

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÉ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

CINDI GUIMARÃES MARINHO COUTINHO

AVALIAÇÃO DA VASORREATIVIDADE CEREBRAL, UM MARCADOR
SUBSTITUTO DA DOENÇA CEREbroVASCULAR, NA DEFICIÊNCIA
CONGÊNITA E ISOLADA DE GH

ARACAJU

2020

CINDI GUIMARÃES MARINHO COUTINHO

**AVALIAÇÃO DA VASORREATIVIDADE CEREBRAL, UM MARCADOR
SUBSTITUTO DA DOENÇA CEREBROVASCULAR, NA DEFICIÊNCIA
CONGÊNITA E ISOLADA DE GH**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Manuel Hermínio de Aguiar Oliveira

ARACAJU

2020

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAUDE – BISAU
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

C871a	Coutinho, Cindi Guimarães Marinho Avaliação da vasorreatividade cerebral, um marcador substituto da doença cerebrovascular, na deficiência congênita e isolada de GH / Cindi Guimarães Marinho Coutinho; orientador Manuel Hermínio de Aguiar Oliveira. – Aracaju, 2020. 69 f. : il. Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, 2020.
	1. Doença cerebrovascular. 2. Receptor do GHRH. 3. Hormônio do crescimento. 4. Vasorreatividade cerebral. 5. Doppler Transcraniano. I. Oliveira, Manuel Hermínio de Aguiar, orient. II. Título.
	CDU 616.831-005

AGRADECIMENTOS

Chegamos ao final do mestrado. Foi um aprendizado grande em meio a tantas outras atividades acontecendo em minha vida. Dentre elas, o nascimento da minha filha, minha princesinha. Ela é o motivo de eu me dedicar ao mestrado; seu sorriso é o que me move! Então, quero agradecer logo a ela! Iasmin, mamãe te ama!

Aos meus pais, Vanderbal e Angélica, por terem me ensinado determinação e foco. Para vocês, o estudo sempre foi prioridade e eu cresci em meio a essa cultura. Obrigada por tudo! Ao meu irmão, Marinho, que me vê tão grande, mesmo eu sendo tão pequena. Se eu fosse tudo que você vê em mim, eu seria excepcional. Você me dá força!

Ao meu marido, Júnior, que ao longo desses quase 16 anos que estamos juntos, fomos crescendo e nos desenvolvendo juntos!

Agradeço aos demais familiares que torcem por mim, em nome dos meus avós, vovó Joelina, vovô Austeclínio e vovó Estela. Tenho muitos tios, tias e primos que sei do apreço que têm por mim. Obrigada! Também agradeço à minha sogra, dona Amélia, por todo o suporte com Iasmin no início.

Às ‘tias’ Ju, Val, Priscila e Lu que direta ou indiretamente cuidaram do meu tesouro para que eu pudesse me dedicar ao projeto.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Hermínio, um exemplo de pessoa, de médico, de pesquisador, de inteligência, de humildade. Incrível como ele tem paciência para auxiliar no processo do mestrado e acredita mais em mim do que eu mesma. Aprendi muito sobre dedicação, empenho, sobre estabelecer metas e atingi-las.

A Dr. Salvatori pela valiosa ajuda na confecção do artigo. A Dr. Marco Prado e Dr. Hyder Aragão que não mediram esforços na realização dos exames. À Dra. Viviane pelo empenho com o trabalho. À Dra. Carla, Dra. Ângela, Dra. Elenilde, Alécia, Manuela, Nelmo, Armando e Djane pelo envolvimento. Às minhas companheiras de residência, Cynthia e Nayra, que também participaram me auxiliando no processo da pesquisa.

Agradeço à banca da qualificação do mestrado, Dra. Carla, Dra. Joselina e Dra. Viviane, pelas valiosas contribuições. Também agradeço à banca de defesa, Dr. Francisco e Dra. Joselina novamente por disporem do seu precioso tempo para engrandecer nosso trabalho.

Por último, mas definitivamente não menos importante, aos anões de Itabaianinha que são, não apenas contribuíram para o nosso trabalho, mas também estão dispostos a contribuir com a sociedade. Aprendi muito sobre comportamento com vocês e agradeço como me receberam sempre que precisei de contato. Agradeço também aos participantes do grupo controle em nome Alex e Kharylim, simbolicamente.

Obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para a realização dessa pesquisa.

RESUMO

Avaliação da vasorreatividade cerebral, um marcador substituto da doença cerebrovascular, na deficiência congênita e isolada de GH. Cindi Guimarães Marinho Coutinho. Aracaju, 2020.

Introdução: A doença cerebrovascular é uma das principais causas de morte e incapacidade. A obesidade, o diabetes *mellitus*, a hipertensão arterial, a dislipidemia, o sedentarismo e o tabagismo são fatores de risco para doenças cardiovasculares e cerebrovasculares. O papel do eixo GH / IGF-I no risco da doença cerebrovascular é controverso. Pacientes com deficiência de GH (DGH) no cenário de hipopituitarismo geralmente exibem fatores predisponentes à doença cerebrovascular, como baixa geração de óxido nítrico, disfunção endotelial, aumento da massa de gordura visceral, aumento dos níveis de colesterol LDL e aumento da espessura médio-intimal carotídea (EMIC), um marcador alternativo da aterosclerose. No entanto, vários fatores confundidores, como lesão primária hipotalâmica-hipofisária, terapias de reposição hormonal, consequências de cirurgia e radioterapia, podem influenciar essa relação.

Objetivo: Avaliar a vasorreatividade cerebral, um marcador substituto de doença cerebrovascular, em indivíduos adultos com deficiência isolada e congênita de hormônio de crescimento (DIGH), não tratada, devido à mutação c.57 + 1G> A no gene do receptor do hormônio liberador do GH (GHRH).

Métodos: Trata-se de um estudo transversal com 25 indivíduos adultos com DIGH e 25 controles pareados por idade e sexo. Entrevista, exame físico, exames laboratoriais com perfil metabólico, cálculo do escore de risco de Framingham, medição da EMIC e Doppler transcraniano foram realizados. A hemodinâmica intracraniana foi avaliada pela velocidade média de fluxo (VMF), índices de pulsatilidade (IP) e de resistência (IR) e o índice de apneia, este pós estímulo vasodilatador com hipercapnia.

Resultados: Os grupos DIGH e controle foram semelhantes no tocante aos fatores de risco cardiovasculares, inclusive o escore de risco de Framingham. A espessura médio-intimal carotídea, a velocidade média de fluxo, os índices de pulsatilidade, de resistência e de apneia também foram similares entre os grupos. Houve correlação positiva entre idade com EMIC, idade com IP e idade com IR, bem como entre glicemia de 2 horas ao teste oral de tolerância à glicose com EMIC e com IR e entre a EMIC com IP e a EMIC com IR.

Conclusão: a DIGH congênita não tratada não causa comprometimento da vasorreatividade cerebral.

Descritores: GH, receptor do GHRH, IGF-I, vasorreatividade cerebral, Doppler Transcraniano

ABSTRACT

Evaluation of cerebral vasoreactivity, a surrogate marker of cerebrovascular disease, in congenital and isolated GH deficiency. Cindi Guimarães Marinho Coutinho. Aracaju, 2020.

Introduction: Cerebrovascular disease is a major cause of death and disability. Overweight, diabetes *mellitus*, arterial hypertension, dyslipidemia, sedentary lifestyle and smoking are risk factors for cardiovascular and cerebrovascular disease. The role of the GH/IGF-I axis in the risk of cerebrovascular disease is controversial. Patients with GH deficiency (GHD) in the setting of hypopituitarism often exhibit cerebrovascular disease predisposing factors, as low nitric oxide generation, endothelial dysfunction, increased visceral fat mass, increased levels of LDL cholesterol, and increased intima-media thickness (IMT), an alternative marker of atherosclerosis. However, several confounders such as the primary hypothalamic-pituitary lesion, hormonal replacement therapies, consequences of surgery and radiotherapy, may influence this relationship.

Objective: to evaluate cerebral vasoreactivity, a surrogate marker of cerebrovascular disease, in adult subjects with untreated isolated growth hormone deficiency (IGHD) due to c.57 + 1G> A mutation in the GH releasing hormone (GHRH) receptor gene.

Methods: This is a cross-sectional study with 25 IGHD adult subjects and 25 age- and gender-matched controls. Interview, physical examination, laboratory exams with metabolic profile, calculus of the Framingham risk score, IMT measurement and transcranial Doppler were performed. The intracranial hemodynamics was evaluated by mean flow velocity (MFV), pulsatility (PI) and resistance indexes (RI), and the breath holding index, this one after vasodilatory stimulus of hypercapnia.

Results: IGHD and control groups were similar with regard to cardiovascular risk factors, including the Framingham risk score. Carotid intima-media thickness, mean flow velocity, pulsatility, resistance and apnea indices were also similar between groups. There was a positive correlation between age with IMT, age with PI and age with RI, as well as 2-hour glucose in oral glucose tolerance test with IMT and with RI and between IMT with PI and IMT with RI.

Conclusion: Lifetime, untreated IGHD does not cause impaired cerebral vasoreactivity.

Descriptors: GH, GHRH receptor, IGF-I, Cerebral vasoreactivity, Transcranial Doppler

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparação das variáveis contínuas entre 25 DIGH e 25 controles..... 34

Tabela 2. Tabela do coeficiente de correlação de Pearson entre os fatores de risco e as variáveis vasculares..... 38

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Dois indivíduos do grupo DIGH e mestranda ao centro. Eles apresentam fácies de boneca, baixa estatura proporcionada e obesidade truncal, além de uma voz de timbre agudo	14
Figura 2. Níveis de glicemia (A) e de insulina (B) durante teste oral de tolerância à glicose comparando grupos DIGH e controle	15
Figura 3. Níveis de adiponectina em indivíduos dos grupos DIGH de Itabaianinha e do grupo controle	15
Figuras 4. Perfil cardio metabólico dos indivíduos DIGH de Itabaianinha	16
Figura 5. Janelas de insonação. A. Transtemporal. B. Transforaminal. C. Transcervical. D. Transorbital	20
Figura 6. Visão esquemática da circulação cerebral, com direção normal do fluxo sanguíneo e janelas de Doppler transcraniano	20
Figura 7. Registro das ondas do Doppler de exame normal na artéria cerebral média. A figura indica velocidade sistólica de pico (Vs) de 126 cm/s e velocidade diastólica final (Vd) de 47 cm/s, ambos normais	21
Figuras 8A, 8B e 8C. Participantes da pesquisa incluindo indivíduos dos grupos DIGH e controle, além da equipe envolvida, no primeiro (A), segundo (B) e terceiro (C) dias de pesquisa	26
Figura 9. Indivíduos com DIGH participantes da pesquisa e médico responsável (MAPN) pela medida da EMIC	29
Figuras 10A e 10B. Realização do Doppler transcraniano em indivíduos DIGH pelo médico HAM. Na foto 10A estão presentes ao fundo os pesquisadores responsáveis	30
Figuras 11A e 11B. Exame de Doppler transcraniano em indivíduo DIGH (11A) e de indivíduo do grupo controle (11B). Nas figuras da esquerda constam os parâmetros basais (identificados por setas vermelhas, com as devidas siglas) e à direita constam os parâmetros após estímulo vasodilatador provocado pela hipercapnia	31
Gráfico 1. Velocidade sistólica de pico, parâmetro do Doppler transcraniano, entre os grupos DIGH e controle	35
Gráfico 2. Velocidade média de fluxo, parâmetro do Doppler transcraniano, entre os grupos DIGH e controle	35
Gráfico 3. Índice de pulsatilidade, parâmetro do Doppler transcraniano, entre os grupos DIGH e controle	36

Gráfico 4. Índice de resistência, parâmetro do Doppler transcraniano, entre os grupos DIGH e controle	36
Gráfico 5. Índice de apneia, parâmetro do Doppler transcraniano, entre os grupos DIGH e controle	37
Gráfico 6. Correlação positiva entre índice de pulsatilidade nos grupos DIGH e controle ...	39
Gráfico 7. Correlação positiva entre índice de resistência nos grupos DIGH e controle	39
Gráfico 8. Correlação positiva entre espessura intimal-média da carótida nos grupos DIGH e controle	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVE – acidente vascular encefálico

CO₂ – gás carbônico

DCV – Doença cerebrovascular

DGH – Deficiência de hormônio de crescimento

DIGH – Deficiência isolada do hormônio do crescimento

DTC – Doppler transcraniano

EMIC – Espessura médio-intimal carotídea

GH – Hormônio do crescimento

GHRH – hormônio liberador do hormônio do crescimento

GHRH-R – receptor do hormônio liberador do hormônio do crescimento

IGF-I – fator de crescimento semelhante à insulina tipo I

IA – índice de apneia

IP – índice de pulsatilidade

IR – índice de resistência

PCR – proteína C reativa

VMF – velocidade média de fluxo

Vs – velocidade sistólica de pico

Vd – velocidade diastólica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Deficiência Isolada de Hormônio de Crescimento.....	13
2.2 Deficiências de GH e doença cerebrovascular.....	17
2.3 Doppler Transcraniano	19
3 OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo geral	24
3.2 Objetivos específicos	24
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	25
4.1 Tipo de estudo	25
4.2 Delineamento do estudo	25
4.3 Local	25
4.4 Participantes	25
4.5 Critérios de inclusão	28
4.6 Critérios de exclusão	28
4.7 Métodos	28
4.7.1 Entrevista, exame físico e exames laboratoriais	28
4.7.2 Espessura média-intimal carotídea	29
4.7.3 Doppler Transcraniano	29
4.7.4 Análise Estatística	32
4.7.5 Aspectos Éticos	32
5 RESULTADOS	33
6 DISCUSSÃO	41

7 CONCLUSÕES	45
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
REFERÊNCIAS	47
APÊNDICE A: Artigo “Cerebral vasoreactivity, a surrogate marker of cerebrovascular disease, is not impaired in subjects with lifetime, untreated, congenital isolated GH deficiency “(<i>Endocrine</i>)	53
APÊNDICE B: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	62
APÊNDICE C: Formulário com perguntas aos participantes da pesquisa	63
ANEXO – Aprovação do projeto pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP	64

1 INTRODUÇÃO

A doença cerebrovascular (DCV) é uma das principais causas de morte e incapacidade em todo o mundo. Nos Estados Unidos, uma pessoa sofre um acidente vascular encefálico (AVE) a cada 40 segundos, a maioria deles isquêmico. Frequentemente, a doença cerebrovascular é avaliada em conjunto com fatores de risco de doenças cardiovasculares, incluindo tabagismo, sedentarismo, dieta inadequada, excesso de peso, colesterol elevado, pressão arterial e glicemia não controlados (BENJAMIN; VIRANI; CALLAWAY et al, 2018). Ao longo dos anos, tem-se estudado outros fatores de risco para essas patologias.

O papel do eixo do hormônio do crescimento (GH) e do fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) na doença cerebrovascular ainda é controverso. Um duplo papel do IGF-I na doença vascular, especialmente na aterosclerose, foi descrito. Por um lado, o IGF-I estimula a proliferação e a migração de células do músculo liso do vaso, contribuindo para o desenvolvimento da placa. Por outro lado, a diminuição da expressão de IGF-I leva à apoptose dessas mesmas células e resulta em desestabilização da placa (DELAFOUNTAIN; SONG; LI, 2004). Além disso, GH e IGF-I também estimulam a proliferação de células endoteliais, a angiogênese (SONNTAG; LYNCH; THORNTON et al, 2000) e a produção de óxido nítrico, que induz vasodilatação e participa no reparo da inflamação após eventos isquêmicos (COLAO, 2008). Consequentemente, baixa geração de óxido nítrico, disfunção endotelial, aumento da massa gorda visceral, redução da massa magra, aumento dos níveis de colesterol LDL, aumento da espessura médio-intimal carotídea (EMIC), formação de placas e outras anormalidades cardiovasculares são descritas em pacientes com deficiência de GH (DGH), principalmente no contexto do hipopituitarismo (COLAO, 2008). Nesse cenário, tumores hipofisários e cirurgia ou irradiação, outros déficits de hormônios hipofisários, com falta ou inadequação das respectivas terapias de reposição, também podem influenciar o estado vascular, e a contribuição da DGH para esses aspectos vasculares parece modesta (BATES; VAN'T HOFF; JONES et al, 1996). Apesar de estudos históricos associarem aumento da mortalidade cardiovascular (ROSEN; BENGTSSON, 1999) e cerebrovascular (BULOW; HAGMAR; MIKOCZY et al, 1997) ao DGH no hipopituitarismo, trabalhos mais recentes não corroboram essa associação (BURMAN; MATTSSON; JOHANSSON et al, 2013; KAJI; CHIHARA, 2004).

