



## TERAPÊUTICA COM HORMÔNIO DE CRESCIMENTO HUMANO EM NANISMO PAN-HIPOFISIOTRÓFICO IDIOPÁTICO HEREDITÁRIO. PESQUISA E ESTIMATIVA QUANTITATIVA DE ANTICORPOS

Lício Marques Assis \*, Sérgio Pereira de Almeida Toledo \*\*, Irene Schwarz \*\*\*, Paulo Bartolini \*\*\*\*, Emilio Mattar \*\*\*\*\* e Rômulo Ribeiro Pieroni \*\*\*\*\*

RHOC-B/1645

ASSIS, L. M. e col. — Terapêutica com hormônio de crescimento humano em nanismo pan-hipofisiotrófico idiopático hereditário. Pesquisa e estimativa quantitativa de anticorpos. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo*, 33(1):24-32, 1978.

**RESUMO:** Os Autores relatam a ação terapêutica de hormônio de crescimento humano (HCH) comercial, preparado pelo método de Roos, em dois casos de nanismo hipofisário devido a pan-hipopituitarismo idiopático familiar, por provável envolvimento hipotalâmico. Durante 12 meses, o HCH foi administrado na dose de 0,5 UI/kg de peso por semana, tendo havido incremento estatural de 10,5 e 6,5 cm/ano, respectivamente. Doses fisiológicas de  $T_3$  no caso II e  $T_3$  mais cortisol no caso I foram adicionadas, diante das insuficiências hormonais presentes. Controles metabólicos realizados nos dois casos durante a terapêutica, confirmaram claramente a ação do HCH nos presentes pacientes. A pesquisa de anticorpos anti-HCH no soro de ambos os pacientes se mostrou negativa antes, durante e após o início do tratamento com HCH.

**UNITERMOS:** Hormônio de crescimento. Nanismo hipofisário. Terapia hormonal. Insuficiência hormonal.

A introdução, em 1963, de métodos adequados de dosagem sérica para o hormônio de crescimento (HC) <sup>20</sup> permitiu o estabelecimento posterior de métodos diagnósticos precisos de sua deficiência na espécie humana <sup>12,13,17,41,49,69</sup>. Portadores desta condição podem ser hoje tratados com sucesso, administrando-se hormônio de crescimento humano (HCH) <sup>44,46,57,60,62,66</sup>. Este último fato intensificou o interesse clínico em relação à adequada caracterização de pacientes com falta daquele hormônio. Desde as primeiras tentativas terapêuticas com HCH em nanismos e/ou retardos estaturais (NA/RE), tornou-se clara a ocorrência óbvia de limitação de tal procedimento. Assim, somente os NA/RE realmente acompanhados de deficiência de HC respondem adequadamente a este tratamento <sup>24,29,53,61,62,67,70</sup>.

No presente relato, descreve-se a ação terapêutica do HCH (Roos), administrado por 12 meses a dois pacientes com comprovada deficiência de HC, portadores de pan-hipopituitarismo idiopático familiar <sup>33</sup>. O motivo desta apresentação deve-se à aparente ausência de

relato similar na literatura nacional. Espera-se assim contribuir para melhor compreensão da ação desse hormônio na espécie humana.

Durante o período de tratamento com HCH, os dois indivíduos afetados retomaram de modo evidente a taxa de crescimento estatural, não deixando dúvidas quanto à ação biológica do HCH utilizado. Pesquisas de presença de anticorpos contra o HCH usado, durante e após o tratamento, foram negativas, revelando o alto grau de pureza do hormônio empregado.

### CASUÍSTICA

Os dois pacientes aqui relatados são originários de irmandade composta por oito indivíduos, dos quais

cinco (três homens e duas mulheres) acham-se afetados. Os pais são normais. Na genealogia levantada, evidenciaram-se múltiplos casamentos consanguíneos, além de outros casos semelhantes na família <sup>63,64,65</sup>.

Caso I — A.A.M. masculino, branco, 27 anos. Procurou o Hospital devido à sua baixa estatura. Os pais informaram que até 2-3 anos de idade apresentou estatura normal, entretanto a partir desta época revelou perda progressiva do ganho estatural. Nasceu aparentemente com peso e estatura normais. Seu desenvolvimento neuropsico-motor foi adequado. Não havia história de icterícia neonatal prolongada, prisão de ventre, intolerância ao frio ou bradicinesia. Por época do seu primeiro exame físico (10/01/1974), revelou estatura: 108,7 cm, peso: 26,700 kg, nanismo simétrico, obesidade troncular, pseudoginecomastia, ausência completa de sinais pubertários, genitalia infantil e encarquilhamento discreto da pele ao redor dos olhos e boca (fig. Ia). Sua voz era baseada em tons agudos. Não apresentava sinais ou sintomas de

Trabalho realizado no Dep. Clín. Med., Fac. Med. e Inst. Energia Atômica, Univ. São Paulo.

- \* Prof. Doc. Dep. Clín. da FMUSP
- \*\* Prof. Assist. Doutor da FMUSP
- \*\*\* Médica, IEA
- \*\*\*\* Bioquímico, IEA
- \*\*\*\*\* Prof. Adjunto
- \*\*\*\*\* Prof., Diretor do IEA

hipotireoidismo. A idade óssea (IO) era equivalente a 9-9 1/2 anos. Havia agenesia do 3.º molar inferior e notou-se a não erupção dos 2.º/3.º molares restantes. Ao exame radiológico a sela turca era normal,

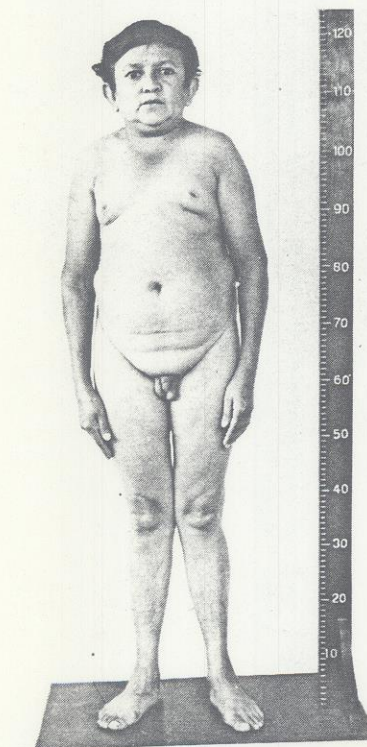
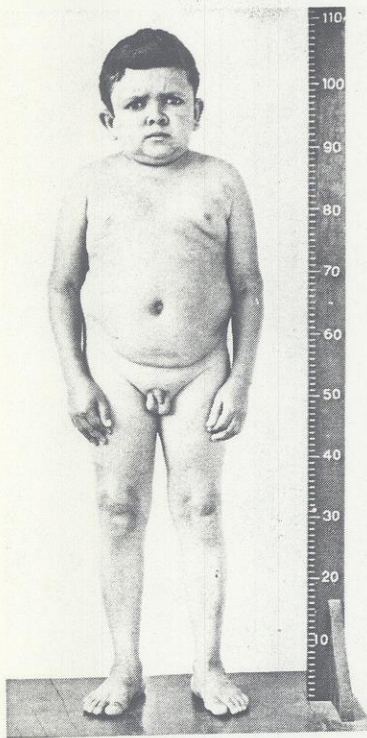


Fig. 1 — Pacientes I (fig. 1a) e II (fig. 1b) portadores de nanismo hipofisário, imediatamente antes do tratamento com HCH.

havendo porose moderada difusa de todo esqueleto.

