíveis para medida do GH, tornaram-se necessários critérios mais estritos para determinar cura ou remissão da doença. Nesta revisão, descreveremos aqui as modificações decorrentes da evolução dos ensaios, as conseqüências nos resultados de GH e os pontos de corte propostos na literatura para caracterização da atividade e remissão da acromegalia. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2007;51/4:511-519**)

Descritores: Hormônio de crescimento; Diagnóstico; Acromegalia; Imunoensaios

ABSTRACT

Growth Hormone (GH) and IGF-I Assays: Methodological Aspects and its Implications in Acromegaly Diagnosis and Follow-Up.

Growth hormone quantification in serum is essential for confirming or ruling out its excess. The absence of clinical criteria sufficiently sensitive to evaluate the treatment success enables GH as the key diagnostic procedure and for that, its measurements must be done in a reliable way and must allow uniform interpretation. Several different biochemical criteria for remission have been suggested in the past, including a random GH measurement less than 2.5 µg/l, mean GH value from a day curve less than 2.5 µg/l, nadir GH value after an oral glucose tolerance test (OGGT) less than 1.0 µg/l and a normal age-related IGF-I level. The importance of adequate treatment is highlighted by data indicating that lowering GH levels to less than 2.5 µg/l reverses the premature mortality of acromegaly. With the advances of ultrasensitive assays for GH measurement, strictest remission criteria to determine remission or cure were necessary. In this review, we describe the changes of assay methodology and its consequences in serum GH results and cut off point values to define activity and remission of acromegaly. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2007;51/4:511-519**)

Keywords: Growth hormone; Diagnosis; Acromegaly; Immunoassays

revisão

**ALESSANDRA CASAGRANDE
MAURO A. CZEPIELEWSKI**

Serviço de Endocrinologia,
Hospital de Clínicas de Porto
Alegre, Programa de Pós-
Graduação em Ciências
Médicas: Endocrinologia,
Faculdade de Medicina, UFRGS,
Porto Alegre, RS.

Recebido em 16/02/06

Revisado em 31/03/06

Aceito em 15/03/07

NA ACROMEGALIA, A SUSPEITA CLÍNICA da doença geralmente é o primeiro passo para se estabelecer o diagnóstico. A evolução dos ensaios hormonais para medida do GH e IGF-I séricos tem permitido detectar a doença mesmo em estados em que o diagnóstico inicial não é clínico, como em casos de incidentalomas detectados em exames de imagem (18,36). Os métodos clássicos têm sido a avaliação do grau de supressão do GH após administração oral de glicose (TTOG) juntamente com os níveis séricos de IGF-I (22). Entretanto, após mais de 30 anos da introdução dos imunoenaios para GH, as discrepâncias existentes nos resultados, quando a mesma amostra é dosada por ensaios distintos, podem diferir significativamente (12).

Neste artigo, salientamos as principais modificações nos ensaios e nos critérios para diagnóstico e acompanhamento da acromegalia, aspectos metodológicos e fisiológicos que interferem nesses ensaios, atentando para as diferenças relevantes entre eles.

HORMÔNIO DO CRESCIMENTO

O hormônio de crescimento (GH) é um hormônio polipeptídico, codificado por um único gene localizado no braço longo do cromossomo 17, em um *cluster* de 5 genes, composto por GH-N (*growth hormone-normal gene*), CS-L (*chorionic somatomammotropin-like gene*), CS-A (*chorionic somatomammotropin-A gene*), GH-V (*growth hormone-variant gene*, que produz o GH a partir da 23–24^a semana de gestação) e CS-B (*chorionic somatomammotropin-B gene*). A produção hipofisária de GH advém da expressão exclusiva do gene hGH-N, o qual origina uma proteína de peso molecular de 22 kDa, constituída por 191 aminoácidos e representa cerca de 90% do GH hipofisário (3,11). Aproximadamente 10% do GH presente na hipófise corresponde à variante molecular de 20 kDa, que é resultado da perda de 15 aminoácidos (*splicing*) presentes na forma 22 kDa. Outras formas moleculares também são encontradas na hipófise, embora em menor proporção (1-5) (tabela 1).

Durante a gestação, a produção de GH advém do gene *GH-V*, expresso na placenta, que adquire tal magnitude que após a 23–24^a semana, encontra-se em concentrações suficientes para suprimir a produção do GH hipofisário, presumidamente via retro-alimentação negativa mediada pelo IGF-I. O GH proveniente da produção pelo GH-N apresenta efeito somatogênico equipotente ao proveniente do GH-V, porém o GH-V apresenta um efeito lactogênico menor. Em estado não gestacional não há a expressão do GH-V na circulação ou na hipófise (3).

Tabela 1. Formas moleculares de GH encontradas na hipófise (adaptado de Baumann G, ref. 3).

	%
Formas monoméricas	
22 kDa GH	70–75
20 kDa GH	5–10
Desamino-GH (Asp 152 22 kDa)	3
Desamino-GH (Glu 137 22 kDa)	5
22 kDa GH N α acilado	5
GH 1 43	1
GH 44 191	0,2–1
Formas oligoméricas dos monômeros acima	
Oligômeros maiores	5
Oligômeros dissulfídicos	7
Oligômeros com ligação covalente desconhecida	2

Na circulação, a forma mais abundante e ativa é a de peso molecular de 22 kDa. Cerca de 60%, após secretada pela hipófise, liga-se rapidamente à GHBP-1 (*growth hormone binding protein*), proteína de ligação com a qual apresenta alta afinidade (6-8) (tabela 2).