Descrevemos anteriormente um grupo extenso com deficiência isolada de hormônio de crescimento (DIGH) grave e congênita devido à mutação c.57 + 1G> A no gene do receptor do hormônio liberador de GH (GHRH) (*GHRHR* MIM n.618157) que reside no município de Itabaianinha, no estado de Sergipe, nordeste do Brasil (SALVATORI; HAYASHIDA; AGUIAR-

OLIVEIRA, 1999). Esses indivíduos apresentam ao longo da vida níveis muito baixos de GH e níveis quase indetectáveis de IGF-I (AGUIAR-OLIVEIRA; GILL; BARRETO, 1999). Apresentam baixa estatura grave, obesidade visceral (GOMES-SANTOS; SALVATORI; FERRÃO, et al 2014), mas há aumento da sensibilidade à insulina (OLIVEIRA; SALVATORI; BARRETO-FILHO, 2012), pressão arterial sistólica mais alta, níveis aumentados de colesterol total e LDL colesterol e proteína C reativa (BARRETO-FILHO; ALCANTARA; SALVATORI, 2002), mas nenhuma evidência de aterosclerose prematura nas coronárias e em aorta (COSTA; OLIVEIRA; SALVATORI et al, 2016; OLIVEIRA; MARQUES-SANTOS; BARRETO-FILHO et al, 2006; SOUZA; FARIAS; SALVATORI et al, 2014). Consequentemente, eles apresentam longevidade similar às pessoas da comunidade sem DIGH (AGUIAR-OLIVEIRA; OLIVEIRA; PEREIRA et al, 2010).

A doença cerebrovascular pode ser avaliada através de exames clínicos, laboratoriais e de imagem. Com intuito de identificar se esses indivíduos com DIGH apresentam maior risco de DCV, avaliamos o perfil clínico e metabólico desses adultos com DIGH e dos controles pareados por idade e sexo, bem como a EMIC. Adicionalmente, realizamos o Doppler transcraniano que é a única modalidade de diagnóstico que fornece uma avaliação confiável dos padrões de fluxo sanguíneo cerebral intracraniano em tempo real (BATHALA; MEHNDIRATTA; SHARMA, 2013). Avaliamos a hemodinâmica em repouso, bem como a vasorreatividade cerebral que é um marcador substituto da doença cerebrovascular (CHOW; BOSCARDIN; MILLS, 2016; COLELLA; STILO; COCCHELLA, 2018; METZGER; LE BARS; DEVERDUN, 2018). A vasorreatividade cerebral corresponde a uma medida da função endotelial cerebrovascular e de lesão cerebrovascular de pequenos e grandes vasos. Esse método tem sido amplamente utilizado na avaliação do risco de AVE em grupos sem deficiência de GH (HEGEDUŠ; MILIĆ; ĆOSIĆ, 2017; MENZEL; DOPPENBERG; ZAUNER et al, 1999; NAKAJIMA; MEYER; AMANO, 1983, REINHARDT; SCHWARZER; BRIEL, 2014). O estudo da reatividade cerebral permite adicionalmente avaliar a função e a cognição cerebrais (OZTURK; TAN, 2018).

Desde 1892, em Itabaianinha, registramos 30 óbitos de indivíduos com DIGH nascidos: catorze por causas indeterminadas; quatro por AVE; quatro por causas externas; três por infecção; duas “mortes naturais” com 103 e 94 anos, sem causas específicas e provavelmente relacionadas ao envelhecimento; além de um óbito devido a infarto; um óbito por cirrose hepática; e um óbito por carcinoma epidermoide de pele agressivo (AGUIAR-OLIVEIRA; BARTKE, 2019, MARINHO; MERMEJO; SALVATORI et al, 2018). Tendo o número de

óbitos por doença cerebrovascular uma tendência de elevação em relação à doença cardiovascular, propomos avaliar a vasorreatividade cerebral como um marcador alternativo da doença cerebrovascular na coorte com DIGH de Itabaianinha.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Deficiência Isolada de Hormônio de Crescimento

A DGH pode ocorrer por diversas condições e se apresentar na infância ou na idade adulta, podendo ser congênita ou adquirida. Apresenta-se isoladamente na DIGH ou como múltiplas deficiências hormonais pituitárias (TANRIVERDI; KELESTIMUR, 2017). No banco de dados KIMS (Pfizer International Metabolic Disease), de cerca de 13.000 adultos com DGH, 23% referiram instalação na infância (BRABANT; POLL; JONSSON, 2009). Dentre estas, as causas congênitas incluem mutações genéticas em genes dos fatores de transcrição das linhagens pituitárias (PIT-1, PROP-1, LHX3/4, HESX-1, PITX-2), que causam hipopituitarismo com múltiplas deficiências de hormônios hipofisários; no gene do GH (*GH1*); no gene do receptor GHRH (*GHRHR*); e também defeitos estruturais da região hipotálamo-hipófise, dentre outras (AACE GUIDELINES GHD Clinical Practice Guidelines, 2019).

A DIGH causa deficiência variável do crescimento somático a depender da gravidade. Em alguns indivíduos, ela é idiopática, relativa e transitória, levando à baixa estatura se não tratada. Em outros, é resultado de defeitos hipotalâmicos, pituitários ou funcionais (MARTARI; SALVATORI, 2009). No entanto, anormalidades anatômicas são encontradas em apenas 12% dos pacientes submetidos à ressonância nuclear magnética (CACCIARI; ZUCCHINI; CARLA et al, 1990), enquanto que 5-30% dos pacientes com DIGH tem cunho genético. Esses achados sugerem que fatores genéticos e funcionais devem ser considerados como causas primordiais de DIGH (BATHALA; MEHNDIRATTA; SHARMA, 2013). A sua prevalência varia de 1:3.500 a 1:8.700 (RANKE; REITER; PRICE, 2007).

Há quatro tipos de categorias de DIGH congênita: IA, IB, II e III. Os tipos IA e IB são autossômico recessivos, sendo o primeiro com GH indetectável e o segundo é a forma congênita mais frequente com níveis de GH baixos porém detectáveis. Apesar de a maioria dos casos não ter os defeitos genéticos conhecidos, mutações do gene do *GHRHR* estão presentes em pelo menos 10% desses casos. Já os tipos II e III são bem raros, sendo autossômico dominante e ligado ao X, respectivamente (MARTARI; SALVATORI, 2009).

Com o intuito de compreender melhor os efeitos da DGH no organismo sem fatores confundidores, o estudo de populações com DIGH congênita torna-se de grande valor. Sendo assim, há mais de duas décadas, foi descrita uma coorte na cidade de Itabaianinha no estado de Sergipe, originalmente de 105 indivíduos vivos e mortos com DIGH tipo IB decorrente da mutação c.57+1G>A no gene do *GHRHR*. Esses indivíduos apresentam níveis muito baixos de

GH porém detectáveis e valores ínfimos de IGF-I a indetectáveis (SALVATORI; HAYASHIDA; AGUIAR-OLIVEIRA et al, 1999).

Dentre as principais características desse grupo, como podemos verificar na figura 1, podemos frisar a baixa estatura proporcionada, com estatura média dos homens adultos de 128.7 ± 5.9 cm e das mulheres em torno de 117.6 ± 5.7 cm. Apresentam fácies de boneca e tom de voz agudo (AGUIAR-OLIVEIRA; SOUZA; OLIVEIRA et al, 2017). Esses indivíduos encontram-se bem adaptados ao seu ambiente, com qualidade de vida normal (BARBOSA; SALVATORI; OLIVEIRA, 2009).

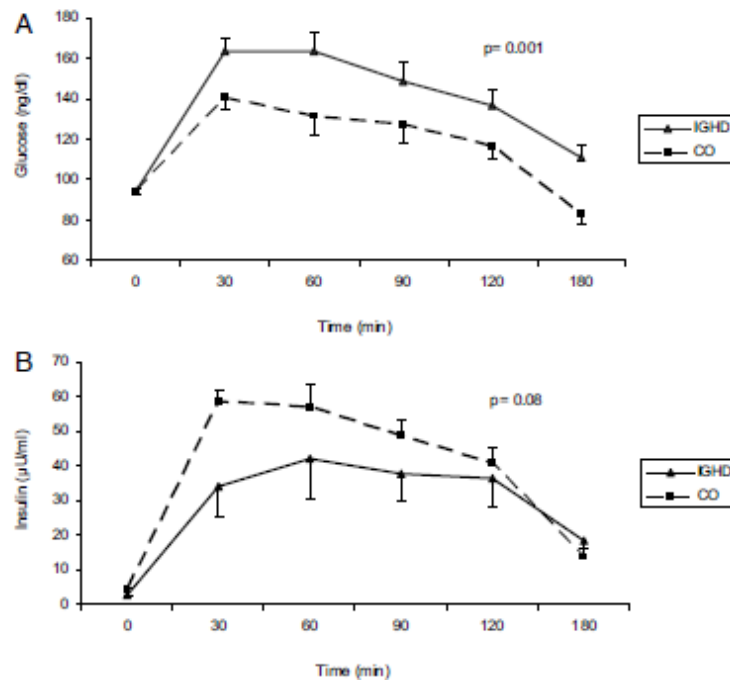
Figura 1. Dois indivíduos do grupo DIGH e mestranda ao centro. Eles apresentam fácies de boneca, baixa estatura proporcionada e obesidade truncal, além de uma voz de timbre agudo.



Fonte: Própria / Foto autorizada pelos participantes

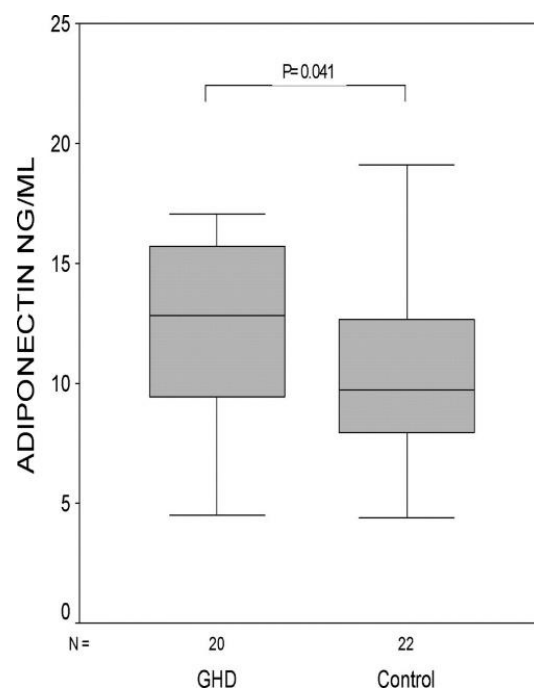
Apresentam também redução de massa muscular e obesidade predominantemente truncal. Apesar da adiposidade visceral, os indivíduos com DIGH desta coorte têm sensibilidade insulínica aumentada (figura 2) (OLIVEIRA; SALVATORI; BARRETO-FILHO et al., 2012) o que está associada ao aumento de adiponectina (figura 3) (OLIVEIRA; SALVATORI; MENEGUZ-MORENO et al, 2010). Esses indivíduos comem proporcionalmente mais, porém de forma mais saudável (OLIVEIRA-SANTOS; SALVATORI; GOMES-SANTOS et al, 2015).

Figura 2. Níveis de glicemia (A) e de insulina (B) durante teste oral de tolerância à glicose comparando grupos DIGH e controle



Fonte: Oliveira et al (2012)

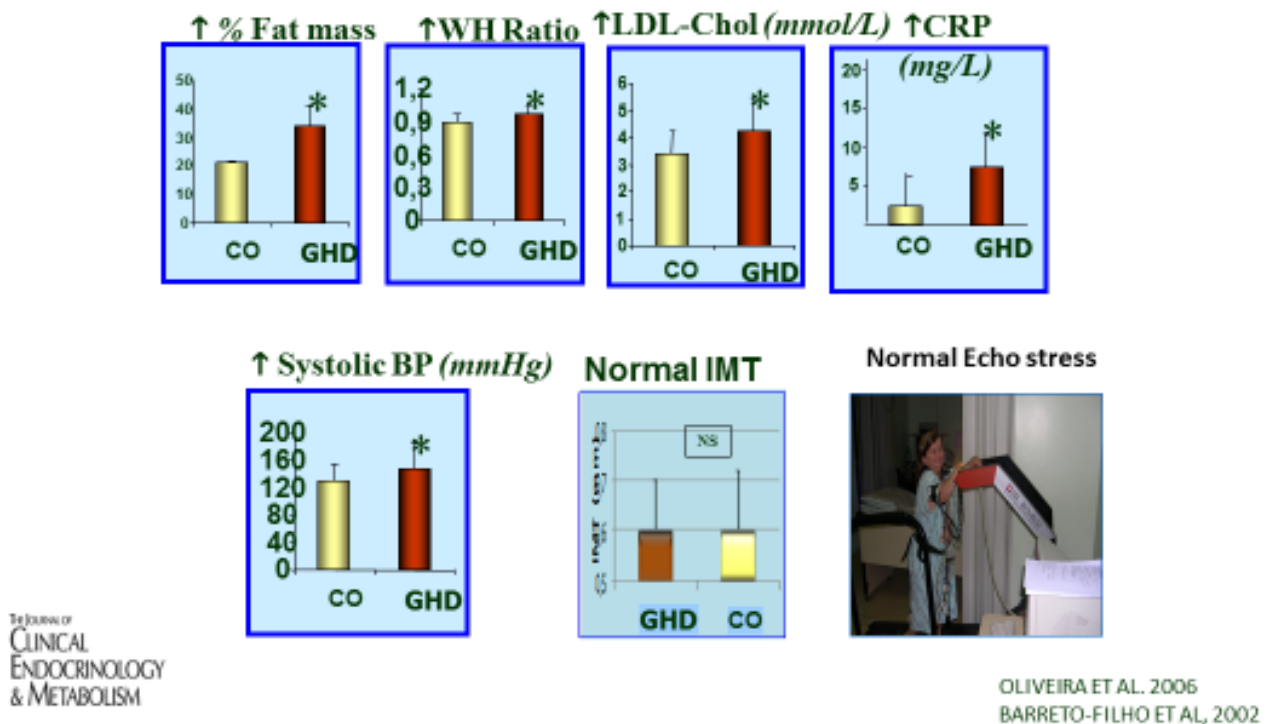
Figura 3. Níveis de adiponectina em indivíduos dos grupos DIGH de Itabaianinha e do grupo controle



Fonte: Oliveira et al (2010)

Nesses indivíduos, há maiores níveis de colesterol total, LDL-colesterol e de proteína C reativa, bem como elevação da pressão arterial sistólica (figura 4), sem evidência de hipertrofia cardíaca (BARRETO-FILHO; ALCANTARA; SALVATORI et al, 2002). Não foi descrito aumento da EMIC (OLIVEIRA; MARQUES-SANTOS; BARRETO-FILHO et al, 2006) ou evidência de aterosclerose, com coronárias (COSTA; OLIVEIRA; SALVATORI et al, 2016) e escore de calcificação de aorta abdominal (SOUZA; FARIAS; SALVATORI et al, 2014) semelhantes aos controles. Por fim, são pessoas bastante longevas (AGUIAR-OLIVEIRA; OLIVEIRA; PEREIRA et al, 2010).

Figura 4. Perfil cardio metabólico dos indivíduos DIGH de Itabaianinha.



Fonte: Adaptado de Barreto-Filho et al (2002) e Oliveira et al (2006).

Recentemente, relatamos quatro casos de tumores cutâneos dentre os indivíduos com DIGH de Itabaianinha, sendo três carcinomas epidermóides, um destes foi agressivo e fatal (MARINHO; MERMEJO; SALVATORI et al, 2018).

2.2 Deficiência de GH e doença cerebrovascular

A DCV é uma das maiores causas de morte e incapacidade no mundo, sendo que há diversos fatores de risco envolvidos, similares no espectro das doenças cardiovasculares, como tabagismo, sedentarismo, dieta inadequada, excesso de peso, colesterol elevado, hipertensão arterial e diabetes. Pela *American Heart Association* (2013), esses fatores de risco contribuem para mortalidade cardiovascular em diferentes proporções: 40,6% devido à pressão arterial elevada, 13,7% devido ao tabagismo, 13,2% pela dieta inadequada, 11,9% pela atividade física insuficiente e 8,8% por níveis de glicemia anormais (BENJAMIN; VIRANI; CALLAWAY et al, 2018). Portanto, esses fatores clássicos não explicam completamente a morbidade e a mortalidade cardiovascular. Outros fatores de risco e eixos hormonais podem contribuir para a ocorrência e gravidade da doença cardiovascular.