Caso II — L.P.M. masculino branco, 38 anos, irmão do paciente anterior. Sua queixa principal era à baixa estatura. RE evidente instalou-se ao redor dos três anos de idade e foi progressivo; aos 15 anos houve parada total de crescimento estatural, medindo nesta época 115 cm. O seu primeiro exame físico (04/02/1971) revelou nanismo proporcional, obesidade troncular, face discretamente envelhecida, ausência de sintomas sugestivos de hipotireoidismo clínico. Não havia qualquer sinal de puberdade. Apresentava estatura: 115,5 cm e peso: 27 kg (fig. 1b). Havia ausência dos 2.ºs molares. Nesta época foi tratado com gonadotrofina coriônica, devido à inexistência de HCH comercial. Usou-se dose de 1500 U.I./2 x sem./28 dias, em três épocas distintas, no intervalo de 24 meses, tendo crescido 8 cm. A idade óssea acelerou-se durante este tratamento, passando de 11 para cerca de 13 anos no final do período. Durante o ano prévio ao início do tratamento com HCH, o paciente apresentou crescimento menor que 2,0 cm/ano. Imediatamente antes do início da terapia com HCH, o paciente media 123,5 cm de estatura, pesava 33,10 kg e sua IO estava ao redor dos 13 anos. Observou-se a não erupção dos 2.º/3.º molares

Dentre os exames laboratoriais de rotina realizados nos casos I e II, os seguintes mostraram-se normais: hematológico completo, urina tipo I protoparasitológico de fezes, creatinina, fosfatemia, calcemia, uréia, proteínas totais e frações, natremia, calemia, cloremia, CO<sub>2</sub> no sangue, glicosúria de 24 horas, urografia excretora, raios-X de tórax, mucoproteínas, pesquisa de mucopolissacariduria, reflexograma, dermatoglifos, cromatina oral, pesquisa de baguetas no sangue periférico, VDRL, reações de Mantoux e Machado-Guerreiro, pesquisa de BK no escarro. A eletroforese de proteínas séricas, prova de falcização, TGO, TGP e triglicérides séricos puderam ser realizadas somente no caso I, encontrando-se também na faixa normal. Os raios-X de esqueleto revelaram moderada osteoporose difusa e hipoplasia facial em ambos os casos. Nos casos I e II, os níveis séricos de glicemia e fosfatase alcalina foram consistentemente baixos, enquanto que os de colesterol estavam moderadamente elevados. Os níveis de aminoacidemia e aminoacidúria encontravam-se elevados no caso II, não tendo sido realizados no caso I.

Resultados de exames de rotina de maior interesse e estudo hormonal dos casos I e II acham-se sumarizados na tabela I. A exploração detalhada do eixo hipotálamo-hipofisário do caso II e de um ou-

TABELA I

Sumário de alguns exames de rotina, dosagens hormonais dos casos I e II.

Exames		Casos	
Tipo	Faixa normal	Caso I	Caso II
lipidemia total	(< 785 mg%)	918	—
aminoacidemia	(3.8-4.3 mg%)	—	5.1
aminoacidúria	(100-130 mg%)	—	212
glicemia	(70-100 mg%)	72	70
colesterol	(150-260 mg%)	278	255
fosfatase alcalina	(45-115 UK)	35	25
P B I	(3.5-8.0 mcg%)	2.2	5.0
T <sub>4</sub> -I	(3.1-7.0 mcg%)	1.4	0
T S H	(0-5 uU/ml)	< 5	< 5
L H	(5.00-20.00 mIU/ml)	3.5	3.6
gonadotr. corion.	(6.0-45.0 UC)	< 6	< 6
captção I <sub>131</sub> /tireóide (24 hs)	(16-48)		
basal		9.5	13.0
pós-TSH	(≥ 100%)	60.5	67.9
prova d'água (% após 2 hs)			
basal	(> 50%)	29.5	81.6
pós-corticóide		136.5	—
cortisol	(5-20 γ%)	3.0	17.0
metapirona (3º dia)			
17 OH basal		—	1.65
17 OH pós-teste	(≥ 200%)	—	3.13

tro seu irmão afetado, que não o caso I, foi previamente publicado<sup>33</sup>. Os níveis glicêmicos e do cortisol sérico durante o teste da lisina-vasopressina (LVP) realizado no caso I, encontram-se na tabela II.

TABELA II

Níveis de glicemia e cortisol sérico do caso I, durante o teste da lisina-vasopressina

Caso I		
tempo (min.)	cortisol (γ %)	glicemia (mg %)
-5	3.0	74
0	3.0	74
30	14.6	110
60	17.6	98

Soros colhidos dos dois pacientes respectivamente antes, no 6.º mês de tratamento e dois meses após o término do tratamento com HCH serviram para a pesquisa e determinação quantitativa de eventuais anticorpos produzidos contra o hormônio de crescimento.

## MÉTODOS

O HC sérico foi dosado pelo método do radioimuno-ensaio, utilizando duplo anticorpo<sup>35</sup>; a glicemia, colesterolemia, lipidograma, 17 cetosteróides e 17 hidrocorticóides (17 KS, 17 OH) urinários foram realizados pelos métodos usuais. A tiroxina ( $T_4$ ) foi determinada pelo método da ligação por competição (Tetralute, Ames, Co.)<sup>36</sup> e o cortisol pelo método fluorimétrico<sup>43,56</sup>. O PBI foi dosado como descrito previamente<sup>38</sup>. As dosagens dos hormônios tireotrófico (TSH) e luteotrófico (LH) seguiram métodos já relatados previamente<sup>34,39</sup>.

No teste de tolerância à insulina (ITT), usou-se 0,05 UI de insulina cristalina/kg peso, após jejum iniciado às 20,00 hs da noite anterior<sup>14</sup>. Os tempos da colheita foram: -5, 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 min. Durante o ITT, um pico inferior a 7 ng/ml de HC foi considerado como sugestivo de deficiência de HC<sup>29</sup> e níveis de cortisol igual ou maior que 20 mcg% foram entendidos como sendo uma resposta normal ao teste do LVP<sup>10,69</sup>. A IO foi estimada por meio de raios X

de punho e relacionada ao método de Gruelich-Pyle<sup>23</sup>. A idade dentária (ID) foi avaliada pelo exame clínico e raio X da arcada dentária.