A segunda forma molecular circulante mais abundante é a 20 kDa. Esta apresenta maior afinidade com a GHBP-2 e, pelo fato de apresentar uma grande capacidade de agregação, formando dímeros ou oligômeros, sua eliminação é mais lenta que a forma 22 kDa, podendo muitas vezes se tornar a principal forma molecular circulante, invertendo a relação 22:20 kDa de 2:1 (5).

A GHBP-1 apresenta alta afinidade pela fração 22 kDa do GH, porém consegue se ligar a apenas uma molécula de GH. À medida que as concentrações séricas de GH ultrapassam os limites fisiológicos, a proporção de GH ligado à GHBP-1 diminui (9). Já a GHBP-2 apresenta baixa afinidade de ligação, mas grande capacidade, e não fica saturada com níveis séricos elevados de GH. Não se conhece o mecanismo exato pelo qual isso ocorre (10,11).

REGULAÇÃO HORMONAL

O receptor do GH encontra-se pré-dimerizado na membrana plasmática. O GH apresenta dois sítios de ligação, o primeiro dos quais liga-se ao braço esquerdo do receptor. Os domínios para dimerização localizados no receptor do GH não estão dispostos em um formato complementar, em função de existir uma repulsão de cargas elétricas entre eles. Para o sítio 2 de ligação do GH entrar em contato com a segunda molécula do receptor, este necessita realizar um movi-

Tabela 2. Proporções estimadas de formas imunorreativas de GH no plasma após 15 minutos de secretadas pela hipófise (adaptado de Baumann G, ref. 3).

	%
GH monomérico	
22 kDa GH	
Livre	21
Ligado (complexo de alta afinidade)	20
Ligado (complexo de baixa afinidade)	2
20 kDa GH	
Livre	5,5
Ligado (complexo de alta afinidade)	0,5
Ligado (complexo de baixa afinidade)	2
GH desamido e acil	5
Dímeros	
22 kDa não covalentes	14
22 kDa dissulfídicos	6
20 kDa não covalentes	5
20 kDa dissulfídicos	0,5
Oligômeros maiores (tri, tetra e pentaméricos)	
22 kDa não covalentes	7
22 kDa dissulfídicos	3
20 kDa não covalentes	1
20 kDa dissulfídicos	0,5
Oligômeros covalentes não dissulfídicos (12 kDa, 16 kDa, 30 kDa)	variável

mento de rotação em direção à primeira molécula, resultando na ativação por fosforilação do JAK2 e início da cascata de transmissão do sinal (12,13).

O fígado apresenta a maior concentração de receptores de GH. O GH, por sua vez, é o maior regulador da expressão do gene do IGF-I (*insulin growth factor I*). Este, juntamente com GHRH (*GH-releasing hormone*), ghrelina, somatostatina, controlam a síntese e a secreção do GH (14,15). Adicionalmente, outros hormônios, hormônio tireoidiano, glicocorticóide e insulina, também participam no mecanismo de regulação da secreção do GH.

Em cultura de células, o IGF-I inibe a expressão do ARNm e, conseqüentemente, a secreção do GH. O GHRH estimula a liberação de GH através do aumento na produção de AMPc. O papel do hormônio tireoidiano na síntese de GH permanece obscuro; no entanto, a secreção de GH sob testes de estímulo é reduzida em pacientes com hipotireoidismo, enquanto que os níveis basais não sofrem alterações (14,15).

O glicocorticóide apresenta um sítio de ligação localizado no primeiro íntron do gene do GH. A insulina suprime a secreção do GH e também diminui a expressão do gene, da mesma forma que a somatostatina. Já a ghrelina estimula a secreção do GH por uma via diferente do GHRH (14,16).

A leptina, por apresentar receptores hipotalâmicos, pode agir como um hormônio sinalizador metabólico na regulação da secreção do GH (14).

FATORES FISIOLÓGICOS NA SECREÇÃO DO GH

A secreção de GH é pulsátil, ocorrendo liberação de picos de GH alternados com valores basais considerados previamente como indetectáveis quando medidos por radioimunoensaio (RIE). A maioria dos pulsos de GH ocorre logo após o início do sono, na fase de ondas lentas cerebrais, o que corresponde a 60–70% de sua secreção diária (14,15).

O exercício aumenta a liberação de GH provavelmente através de mecanismos envolvendo estímulos colinérgicos (14,15).

Trauma, estresse físico, choque hipovolêmico e sepse estimulam a secreção de GH, embora doenças debilitantes como câncer não estejam associadas a aumento dos níveis de GH. Privação emocional e depressão estão associadas com supressão da secreção do GH e respostas subnormais em testes de estímulo. Acredita-se que um aumento na liberação de GHRH, mediado por fatores adrenérgicos, estaria envolvido nessas situações (14,15).

Desnutrição e jejum prolongado estão associados com níveis elevados de GH, enquanto que a obesidade diminui sua secreção basal e pós-estímulo (49).