O efeito do eixo GH/IGF-I na doença cerebrovascular ainda é bastante controverso. O GH possui efeitos metabólicos no organismo como aumentar a lipólise, diminuir a captação da glicose em tecido adiposo e músculos e, portanto, reduzir a sensibilidade insulínica (OLIVEIRA; MENEGUZ-MORENO; AGUIAR-OLIVEIRA et al, 2011). O GH e o IGF-I possuem um importante papel na função cerebral, devido em parte pela alta expressão de IGF-I na vasculatura cerebral, permitindo sua regulação e reparo. Apesar disso, o GH e o IGF-I atrasam a apoptose de miócitos cardíacos e estimulam a contratilidade miocárdica, promovem a produção de óxido nítrico e a angiogênese (SONNTAG; LYNCH; THORNTON et al, 2000) após evento isquêmico, o que induz a vasodilatação e o reparo da inflamação pós isquemia (COLAO, 2008). Logo, na DGH adquirida, ocorre diminuição da produção de óxido nítrico e aumento da atividade simpática, com disfunção endotelial (EVANS; DAVIES; GOODFELLOW et al, 1999), o que poderia possibilitar um maior risco de evento cerebrovascular. Também a diminuição da expressão de IGF-I leva à apoptose das células do músculo liso e resulta em desestabilização da placa aterogênica. Contraditoriamente, o IGF-I também estimula a proliferação e migração dessas mesmas células, podendo implicar no desenvolvimento da placa aterogênica (DELAFOUNTAIN; SONG; LI et al, 2004). Percebe-se, portanto, a complexidade do envolvimento do eixo GH/IGF1 na doença cerebrovascular.

Dois artigos suecos históricos estabeleceram uma associação entre DGH e aumento da mortalidade vascular. O trabalho de Rosen analisou retrospectivamente 333 pacientes com hipopituitarismo e constatou que a expectativa de vida foi reduzida, sugerindo que a DGH poderia ser um fator no aumento da mortalidade por doenças vasculares (ROSEN; BENGTSSON et al, 1999). Bulow estudou 344 pacientes que estavam recebendo reposição

hormonal convencional para hipopituitarismo. A DCV foi o principal contribuinte para o aumento da mortalidade cardiovascular geral, enquanto o aumento da mortalidade por doenças cardíacas foi muito menor (BULOW; HAGMAR; MIKOCZY et al, 1997). É possível que terapias de reposição (tireoide, glicocorticoide e esteróides gonadais), combinadas com as consequências da neurocirurgia e radioterapia, possam ter contribuído para os achados desses dois importantes documentos.

Sendo assim, um estudo mais recente analisou 1286 pacientes suecos com hipopituitarismo monitorados prospectivamente no KIMS (*Pfizer International Metabolic Database*), com mortes de 1995 a 2009, e os comparou com os dados da população geral no Registro Nacional Sueco de Causa da Morte. Um excesso de mortalidade foi encontrado, mas ocorreu principalmente devido a crises adrenais e doenças intercorrentes e ao aparecimento de tumores cerebrais malignos *de novo* em pacientes que receberam radioterapia anteriormente. A mortalidade cardiovascular e cerebrovascular não excedeu significativamente a da população de referência (BURMANN; MATTSSONM; JOHANNSSONM et al, 2013). Em um banco de dados de autópsia de pacientes japoneses com hipopituitarismo não tratados com terapia de reposição de GH, houve um aumento de duas vezes na mortalidade cerebrovascular e um aumento de 4-5 vezes na hemorragia intracerebral (KAJI; CHINARA, 2004), possivelmente causada por radioterapia craniana (BITZER; TOPKA; 1995; BOWEN; PAULSEN, 1992; MURROS; TOOLE, 1989). Sendo assim, a correlação entre DGH e DCV não está bem definida devido a diversos fatores confundidores e informações conflitantes.

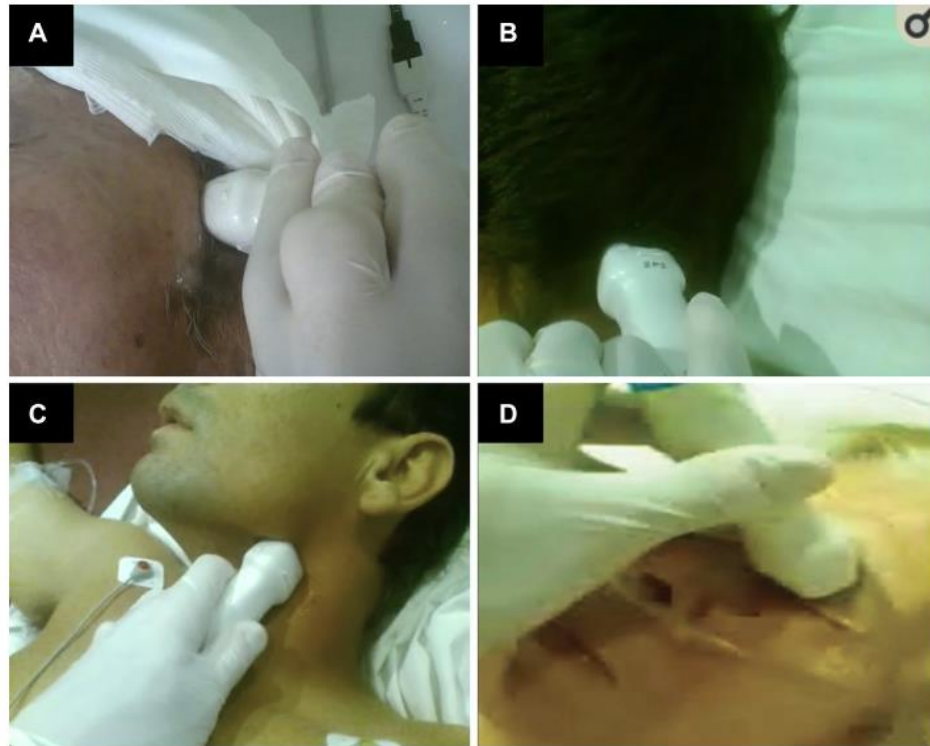
A secreção do GH declina cerca de 20% a cada década da idade adulta e já foi aventada a relação entre níveis de IGF-I circulantes mais baixos e declínio das funções cognitivas (CREYGHTON; VAN DAM; KOPPESCHAAR, 2004) Há alguns trabalhos demonstrando associação entre IGF-I e função cognitiva, incluindo velocidade de pensamento, memória, habilidade de resolver problemas. O fornecimento de GH, quando adequadamente indicado, promoveu melhora das funções cognitivas (KALMIJN; JANSSEN; POLS et al, 2000; OKEREKE; KANG; MA et al, 2006, 2007). No entanto, em modelo com DIGH congênita e severa, todas essas aparentes constatações precisam ser reavaliadas se realmente se repetem neste modelo.

2.3 Doppler transcraniano

O Doppler transcraniano (DTC) é a única modalidade de diagnóstico que fornece uma avaliação confiável dos padrões de fluxo sanguíneo intracraniano em tempo real. É um método de baixo custo, não invasivo, que pode ser realizado à beira do leito, possibilitando monitoramento em situações de emergência. Ele contribui com informações importantes na fisiopatologia da isquemia cerebrovascular e na estratificação de risco e pode ser útil como triagem, diagnóstico e acompanhamento. O DTC permite avaliar a perviedade da artéria cerebral, diagnosticar estenoses e embolia, identificar o fluxo colateral, além de ser um instrumento para monitorizar recanalização arterial durante trombólise (BATHALA; MEHNDIRATTA; SHARMA, 2013). Em eventos isquêmicos agudos, o DTC e a ultrassonografia cervical com doppler permitem avaliar as consequências hemodinâmicas cerebrais de estenose de carótidas e ajudam a identificar lesões passíveis de intervenção (CHERNYSHEV; GARAMI; CALLEJA, 2005). Em pacientes com anemia falciforme, o DTC já está bem estabelecido como ferramenta de prevenção ao AVE (POLAK; O'LEARY, 2016). Em estudo comparativo com ressonância magnética com contraste, houve concordância com dados do Doppler transcraniano em diagnosticar e graduar a estenose intracraniana proximal de pacientes com isquemia cerebral aguda (BODDU; SHARMA; BANDARU et al, 2011), demonstrando ser o doppler um método válido.

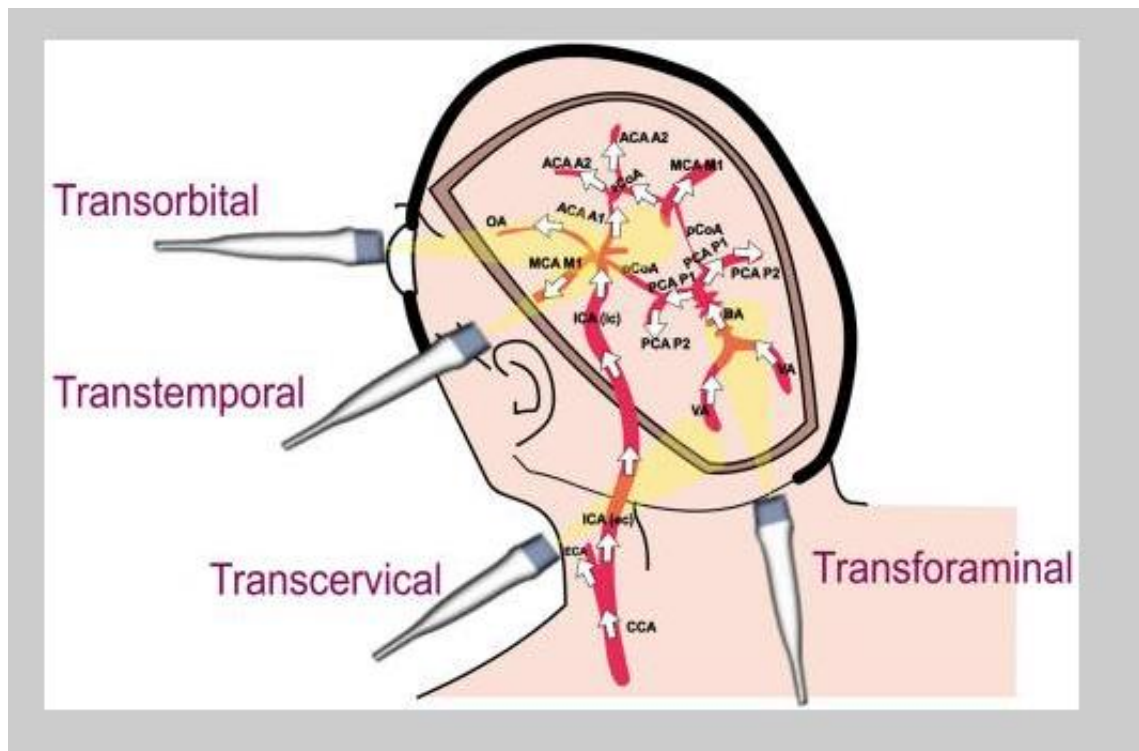
Para acessar a circulação cerebral, utiliza-se uma janela de insonação que pode ser transtemporal, transforaminal, transorbital e transcervical (figuras 5 e 6). A janela transtemporal permite reconhecer a circulação cerebral anterior (artéria carótida interna intracraniana, sifão carotídeo, artéria cerebral média e artéria cerebral anterior) enquanto a transforaminal é usada para explorar a circulação cerebral posterior (artéria vertebral intracraniana bilateral e a artéria basilar). A janela transorbital permite a inspeção do sifão carotídeo bem como da artéria oftálmica. Finalmente, a janela transcervical permite visualização da artéria carótida interna extracranial. Das janelas de insonação mencionadas acima, a transtemporal é a mais importante na prática (BLANCO; ABDO-CRUZ, 2018).

Figura 5. Janelas de insonação. A. Transtemporal. B. Transforaminal. C. Transcervical. D. Transorbital.



Fonte: BLANCO; ABDO-CRUZ, 2018

Figura 6. Visão esquemática da circulação cerebral, com direção normal do fluxo sanguíneo e janelas de Doppler transcraniano.



Fonte: BLANCO; ABDO-CRUZ, 2018

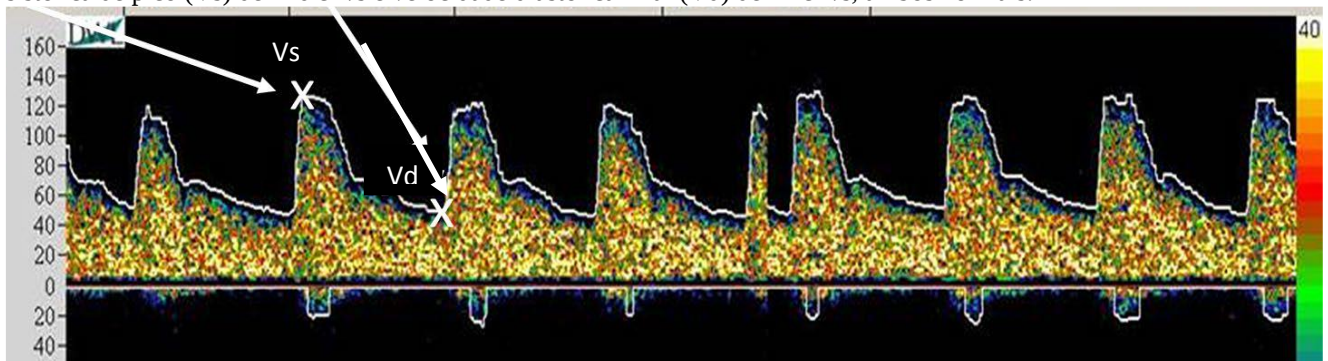
As diferentes artérias a serem insonadas têm fluxos que se aproximam ou se afastam do transdutor. Isso é demonstrado nas ondas de pulso do Doppler como espectrogramas nos canais positivo e negativo, respectivamente. Ao usar Doppler colorido, os fluxos que se movem em direção ao transdutor são codificados em vermelho, enquanto os fluxos que se afastam são codificados em azul (BLANCO; ABDO-CRUZ, 2018).

O fluxo sanguíneo cerebral é igual ao produto da velocidade média de fluxo (VMF) e a área transversal. Se a área é constante ou normal, o fluxo cerebral é praticamente dependente das variações da VMF. Há fatores que influenciam a VMF como idade, pressão de perfusão cerebral, hematócrito, temperatura corporal, dor, inflamação, entre outros. No entanto, se a área é reduzida, como na estenose aterosclerótica ou em vasoespasmo cerebral, um aumento na VMF é necessário para manter o fluxo sanguíneo cerebral, apesar de nesses casos a VMF não ser um substituto do fluxo sanguíneo. Nesses casos, é bem possível um comprometimento do fluxo sanguíneo cerebral (BLANCO; ABDO-CRUZ, 2018).

Os parâmetros básicos do Doppler transcraniano são:

- 1) Velocidade sistólica de pico (cm/s) (V_s): é o primeiro pico na forma de onda do ultrassom de cada ciclo cardíaco. Uma rápida ascensão representa a ausência de uma lesãoestenótica grave entre o segmento arterial intracraniano avaliado e o coração (figura 7);
- 2) Velocidade diastólica final (cm/s) (V_d): situa-se entre 20 e 50% dos valores da velocidade sistólica de pico, indicando um padrão de fluxo arterial intracraniano de baixa resistência (figura 7);

Figura 7. Registro das ondas do Doppler de exame normal na artéria cerebral média. A figura indica velocidade sistólica de pico (V_s) de 126 cm/s e velocidade diastólica final (V_d) de 47 cm/s, ambos normais.



Fonte: BLANCO; ABDO-CRUZ, 2018

3) a velocidade média de fluxo (cm/s) (VMF): é calculada como velocidade diastólica final mais um terço da diferença entre velocidade sistólica de pico e velocidade diastólica final;

4) o índice de pulsatilidade (IP): é uma medida da resistência do fluxo calculada subtraindo a velocidade diastólica final da velocidade sistólica de pico e dividindo o valor pela velocidade média do fluxo. O índice de pulsatilidade independe do ângulo de insonação, não possui unidade e um valor superior a 1.2 representa fluxo sanguíneo de alta resistência;

5) o índice de resistência (IR): representa a resistência do fluxo distal ao local da insonação, calculada subtraindo a velocidade diastólica final da velocidade sistólica de pico e dividindo o valor pela velocidade sistólica de pico. Qualquer valor abaixo de 0,75 é normal (BATHALA; MEHNDIRATTA; SHARMA, 2013).