A pesquisa e determinação quantitativa de anticorpos anti-HCH foram realizadas por método padronizado no Instituto de Energia Atômica<sup>3</sup>. Consiste, essencialmente, na utilização da eletroforese em disco de gel de poliácridamida para a separação das frações complexada e livre. A estimativa do título de anticorpos e sua capacidade de ligação foram realizadas pela metodologia de Roth e cols<sup>55</sup>. Os soros pesquisados foram incubados em diversos níveis de diluição na presença de quantidades fixas e <sup>125</sup>I-HCH durante 4 a 10 dias, a 4°C. O HCH foi marcado com <sup>125</sup>I pela técnica de Hunter e Greenwood<sup>25</sup> modificada. O método analítico quantitativo com o uso do gel de poliácridamida, padronizado por Ornstein e Davis<sup>40</sup>, mostrou nitida separação das frações complexada e livre.

**Crêterios de escolha para terapêutica com HC.** — Dentre os crêterios de escolha<sup>24</sup> dos pacientes a serem submetidos a terapêutica com HCH, incluiu-se: 1) baixa estatura, inferior a dois desvios-padrão, 2) ganho estatural menor que 3cm/ano, durante os 12 meses prévios ao tratamento, 3) desenvolvimento esquelético retardado em relação à idade cronológica, avaliado pelo IO, 4) ausência de resposta dos níveis séricos de HC, durante no mínimo dois testes estimuladores da secreção de HC. Quanto ao último item, diante do óbvio nanismo simétrico dos pacientes fêz-se somente um teste (ITT) estimulatório de HC.

**Procedimentos-controle** — Durante o período de tratamento com HCH dos casos I e II, realizaram-se os controles que se seguem. Medidas estaturais e ponderais foram realizadas de três em três meses, por médicos treinados, utilizando-se sempre os mesmos procedimentos padrões. A estatura anotada foi o resultado da média aritmética de três medidas realizadas, sequencialmente, por meio de uma régua fixa de metal, estando o paciente na posição ortostática, em atitude de repouso. Utilizou-se como controle estatural, curva de crescimento de uma população não autóctone<sup>59</sup>; a velocidade de crescimento foi calculada pela diferença das duas alturas e expressa em cm/ano, comparando-a com grupo controle<sup>59</sup>. O controle de peso foi também feito de três em três meses, constando em anotar em K a média de três pesagens realizadas seguidamente. A IO e uma série de exames laboratoriais de rotina foram realizados nos dois casos no início do tratamento. Fotografias de corpo inteiro junto à régua dos casos I e II foram realizadas no início (fig. I). O ITT em ambos os casos foi realizado antes e durante a terapêutica com HCH (tabela III e fig. II).

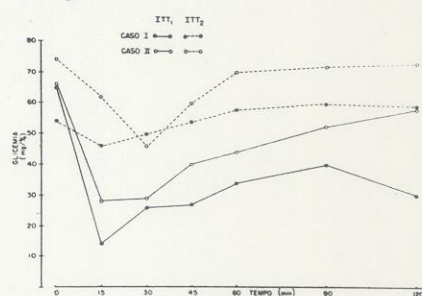


Fig. 2 — Glicemias obtidas durante o teste de tolerância a glicose realizado nos pacientes I e II, antes e durante o tratamento com HCH (ITT<sub>1</sub> e ITT<sub>2</sub>).

TABELA III

Glicemias e níveis séricos de HC durante o ITT, realizado antes do tratamento com HCH, nos casos I e II.

Caso II			Caso I	
H C (ug%)	glicemia (mg%)	tempo	(ug%) H C	(mg%) glicemia
0.50	66	0	0.80	65
0.75	28	15'	—	14
0.50	29	30'	2.00	26
0.50	40	45'	1.90	30
0.50	44	60'	2.20	34
0.50	52	90'	—	40
0.50	58	120'	—	30

Nos três meses imediatamente antes da administração de HCH, o hormônio tireoídiano (HT) sob forma de triiodotironina ( $T_3$ ) foi dado em dose de 50 mcg/dia, ao caso II. Durante esta terapêutica prévia não se notou qualquer variação mensurável da estatura do paciente.

**Esquema terapêutico** — HCH comercial utilizado (Crescormon R) \* foi preparado pelo método de Roos, e encontra-se disponível no mercado. O esquema terapêutico foi realizado simultaneamente nos casos I e II e abrangeu um período de 12 meses. Devido a cada frasco de HCH-Crescormon R conter material com atividade biológica equivalente a 4 UI, processaram-se cálculos para que dose semanal adequada fosse fornecida aos pacientes. A dose administrada foi de 0,5 UI de HCH/kg do peso ideal<sup>20</sup>, distribuída em duas ou três aplicações intramusculares semanais. Durante todo o tratamento o produto foi administrado sob vigilância médica, o que permitiu adequado controle das aplicações. Os frascos com a preparação de HCH foram mantidos por todo o tempo em geladeira, em temperatura menor que 7°C. A diluição do material liofilizado e estéril foi realizada em 2 ml de solução contendo cloreto de sódio a 9:1000, a fim de permitir a homogeneização necessária. Nestes procedimentos cuidou-se para que não houvesse qualquer perda do volume original do conteúdo.

Simultaneamente à terapêutica com HCH, administraram-se 50 mcg/dia de  $T_3$  aos casos I e II e 7,5 mg de prednisona ao caso I. Esta terapêutica foi indicada diante das insuficiências do HT em ambos os casos e de cortisol no caso I.