Hipoglicemia insulínica estimula a liberação de GH cerca de 30 a 45 minutos após a queda da glicemia. Já a hiperglicemia aguda inibe a secreção do GH. Entretanto, pacientes diabéticos com hiperglicemia crônica não suprimem os níveis de GH (14,15).

Dieta rica em proteínas e a administração de aminoácidos por via intravenosa estimulam a liberação de GH através da supressão da somatostatina. A diminuição de ácidos graxos livres séricos causa aumento agudo nos níveis de GH, enquanto que o aumento inibe os efeitos de vários fatores estimulantes do GH (sono, exercício, GHRH) (14,15).

ENSAIOS

A dosagem do GH sérico foi possível a partir de 1960, com a introdução do RIE (7,17,18).

Mediante a dificuldade de se mensurar níveis de GH em indivíduos normais, buscou-se continuamente o aperfeiçoamento de técnicas diagnósticas que permitissem diferenciar o valor fisiológico entre os picos de secreção de GH do patológico. Tentou-se criar ensaios mais sensíveis e específicos, e que apresentassem boa acurácia.

Desenvolveram-se, então, ensaios chamados não competitivos, como, por exemplo, os ensaios imunoenzimáticos, imunoluminescentes e imunofluorométricos (19). Esses ensaios diferem um pouco do RIE tradicional porque o reagente “marcado” não é o antígeno, mas o anticorpo. Os anticorpos são adicionados em excesso, de maneira que todo antígeno está ligado ao anticorpo marcado. A separação do complexo formado (anticorpo marcado e antígeno) do anticorpo livre é realizada com um segundo anticorpo não marcado, dirigido contra outro determinante antigênico acoplado a uma fase sólida (20).

Apesar de o princípio ser muito parecido entre os imunoensaio, existem diferenças importantes e extremamente significativas no que diz respeito ao resultado obtido. Essas diferenças recaem principalmente nos tipos de anticorpos e padrões utilizados (21).

ANTICORPOS

No RIE, praticamente todos os anticorpos empregados para detecção da quantidade de hormônio na amostra são policlonais, ou seja, anticorpos que reconhecem vários epitopos diferentes em uma mesma molécula ou em moléculas distintas. Através desse ensaio, várias formas moleculares de GH poderiam ser reconhecidas e medidas (6,11,12).

Nos ensaios imunométricos mais recentes, a maioria utiliza anticorpos monoclonais combinados com policlonais ou simplesmente dois anticorpos monoclonais, onde a ligação deste à molécula de GH se dá através do reconhecimento de uma porção muito específica, possibilitando a dosagem de um tipo molecular único, na maioria das vezes restrito às formas 20 e 22 kDa (22).

Em imunoensaio, são empregados diferentes anticorpos que se ligam a um diferente espectro de isoformas de GH. Como a distribuição dessas isoformas varia entre um indivíduo e outro, os resultados dependerão do anticorpo utilizado no ensaio (5-7,17,21,23-28).

CALIBRADORES

Os calibradores são utilizados para gerar a curva padrão com a qual as amostras são comparadas. Inicialmente, eram derivados de extratos de hipófises humanas, e atualmente a orientação é de que os ensaios comerciais utilizem padrões advindos de GH recombinante, 22 kDa específico (10). Entretanto, observa-se, na prática, grande variabilidade de padrões, o que invariavelmente compromete o resultado obtido e

contribui para as divergências encontradas quando são comparados diferentes ensaios, ainda que o anticorpo tenha a mesma especificidade.

Em 1955, foi estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization — WHO*) o primeiro padrão internacional (*International Standard — IS*) de GH bovino para bioensaio (6,7). Através dos anos, várias modificações foram surgindo, de modo que o primeiro padrão estabelecido para ser utilizado em imunoensaio surgiu em 1982, derivado de hipófise (GH IS 66/217). Esse padrão foi substituído em 1990 por um segundo também derivado de hipófise (GH IS 80/505) e, posteriormente, em 1994, surgiu o GH IS derivado de GH recombinante (88/624), com conteúdo e especificidade definidos (1 mg = 3 U), considerado o primeiro IS para somatotropina (18). Numa tentativa de padronizar a utilização de calibradores, sugeriu-se que estes deveriam ser produzidos de acordo com o padrão 88/624, único em que a real quantidade de GH foi determinada; por isso, os resultados obtidos deveriam ser expressos em unidade de massa ao invés de unidades de bioatividade (18).

O uso de fatores de conversão, de uma preparação de GH para outra, ou de $\mu\text{g/l}$ para mUI/l , é uma potencial fonte de erro. A transição de 66/217 para 80/505 acompanhou-se de um aumento de 15% nos resultados de GH; entretanto, não houve nenhum ajuste nos testes diagnósticos naquela época (6,18).

A calibração de ensaios ultra-sensíveis, que utilizam anticorpos monoclonais, com calibradores biossintéticos representa outra possibilidade de erro, porque o GH da amostra e o GH do calibrador não reagem idênticamente com o anticorpo (19).