As velocidades são dependentes do ângulo de insonação, mas os índices não. As fórmulas estão demonstradas abaixo.

$VMF = Vd + \frac{1}{3}(Vs - Vd)$	$IP = \frac{Vs - Vd}{VMF}$	$IR = \frac{Vs - Vd}{Vs}$
-----------------------------------	----------------------------	---------------------------

A vasorreatividade cerebral descreve a habilidade da circulação cerebral de responder a estímulo vasomotor, gerando este, mudanças do fluxo sanguíneo cerebral que podem ser estudadas pelo Doppler transcraniano. O agente vasomotor mais comum é o gás carbônico (CO₂). Altos níveis de CO₂ geram vasodilatação e aumentam o fluxo sanguíneo cerebral (SHARMA; TSIVGOULIS; LAO et al, 2007). Para tal, pode-se utilizar o fornecimento controlado de CO₂ ou solicitar ao paciente que prenda a respiração. Neste último, pede-se ao indivíduo que respire normalmente e, após um ciclo habitual, pede-se para interromper a respiração o máximo tolerável, havendo com isso um aumento da velocidade média de fluxo. Após este estímulo, é possível calcular o índice de apneia, que é obtido pela diferença entre a velocidade média do fluxo ao final do período prendendo a respiração e a velocidade média do fluxo em repouso, dividida pela velocidade média do fluxo em repouso e multiplicada por 100 dividido por segundos de retenção da respiração, conforme quadro abaixo (MARKUS; HARRISON, 1992). Os indivíduos normais habitualmente apresentam um índice de apneia de 1.2, com desvio padrão de 0.6 (COLELLA; STILO; COCCHELLA et al, 2018, MARKUS; HARRISON, 1992, TOTARO; MARINI; BALDASSARRE, 1999). Valores mais baixos indicam menor vasorreatividade cerebral.

$$\text{Índice de Apneia} = \frac{VMF_{\text{final}} - VMF_{\text{inicial}}}{VMF_{\text{inicial}}} \times \frac{100}{\text{segundos de apneia}}$$

O índice de apneia permite avaliar o prejuízo na vasorreatividade cerebral, identificando pacientes de alto risco de AVE que têm estenose carotídea assintomática ou oclusão prévia carotídea sintomática (SILVERSTRINI; VERNIERI; PASQUALETTI et al, 2000). Uma reatividade vasomotora reduzida sugere falha do fluxo colateral em se adaptar à progressão da estenose.

Um dos fatores limitantes do Doppler transcraniano é a janela acústica transtemporal insuficiente, que pode ser um fator limitante em número significativo de casos, dependendo da população estudada e permanece portanto um exame operador dependente, precisando da expertise do profissional (WONG; LI; CHAN et al., 2000). Trabalho asiático excluiu 14,6% dos pacientes por ausência de janela transtemporal (BODDU; SHARMA; BANDARU, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a vasorreatividade cerebral em indivíduos com deficiência isolada do GH.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar fatores de risco para DCV entre os grupos DIGH e controle
- Comparar o perfil bioquímico dos grupos DIGH e controles
- Comparar a espessura média-intimal carotídea dos grupos DIGH e controle
- Comparar a hemodinâmica cerebral basal (VMF, IP e IR) nos dois grupos
- Avaliar o índice de apneia após manobra indutora de hipercapnia nos dois grupos
- Verificar correlação entre fatores de risco (idade, glicemia, glicemia 2h, hemoglobina glicada, colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicerídeos, proteína C reativa) e parâmetros vasculares (EMIC, VMF, IP, IR e IA)

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo transversal realizado com indivíduos com DIGH com a mutação c.57 + 1G> A no gene do receptor do hormônio liberador de GH (GHRH) (*GHRHROMIM* n.618157) e controles com homozigose para o alelo *GHRHR* de tipo selvagem pareados por sexo e idade.

4.2 Delineamento do estudo

A coleta de dados foi realizada durante três dias, cada dia com participantes diferentes, seguindo em todos os dias o mesmo fluxograma. Seguem abaixo os passos realizados durante o estudo:

- Entrevista com pacientes e controles;
- Exame físico incluindo aquisição de peso, altura, com posterior cálculo de índice de massa corpórea, além da aferição de pressão arterial;
- Coleta de exames laboratoriais séricos em jejum e do teste oral de tolerância à glicose, exceto dos sabidamente portadores de diabetes;
- Medida da espessura média-intimal carotídea;
- Doppler transcraniano com avaliação de parâmetros basais bem como da vasorreatividade cerebral ao teste de apneia.

4.3 Local

Toda a coleta de dados foi realizada no Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe, em Aracaju, a capital do estado de Sergipe.

4.4 Participantes

A pesquisa foi realizada com 25 indivíduos com DIGH e 25 controles pareados por sexo e idade (figuras 8A, 8B e 8C). Eles foram recrutados por publicidade colocada no prédio local da Associação dos Anões e por propaganda boca a boca entre os habitantes de Itabaianinha. Foi optado por parear os grupos o máximo possível no tocante ao gênero, idade e fatores de risco

para doença cerebrovascular (diabetes, hipertensão arterial, tabagismo, infarto e acidente vascular encefálico prévios). Selecionamos 25 indivíduos com DIGH que preencheram nossos critérios de inclusão e se voluntariaram e, em nosso banco de dados de indivíduos normais homozigotos genotipados, convidamos um controle com a mesma idade e sexo para cada indivíduo com DIGH. O Comitê de Ética Institucional da Universidade Federal de Sergipe aprovou o estudo e todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (apêndice B).

Figuras 8A, 8B e 8C. Participantes da pesquisa incluindo indivíduos dos grupos DIGH e controle, além da equipe envolvida, no primeiro (A), segundo (B) e terceiro (C) dias de pesquisa.





Fonte: Própria / Fotos autorizadas por participantes

4.5 Critérios de Inclusão

Os critérios de inclusão para DIGH foram idade maior ou igual a 30 anos e homozigose para a mutação $c.57 + 1A \rightarrow G$ *GHRHR*, enquanto homozigose para o alelo *GHRHR* de tipo selvagem foi necessária para o grupo controle.

4.6 Critério de Exclusão

O critério de exclusão foi terapia anterior de reposição de GH.

4.7 Métodos

4.7.1 Entrevista, exame físico e exames laboratoriais

Os sujeitos foram submetidos a uma entrevista detalhada, incluindo fatores de risco para doenças cardiovasculares, hipertensão arterial, tabagismo, dislipidemia, diabetes *mellitus*, comorbidades e seus tratamentos, conforme formulário (apêndice C). Foi realizado exame físico, com medida do peso corporal (kg) através de balança portátil (modelo MS2510, balança de plataforma Charder, Taiwan), estatura (m) com estadiômetro de parede (estadiômetro digital modelo HM210D, produtos médicos de medidas Charder) e posterior cálculo do índice de massa corporal calculada pela fórmula $\text{peso (kg)} / \text{altura}^2 \text{ (m}^2\text{)}$. A pressão arterial (mmHg) foi medida e obtida pela média de três medidas realizadas no braço esquerdo após 10 minutos de repouso na posição sentada por única médica (CGM), usando um esfigmomanômetro de mercúrio com manguito adequado ao tamanho do braço. O escore de risco de Framingham foi calculado, conforme publicado (D'AGOSTINO; GRUNDY; SULLIVAN et al., 2001). Foram realizados exames de sangue após jejum noturno de 8 horas, a saber: glicemia (mg/dl), hemoglobina A1C (%) através de metodologia HPLC, colesterol total (mg/dl), HDL-colesterol (mg/dl), triglicerídeos (mg/dl), creatinina (mg/dl) e proteína C reativa (PCR) (mg/l), por técnicas padrão. Vale frisar que a PCR foi mensurada por imunoturbidometria (Labtest Diagnostica S.A., Lagoa Santa, MG, CEP 33400-000, Brasil). A concentração de LDL-C foi calculada indiretamente (fórmula de Friedwald). Posteriormente, foi realizado um teste oral de tolerância à glicose, exceto para pacientes com diabetes conhecido. Utilizamos 1,75 g / kg de glicose para os indivíduos com DIGH e realizadas glicemias nos tempos 0' e 120', como feito anteriormente (OLIVEIRA; MARQUES-SANTOS; BARRETO-FILHO et al, 2006).

4.7.2 Espessura médio-intimal carotídea

O mesmo operador (MAPN) mediu a espessura médio-intimal carotídea (figura 9), utilizando o aparelho Philips Affiniti 70, equipado com um transdutor de 4 a 9 MHz. Os indivíduos foram examinados em decúbito dorsal com o pescoço em leve hiperextensão. Foram realizadas varreduras ultrassonográficas longitudinais da artéria carótida na parede distal a 1,0 cm distalmente em ambas as artérias carótidas comuns, imediatamente proximal à origem da bifurcação. Em cada exame, foram utilizados diferentes ângulos de varredura (anterior e posterior) para identificar a maior espessura íntima-média, definida como a distância entre a junção do lúmen e da íntima e da média e da adventícia. Três medidas foram obtidas nas artérias carótidas direita e esquerda e a média foi calculada. Foi registrado o número de indivíduos com placas ateroscleróticas que causavam uma redução no lúmen da artéria superior a 50%.

Figura 9. Indivíduos com DIGH participantes da pesquisa e médico responsável (MAPN) pela medida da EMIC.



Fonte: Própria / Foto autorizada por participantes

4.7.3 Doppler Transcraniano

O mesmo operador (HAM) avaliou a hemodinâmica intracraniana com ultrassom com Doppler transcraniano (caixa Doppler DWL com sonda de 2 MHz (DWL, Alemanha) (figuras

10A e 10B). Esta é a única modalidade de imagem capaz de medir em tempo real a velocidade do fluxo sanguíneo e sinais microembólicos na circulação cerebral. Ele gera dados reprodutíveis sobre as velocidades das artérias cerebrais (KACZYNSKI; HOME; SHIELDS, 2018). A forma de onda espectral normal mostra um acentuado aumento sistólico e desaceleração gradual com fluxo diastólico final positivo. No nosso estudo, foi utilizada a janela transtemporal que permite avaliação da circulação cerebral anterior.

Figuras 10A e 10B. Realização do Doppler transcraniano em indivíduos DIGH pelo médico HAM. Na foto 10A estão presentes ao fundo os pesquisadores responsáveis.



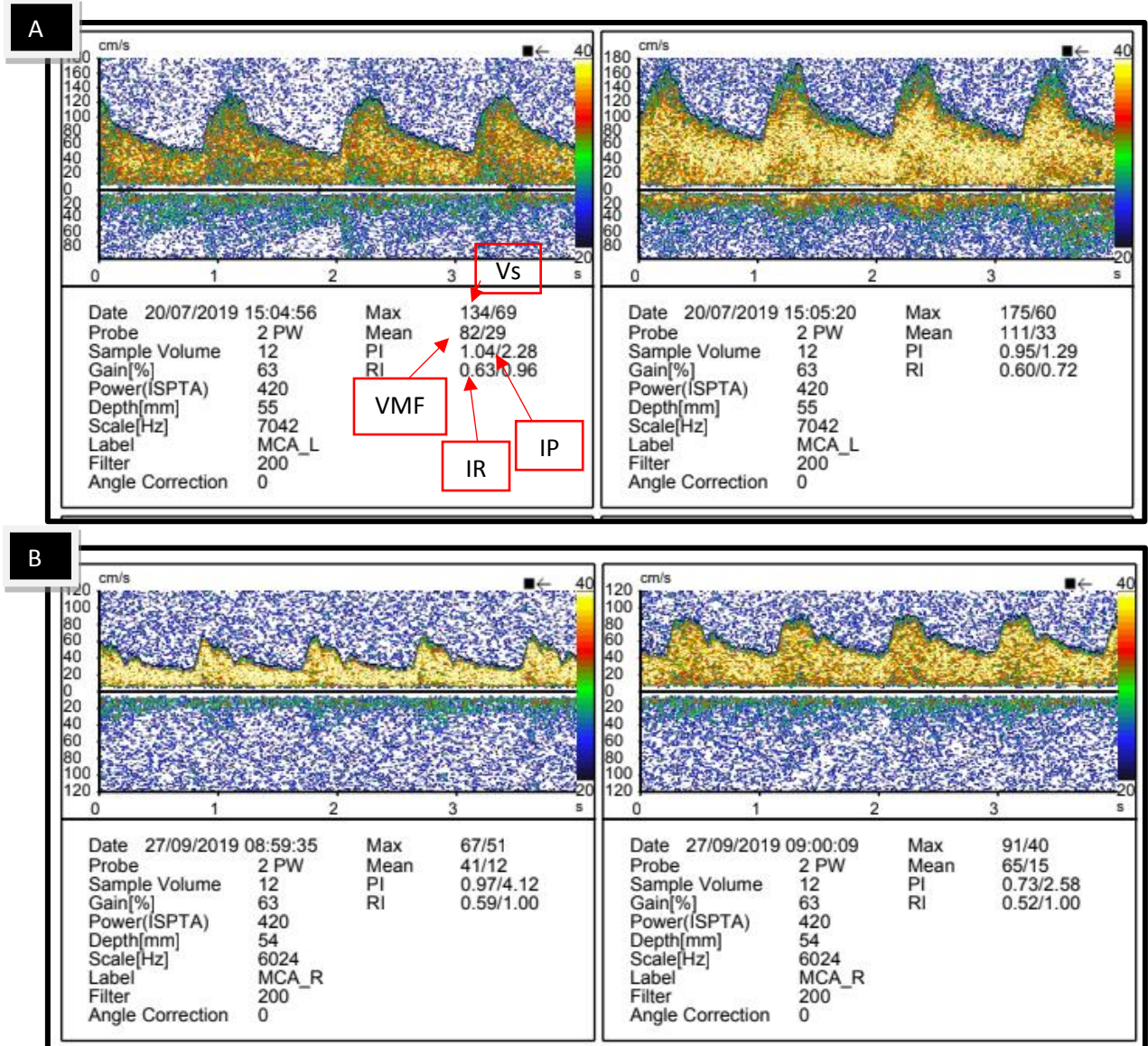
Fonte: Própria / Foto autorizada por participantes

As principais variáveis dos espectros de DTC são: a velocidade sistólica de pico (cm/s); 2) a velocidade diastólica final (cm/s); 3) a velocidade média de fluxo (cm/s); 4) o índice de pulsatilidade; 5) o índice de resistência (BATHALA; MEHNDIRATTA; SHARMA, 2013).

Em seguida, realizamos um teste de estímulo vasodilatador, usando a manobra de apneia. Durante a manobra, a artéria cerebral média foi registrada continuamente e a VMF calculada. Essa manobra induz hipercapnia e, conseqüentemente, uma resposta vasodilatadora e um aumento na VMF. Os indivíduos foram instruídos a interromper a respiração pelo máximo de segundos toleráveis, após uma inspiração normal. O aumento da VMF imediatamente após o final do período de apneia foi registrado como o aumento máximo da velocidade média do sangue da artéria cerebral média. O tempo de apneia também foi registrado. O índice de apneia depende da velocidade média de fluxo em repouso e após apneia, bem como do tempo em apneia (MARKUS; HARRISON, 1992). Os indivíduos habitualmente apresentam um índice de

apneia de 1.2, com desvio padrão de 0.6 (COLELLA; STILO; COCCHELLA et al, 2018, MARKUS; HARRISON, 1992, TOTARO; MARINI; BALDASSARRE, 1999). Valores mais baixos indicam menor vasorreatividade cerebral. Seguem em figuras 11A e 11B os exames de doppler transcraniano de um dos indivíduos DIGH e de um controle, respectivamente.

Figuras 11A e 11B. Exame de Doppler transcraniano em indivíduo DIGH (11A) e de indivíduo do grupo controle (11B). Nas figuras da esquerda constam os parâmetros basais (identificados por setas vermelhas, com as devidas siglas) e à direita constam os parâmetros após estímulo vasodilatador provocado pela hipercapnia.