\* Laboratório Kabi. Suécia

**RESULTADOS**

O ganho estatural ocorrido nos casos I e II durante o tratamento com HCH por 12 meses acha-se esquematizado na tabela IV e figura 3. Durante o primeiro trimestre, houve brusco incremento estatural ( $\Delta E$ ), que se estendeu ao 1.º semestre de tratamento. Após, houve estabilização do  $\Delta E$ . As estaturas dos casos I e II ao final do tratamento eram de 118,5 e 129,6 cm, respectivamente. No período de tratamento com HCH, os  $\Delta E$  anuais foram 10,5 cm no caso I e 6,5 cm no caso II, enquanto que o  $\Delta E$  mensal médio foi de 0,807 cm/mês no caso I e 0,541 cm/mês no caso II. O incremento da taxa de crescimento estatural ( $\Delta t$ ) em ambos os casos também foi acentuado no 1.º semestre, estabilizando-se no período seguinte. O  $\Delta t$  médio durante a terapêutica foi de 80,70 no caso I e 3,00 no caso II. Ao final dos 12 meses de tratamento, o caso I crescia ao redor de 6,0 cm/ano e o caso II, 3,0 cm/ano. Notou-se concomitante perda de 1,2 kg/peso no caso II e ganho de 5,0 kg/peso no I, com variação ponderal que não superou a 15% do peso inicial. O aspecto físico dos pacientes no fim

da terapêutica chamou a atenção devido à moderada redistribuição do tecido adiposo subcutâneo, com tendência à diminuição da gordura troncular e da pseudoginecomastia. Este fato foi mais nítido no caso II. A IO de ambos apresentou variações detectáveis durante a terapêutica correspondente aproximadamente a um avanço de 10-12 meses. O ITT, realizado antes e durante a administração do HCH, mostrou níveis glicêmicos e de HC sérico que se encontram sumarizados na tabela III e figura 2. Houve evidente elevação de seus níveis basais e melhor recuperação da glicemia após ação insulínica, durante o tratamento com HCH.

No período de estudos, os pacientes não apresentaram qualquer sinal ou sintoma colateral que pudesse ter sido relacionado ao produto administrado.

A pesquisa de anticorpos anti-HCH no soro de ambos foi negativa antes durante e dois meses após a interrupção do tratamento com o Crescormon R, o que sugere o alto grau de pureza da preparação; de acordo, aliás, com o não aparecimento de resistência à terapêutica hormonal (fig. 4).

**COMENTARIOS**

Durante o tratamento com HCH dos casos I e II, a ocorrência clínica mais notável foi o consistente ganho estatural (fig. 3 e tabela IV). O  $\Delta E$  anual de 10,5/6,5 cm nos casos I/II não deixou dúvidas quanto à recuperação do acréscimo estatural. Este fato tornou-se mais evidente devido ao  $\Delta E$  nulo no caso I e menor que 2 cm no caso II, durante os 12 meses prévios ao início da terapêutica (fig. 3). A primeira porção das curvas observadas na fig. 2 é exponencial, como é usual no início de trata-

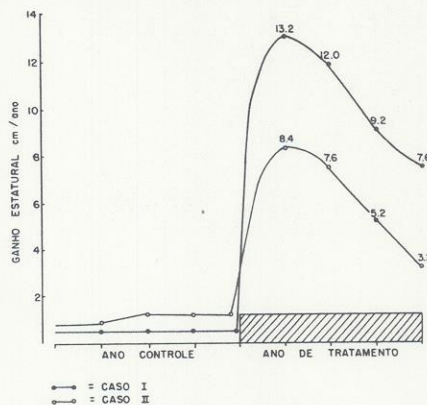


Fig. 3 — Gráfico mostrando a evolução estatural dos casos I e II durante a terapêutica com HCH.

TABELA IV

Incremento estatural e taxa de crescimento mensal dos casos I e II durante a terapêutica com HCH.

Paciente	Idade anos	Idade óssea anos	Tempo de tratamento meses	Estatura (cm)			Taxa de crescimento médio (cm/mês)		
				Inicial ( $E_1$ )	Após ( $E_2$ )	$\Delta E = E_2 - E_1$	Antes ( $t_1$ )	Depois ( $t_2$ )	$\Delta t = t_2 : t_1$
A A M	24	9.0	12	108.7	118.9	10.2	0.01	0.807	80.70
L P M	30	13.6	12	123.5	129.6	6.1	0.18	0.541	3.00

mento com HCH, em casos de NA/RE por deficiência de HC<sup>29,67</sup>. Este  $\Delta E$  inicialmente muito acentuado estabilizou-se posteriormente ao redor de 3 - 6 cm/ano. A observação do  $\Delta t$  também colaborou na caracterização da ocorrência aqui descrita (tabela IV). Por sua vez, o tratamento prévio do caso II com gonadotrofinas coriônicas, e respectivo avanço da IO, poderia estar relacionado ao seu menor  $\Delta t$ , comparando-o ao do caso I.

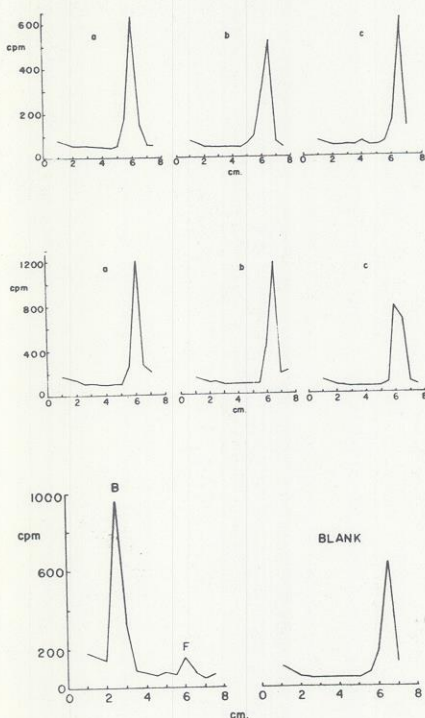


Fig. 4 — Eletroforese de soros do paciente A. A. M. (caso I) diluídos 1:5 ao serem incubados com HCH-<sup>125</sup>I, antes do tratamento (a), no 6º mês de tratamento (b) e 2 meses após o término de 1 ano de tratamento com HCH (c). Em todos os soros o HCH-<sup>125</sup>I foi recuperado totalmente entre 5.5 e 7 cm do gel, demonstrando ausência de fração ligada a anticorpo. B) Eletroforese de soros do paciente L. P. M. (caso II), em diluição de 1:100 na incubação com HCH-<sup>125</sup>I, antes do tratamento (a), durante o 6º mês de tratamento (b) e 2 meses após o término de 1 ano de tratamento com HCH (c). Em todos os soros o HCH-<sup>125</sup>I foi totalmente recuperado entre 5.5 e 7 cm do gel, demonstrando ausência de fração ligada a AC. C) Eletroforese de soro diluído a 1:100, de paciente resistente à terapia com HCH. O HCH-<sup>125</sup>I ligado ao anticorpo (B) fica retido entre 2.5 e 3 cm do gel enquanto que o HCH-<sup>125</sup>I livre (F), entre 6-6.5 cm do gel. O «blank» representa a eletroforese de HCH-<sup>125</sup>I, demonstrando a migração do hormônio livre até 6-7 cm do gel.

Em relação à dose necessária e suficiente de HCH, há certa discrepância na literatura<sup>45</sup>. No presente estudo utilizou-se um dos esquemas previamente sugeridos<sup>24</sup>.