As divergências encontradas nos resultados de diferentes ensaios demonstram que métodos específicos para a forma 22 kDa tendem a fornecer resultados menores do que os ensaios que detectam também a forma 20 kDa, apesar de essa diferença não representar, necessariamente, apenas a presença de mais uma forma molecular, no caso a 20 kDa. Diferenças na especificidade dos métodos em detectar também as formas monoméricas e diméricas do GH têm sido implicadas como possíveis causas para a desigualdade existente nos resultados dos níveis de GH entre os ensaios (25,28).

Embora não existam dados na literatura que comprovem a superioridade da medida de uma forma molecular a outra, desde o surgimento do GH recombinante passou-se a adotar com maior frequência ensaios sensíveis e específicos, capazes de identificar níveis de GH anteriormente considerados indetectáveis pelos RIEs convencionais (10).

CRITÉRIOS DE CURA

As modificações metodológicas (sensibilidade e especificidade) dos ensaios, cada vez mais sensíveis e específicos, obrigaram à reavaliação de critérios diagnósticos e terapêuticos no que se refere aos distúrbios relacionados com a secreção de GH (6,14,21,22,24,25,27-32).

Tradicionalmente, com o uso de RIE policlonal, a acromegalia era considerada improvável quando o GH basal era inferior a 5 µg/l (28,34). Com o advento de ensaios mais sensíveis e específicos, valores tão baixos quanto 1 µg/l ou menos podem ser encontrados em pacientes com acromegalia em atividade, sobrepondo-se aos valores encontrados em indivíduos normais (36). Dessa forma, torna-se impossível adotar o GH basal como critério de cura ou diagnóstico de acromegalia.

O teste de tolerância oral a glicose (TTOG) tem sido considerado como teste clássico para diagnóstico e avaliação da atividade da acromegalia (tabela 3). A elevação aguda da glicose suprime a secreção hipofisária de GH em indivíduos normais, mas, em pacientes com acromegalia, os níveis de GH não diminuem e, em algumas situações, de forma paradoxal, até aumentam. Durante o teste, o sangue é coletado nos tempos basal, 30, 60, 90 e 120 minutos após a inges-

tão de 75 gramas de glicose. O menor valor de GH atingido durante o teste (nadir) é então comparado a um ponto de corte e, se acima deste, o diagnóstico de acromegalia é confirmado (14).

O valor do ponto de corte utilizado para interpretar os níveis de nadir de GH tem sofrido várias modificações com o aumento da sensibilidade e da especificidade dos ensaios (9,13,15,23,36). Empregando RIE policlonal, o valor de nadir de GH inferior a 2,0 µg/l era considerado normal (24,26). Com os novos ensaios, a supressão do GH em indivíduos normais demonstrou ser inferior a 1 µg/l (13,36). Em 2000, o Consenso sobre diagnóstico e critérios de remissão da acromegalia orientou que, em ensaios imunorradiométricos, com anticorpos monoclonais, o nadir de GH > 1 µg/l, juntamente com IGF-I elevado ou a média da medida do GH durante as 24 horas superior a 2,5 µg/l, seria determinante de doença não controlada (22). Freda e col. (25), utilizando ensaio imunorradiométrico monoclonal 22 kDa específico, encontraram valores tão baixos quanto 0,14 µg/l em indivíduos normais e inferior a 0,33 µg/l em mais de 50% dos pacientes acromegálicos, distinção essa impossível de ser realizada utilizando ensaio RIE policlonal. Dessa forma, a validade dos critérios de diagnóstico e avaliação da acromegalia torna-se incorreta quando se utiliza um ensaio e extrapolam-se resultados para outro (22).

Tabela 3. Critérios de cura da acromegalia (adaptado de ref. 32).

Estudo, Ano	Ensaio	Critério de cura (GH µg/l)
Wilson e Dempson, 1978	?	GH < 10,0
Roelfsema, 1985	RIE	GH < 2,5; estímulo TRH
Lindholm, 1987	RIE	GHb < 5,0; IGF-I; TTOG < 1,0
Loss, 1989	?	TTOG < 1,0; IGF-I
Fahlbush, 1992	?	TTOG < 2,5
Osman, 1994	?	TTOG < 1; GHb < 2,5
Jenkins, 1995	RIE	GHb < 2,5
Sheaves, 1996	IRMA	GHm < 2,5
Swearingen, 1998	?	TTOG < 2,0; IGF-I
Freda, 1998	IRMA	TTOG < 2,9; IGF-I
Giustina, 2000	IRMA	TTOG < 1,0; IGF-I
Laws, 2000	?	GH < 2,5; TTOG < 1,0; IGF-I
Kreutzer, 2001	QML	GH < 2,5; TTOG < 1,0; IGF-I
Kaltsas, 2001	?	GHm < 2,5; IGF-I
Costa, 2002	IFMA	TTOG < 0,25; IGF-I
De, 2003	RIE; QML	GHm < 2,5; IGF-1; TTOG < 1,0
Serri, 2004	IRMAm	TTOG < 0,25; IGF-I
Freda, 2004	IRMAm	TTOG < 0,14; IGF-I
Ayuk, 2004	RIE	TTOG < 2,0; IGF-I
Holdaway, 2004	RIE; IRMAm	TTOG < 1,0; IGF-I
Makelin, 2005	RIE; IRMA; ELISA; QML	GHb < 2,5; IGF-I

RIE: radioimunoensaio, IRMA: imunorradiométrico, IRMAm: imunorradiométrico monoclonal, QML: quimioluminescente, IFMA: imunofluorométrico, GHb: GH basal, GHm: GH médio, TTOG: teste de tolerância oral a glicose.