Fonte: Própria

Vale frisar que não foi possível avaliar os parâmetros do DTC de três participantes do grupo controle, por ter tido janela acústica transtemporal insuficiente, conforme já visto na

literatura (WONG; LI; CHAN et al., 2000). Foi optado por mantê-los na pesquisa e avaliar demais parâmetros, com intuito de manter a genuinidade do estudo.

4.7.4 Análise Estatística

Os testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk foram utilizados para testar variáveis com distribuição normal. As variáveis com distribuição normal foram expressas como média (desvio padrão) e comparadas pelo teste *t* de Student. As variáveis com distribuição não normal (triglicerídeos, glicose de 2 horas) foram expressas em mediana (intervalo interquartil) e comparadas pelo teste de Mann-Whitney. Para as variáveis contínuas, o intervalo de confiança 95% foi também mostrado (DEKKERS, 2019). O IC95% que não contém zero implica uma diferença significativa entre os grupos. As variáveis categóricas foram analisadas pelo teste do qui quadrado. As correlações entre variáveis vasculares (EMIC, IP, IR e IA) e clínicas (idade, glicemia, glicemia cm 2 horas, HbA1c, colesterol total, triglicerídeos, HDL-colesterol, proteína C reativa) foram avaliadas pelo coeficiente de Pearson nos cinquenta indivíduos.

O MANCOVA – usando as variáveis do Doppler transcraniano (velocidade sistólica de pico, velocidade média de fluxo, índices de pulsatilidade, de resistência e de apneia) como variáveis dependentes, com dois fatores (gênero e grupo) como variáveis independentes, e idade como covariável – foi realizada para examinar os efeitos principais e de interação dos fatores e da covariável nas múltiplas variáveis dependentes definidas. Isso é realizado estimando o tamanho do efeito pelo eta-quadrado parcial. O eta-quadrado parcial indica o efeito máximo quando é 1.0. Nenhum efeito é indicado quando o eta-quadrado parcial é 0.0. Foi utilizado o software estatístico SPSS / PC 8.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

4.7.5 Aspectos Éticos

O presente estudo foi aprovado em 2019 pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Sergipe sob o número 3.423.043 (CAAE 4383319.5.0000.5546). Também faz parte de um grande projeto de pesquisa de duas décadas intitulado “*Consequências da deficiência isolada e vitalícia do GH*”. Os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B).

5 RESULTADOS

Dentre os 25 indivíduos DIGH que se voluntariaram e preencheram nossos critérios, havia quatro portadores de diabetes. Também incluímos quatro portadores de diabetes no grupo controle. Um sujeito do grupo controle foi diagnosticado com diabetes pelo TTGO, elevando para cinco portadores nesse grupo. Portanto, os grupos incluíram 25 DIGH [12 mulheres, idade média de 46 anos, faixa etária de 32 a 82 anos, quatro diabéticos, com estatura média de 1.26 (0.2) m e peso de 40.5 (7.5) kg]; e 25 controles [12 mulheres, com idade média de 46 anos, faixa etária de 32 a 82 anos, cinco diabéticos, com altura média de 1.60 (0.1) m e peso de 73.9 (24.7) kg].

No grupo DIGH, um indivíduo utilizou estatina isoladamente e seis em combinação com drogas anti-hipertensivas ou hipoglicemiantes, três usaram apenas drogas anti-hipertensivas e um apenas agente hipoglicemiante. Um indivíduo nesse grupo sabidamente tinha doença aterosclerótica coronária crônica. No grupo controle, quatro usavam anti-hipertensivos, um hipoglicemiante e dois a combinação desses dois medicamentos. As drogas citadas uma ou mais de uma vez no grupo DIGH foram glibenclamida, metformina, alogliptina, sinvastatina, losartana, hidroclorotiazida, atenolol, bisoprolol e enalapril e no grupo controle foram metformina, glibenclamida, gliclazida, linagliptina, losartana, hidroclorotiazida, enalapril, olmesartana, atenolol, benazepril e anlodipino,

Comparando os dois grupos, não houve diferença no sexo, fumantes (três no DIGH e um no controle), número de diabéticos (quatro no DIGH, cinco no controle), número de indivíduos com glicemia de jejum alterada (nenhum no DIGH e dois nos controles), com tolerância à glicose diminuída (sete no DIGH e oito nos controles) e diagnóstico prévio de hipertensão arterial (oito no DIGH e sete nos controles), infarto do miocárdio (dois no DIGH e nenhum nos controles), acidente vascular encefálico (nenhum em ambos os grupos) e em indivíduos com placas com estenose acima de 50% (um DIGH e nenhum controle). O indivíduo com DIGH com placa aterosclerótica significativa foi o mesmo com doença coronariana crônica. Também não houve diferença no número de indivíduos sendo tratados clinicamente para fatores de risco cardiovascular (onze no DIGH e sete nos controles).

A tabela 1 mostra a comparação das variáveis entre 25 DIGH e 25 controles. Os dados são expressos como média (desvio padrão), exceto para triglicerídeos e glicose de 2 horas, expressa em mediana (intervalo interquartil). O IC 95% também é mostrado. A pressão arterial e a creatinina foram menores, enquanto a proteína C reativa foi maior no grupo DIGH. O escore

de risco de Framingham e todas as medidas vasculares (espessura da íntima-média, velocidade sistólica de pico, velocidade média do fluxo, índices de pulsatilidade, de resistência e de apneia) foram semelhantes entre o DIGH e os controles (gráficos 1 a 5), mesmo quando excluímos os indivíduos tratados por morbidade cardiovascular. Todos os parâmetros do Doppler transcraniano estão dentro da faixa de normalidade em ambos os grupos.

Tabela 1. Comparação das variáveis contínuas entre 25 DIGH e 25 controles. Dados são expressos em média (desvio padrão), exceto para triglicerídeos e glicemia de 2 horas expressos em mediana (distância interquartílica).

Parâmetros	DIGH	Controles	IC 95%	P
PAs (mmHg)	117 (21)	128 (13.8)	-21.82 a -1.19	0.030
PAd (mmHg)	73 (10.9)	83 (9.7)	-15.2 a -3.45	0.002
Glicemia de Jejum (mg/dl)	89.6 (24)	99.4 (49.7)	-32.01 a 12.41	0.273
Glicemia de duas horas (mg/dl)	130(41)	135 (44)	-38.76 a 8.36	0.358
Hemoglobina A1C (%)	5.9 (0.9)	5.8 (1.4)	-0.576 a 0.745	0.158
Colesterol total (mg/dl)	214.3 (36)	211.7 (47)	-21.16 a 26.36	0.827
LDL-colesterol (mg/dl)	143.4 (33)	141.9 (39)	-18.86 a 21.92	0.881
HDL-colesterol (mg/dl)	43.7 (7.0)	44.0 (9.9)	-5.13 a 4.65	0.922
Triglicerídeos (mg/dl)	105. (81)	104.5(117)	-42.6 a 43.4	0.634
Creatinina (mg/dl)	0.7 (0.2)	0.8 (0.2)	-0.22 a -0.04	0.015
Proteína C reativa (mg/l)	6.7 (6.1)	2.8 (1.4)	1.13 a 6.55	0.007
Escore de Framingham	17.3(17.6)	16.4(14.8)	-8.19 a 10.29	0.820
EMIC (mm)	1.08 (0.26)	1.11 (0.24)	-0.177 a 0.111	0.703
Velocidade sistólica de pico (cm/s)	108.7 (23)	98.1 (17)	-1.47 a 22.60	0.084
Velocidade média de fluxo (cm/s)	65.98 (15.3)	61.0 (14.9)	-3.99 a 13.86	0.271
Índice de Pulsatilidade	1.09 (0.25)	1.02 (0.25)	-0.08 a 0.218	0.335
Índice de Resistência	0.65 (0.72)	0.63 (0.11)	-0.037 a 0.07	0.518
Índice de Apneia	0.96 (0.48)	1.13 (0.49)	-0.426 a 0.145	0.326

PAs: pressão arterial sistólica. PAd: pressão arterial diastólica. EMIC: espessura médio-intimal carotídea.

Gráfico 1. Velocidade sistólica de pico, parâmetro do Doppler transcraniano, entre os grupos DIGH e controle.

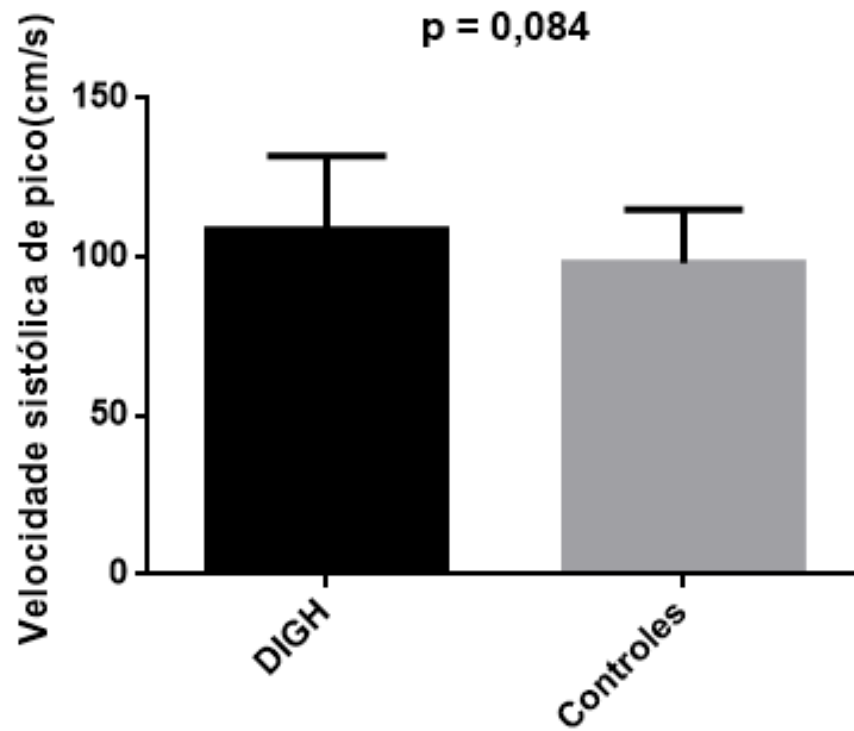


Gráfico 2. Velocidade média de fluxo, parâmetro do Doppler transcraniano, entre os grupos DIGH e controle.

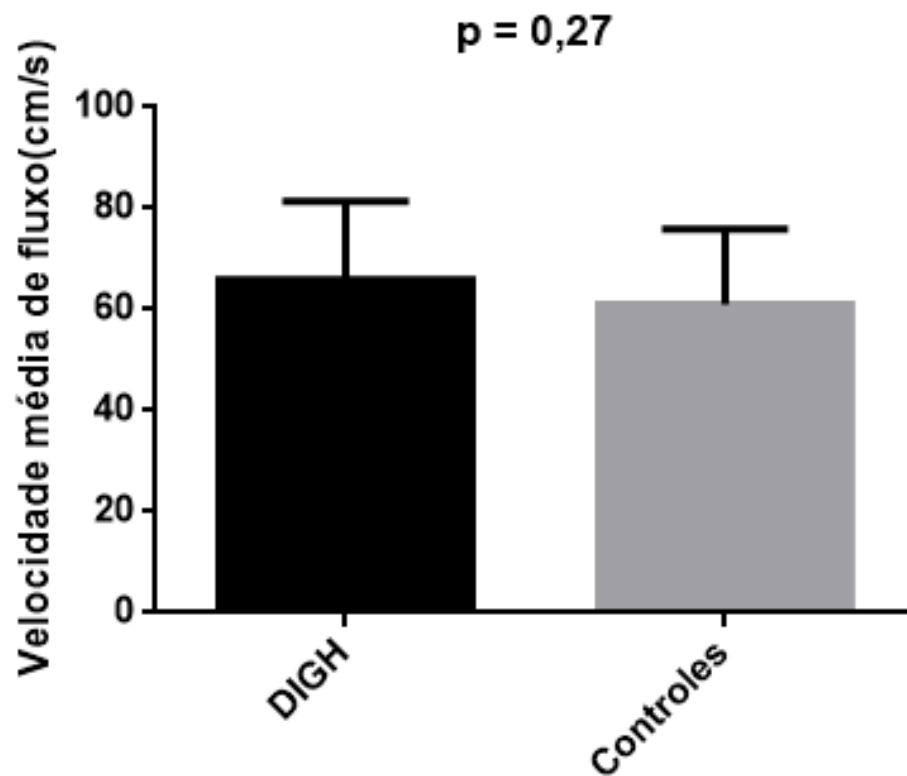


Gráfico 3. Índice de pulsatilidade, parâmetro do Doppler transcraniano, entre os grupos DIGH e controle.

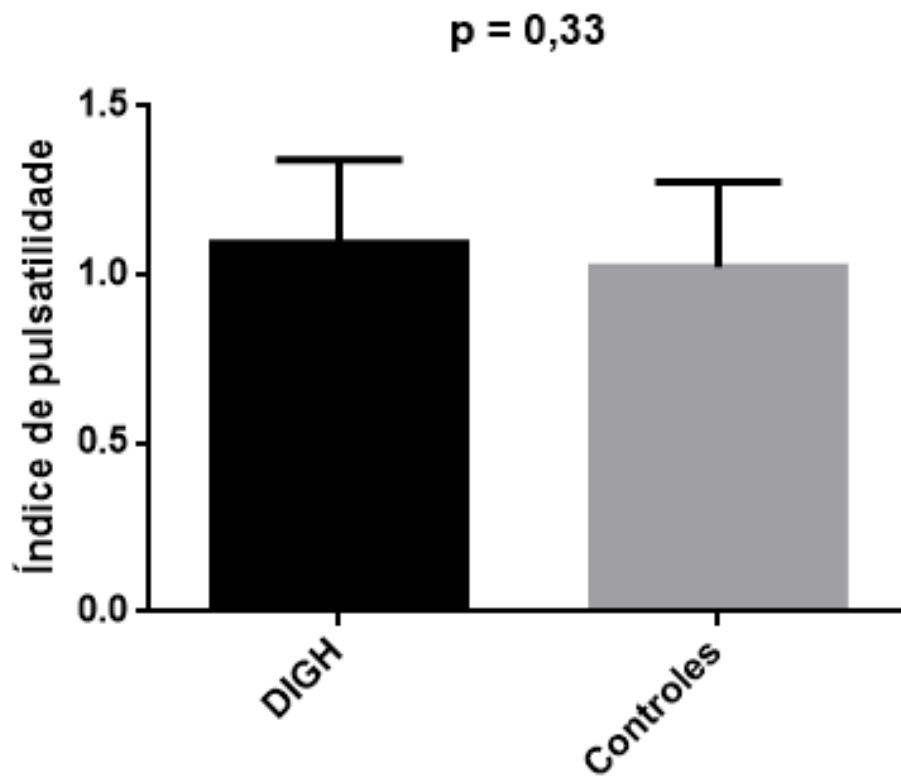


Gráfico 4. Índice de resistência, parâmetro do Doppler transcraniano, entre os grupos DIGH e controle.