Quanto ao critério diagnóstico da deficiência de HC, nível desse hormônio abaixo de 7 ng/ml durante teste estimulatório é aceito como seguro. Níveis entre 3-7 ng/ml em testes de estímulo estariam relacionados à insuficiência parcial de HC<sup>28</sup>. A reposição gonadotrófica em nanismos hipofisários com deficiência hormonal múltipla, incluindo HC, deve ser feita após o paciente atingir altura próxima da estatura pubertária normal. No caso II, a conduta diversa foi puramente circunstancial, motivada pela absoluta ausência de HCH disponível no mercado, na época (1971).

Por se ter associado HT no caso II e HT/corticóide no caso I à terapêutica com HCH, pode-se especular se estes hormônios interferiram com o  $\Delta E$  observado. O HT no seu efeito sobre o crescimento parece atuar como "facilitador" da liberação/secreção de HC<sup>5,27</sup>, explicando a ausência de  $\Delta E$  no caso II durante terapêutica prévia somente com HT<sup>21</sup>. Por outro lado, é bastante viável uma ação simultânea permissiva periférica do HT sobre o HC<sup>1,21</sup>. A possibilidade do HCH exógeno diminuir a resposta do TSH ao TRH<sup>32</sup> parece ainda ser discutível. Quanto ao cortisol, desde que seja repostado em doses menores que 10 mg/m<sup>2</sup> de área corpórea<sup>71</sup>, não parece causar diminuição do  $\Delta E$ , durante a administração de HCH. Este fato pode ser notado no caso I. Por outro lado, os  $\Delta E$  em NA/RE por deficiências mono ou poli-hormonais, submetidos a tratamento com HCH ou HCH associado a HT e/ou corticóide, usualmente não apresentam diferenças significativas<sup>22,29</sup>. Isto foi confirmado nos casos aqui apresentados.

Fica óbvio que a eventual ação hormonal sobre o  $\Delta E$  e  $\Delta t$  requer a presença de cartilagens de conjugação abertas, como nos casos presentes. Por outro lado, não se deve atribuir ao tratamento com HCH crescimentos espontâneos

ocasionais que podem ocorrer em certas afecções. Assim, nos casos de puberdade retardada<sup>42,71</sup>, pós-operatório de craniofaringeoma<sup>9,18</sup> e na síndrome de privação materna<sup>19</sup> pode ocorrer retorno espontâneo ao  $\Delta t$  normal. Outro aspecto do uso do HCH refere-se aos NA/RE não acompanhados de deficiência de HC. Assim, nos NA/RE devidos à síndrome de Silver-Russell<sup>8,61</sup>, parto gemelar, distúrbios intrauterinos, condrodistrofias e anomalias cromossômicas não se observou  $\Delta E$  significativa após administração de HCH em doses terapêuticas<sup>62</sup>. Do mesmo modo, NA/RE causados por puberdade retardada, desnutrição protéico-calórica ou superdosagem com corticóides não respondem adequadamente ao tratamento com HCH<sup>29</sup>. O mesmo ocorre com NA associado à deficiência de somatomedina e altos níveis séricos de HC<sup>15,31,37</sup>. Sumarizando, o diagnóstico da deficiência de HC é mandatório antes da introdução de terapêutica com HCH. Apesar disto, há relatos embora discutíveis, de discreto  $\Delta E$  em NA/RE não acompanhados por deficiência de HC, na vigência de HCH.

Deve-se frisar que anticorpos anti-HCH podem ocorrer durante o tratamento com HCH, produzindo ou não resistência à droga<sup>26,55</sup>. Tal resistência quando presente mais parece estar ligada ao grau de pureza do produto. No entanto, a produção de anticorpos anti-HCH sem o aparecimento de resistência à droga talvez seja ocorrência freqüente<sup>24,67</sup>. Com o HCH comercial aqui utilizado, tem-se usualmente observado presença de anticorpos anti-HCH sem resistência ao hormônio<sup>24</sup>. O evidente  $\Delta E$  e  $\Delta t$  dos presentes pacientes durante a terapêutica com HCH falaria contra possível resistência à droga. Esta hipótese se confirmou pela ausência de imunogenicidade "in vitro" no soro de ambos os pacientes (fig. 4). Casos resistentes ao HCH geralmente respondem muito mal ao tratamento, com diminutos  $\Delta E$  e  $\Delta t$ <sup>26</sup>. Tal ocorreu em caso ainda não publicado no qual o soro mostrou presença de anticorpos circulantes

contra HCH purificado pela técnica de Wilhelmi (o soro deste paciente foi cedido pelo Dr. B.L. Wajchenberg).

A ação biológica do HCH sobre o crescimento dos pacientes aqui estudados enfatiza o seu efeito anabólico<sup>1,46,48,58</sup>. Por outro lado, a aminoacidemia e a aminoacidúria elevadas no caso II podem resultar da deficiência endógena de HC e inadequado anabolismo. Apesar de não ser conhecido o local celular primário de ação do HC, há necessidade da presença de um componente plasmático, a somatomedina<sup>12,13</sup> para várias de suas ações. Paralelamente, o HCH age no metabolismo de glicídeos e lipídeos<sup>6,16,47,54</sup>, como aqui observado. Assim, a figura 2 ilustra a ação do HCH sobre a homeostase da glicose. Por outro lado, os níveis hipoglicêmicos observados em ambos os casos poderiam estar agravados pela insuficiência de cortisol, como ocorria no caso I. A favor desta hipótese fala o fato dos níveis glicêmicos do caso I serem consistentemente mais baixos que os do caso II, tanto no ITT<sub>1</sub>, como no ITT<sub>2</sub><sup>70</sup> (fig. 2). Entretanto, esperar-se-ia que, durante a terapêutica hormonal de reposição HCH/cortisol, as glicemias do caso I se elevassem mais que o observado. NA/RE hipofisários usualmente apresentam glicemias basais na faixa inferior do normal, 10% dos quais com sinais/sintomas hipoglicêmicos evidentes<sup>4,13,71</sup>. A introdução do HCH evita tal ocorrência pelo restabelecimento de níveis glicêmicos normais. Neste sentido, há relatos de NA/RE em que o retardo mental seria causado por severas crises hipoglicêmicas repetidas<sup>31</sup>. Por outro lado, o HCH tem ação lipolítica, mobilizando os triglicérides dos depósitos em ácidos graxos não esterificados<sup>48</sup>. Isto tenderia a causar redução do tecido adiposo dos deficientes de HC, com possível simultânea redistribuição. Hipercolesterolemia moderada ou discreta acompanha frequentemente tanto as deficiências isoladas de HC<sup>50,51</sup> e HT<sup>54</sup>, como

as insuficiências hormonais associadas de HC/HT. Portanto, a causa de hipercolesterolemia nos presentes casos não pode ser adequadamente discriminada devido à deficiência dupla HT/HCH<sup>6,16,47</sup> (tabela I). Sumarizando, nos pacientes aqui estudados o tratamento com HCH produziu modificações metabólicas altamente desejáveis, atestando sua efetividade biológica em indivíduos HC-deficientes.