Dados epidemiológicos derivados basicamente de RIEs policlonais demonstram que a taxa de mortalidade na acromegalia é normalizada quando o valor médio do GH está abaixo de 2,5 µg/l (31,33-35). No entanto, utilizar esse dado epidemiológico como guia para o tratamento atual é problemático porque, para qualquer amostra de GH a ser dosada pelos imunoenaios mais sensíveis, os valores de GH serão significativamente menores aos determinados por RIE policlonal (35-40). Embora vários valores tenham sido propostos como mais adequados para cada ensaio, não existem dados epidemiológicos até o momento que corroborem estes valores (tabela 3) (13,15,36).

De acordo com o consenso que definiu os critérios de cura da acromegalia, em 2000 (14), a avaliação pós-operatória dos pacientes deve combinar a medida do GH através de teste com supressão pela glicose, juntamente com a dosagem do nível sérico basal de IGF-I (tabela 4).

Um estudo recente avaliou o diagnóstico de remissão da acromegalia após cirurgia. Os pacientes foram definidos como em remissão através de valores de IGF-I normais para sexo e idade e divididos em três grupos, de acordo com a faixa etária. Concluiu-se que os critérios diagnósticos atualmente aceitos para remissão pós-cirúrgica têm alta acurácia somente para indivíduos com menos de 60 anos. Valores normais de IGF-I se correlacionam com pontos de corte menores em pacientes idosos (36).

INSULIN GROWTH FACTOR I (IGF-I)

Com o advento de ensaios confiáveis, o IGF-I está fazendo parte da avaliação nos distúrbios relacionados ao GH (14,24,29,31,37-44), está elevado em pacientes com acromegalia em atividade e normaliza após tratamento adequado. As vantagens da medida do IGF-I, em comparação à medida do GH, consistem na facilidade de dosagem, pois é necessária somente uma coleta, e no fato de que, por ter meia-vida longa, re-

presenta mais adequadamente os níveis de GH do que uma única medida aleatória de GH (49).

Os imunoenaios para dosagem do IGF-I podem ser divididos naqueles que utilizam ou não métodos de extração das IGF-BPs. O método mais comumente utilizado é o da acidificação com etanol, que é baseado no princípio de que as moléculas com maior peso precipitam com etanol. A acidificação (pH 3,0) permite que o IGF-I presente na amostra se dissocie das IGF-BPs. No entanto, o sobrenadante frequentemente contém concentrações residuais de IGF-BPs. As IGF-BP-1 e -4, em particular, não são eficientemente precipitadas com essa metodologia (50).

Tanto os ensaios baseados em extração quanto os que não a utilizam podem realizar uma segunda técnica para eliminar a interferência das IGF-BPs. Consiste em adicionar excesso de IGF-II às amostras, antes de adicionar o anticorpo, o que teoricamente saturaria as IGF-BPs e permitiria a medida do IGF-I de forma adequada. Esse método requer o uso de anticorpos anti-IGF-I altamente específicos, com pouca reação cruzada com o IGF-II (49).

Cabe salientar que, apesar da melhora na precisão dos ensaios utilizados para medida do IGF-I, a falta de valores normativos padronizados para sexo e idade permanece sendo uma limitação de sua aplicação clínica (49).

Existe grande variação nas concentrações de IGF-I para todas as idades. A relação do GH com o IGF-I, em indivíduos normais, é influenciada também pelo sexo. Em mulheres, para se ter valores de IGF-I semelhantes aos dos homens, a secreção de GH deve ser pelo menos três vezes maior (48,49).

Outro aspecto importante que deve ser levado em consideração na interpretação dos valores de IGF-I são as doenças intercorrentes, particularmente doenças hepáticas e renais. Doença hepática progressiva resulta em diminuição dos níveis de IGF-I, enquanto que a redução da função renal, além de reduzir as concentrações de IGF-I, inibe a sua ação biológica por acúmulo de IGF-BPs, principalmente da IGF-BP-3 (49).

Tabela 4. Diagnóstico e avaliação da acromegalia (adaptado de Giustina A, ref. 14).

AVALIAÇÃO	CRITÉRIO
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	nadir de GH no TTOG > 1 µg/l e IGF-I elevado*
CONTROLADA	nadir de GH < 1 µg/l, IGF-I normal ausência de atividade clínica da doença
INADEQUADAMENTE CONTROLADA	nadir de GH nadir >1 µg/l, IGF-I elevado ausência de atividade clínica da doença
NÃO CONTROLADA	GH nadir >1 µg/l, IGF-I elevado presença de atividade clínica da doença

* elevado para sexo e idade

Tem sido demonstrada grande sobreposição entre os níveis de IGF-I entre pacientes com deficiência severa de GH e indivíduos normais (31). No entanto, a deficiência de dois ou mais hormônios hipofisários predizem um pico de resposta ao teste de hipoglicemia insulínica inferior a 1,9 ng/ml em aproximadamente 90% dos casos (24,34).