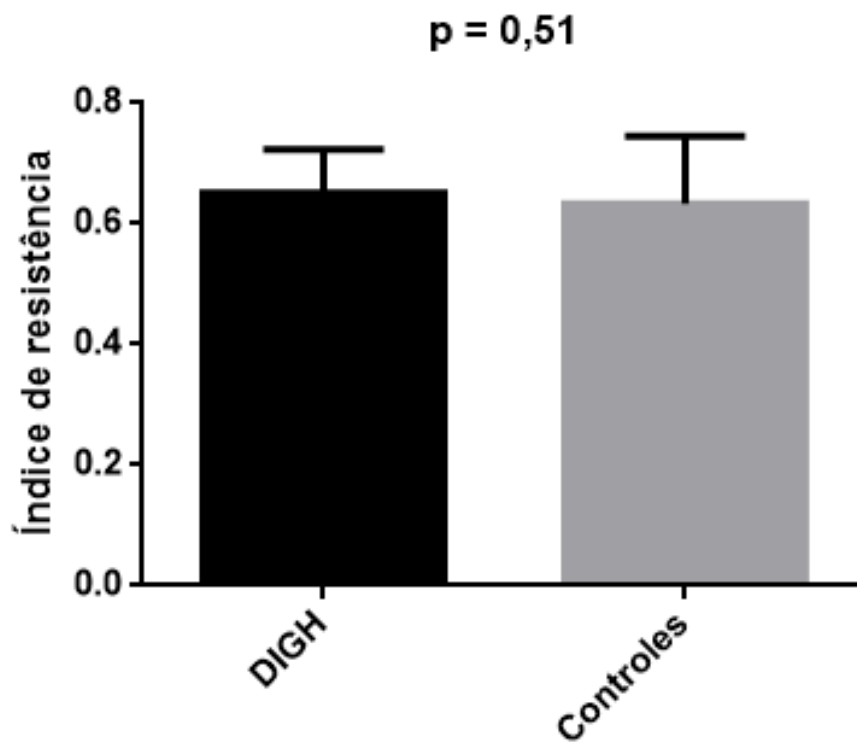
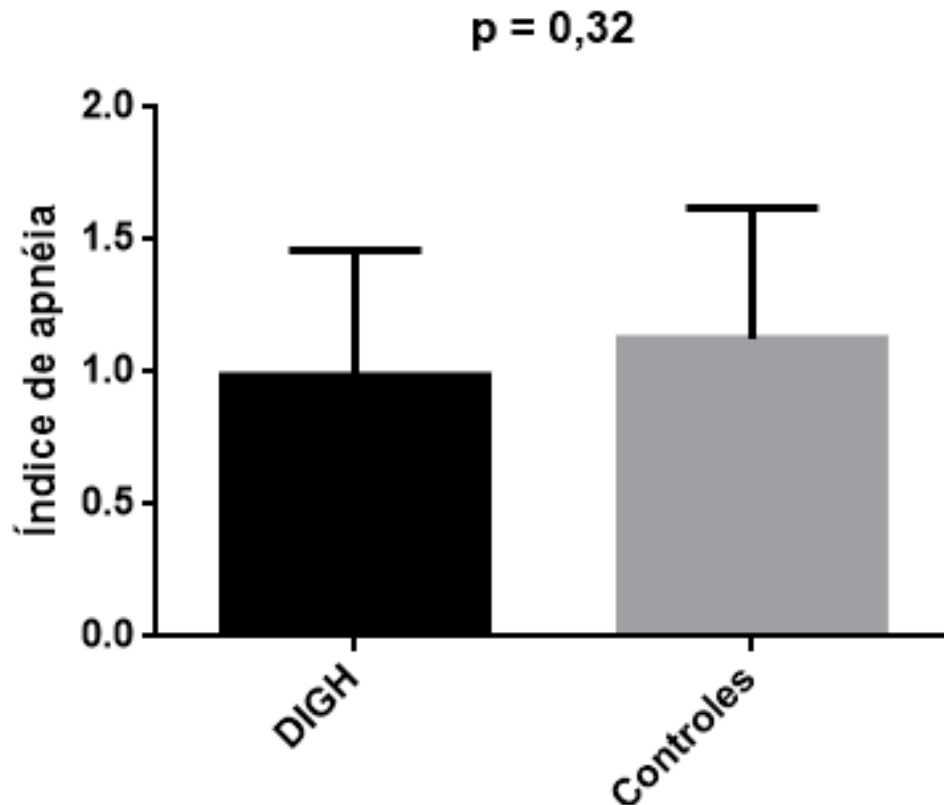


Gráfico 5. Índice de apnéia, parâmetro do Doppler transcraniano, entre os grupos DIGH e controle.



A tabela 2 mostra o coeficiente de correlação de Pearson entre os fatores de risco (idade, pressão arterial, glicemia de jejum, glicemia de 2 horas, hemoglobina glicada, PCR, colesterol total, LDL-colesterol e HDL-colesterol, triglicerídeos, creatinina) e as variáveis vasculares. Houve correlações positivas nos grupos agrupados entre idade e índice de pulsatilidade ($r = 0,618$, $p < 0,0001$; gráfico 6), idade e índice de resistência ($r = 0,691$, $p < 0,0001$; gráfico 7), idade e espessura da íntima-média da carótida ($r = 0,667$, $p < 0,0001$; gráfico 8), espessura da íntima-média carotídea e índice de pulsatilidade ($r = 0,606$, $p < 0,0001$), espessura da íntima-média carotídea e índice de resistência ($r = 0,607$, $p < 0,0001$), espessura da íntima-média carotídea e glicose de 2 horas após TTGO ($r = 0,313$, $p = 0,041$).

Tabela 2. Tabela do coeficiente de correlação de Pearson entre os fatores de risco e as variáveis vasculares. Os dados em negrito apresentam correlação significativa

Parâmetros	EMIC	Vs	VMF	IP	IR	IA
Idade	r = 0.669 p < 0.0001	r = 0.136 p = 0.363	r = - 0.110 p = 0.460	r = 0.617 p < 0.0001	r = 0.690 p < 0.0001	r = -0,179 p = 0.229
Glicemia	r = 0.116 p = 0.423	r = - 0.185 p = 0.212	r = - 0.225 p = 0.128	r = 0.104 p = 0.486	r = 0.080 p = 0.592	r = 0.101 p = 0.498
Glicemia 2h	r = 0.313 p = 0.041	r = - 0.168 p = 0.293	r = - 0.214 p = 0.179	r = 0.221 p = 0.164	r = 0.550 p < 0.0001	r = 0.022 p = 0.890
HbA1C (%)	r = 0.146 p = 0.313	r = - 0.143 p = 0.336	r = - 0.210 p = 0.158	r = 0.153 p = 0.306	r = 0.120 p = 0.421	r = 0.054 p = 0.720
Colesterol total	r = 0.031 p = 0.833	r = - 0.182 p = 0.221	r = - 0.184 p = 0.217	r = 0.047 p = 0.755	r = 0.050 p = 0.738	r = - 0.028 p = 0.849
LDL-colesterol	r = - 0.079 p = 0.587	r = - 0.205 p = 0.166	r = -0.186 p = 0.211	r = 0.009 p = 0.953	r = 0.023 p = 0.880	r = -0.002 p = 0.992
HDL-colesterol	r = 0.150 p = 0.299	r = 0.110 p = 0.461	r = 0.094 p = 0.528	r = 0.060 p = 0.691	r = 0.044 p = 0.771	r = - 0.092 p = 0.541
Triglicerídeos	r = 0.160 p = 0.266	r = -0.134 p = 0.369	r = - 0.153 p = 0.305	r = 0.026 p = 0.862	r = 0.014 p = 0.926	r = - 0.039 p = 0.793
PCR	r = - 0.081 p = 0.594	r = 0.301 p = 0.050	r = 0.225 p = 0.146	r = 0.082 p = 0.602	r = 0.045 p = 0.774	r = 0.051 p = 0.745
EMIC	r = 1 -----	r = 0.153 p = 0.304	r = - 0.120 p = 0.422	r = 0.606 p < 0.0001	r = 0.607 p < 0.0001	r = - 0.153 p = 0.305

EMIC: espessura médio-intimal carotídea. Vs: Velocidade sistólica de pico, VMF: Velocidade média de fluxo, IP: Índice de Pulsatilidade, IR. Índice de Resistência, IA: Índice de Apneia.

Gráfico 6. Correlação positiva entre índice de pulsatilidade nos grupos DIGH e controle.

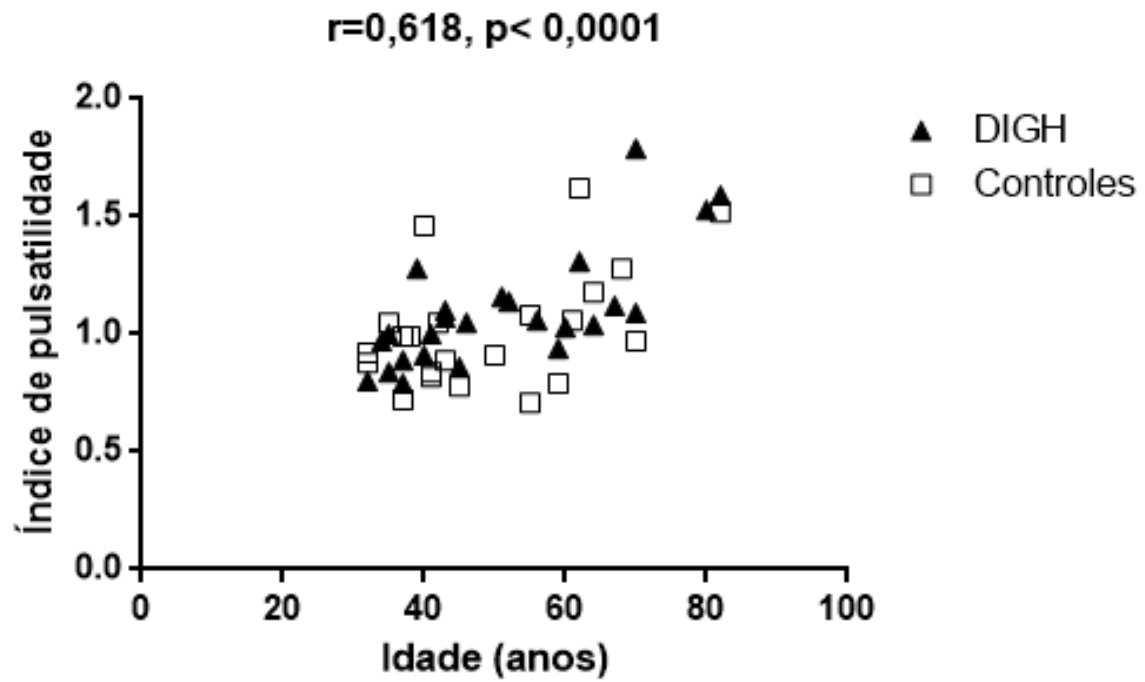


Gráfico 7. Correlação positiva entre índice de resistência nos grupos DIGH e controle.

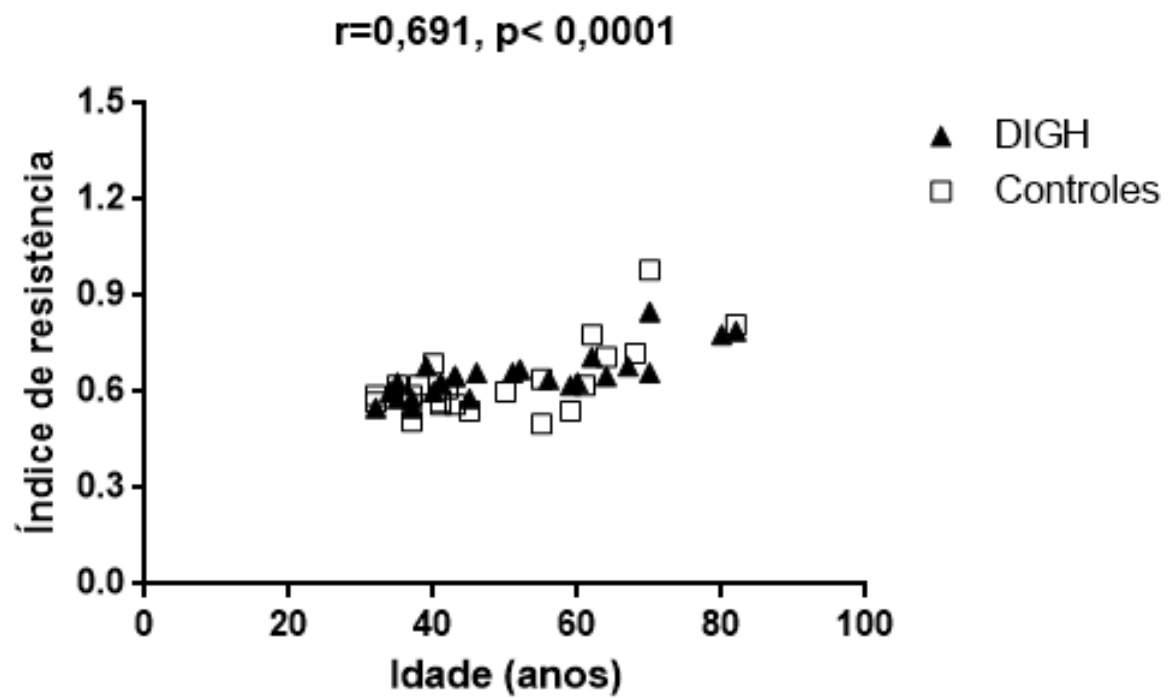
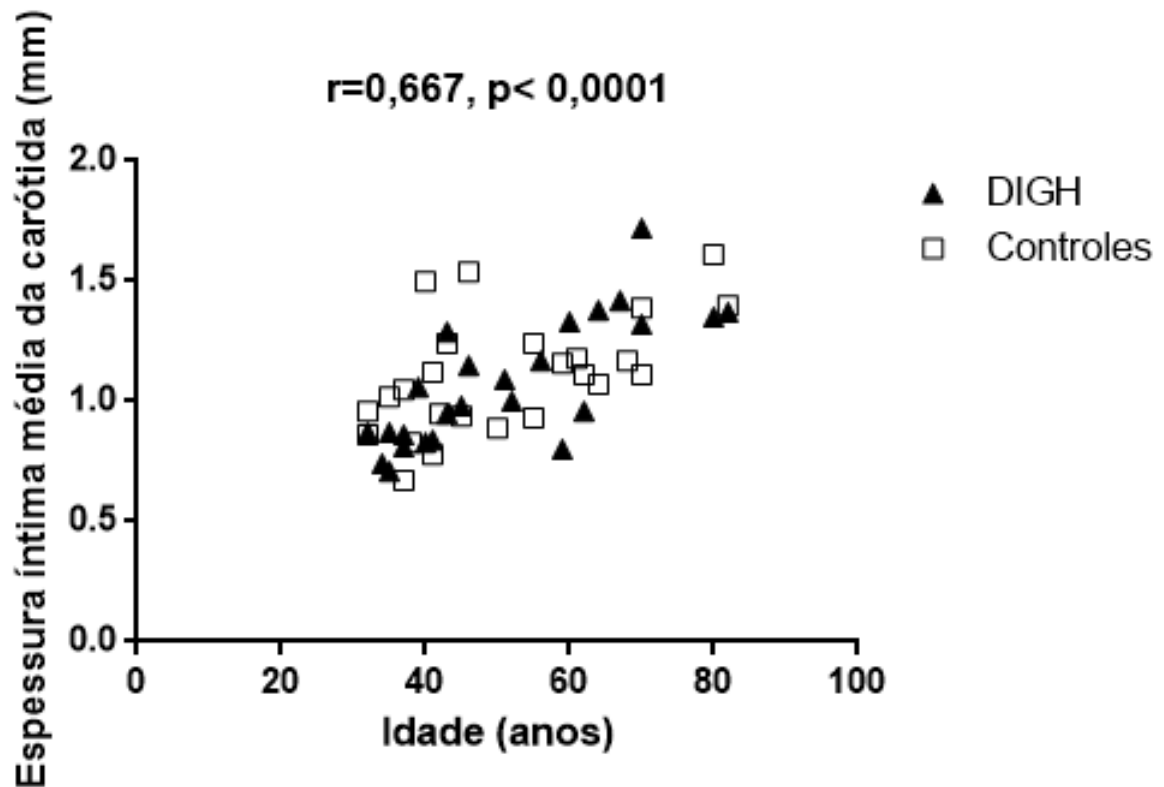


Gráfico 8. Correlação positiva entre espessura médio-intimal carotídea nos grupos DIGH e controle.



O MANCOVA revelou que a idade teve um efeito significativo (eta-quadrado 0,550, poder 1, $p < 0,0001$) nas variáveis do doppler. Esse efeito é verificado no índice de resistência (eta-quadrado parcial 0,459, potência 1, $p < 0,0001$) e no índice de pulsatilidade (eta-quadrado parcial 0,34, potência 0,997, $p < 0,0001$).

6 DISCUSSÃO

Este trabalho é o primeiro estudo que utilizou a vasorreatividade cerebral como um marcador substituto para o risco de DCV na DIGH congênita, persistente, grave e não tratada. Demonstramos que indivíduos com DIGH não tratados, avaliados por DTC, têm medidas de hemodinâmica intracraniana (velocidade sistólica de pico, velocidade média de fluxo, índice de pulsatilidade e índice de resistência) e resposta a estímulo vasodilatador pelo teste de apneia semelhantes a indivíduos do grupo controle pareados por sexo e idade, sem déficit de GH, da mesma comunidade. Todas essas medidas, tanto no DIGH quanto no grupo controle, estão na faixa normal relatada em vários estudos, o que valida nossas condições experimentais (BATHALA; MEHNDIRATTA; SHARMA, 2013; COLELLA; STILO; COCCHELLA et al, 2018; KACZYNSKI; HOME; SHIELDS et al, 2018, MARKUS; HARRISON et al, 1992; TOTARO; MARINI; BALDASSARRE et al, 1999).