A etiologia dos NA/RE com deficiência isolada de HC<sup>50,51</sup> ou com insuficiência hormonal múltiplas, de origem hereditária geralmente está ligada a distúrbios hipotalâmicos<sup>13,33</sup> idiopáticos. Tumores (craniofaringeoma, por exemplo), infecções (granulomas), anomalias do desenvolvimento<sup>33</sup> e processos não acompanhados de aparente lesão anatômica, podem também causar distúrbios de centros hipotalâmicos ou porções da hipófise ocasionando NA/RE. Curiosamente, constatou-se que entre os nascidos por meio de fórceps ou parto com apresentação de nádegas há maior incidência de insuficiência de HC<sup>53</sup>. O mesmo ocorre em relação a portadores de lábio leporino/coloboma coróideano<sup>30,68</sup>. Os pacientes aqui relatados apresentam claro envolvimento hipotalâmico, comprometendo a produção normal de fatores liberadores hipotalâmicos dos hormônios hipofisários<sup>33</sup>. Frise-se que infusão lenta dos fatores liberadores hipotalâmicos pode ser necessária ou não na discriminação adequada do envolvimento hipotalamo-hipofisário<sup>11,16,33</sup>.

Várias técnicas de extração têm sido utilizadas na obtenção de HC de hipófise humanas<sup>2,7,46,52</sup>. Os produtos obtidos por meio das diferentes formas de preparações devem ser certamente heterogêneos<sup>67</sup>, explicando certas discrepâncias nos resultados clínico/laboratoriais durante a terapêutica com HCH<sup>26,67</sup>. Sumarizando, a grande diferença entre as várias técnicas refere-se ao uso ou não da filtração em gel na coluna de Se-

phadex. A pureza do HCH obtido, utilizando-se a gel filtração<sup>3,52</sup> parece ser bastante mais adequada, em contraposição ao produto advindo de técnicas que não usam tal procedimento<sup>7,46</sup>. Há também evidências clínicas sustentando tais fatos<sup>24,67</sup>. O método de Roos<sup>52</sup>, em particular, tem demonstrado ser especialmente útil na obtenção de HCH que preencha condições para perfeito uso clínico. Esta foi a razão por optar-se neste estudo pelo uso de HCH obtido por tal método. Por outro lado, este produto tem previamente se mostrado altamente promissor no tratamento de NA/RE por deficiência de HCH<sup>24,67,70</sup>. Recentemente, em nosso meio desenvolveu-se modificação deste método, que permite obtenção de HCH humano de mesmo grau de pureza<sup>3</sup>. Tal fato abre perspectivas inéditas na área, devido ao baixo custo do produto associado à alta qualidade técnica, permitindo não só a sua aplicação terapêutica, como a fabricação de "kits".

Finalmente, deve ser lembrado que o esquema terapêutico com HCH deve ser descontinuado somente após IO adulta<sup>69</sup>. Tratamento tão prolongado pode causar alguns percalços ao nível familiar. Deste modo, é essencial que a família seja formal e previamente informada em detalhes dos procedimentos a serem realizados. Isto permitirá colaboração ativa durante todas as etapas da reposição hormonal.

#### AGRADECIMENTOS

Os Autores agradecem aos Drs. A. A. Pupo, B.L. Wajchenberg e G. Medeiros-Neto pela colaboração prestada na dosagem de algumas substâncias, e à Srta. Norisa Herrera pela colaboração secretarial. Ao Dr. B.L. Wajchenberg, o agradecimento pela cessão do soro do paciente que manifestou elevada imunogenicidade e resistência terapêutica ao HCH.

## SUMMARY

RHOC-B/1645

ASSIS, L. M. et al. — Treatment with human growth hormone in hereditary panhypophysiotropic dwarfism. Detection and quantitative determination of antibodies. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo*, 33(1): 24-32, 1978.

The effect of human growth hormone (HGH), prepared by the Roos method, on two adult brothers (27 and 38 years of age) with idiopathic pituitary dwarfism due to a genetic form of panhypophys-

iotropism is reported. During twelve months, 0.5 IU of HGH per body weight was given weekly. The previous rates of height gain per year in both were less than 2 cm. Thyroid hormone was administered to one of the cases during 3 months prior to the HGH treatment, without height increase. Bone age was around 10-13 years. Additional  $T_3$  was given in one case and  $T_3$  plus cortisol in the other. The height gain during

the period of treatment was 10.5 and 6.5 cm, respectively. After twelve months of treatment, the patients were growing at a rate of 6.0 and 3.0 cm/year, respectively. No antibody formation could be detected before, during and after the treatment with the Kabi-HGH preparation.