Trainer e col. (31) tentaram identificar valores de IGF-I que poderiam determinar risco de deficiência funcional de GH durante o tratamento em indivíduos adultos com deficiência de GH. A conclusão foi que o objetivo atual no tratamento da acromegalia, de reduzir os níveis de IGF-I para valores dentro da faixa normal para sexo e idade, pode pôr uma proporção de pacientes em risco para desenvolver deficiência funcional de GH. Essa possibilidade deve ser levada em consideração, já que hipopituitarismo com deficiência de GH também tem suas conseqüências na morbi-mortalidade dos pacientes.

Apesar de o IGF-I ser o hormônio responsável, indiretamente, por grande parte dos efeitos biológicos do GH, poucos estudos relacionavam mortalidade e IGF-I (26,28,30).

A indicação de tratamento adicional em pacientes acromegálicos (cirurgia, radioterapia, tratamento clínico medicamentoso) recai sobre os níveis de GH e IGF-I após a intervenção primária. O desenvolvimento de uma medicação que antagoniza o receptor do GH (pegvisomanto), o qual impede a sua ação e normaliza os níveis séricos de IGF-I, mantendo elevados os níveis de GH, requer a reavaliação da relação GH/IGF-I, pois, nessa situação, os valores de GH não servem para guiar a terapia e, até o momento, não existem dados concretos que determinem quais níveis de IGF-I constituem alvos terapêuticos apropriados (24). Os valores normativos que são utilizados como referência apresentam grande variação dentro da mesma faixa etária. Ainda se desconhece quantos desvios da média podem ser aceitos para considerar o paciente em remissão (24).

Estima-se que valores discordantes de GH e IGF-I podem ser vistos em até 30% dos pacientes acromegálicos durante o seu tratamento. No entanto, são poucos os estudos que descrevem o impacto dessa discordância na morbidade e mortalidade dos pacientes. Dados recentes, comparando acromegálicos não tratados e tratados cirurgicamente, definidos como curados ou não de acordo com níveis de GH e IGF-I, demonstraram que mesmo aqueles pacientes que não adquiriram controle hormonal da doença após a cirurgia (GH e IGF-I discordantes, porém com valores menores do que os iniciais) obtiveram melhora semelhante nos índices cardíacos, resistência insulínica e composição corporal em relação aos pacientes em remissão (47).

Em alguns casos, pode existir anormalidade na secreção do GH apesar de valores normais de IGF-I, mesmo após a cirurgia. Estudos propõem que GH nadir “anormal” poderia ser um sinal de atividade da doença em alguns pacientes (37,38,45,46).

O padrão oposto de divergência entre GH e IGF-I também tem sido reportado. O IGF-I pode estar elevado com níveis “normais” de GH. Valores altos de GH, de forma não pulsátil, são preditores positivos dos níveis de IGF-I, enquanto níveis de GH durante os picos são preditores negativos. Apesar de valores médios de GH similares, pacientes com acromegalia e concentrações basais durante o dia elevadas, sem pico, produzirão mais GH do que aqueles que têm secreção pulsátil normal, o que explicaria os níveis de IGF-I elevados, apesar de valores médios de GH normais (18,35).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os aspectos mais importantes que devem ser considerados na tentativa de padronização dos métodos para dosagem sérica do GH são os calibradores e a especificidade do ensaio. A utilização de um mesmo calibrador em todos os kits comerciais deverá reduzir as diferenças encontradas entre os métodos. No entanto, é importante atentar para o fato de que o uso de um único peptídeo, tal como a forma 22 kDa do GH, não reflete a heterogeneidade de formas moleculares existentes no soro. Da mesma forma, dependendo da especificidade do anticorpo empregado no ensaio, esse irá reagir com diferentes formas moleculares de GH. Porém, não há até o momento nenhum dado que comprove a superioridade de ensaios menos ou mais específicos na discriminação da atividade da acromegalia.

A utilização de ensaios diferentes para dosagem do GH constitui um problema comum em estudos que relacionam morbi-mortalidade aos níveis séricos de GH. A análise dos dados inclui valores de GH obtidos durante vários anos, e, por isso, medido por metodologias distintas. Acreditamos que o primeiro passo para a melhor interpretação dos valores de GH seria a determinação, por cada laboratório, de valores de ponto de corte para cada método em particular, o que possibilitaria uma análise retrospectiva mais acurada.

REFERÊNCIAS

1. Baumann G, Winter RJ, Shaw M. Circulating molecular variants of growth hormone in childhood. *Pediatr Res* 1987;22:21-2.