Uma meta-análise recente envolvendo dados de 754 pacientes com GH normal, de nove estudos, apoia a utilidade do teste de estímulo vasodilatador ao Doppler transcraniano – provocando hipercapnia por inalação de CO₂ ou por apneia – para identificar o risco de DCV para pacientes sintomáticos e assintomáticos com estenose grave ou oclusão da artéria carótida. Os autores enfatizam que o uso da respiração, como foi neste trabalho utilizado, pode ser mais fácil de usar na prática clínica do que a inalação de CO₂, pois não requer o uso de equipamento adicional (REINHARDT; SCHWARZER; BRIEL et al, 2014).

O achado de vasorreatividade cerebral normal nesses indivíduos com DIGH é particularmente interessante, se tivermos em mente que esses indivíduos possuem adiposidade visceral aumentada (GOMES-SANTOS; SALVATORI; FERRÃO et al, 2014), e poderia se esperar que isso tenha um efeito adverso no estado cerebrovascular. No entanto, neste modelo de DIGH, a obesidade visceral não está associada à piora da resistência insulínica (OLIVEIRA; SALVATORI; BARRETO-FILHO et al, 2012) e altos níveis de adiponectina (OLIVEIRA; SALVATORI; MENEGUZ-MORENO et al, 2010). A associação aparentemente paradoxal do aumento da sensibilidade à insulina com aumento da adiposidade visceral também é mostrada em camundongos resistentes ao GH, com alterações na atividade secretora da gordura visceral e um aumento significativo nas concentrações de adiponectina (AL-REGAIEY; MASTERNAK; BONKOWSKI et al, 2005; MASTERNAK; BARTKE; WANG et al, 2012). O transplante de gordura visceral desses camundongos melhora a sensibilidade à insulina de camundongos normais, sugerindo um papel metabólico benéfico do tecido adiposo visceral nos

estados de ação abolida do GH e grave deficiência de IGF-I (BENNIS; SCHNEIDER; VICTORIA et al, 2017).

A normalidade da vasorreatividade cerebral nesses indivíduos com DIGH confirma dados anteriores (AGUIAR-OLIVEIRA; SOUZA; OLIVEIRA et al, 2017, GOMES-SANTOS; SALVATORI; FERRÃO et al, 2014, OLIVEIRA; SALVATORI; BARRETO-FILHO et al, 2012) de que a adiposidade visceral não têm os efeitos metabólicos vasculares prejudiciais da deficiência relativa (MILLER; BILLER; LIPMAN et al, 2005) ou adquirida de GH no hipopituitarismo (GOLA; BONADONNA; DOGA et al, 2005), frequentemente acompanhada de resistência à insulina. Além da obesidade visceral, esses indivíduos com DIGH exibem (desde a infância) altos níveis de colesterol LDL e PCR e aumento da pressão sistólica na idade adulta, mas não apresentam aterosclerose prematura (BARRETO-FILHO; ALCANTARA; SALVATORI et al, 2002; COSTA; OLIVEIRA; SALVATORI et al, 2016; OLIVEIRA; MARQUES-SANTOS; BARRETO-FILHO et al, 2006, SOUZA; FARIAS; SALVATORI et al, 2014). No entanto, como a aterosclerose não está completamente ausente, por razões éticas, os fatores de risco cardiovascular são rotineiramente tratados nessa população.

A vasorreatividade cerebral reduzida foi descrita em várias condições, incluindo, entre outras, infecção por HIV tratada e com vírus supresso (CHOW; BOSCARDIN; MILLS et al, 2016), síndrome de Down (COLELLA; STILO; COCCHELLA et al, 2018), esclerose múltipla (METZGER; LE BARS; DEVERDUN et al, 2018), hipertensão arterial (HAJJAR; MARMERELIS; SHIN et al, 2014) e doença de Alzheimer (TOMEK; URBANOVA; HORT, 2014). Em todas essas condições, a redução da vasorreatividade cerebral foi associada ao comprometimento cognitivo por disfunção endotelial, dano vascular ou microembolia. Neste estudo, todos os parâmetros do Doppler transcraniano no grupo DIGH foram semelhantes aos controles locais correspondentes. O mais robusto desses parâmetros é o índice de apneia, obtido através de um método não invasivo, simples e fisiológico de avaliação da vasorreatividade cerebral. Vale frisar que em ambos os grupos todos os parâmetros do DTC estavam na faixa de normalidade (COLELLA; STILO; COCCHELLA et al, 2018; TOTARO; MARINI; BALDASSARRE et al, 1999). A medida da reatividade cerebrovascular pode representar uma melhor avaliação do efeito hemodinâmico de uma estenose carotídea do que o grau anatômico, pois também leva em consideração o suprimento colateral (MARKUS; HARRISON, 1992). Para comparar uma avaliação funcional (Doppler transcraniano) com uma avaliação anatômica (ultrassom de carótida), medimos a espessura da íntima-média. Já havíamos relatado espessura normal da íntima-média neste grupo de DIGH (OLIVEIRA; MARQUES-SANTOS;

BARRETO-FILHO et al, 2006). Embora o grupo atual seja em média sete anos mais velho que o anterior, incluindo agora indivíduos acima de 80 anos, a espessura da íntima-média ainda era semelhante ao grupo controle, indicando novamente uma lenta evolução da aterosclerose. Parece que a idade é mais importante para o estado vascular do que a DIGH congênita grave, pois se correlaciona com a espessura da íntima-média e com dois parâmetros da hemodinâmica intracraniana, os índices de pulsatilidade e de resistência. Além disso, o MANCOVA revelou que a idade, mas não o grupo, tem um efeito significativo nas medidas do Doppler transcraniano.

Foi identificada uma correlação positiva entre glicemia de 2 horas e um marcador anatômico, EMIC, e um marcador funcional, IR, da circulação cerebral. Este dado enfatiza que a glicemia de 2 horas é relevante do ponto de vista metabólico e vascular. Este trabalho também permitiu evidenciar uma correlação entre EMIC com IP e IR, dado bastante compreensível já que, utilizamos um marcador anatômico, a EMIC, e um funcional, o Doppler transcraniano, e é esperado haver correlação entre eles.

Como houve quatro mortes em nossa coorte de DIGH por acidente vascular encefálico e apenas uma por infarto (AGUIAR-OLIVEIRA; BARTKE, 2019), hipotetizamos a possibilidade de encontrar pior reatividade cerebrovascular nos indivíduos com DIGH. Reconhece-se que os parâmetros do fluxo cerebral no Doppler transcraniano são adversamente influenciados pelo acúmulo de fatores de risco cardiovascular (KWATER; GAŚOWSKI; WIZNER et al, 2020). Nesse sentido, avaliamos no presente estudo vários fatores de risco cardiovascular: idade, sexo, tolerância à glicose, doença coronariana ou cerebrovascular prévia, espessura da íntima-média, tabagismo, colesterol total e LDL colesterol, triglicerídeos, pressão arterial, creatinina e PCR, mantendo a correspondência do DIGH no grupo de controle, com exceção dos três últimos parâmetros. A pressão arterial mais baixa no DIGH provavelmente reflete o tratamento anti-hipertensivo intensivo oferecido a esses indivíduos, que sabidamente apresentam um leve aumento da pressão arterial (BARRETO-FILHO; ALCANTARA; SALVATORI et al, 2002). De fato, nove dos DIGH e apenas quatro dos controles usavam medicamentos anti-hipertensivos. Os níveis mais baixos de creatinina refletem sua menor massa muscular (COSTA; OLIVEIRA; SALVATORI et al, 2016). A maior PCR é uma característica bem conhecida desse grupo (BARROS-OLIVEIRA; SALVATORI; DOS SANTOS, et al, 2019, OLIVEIRA; MARQUES-SANTOS; BARRETO-FILHO et al, 2006). De fato, há uma reação mútua inversa entre a PCR e o GH, e a PCR é significativamente reduzida na acromegalia (VERHELST; VELKENIERS; MAITER, 2013). O LDL-colesterol e

o colesterol total foram similares entre os grupos, o que difere em relação à literatura prévia (BARRETO-FILHO; ALCANTARA; SALVATORI et al, 2002), demonstrando o tratamento intensivo atual com hipolipemiante no grupo DIGH, em que sete indivíduos utilizavam estatina, e no grupo controle nenhum estava em uso. Neste trabalho, acrescentamos que a velocidade sistólica de pico, a velocidade média de fluxo, os índices de pulsatilidade, de resistência e de apneia foram semelhantes entre o DIGH e os indivíduos controle, indicando vasorreatividade cerebral semelhante entre os dois grupos.

Em uma recente meta-análise incluindo 23.515 pacientes, o hipopituitarismo foi associado a um excesso geral de mortalidade. Os fatores de risco para aumento da mortalidade incluíram idade mais jovem no diagnóstico, sexo feminino, diagnóstico de craniofaringioma, radioterapia, cirurgia transcraniana, diabetes insipidus e hipogonadismo (JASIM; ALAHDAB; AHMED et al, 2017). Os dados de nosso estudo, criados em um modelo sem esses fatores de confusão, sugerem que a DIGH não é, por si só, um fator de risco para DCV.

Uma das características mais marcantes da evolução humana é o aumento dramático no tamanho do cérebro. Esse aumento marca a base das funções cognitivas superiores, como as interações sociais e ambientais e as ferramentas utilizadas. No entanto, isso também foi associado à evolução da postura bípede, resultando em postura ereta e consequente força gravitacional contra o fluxo sanguíneo acima do nível do coração (OZTURK; TAN, 2018). Recentemente, mostramos que esses indivíduos com DIGH apresentam vantagens em termos de caminhada e equilíbrio (SANTANA-RIBEIRO; MOREIRA-BRASILEIRO; AGUIAR-OLIVEIRA et al, 2019), um pouco relacionados ao seu pequeno tamanho corporal. Agora, acrescentamos que a vasorreatividade cerebral também é preservada, possivelmente aumentando sua capacidade de sobrevivência.

Nosso trabalho possui algumas limitações. Primeiro, usamos um marcador substituto de DCV, não a própria doença, apesar de ser um método amplamente utilizado e validado. Segundo, usamos apenas uma manobra, o estímulo por hipercapnia, para avaliar a dinâmica da vasorreatividade cerebral. Outros estímulos podem ter resultados diferentes. Terceiro, o DTC é um exame operador dependente, mas minimizamos este fator havendo só um profissional na realização do exame. Quarto, o DTC precisa de janela de insonação adequada, o que algumas vezes não é possível. Quinto, como os indivíduos com DIGH vivem bastante e alguns se tornam centenários, não podemos determinar se a reatividade normal persiste após os 80 anos de idade.

7 CONCLUSÕES

- Os fatores de risco, incluindo o Escore de Framingham, para DCV, foram semelhantes entre os grupos DIGH e controle.
- Os indivíduos com DIGH apresentaram valores menores de creatinina e pressão arterial e maiores de PCR em relação aos controles, sendo os demais parâmetros clínicos e laboratoriais semelhantes.
- A espessura médio-intimal carotídea foi similar entre os grupos.
- A hemodinâmica cerebral basal durante o repouso foi similar entre os grupos.
- O índice de apneia foi similar entre os grupos.
- A idade correlaciona-se com a espessura médio-intimal carotídea, com os índices de pulsatilidade e resistência.
- A glicemia de 2 horas pós teste oral de tolerância à glicose correlaciona-se com espessura médio-intimal carotídea e índice de resistência.
- A espessura médio-intimal carotídea correlaciona-se com índices de pulsatilidade e resistência.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em indivíduos adultos com e sem fatores de risco cardiovascular controlados, a DIGH não tratada durante a vida, parece não prejudicar a vasorreatividade cerebral e o risco cerebrovascular. Futuros estudos pretendem avaliar a função cognitiva nesta DIGH, com questionários apropriados, e exames de imagem como ressonância magnética do encéfalo com avaliação adicional da circulação cerebral.

REFERÊNCIAS

AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS AND AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY GUIDELINES FOR MANAGEMENT OF GROWTH HORMONE DEFICIENCY IN ADULTS AND PATIENTS TRANSITIONING FROM PEDIATRIC TO ADULT CARE. **Endocr. Pract.** v. 25, n 11, 2019

AGUIAR-OLIVEIRA, M.H., BARTKE, A. Growth Hormone Deficiency: Health and Longevity. **Endocr. Rev.** v. 40, p. 575-601, 2019

AGUIAR-OLIVEIRA, M.H., GILL, M.S., BARRETTO, E.S. et al. Effect of severe growth hormone (GH) deficiency due to a mutation in the GH-Releasing Hormone Receptor on Insulin-like Growth Factors (IGFs), IGF-Binding Proteins, and ternary complex formation throughout life. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 84, p. 4118-4126, 1999.

AGUIAR-OLIVEIRA, M.H., OLIVEIRA, F.T., PEREIRA, R.M. et al. Longevity in untreated congenital growth hormone deficiency due to a homozygous mutation in the GHRH receptor gene. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 95, n. 2, p. 714-721, 2010

AGUIAR-OLIVEIRA M.H., SOUZA A.H.O., OLIVEIRA C.R.P. et al. The multiple facets of GHRH/GH/IGF-I axis: lessons from lifetime, untreated, isolated GH deficiency due to a GHRH receptor gene mutation. **Eur. J. Endocrinol.** v. 177, R85-R97, 2017

AL-REGAIEY, K.A., MASTERNAK, M.M., BONKOWSKI, M. et al. Long-lived growth hormone receptor knockout mice: interaction of reduced insulin-like growth factor 1/insulin signaling and caloric restriction. **Endocrinology.** v. 146, n.2, p. 851-860, 2005

BARBOSA J.A., SALVATORI R., OLIVEIRA C.R. et al. Quality of life in congenital, untreated, lifetime isolated growth hormone deficiency. **Psychoneuroendocrinology.** v. 34, n. 6, p. 894-900, 2009

BARRETO-FILHO, J.A., ALCANTARA, M.R., SALVATORI, R. et al. Familial isolated growth hormone deficiency is associated with increased systolic blood pressure, central obesity, and dyslipidemia. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 87, n. 5, p. 2018-2023, 2002

BARROS-OLIVEIRA, C.S., SALVATORI, R., DOS SANTOS, J.S.S. et al. Sweat and vitamin D status in congenital, lifetime, untreated GH deficiency. **Endocrine.** v. 65, p. 710-713, 2019

BATES, A.S, VAN'T HOFF, W., JONES, P.J. et al. The Effect of Hypopituitarism on Life Expectancy. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 81, p. 1169-1172, 1996

BATHALA L., MEHNDIRATTA M.M., SHARMA V.K. Transcranial doppler: Technique and common findings (Part 1). **Annals of Indian Academy of Neurology.** v. 16, n. 2, p. 174-179, 2013

BENJAMIN, E.J; VIRANI, S.S.; CALLAWAY, C.W et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: a report from the American Heart Association. **Circulation.** v. 137, p. e67-e492, 2018

BENNIS, M.T, SCHNEIDER, A., VICTORIA, B. et al. The role of transplanted visceral fat from the long-lived growth hormone receptor knockout mice on insulin signaling. **Geroscience**. v. 39, n. 1, p. 51-59, 2017

BITZER, M., TOPKA, H. Progressive cerebral occlusive disease after radiation therapy. **Stroke**. v. 26, p. 131–136, 1995

BLANCO P., ABDO-CRUZ A. Transcranial Doppler ultrasound in neurocritical care. **J. Ultrasound**. v. 21, p. 1-16, 2018

BODDU, D.B., SHARMA, V.K., BANDARU, V.C.S.S. et al. Validation of transcranial Doppler with magnetic resonance angiography in acute cerebral ischemia. **J. Neuroimaging**. v. 21, n. 2, p. e34-e40, 2011

BOWEN, J., PAULSEN, C.A. Stroke after pituitary irradiation. **Stroke**. v. 23, p. 908–911, 1992
BRABANT G., POLL E.M., JÖNSSON P. et al. Etiology, baseline characteristics, and biochemical diagnosis of GH deficiency in the adult: are there regional variations? **Eur. J. Endocrinol**. v. 161, p. S25-S31, 2009

BULOW, B., HAGMAR, L., MIKOCZY, Z. et al. Increased cerebrovascular mortality in patients with hypopituitarism. **Clin. Endocrinol. (Oxf)**. v. 46, p. 75-81, 1997

BURMANM P., MATTSSONM A.F., JOHANNSSONM G. Deaths among adult patients with hypopituitarism: hypocortisolism during acute stress, and de novo malignant brain tumors contribute to an increased mortality. **J. Clin. Endocrinol. Metab**. v. 98, n. 4, p. 1466–1475, 2013

CACCIARI E., ZUCCHINI S., CARLA G. et al. Endocrine function and morphological findings in patients with disorders of the hypothalamo-pituitary area: a study with magnetic resonance. **Arch Dis Child**. v. 65, p. 1199-1202, 1990

CHERNYSHEV O.Y., GARAMI Z., CALLEJA S. et al. Yield and accuracy of urgent combined carotid/transcranial ultrasound testing in acute cerebral ischemia. **Stroke**. v. 36, p. 32–7, 2005

CHOW,F.C., BOSCARDIN, W.J., MILLS, C. et al Cerebral vasoreactivity is impaired in treated, virally suppressed HIV-infected individuals. **AIDS**. v. 30, p. 45–55, 2016

COLAO, A. The GH-IGF-I axis and the cardiovascular system: clinical implications. **Clin. Endocrinol (Oxf)**.v. 69,p. 347–358, 2008

COLELLA, M., STILO, C., COCCHIELLA, A. et al. Cerebral vasoreactivity and intima-media thickness in Down syndrome: A case-control study. **J. Neurol. Sci**. v. 385, p. 57-63, 2018

COSTA, U.M., OLIVEIRA, C.R., SALVATORI, R. et al. Brazilian adult individuals with untreated isolated GH deficiency do not have accelerated subclinical atherosclerosis. **Endocr. Connect**. v. 5, n. 1, p. 41-46, 2016

CREYGHTON, W.M., VAN DAM, P.S., KOPPESCHAAR, M.D. The role of the somatotrophic system in cognition and other cerebral functions. **Semin. Vasc. Med**. v. 4, number 2, 2004.