**Uniterms: Human growth hormone. Hereditary pituitary dwarfism. Hormone therapy.**

REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS

1. ASLING, C. W.; TSE, F. & ROSENBERG, L. L. — Effects of growth hormonal and thyroxine on sequences of chondrogenesis in the epiphyseal cartilage plate. *Expta. Med. Int. Congr. Ser.* 158:319, 1968.
2. ASSIS, L. M.; NICOLAU, W.; HIRATA, I. A. A.; MURAMOTO, E.; PIERONI, R. R. & SHIBATA, H. — Estudo do método de preparação do hormônio de crescimento humano pelo fracionamento em sulfato de amônio e gel filtração em Sephadex G-100. *Rev. Ass. méd. bras.* 18:299, 1972.
3. BARTOLINI, P.; SCHAWARZ, I.; PIERONI, R. R. & ASSIS, L. M. — An accurate determination of human growth hormone content in different pituitary extract, using a radioimmunoassay with polyacrilamide gel electrophoresis as a bound free separation system. *Clin. chim. Acta*, 79:223, 1977.
4. BRASEL, J. A. & BLIZZARD, R. — The influence of endocrine glands upon growth and development. In: WILLIAMS, R. H. *Textbook of Endocrinology*, 5th ed. Philadelphia, Saunders, 1974, p. 1030.
5. BRAUMANN, H. & CORVILIAN, J. — Growth hormone response to hypoglycemia in myxoedema. *J. clin. Endocr.* 28:30, 1964.
6. BYERS, S. O.; FRIEDMAN, M. & ROSENMAN, R. H. — Prevention of hypercholesterolemia in thyroidectomized rats by growth hormone. *Nature* 228:464, 1970.
7. CARNEIRO, A. C. C. — Extração para uso clínico do hormônio de crescimento humano. São Paulo, 1975 (Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina, USP).
8. CIORLIA, V. R.; NAJJAR, Z. & TOLEDO, S. P. A. — Síndrome de Silver. *Rev. Ass. méd. bras.* 21:338, 1975.
9. COSTIN, G.; KOGUT, M. D.; PHILLIPS, L. S. & DAUGHADAY, W. H. — Craniopharyngeoma: the role of insulin in promoting post operative growth. *J. clin. Endocr.* 42:370, 1976.
10. COSLOSKY, R.; WAJCHENBERG, B. L. & NOGUEIRA, O. — Hyper-responsiveness to lysine-vasopressin in Cushing's disease. *Acta Endocr.* 75:125, 1974.
11. COSTOM, B. H.; GRUMBACH, M. M. & KAPLAN, S. L. — Effect of thyrophin-releasing factor on serum thyroid stimulating hormone. *J. clin. Invest.* 50:2219, 1971.
12. DAUGHADAY, W. H. & PARKER, M. L. — Sulfation factor measurement as an aid in the recognition of pituitary dwarfism. *J. clin. Endocr.* 23:638, 1963.
13. DAUGHADAY, W. H. — The adenohypophysis. In: WILLIAMS, R. H. *Textbook of Endocrinology*, 5th ed. Philadelphia, Saunders, 1974, p. 31.
14. DICKERMAN, Z.; PRAGER-LEWIN, R. & LARON, Z. — The effect of repeated injections of synthetic luteinizing hormone-releasing hormone on the response of plasma luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in young hypogonadotropic-hypogonadal patients. *Fert. and Steril.* 27:162, 1976.
15. FARIAS, P. A.; TOLEDO, S. P. A.; ASSIS, L. M.; PUPO, A. A. & MATTAR, E. — Metabolic studies in familial dwarfism with elevated serum growth hormone. *Pan Amer. Congr. Endocr.*, Buenos Aires, 1974. *Abstract*, p. 125.
16. FRIEDMAN, M.; BYERS, S. O. & ELEK, S. R. — Pituitary growth hormone essential for regulation of serum cholesterol. *Nature* 225:464, 1970.
17. FRASIER, S. D. — A review of growth hormone stimulating tests in children. *Pediatrics* 53:929, 1974.
18. FRASIER, S. L. & SMITH JR, F. G. — Return of normal growth following removal of a craniopharyngeoma. *Amer. J. Dis. Child.* 116:211, 1968.
19. FRASIER, S. D. & RALLISON, M. L. — Growth retardation and emotional deprivation — a relative resistance to treatment with human growth hormone. *J. Pediat.* 80:603, 1972.
20. GLICK, S. M.; ROTH, J.; YELLOW, R. S. & BERSON, S. A. — Immunoassay of human growth hormone. *Nature* 199:784, 1963.
21. GOODALL, C. M. & GAVIN, J. B. — Absence of growth in hypophysectomized rats treated with thyroid hormones. *Acta Endocr.* 51:315, 1966.
22. GOODMAN, H. G.; GRUMBACH, M. M. & KAPLAN, S. L. — Growth and growth hormone. II. A comparison of isolated growth hormone deficiency and multiple pituitary-hormone deficiencies in 35 patients with idiopathic hypopituitary dwarfism. *New Engl. J. Med.* 278:57, 1968.
23. GRUELICH, W. W. & PYLE, S. I. — *Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist*, 2nd ed. California, Stanford Univ. Press, 1959.
24. HALL, K. & OLIN, P. — Sulphation factor activity and growth rate during long-term treatment of patients with pituitary dwarfism with human growth hormone. *Acta Endocrinol.* 69:417, 1972.