2. Kopchick JJ, Andry JM. Growth hormone (GH), GH receptor, and signal transduction. **Mol Genet Metab** 2000;71:293-314.
3. Baumann G. Growth hormone heterogeneity in human pituitary and plasma. **Horm Res** 1999;51(suppl. 1):2-6.
4. Baumann G. Growth hormone heterogeneity: genes, isohormones, variants, and binding proteins. **Endocr Rev** 1991;12:424-49.
5. Wood P. Growth hormone: its measurement and the need for assay harmonization. **Ann Clin Biochem** 2001;38:471-82.
6. Seth J, Ellis A, Al-Sadie R. Serum growth hormone measurements in clinical practice: An audit of performance from the UK National External Quality Assessment scheme. **Horm Res** 1999;51(suppl. 1):13-9.
7. Jansson C, Boguszewski C, Rosberg S, Carlsson L, Albertsson-Wikland K. Growth hormone (GH) assays: influence of standard preparations, GH isoforms, assay characteristics, and GH-binding protein. **Clin Chem** 1997;43:950-6.
8. Baumann G, Amburn K, Shaw MA. The circulating growth hormone (GH)-binding protein complex: a major constituent of plasma GH in man. **Endocrinology** 1988;122:976-84.
9. Mannor DA, Winer LM, Shaw MA, Baumann G. Plasma growth hormone (GH)-binding proteins: effect on GH binding to receptors and GH action. **J Clin Endocrinol Metab** 1991;73:30-4.
10. Kratzsch J, Selisko T, Birkenmeier G. Identification of transformed alpha 2-macroglobulin as a growth hormone-binding protein in human blood. **J Clin Endocrinol Metab** 1995;80:585-90.
11. Baumann G, Stolar MW. Molecular forms of human growth hormone secreted in vivo: nonspecificity of secretory stimuli. **J Clin Endocrinol Metab** 1986;62:789-90.
12. Gent J, van Kerkhof P, Roza M, Bu G, Strous GJ. Ligand-independent growth hormone receptor dimerization occurs in the endoplasmic reticulum and is required for ubiquitin system-dependent endocytosis. **Proc Natl Acad Sci USA** 2002;99:9858-63.
13. Gent J, Van Den Eijnden M, Van Kerkhof P, Strous GJ. Dimerization and signal transduction of the growth hormone receptor. **Mol Endocrinol** 2003;17:967-75.
14. Giustina A, Barkan A, Casanueva FF, Cavagnini F, Frohman L, Ho K, et al. Criteria for cure of acromegaly: a consensus statement. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:526-9.
15. Cuttler L. The regulation of growth hormone secretion. **Endocrinol Metab Clin North Am** 1996;25:541-71.
16. Lengyel AM. Novel mechanisms of growth hormone regulation: growth hormone-releasing peptides and ghrelin. **Braz J Med Biol Res** 2006;39:1003-11.
17. Wieringa GE, Barth JH, Trainer PJ. Growth hormone assay standardization: a biased view? **Clin Endocrinol (Oxf)** 2004;60:538-9.
18. Bristow AF. International standards for growth hormone. **Horm Res** 1999;51(suppl. 1):7-12.
19. Boguszewski CL. Molecular heterogeneity of human GH: from basic research to clinical implications. **J Endocrinol Invest** 2003;26:274-88.
20. Miles LE, Hales CN. Labelled antibodies and immunological assay systems. **Nature** 1968;219:186-9.
21. Celniker AC, Chen AB, Wert RM, Jr., Sherman BM. Variability in the quantitation of circulating growth hormone using commercial immunoassays. **J Clin Endocrinol Metab** 1989;68:469-76.
22. Costa AC, Rossi A, Martinelli CE, Jr., Machado HR, Moreira AC. Assessment of disease activity in treated acromegalic patients using a sensitive GH assay: should we achieve strict normal GH levels for a biochemical cure? **J Clin Endocrinol Metab** 2002;87:3142-7.
23. Stoffel-Wagner B, Springer W, Bidlingmaier F, Klingmuller D. A comparison of different methods for diagnosing acromegaly. **Clin Endocrinol (Oxf)** 1997;46:531-7.
24. Freda PU. Pitfalls in the biochemical assessment of acromegaly. **Pituitary** 2003;6:135-40.
25. Freda PU, Post KD, Powell JS, Wardlaw SL. Evaluation of disease status with sensitive measures of growth hormone secretion in 60 postoperative patients with acromegaly. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:3808-16.
26. Lindholm J, Giwercman B, Giwercman A, Astrup J, Bjerre P, Skakkebaek NE. Investigation of the criteria for assessing the outcome of treatment in acromegaly. **Clin Endocrinol (Oxf)** 1987;27:553-62.
27. Blethen SL, Chasalow FI. Use of a two-site immunoradiometric assay for growth hormone (GH) in identifying children with GH-dependent growth failure. **J Clin Endocrinol Metab** 1983;57:1031-5.
28. Reiter EO, Morris AH, MacGillivray MH, Weber D. Variable estimates of serum growth hormone concentrations by different radioassay systems. **J Clin Endocrinol Metab** 1988;66:68-71.
29. Barkan AL. Biochemical markers of acromegaly: GH vs. IGF-I. **Growth Horm IGF Res** 2004;14(suppl. A):S97-100.
30. Chapman IM, Hartman ML, Straume M, Johnson ML, Veldhuis JD, Thorner MO. Enhanced sensitivity growth hormone (GH) chemiluminescence assay reveals lower postglucose nadir GH concentrations in men than women. **J Clin Endocrinol Metab** 1994;78:1312-9.
31. Mukherjee A, Monson JP, Jonsson PJ, Trainer PJ, Shalet SM. Seeking the optimal target range for insulin-like growth factor I during the treatment of adult growth hormone disorders. **J Clin Endocrinol Metab** 2003;88:5865-70.
32. De P, Rees DA, Davies N, John R, Neal J, Mills RG, et al. Transsphenoidal surgery for acromegaly in Wales: results based on stringent criteria of remission. **J Clin Endocrinol Metab** 2003;88:3567-72.
33. Serri O, Beauregard C, Hardy J. Long-term biochemical status and disease-related morbidity in 53 postoperative patients with acromegaly. **J Clin Endocrinol Metab** 2004;89:658-61.
34. Ayuk J, Clayton RN, Holder G, Sheppard MC, Stewart PM, Bates AS. Growth hormone and pituitary radiotherapy, but not serum insulin-like growth factor-1 concentrations, predict excess mortality in patients with acromegaly. **Clin Endocrinol Metab** 2004;89:1613-7.
35. Kauppinen-Makelin R, Sane T, Reunanen A, Valimaki MJ, Niskanen L, Markkanen H, et al. A nationwide survey of mortality in acromegaly. **J Clin Endocrinol Metab** 2005;90:4081-6.
36. Colao A, Pivonello R, Cavallo LM, Gaccione M, Auriemma RS, Esposito F, et al. Age changes the diagnostic accuracy of mean profile and nadir growth hormone levels after oral glucose in postoperative patients with acromegaly. **Clin Endocrinol (Oxf)** 2006;65:250-6.
37. Daughaday WH, Starkey RH, Saltman S, Gavin JR, 3rd, Mills-Dunlap B, Heath-Monnig E. Characterization of serum growth hormone (GH) and insulin-like growth factor I in active acromegaly with minimal elevation of serum GH. **J Clin Endocrinol Metab** 1987;65:617-23.
38. Biermasz NR, Dekker FW, Pereira AM, van Thiel SW, Schutte PJ, van Dulken H, et al. Determinants of survival in treated acromegaly in a single center: predictive value of serial insulin-like growth factor I measurements. **J Clin Endocrinol Metab** 2004;89:2789-96.
39. Clemmons DR, Van Wyk JJ, Ridgway EC, Kliman B, Kjellberg RN, Underwood LE. Evaluation of acromegaly by radioimmunoassay of somatomedin-C. **N Engl J Med** 1979;301:1138-42.
40. Holdaway IM, Rajasoorya RC, Gamble GD. Factors influencing mortality in acromegaly. **J Clin Endocrinol Metab** 2004;89:667-74.
41. Barkan AL, Beitins IZ, Kelch RP. Plasma insulin-like growth factor-I/somatomedin-C in acromegaly: correlation with the degree of growth hormone hypersecretion. **J Clin Endocrinol Metab** 1988;67:69-73.
42. Feelders RA, Bidlingmaier M, Strasburger CJ, Janssen JA, Uitterlinden P, Hofland LJ, et al. Postoperative evaluation of patients with acromegaly: clinical significance and timing of oral glucose tolerance testing and measurement of (free) insulin-like growth factor I, acid-labile subunit and growth hormone binding protein levels. **J Clin Endocrinol Metab** 2005;90(12):6480-9.
43. Oppizzi G, Petroncini MM, Dallabonzana D, Cozzi R, Verde G, Chiodini PG, et al. Relationship between somatomedin-C and growth hormone levels in acromegaly: basal and dynamic evaluation. **J Clin Endocrinol Metab** 1986;63:1348-53.