25. HUNTER, W. M. & GREENWOOD, F. C. — Preparation of iodine-131 labelled growth hormone of high specific activity. *Nature (Lond.)* 194:495, 1962.
26. ILLIG, R. — Growth hormone antibodies in patients treated with different preparations of human growth hormone (HGH). *J. clin. Endocr.* 31:679, 1970.
27. IWASTSUBO, H.; OMORI, K.; OKADA, Y.; FUKUCHI, M.; MIYAI, K.; ABE, H. & KUMAHARA, Y. — Human growth hormone secretion in primary hypothyroidism before and after treatment. *J. clin. Endocr.* 27:1751, 1967.
28. JOSS, E. E. & ZUPPINGER, K. A. — The significance of intermediate plasma growth hormone levels in growth-retarded children. *J. Pediat.* 81:1092, 1972.
29. JOSS, E. E. — Growth hormone deficiency in childhood. Basel, Karger, 1975.
30. LARON, Z.; TNUBE, E. & KAPLAN, I. — Pituitary growth hormone insufficiency associated with cleft lip and palate. *Helv. paediat. Acta* 23:576, 1969.
31. LARON, Z.; PERTZELAN, A. & KARP, M. — Pituitary dwarfism with high serum levels of growth hormone. *Isr. J. med. Sci.* 4:883, 1968.
32. LIPPE, B. M.; VAN HERLE, A. J.; LA FRANCHI, S. H.; ULLER, R. P.; LAVIN, N. & KAPLAN, S.A. — Reversible hypothyroidism in growth hormone — deficient children treated with human growth hormone. *J. clin. Endocr.* 40:612, 1975.
33. MEDEIROS-NETO, G. A.; TOLEDO, S. P. A.; PUPO, A. A.; SUCUPIRA, M. S.; FRAIGE-FILHO, F.; MATTAR, E.; KASTIN, A. J. & SCHALLY, A. V. — Characterization of the LH response to luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) in isolated and multiple tropic hormone deficiencies. *J. clin. Endocr.* 37:972, 1973.
34. MIDGLEY JR., A. R. & JAFFE, R. B. — Regulation of human gonadotropins: X. Episodic fluctuation of LH during menstrual cycle. *J. clin. Endocr.* 33:962, 1971.
35. MORGAN, C. R. — Human growth hormone immunoassay: two antibody method using I-125 tracer. *Proc. Soc. exp. Med.* 121:62, 1966.
36. MURPHY, B. E. P. & PATTEE, C. J. — Determination of thyroxine utilizing the property of protein binding. *J. clin. Endocr.* 24:187, 1964.
37. NAJJAR, S. S.; KHACHADURIAN, A. K.; ILBAWI, M. M. & BLIZZARD, R. M. — Dwarfism with elevated levels of plasma growth hormone. *New Engl. J. Med.* 284:809, 1971.
38. NICOLAU, W.; LUTHOLD, W. & ULHOA-CINTRA, A. B. — Iodemia protéica. Estudo do método de Baker. Modificações introduzidas e resultados. *Rev. paul. Med.* 56:471, 1960.
39. ODELL, W. D.; WILBER, J. F. & UTIGER, R. D. — Studies on thyrotropin physiology by means of radioimmunoassay. *Recent Progr. Hormone Res.* 23:47, 1967.
40. ORNSTEIN, L. & DAVIS, B. J. — Disc. electrophoresis. Reprinted by distillation products industries. New York, Rochester, 1962.
41. PARKER, M. L.; HAMMOND, J. M. & DAUGHADAY, W. H. — The arginine provocative test: an aid in the diagnosis of hyposomatotropism. *J. clin. Endocr.* 27:1129, 1967.
42. PENNY, R. & BLIZZARD, R. M. — The possible influence of puberty on the release of growth hormone in three males with apparent isolated growth hormone deficiency. *J. clin. Endocr.* 34:82, 1972.
43. PETERSON, R. E.; KARRER, A. & GUERRA, S. I. — Evaluation of Silver-Porter procedure for determination of plasma hydrocortisone. *Analyt. Biochem.* 29:144, 1957.
44. PRADER, A.; ZACHMANN, M.; POLLY, J. R.; ILLIG, R. & SZEKY, J. — Long-term treatment with human growth hormone (Raben) in small doses: evaluation of 18 hypopituitary patients. *Helv. paediat. Acta* 22:423, 1967.
45. PREECE, M. A.; TANNER, J. M. & WHITEHOUSE, R. H. — Dose dependence of growth response to human growth hormone in growth hormone deficiency. *J. clin. Endocr.* 42:477, 1976.
46. RABEN, M. S. — Treatment of dwarf with human growth hormone. *J. clin. Endocr.* 18:901, 1958.
47. RABEN, M. S. & HOLLENBERG, C. H. — Effect of growth hormone on plasma fatty acids. *J. clin. Invest.* 38:484, 1959.
48. RABINOWITZ, D.; KLASSEN, G. A. & ZIERLER, K. L. — Effect of human growth hormone on muscle and adipose tissue metabolism in the forearm of man. *J. clin. Invest.* 44:51, 1965.
49. RAITI, S. & BLIZZARD, R. M. — Human growth hormone: current role in normal and abnormal metabolic states. *Advanc. Pediat.* 17:99, 1970.
50. RIMOIN, D. L.; MERIMEE, T. J. & MCKUSICK, V. A. — Growth hormone deficiency in man: an isolated, recessively inherited defect. *Science* 152:1635, 1966.
51. RIMOIN, D. L.; MERIMEE, T. J. & MCKUSICK, V. A. — Sexual ateleiotic dwarfism: a recessively inherited isolated deficiency of human growth hormone. *Trans. Ass. Amer. Physns.* 79:297, 1966.
52. ROOS, P. — Preparation of human growth hormone by gel filtration. *Biochim. Biophys. Acta* 74:525, 1963.
53. ROOT, A. W. — Human pituitary growth hormone. Springfield, Thomas, 1972.
54. ROSENMAN, R. H.; BYERS, S. O. & FRIEDMAN, M. — The mechanism responsible for the altered blood cholesterol content in deranged thyroid states. *J. clin. Endocr.* 12:1287, 1952.
55. ROTH, J.; GLICK, S. M.; YALLOW, A. S. & BERSON, S. A. — Antibodies to human growth hormone (HGH) in human subjects treated with HGH. *J. clin. Invest.* 43:1056, 1964.
56. RUDD, B. T.; SAMPSON, P. & BROOKE, B. N. — A new fluorimetric method of plasma cortisol assay with a study of pituitary-adrenal function using metyrapone. *J. clin. Endocr.* 27:317, 1963.
57. SEIP, M. & TRYGSTAD, O. — Experiences with human growth hormone in pituitary dwarfism. *Acta paediat. scand.* 55:287, 1966.
58. SIMPSON, M. E.; ASLING, C. W. & EVANS, H. M. — Some endocrine influences on skeletal growth and differentiation. *Yale J. Biol. Med.* 23:1, 1950.
59. TANNER, J. M.; WHITESOUSE, R. H. & TAKAISHI, M. — Standards from birth to maturity for height, weight, height velocity: British children (1965). *Arch. Dis. Childh.* 41:454, 1966.
60. TANNER, J. M. & WHITEHOUSE, R. H. — Growth response of 26 children with short stature given human growth hormone. *Brit. med. J.* 11:69, 1967.
61. TANNER, J. M. & HAM, T. J. — Low birth weight dwarfism with asymmetry (Silver's syndrome): treatment with human growth hormone. *Arch. Dis. Childh.* 44:231, 1969.
62. TANNER, J. M.; WHITEHOUSE, R. H.; HUGHES, P. C. R. & VINCE, F. P. — Effect of human growth hormone treatment for 1 to 7 years on growth of 100 children with growth hormone deficiency, low birth weight, inherited smallness, Turner's syndrome and other complaints. *Arch. Dis. Childh.* 46:745, 1971.
63. TOLEDO, S. P. A.; ASSIS, L. M.; COELHO-NETO, A. S.; PUPO, A. S. & ULHOA-CINTRA, A. B. — Endocrinological aspects of familial dwarfism in a kindred including six cases. In: International Congress of Pediatrics, XII, Viena, 1971. *Abstract.*
64. TOLEDO, S. P. A.; ASSIS, L. M.; MATTAR, E.; TOLEDO, L. F. A. & ULHOA-CINTRA, A. B. — Nanismo, hipopituitário familiar. In: Congresso Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo, X., Curitiba, 1974. *Anais* p. 43.
65. TOLEDO, S. P. A.; ASSIS, L. M.; MATTAR, E.; TOLEDO, L. F. A. & ULHOA-CINTRA, A. B. — Familial hypopituitary dwarfism: studies on a isolate.



- In: PanAmerican Congress of Endocrinology, Buenos Aires, 1974. Abstract p. 124.
66. TRYGSTAD, O. — Human growth hormone and hypopituitary growth retardation. *Acta paediat. scand.* 58:407, 1969.
67. UNDERWOOD, L. E.; VOINA, S. J. & VANWYK, J. J. — Restoration of growth by human growth hormone (Roos) in hypopituitary dwarfs immunized by other human growth hormone preparations. Clinical and immunological studies. *J. clin. Endocr.* 38:288, 1974.
68. ZUPPINGER, K. A.; SUTTER, M.; ZURBRIIGG, R. P.; JOSS, E. E. & OETLIKER, O. — Cleft lip and cho-roidal coloboma associated with multiple hypothalamo-pituitary disfunctions. *J. clin. Endocr.* 33:934, 1971.
69. ZURBRIIGG, R. P. & JOSS, E. E. — Diagnostic procedures in hypopituitary dwarfism. II. *Helv. paediat. Acta* 25:383, 1970.
70. WESTPHAL, O. — Human growth hormone. A methodological and clinical study. *Acta paediat. scand.* (suppl.): 182, 1968.
71. WILKINS, L. — *The diagnosis and treatment of endocrine disorders in childhood and adolescence*. 3rd ed. Springfield, Thomas, 1965.

Recebido em 25-9-77 e aceito para publicação em 30-10-77.

08610 \*