-
44. Dobrashian RD, O'Halloran DJ, Hunt A, Beardwell CG, Shalet SM. Relationships between insulin-like growth factor-1 levels and growth hormone concentrations during diurnal profiles and following oral glucose in acromegaly. **Clin Endocrinol (Oxf)** **1993**;38:589-93.
45. Dimaraki EV, Jaffe CA, DeMott-Friberg R, Chandler WF, Barkan AL. Acromegaly with apparently normal GH secretion: implications for diagnosis and follow-up. **J Clin Endocrinol Metab** **2002**;87:3537-42.
46. Freda PU, Nuruzzaman AT, Reyes CM, Sundeen RE, Post KD. Significance of "abnormal" nadir growth hormone levels after oral glucose in postoperative patients with acromegaly in remission with normal insulin-like growth factor-I levels. **J Clin Endocrinol Metab** **2004**;89:495-500.
47. Damjanovic SS, Neskovic AN, Petakov MS, Popovic V, Macut D, Vukojevic P, et al. Clinical indicators of biochemical remission in acromegaly: does incomplete disease control always mean therapeutic failure? **Clin Endocrinol (Oxf)** **2005**;62:410-7.
48. Leung KC, Johannsson G, Leong GM, Ho KK. Estrogen regulation of growth hormone action. **Endocr Rev** **2004**;25:693-721.
49. Chowen JA, Frago LM, Argente J. The regulation of GH secretion by sex steroids. **Eur J Endocrinol** **2004**;151(suppl. 3):U95-100.
50. Clemmons DR. Commercial assays available for insulin-like growth factor I and their use in diagnosing growth hormone deficiency. **Horm Res** **2001**;55(suppl. 2):73-9.

Endereço para correspondência:

Alessandra Casagrande
Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas
de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4º andar
90035-003 Porto Alegre, RS
E-mail: alessandracasagrande@uol.com.br