D'AGOSTINO, R.B., GRUNDY, S., SULLIVAN, L.M. et al. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores. **JAMA**. v. 286, p. 180–187, 2001

DEKKERS, O.M. Why not to (over) emphasize statistical significance. **Eur. J. Endocrinol.** v. 181, n. 3, p. E1-E2, 2019

DELAFOUNTAIN, P., SONG, Y.H., LI, Y. Expression, regulation and function of IGF-I, IGF-IR and IGF-I binding proteins in blood vessels. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** v. 24, p. 435-444, 2004

EVANS, L.M., DAVIES, J.S., GOODFELLOW, J. et al. Endothelial dysfunction in hypopituitary adults with growth hormone deficiency. **Clinical Endocrinology**. v. 50, p. 457–464, 1999

GOLA, M., BONADONNA, S., DOGA, M. et al. Clinical review: growth hormone and cardiovascular risk factors. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 90, p. 1864–1870, 2005

GOMES-SANTOS, E., SALVATORI, R., FERRÃO, T.O. et al. Increased Visceral Adiposity and Cortisol to Cortisone Ratio in Adults with Congenital Lifetime Isolated GH Deficiency. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 99, p. 3285–3289, 2014.

HAJJAR, I., MARMERELIS, V., SHIN, D.C. et al. Assessment of cerebrovascular reactivity during resting state breathing and its correlation with cognitive function in hypertension. **Cerebrovasc. Dis.** v. 38, p. 0–16, 2014

HEGEDUŠ, I., MILIĆ, J., ČOSIĆ, A. et al. Cerebrovascular reactivity in acute hyperoxia in patients with acute ischaemic stroke. **Brain Injury**. v. 31, n. 4, p. 560-566, 2017

JASIM, S., ALAHDAB, F., AHMED, A.T. et al. M.H. Mortality in adults with hypopituitarism: a systematic review and meta-analysis. **Endocrine**. v. 56, p. 33-42, 2017

KACZYNSKI, J., HOME, R., SHIELDS, K. et al. Reproducibility of Transcranial Doppler ultrasound in the middle cerebral artery. **Cardiovasc. Ultrasound**. v. 16, p. 15, 2018.

KAJI, H., CHIHARA, K. Direct causes of death in Japanese patients with hypopituitarism as analyzed from a nation-wide autopsy database. **Eur. J. Endocrinol.** v. 150, p. 149–152, 2004.

KALMIJN, S., JANSSEN, J.A., POLS, H.A et al. A prospective study on circulating insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-binding proteins, and cognitive function in the elderly. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 85, p. 4551–4555, 2000

KWATER, A., GAŚOWSKI, J., WIZNER, B. et al. Cardiovascular risk factors as determinants of cerebral blood flow – a cross-sectional and 6-year follow-up study. **Blood Press**. v. 29, n. 3, p. 182-190, 2020

MARINHO, C.G., MERMEJO, L.M., SALVATORI, R. et al. Occurrence of neoplasms in individuals with congenital, severe GH deficiency from the Itabaianinha kindred. **Growth Hormone & IGF Research**. v. 41, p.71-74, 2018

- MARKUS, H.S, HARRISON M.J. Estimation of cerebrovascular reactivity using transcranial Doppler, including the use of breath-holding as the vasodilatory stimulus, **Stroke**. v. 23, p. 668–673, 1992
- MARTARI M, SALVATORI R. Diseases associated with growth hormone-releasing hormone receptor (GHRHR) mutations. **Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.** v. 88, p. 57-84, 2009
- MASTERNAK, M.M, BARTKE, A., WANG, F. et al. Metabolic effects of intra-abdominal fat in GHRKO mice. **Aging Cell**. v. 11, n.1, p. 73-81, 2012
- MENZEL, M., DOPPENBERG, E.M., ZAUNER, A. et al. Cerebral oxygenation in patients after severe head injury: monitoring and effects of arterial hyperoxia on cerebral blood flow, metabolism and intracranial pressure. **J. Neurosurg. Anesth.** E 11, p. 240–251, 1999
- METZGER, A., LE BARS, E., DEVERDUN, J. Is impaired cerebral vasoreactivity an early marker of cognitive decline in multiple sclerosis patients? **Eur. Radiol.** v. 28, p. 1204-1214, 2018
- MILLER, K.K., BILLER, B.M., LIPMAN, J.G. et al Truncal adiposity, relative growth hormone deficiency, and cardiovascular risk. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 90, p. 768–774, 2005
- MURROS, K.E., TOOLE, J.F. The effect of radiation on carotid arteries. **Arch. Neurol.** v. 46, p. 449–455, 1989
- NAKAJIMA, S., MEYER, J.S., AMANO, T. Cerebral vasomotor responsiveness during 100% oxygen inhalation in cerebral ischemia. **Arch. Neurol.** v. 40, p. 271–276, 1983
- OH H.G, CHUNG, P.W., RHEE E.J. Increased risk for intracranial arterial stenosis in subjects with coronary artery calcification. **Stroke**. v. 46, p.151-156, 2015
- OKEREKE, O.I., KANG, J.H., MA, J. et al. Midlife plasma insulin-like growth factor I and cognitive function in older men. **J. Clin. Endocrinol Metab.** v. 91, p. 4306–4312, 2006
- OKEREKE, O., KANG, J.H., MA, J. et al. Plasma IGF-I levels and cognitive performance in older women. **Neurobiol. Aging**. v. 28, p. 135–142, 2007
- OLIVEIRA-SANTOS, A.A., SALVATORI, R., GOMES-SANTOS, E. et al. Subjects with isolated GH deficiency due to a *null GHRHR* mutation eat proportionally more, but healthier than controls. **Endocrine**. v. 51, n. 2, p. 317-322, 2016
- OLIVEIRA, C.R.P., SALVATORI, R., BARRETO-FILHO, J.A. et al. Insulin sensitivity and β -cell function in adults with lifetime, untreated isolated growth hormone deficiency. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 97, p. 1013-1019, 2012
- OLIVEIRA, C.R.P., SALVATORI, R., MENEGUZ-MORENO, R.A. et al. Adipokine profile and urinary albumin excretion in isolated growth hormone deficiency. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 95, n. 2, p. 693-698, 2010

OLIVEIRA, J.L.M., MARQUES-SANTOS, C., BARRETO-FILHO, J.A. et al. Lack of evidence of premature atherosclerosis in untreated severe isolated growth hormone (GH) deficiency due to a GH-releasing hormone receptor mutation. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 91, p. 2093-2099, 2006

OZTURK, E.D., TAN C.O. Human cerebrovascular function in health and disease: insights from integrative approaches. **J. Physiol. Anthropol.** v. 37, p. 1-11, 2018

POLAK J.F., O'LEARY D.H. Carotid Intima-Media Thickness as Surrogate for and Predictor of CVD. **Global Heart.** v. 11, n. 3, p. 295-312, 2016

RANKE M.B., REITER E., PRICE D. Idiopathic Growth Hormone Deficiency in KIGS: Selected Aspects. In: Ranke MB, Price DA, Reiter EO, eds. Growth Hormone Therapy in Pediatrics - 20 Years of KIGS. 1st ed. Basel: Karger; p. 116-135, 2007

REINHARDT, M., SCHWARZER, G., BRIEL, M. et al. Cerebrovascular reactivity predicts stroke in high-grade carotid artery disease. **Neurology.** v. 83, n. 16, p. 1424–1431, 2014

ROSEN, T., BENGTSSON, B.A. Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. **Lancet.** v. 336, p. 285–288, 1999

SALVATORI, R., HAYASHIDA, C.Y., AGUIAR-OLIVEIRA, M.H. et al. Familial Dwarfism due to a novel mutation of the Growth hormone-releasing hormone receptor gene. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 84, n. 3, p. 917-923, 1999

SANTANA-RIBEIRO, A.A., MOREIRA-BRASILEIRO, G.A., AGUIAR-OLIVEIRA, M.H. et al. Walking and postural balance in adults with severe short stature due to isolated GH deficiency. **Endocr. Connect.** v. 8, p. 416-424, 2019

SHARMA, V.K., TSIVGOULIS G., LAO, A.Y. et al. Role of transcranial Doppler ultrasonography in evaluation of patients with cerebrovascular disease. **Curr Neurol Neurosci.** v. 7, n. 1, p. 8-20, 2007

SILVERSTRINI M., VERNIERI F., PASQUALETTI P., et al. Impaired cerebral vasoreactivity and risk of stroke in patients with asymptomatic carotid stenosis. **JAMA.** v. 283, p. 2122–2227, 2000

SONNTAG, W.E., LYNCH, C., THORNTON, P. et al. The effects of growth hormone and IGF-I deficiency on cerebrovascular and brain ageing. **J. Anat.** v. 197, p. 575-585, 2000

SOUZA, A.H., FARIAS, M.I., SALVATORI, R. et al. Lifetime, untreated isolated GH deficiency due to a GH-releasing hormone receptor mutation has beneficial consequences on bone status in older individuals, and does not influence their abdominal aorta calcification. **Endocrine,** v. 47, n. 1, p. 191-197, 2014

TANRIVERDI, F., KELESTIMUR, F. Classical and non-classical causes of GH deficiency in adults. **Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 31, p. 3-11, 2017

TOMEK, A., URBANOVÁ, B., HORT, J. Utility of transcranial ultrasound in predicting Alzheimer's disease risk. **J. Alzheimers Dis.** v. 42, p. S365–S374, 2014

TOTARO, R., MARINI, C., BALDASSARRE, M. et al. Cerebrovascular reactivity evaluated by transcranial Doppler: reproducibility of different methods, **Cerebrovasc. Dis.** v. 9, p. 142–145, 1999

VERHELST, J., VELKENIERS, B., MAITER, D. et al. Active acromegaly is associated with decreased hs-CRP and NT-pro BNP serum levels: insights from the Belgian registry of acromegaly. **Eur. J. Endocrinol.** v. 168, p. 177-184, 2013

WONG K.S., LI H., CHAN Y.L., et al. Use of transcranial Doppler ultrasound to predict outcome in patients with intracranial large-artery occlusive disease. **Stroke.** v. 31, p. 2641–2647, 2000

APÊNDICE A: Artigo – Cerebral vasoreactivity, a surrogate marker of cerebrovascular disease, is not impaired in subjects with lifetime, untreated, congenital isolated GH deficiency (*Endocrine*)

Cerebral vasoreactivity, a surrogate marker of cerebrovascular disease, is not impaired in subjects with lifetime, untreated, congenital isolated GH deficiency

Cindi G. Marinho, Hyder A. Melo, Roberto Salvatori, Marco A. P. Nunes, Carla R. P. Oliveira, Viviane C. Campos, Cynthia S. Barros-Oliveira, et al

Endocrine
International Journal of Basic and
Clinical Endocrinology

ISSN 1355-008X

Endocrine
DOI 10.1007/s12020-020-02415-0





Cerebral vasoreactivity, a surrogate marker of cerebrovascular disease, is not impaired in subjects with lifetime, untreated, congenital isolated GH deficiency

Cindi G. Marinho¹ · Hyder A. Melo² · Roberto Salvatori³ · Marco A. P. Nunes⁴ · Carla R. P. Oliveira¹ · Viviane C. Campos¹ · Cynthia S. Barros-Oliveira¹ · Alécia A. Oliveira-Santos¹ · Nelmo V. Menezes¹ · Hertz T. Santos-Júnior¹ · Elenilde G. Santos¹ · Manuela A. Melo¹ · Josefina L. M. Oliveira⁵ · Enaldo V. Melo¹ · Manuel H. Aguiar-Oliveira¹

Received: 26 May 2020 / Accepted: 4 July 2020
 © Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2020

Abstract

Objectives Cerebrovascular disease (CeVD) is a major cause of death and disability. The role of the GH/IGF-I axis on CeVD risk is controversial. Patients with GH deficiency (GHD) in the setting of hypopituitarism often exhibit CeVD predisposing factors, like low nitric oxide generation, endothelial dysfunction, increased visceral fat mass, increased levels of LDL cholesterol, and increased intima-media thickness, a surrogate marker of atherosclerosis. However, several confounders such as the primary hypothalamic–pituitary lesion, hormonal replacement therapies, consequences of surgery and radiotherapy, may influence this relationship. Therefore, we decided to assess cerebral vasoreactivity, a surrogate marker of CeVD, in adult subjects with untreated isolated GHD (IGHD) due to the same homozygous null mutation in the GHRH receptor gene.

Methods A cross-sectional study was carried out in 25 adult IGHD subjects and 25 age- and gender-matched controls. Interview, physical examination, laboratory data, intima-media thickness measurement, and transcranial Doppler were performed. The intracranial hemodynamics (mean flow velocity, pulsatility and resistance indexes) were measured, and the response to the vasodilatory stimulus by breath-holding maneuver (breath-holding index) was calculated.

Results IGHD and control groups were similar in Framingham risk score and intima-media thickness. Similarly, there was no difference in mean flow velocity, pulsatility, resistance, and breath-holding index.

Conclusions Lifetime, untreated IGHD does not cause impaired cerebral vasoreactivity.

Keywords GH · GHRH receptor · IGF-I · Cerebral vasoreactivity · Transcranial Doppler

Introduction

Cerebrovascular disease (CeVD) is one of the leading causes of death and disability worldwide, with someone in United States having a stroke every 40 s, most of them ischemic [1]. Often CeVD risk is assessed together with cardiovascular disease risk factors, including smoking, physical activity, diet, weight, cholesterol, blood pressure, and glucose control [1]. This assessment has its caveats. For instance, is cerebrovascular risk always parallel to cardiovascular disease and if so, is the severity of the impairment the same? Other risk factors may influence the two risks in different ways. In this context, the role of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor-I (IGF-I) axis is still controversial. A dual role of IGF-I in vascular disease,

✉ Roberto Salvatori
 salvatori@jhmi.edu

¹ Division of Endocrinology, Health Sciences Graduate Program, Federal University of Sergipe, Aracaju, Sergipe 49060-100, Brazil

² Service of Transcranial Doppler, Health Sciences Graduate Program, Federal University of Sergipe, Aracaju, Sergipe 49060-100, Brazil

³ Division of Endocrinology, Diabetes and Metabolism, Department of Medicine, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21287, USA

⁴ Division of Angiology, Health Sciences Graduate Program, Federal University of Sergipe, Aracaju, Sergipe 49060-100, Brazil

⁵ Division of Cardiology, Health Sciences Graduate Program, Federal University of Sergipe, Aracaju, Sergipe 49060-100, Brazil

especially in atherosclerosis, has been described. On one hand, IGF-I stimulates smooth muscle vascular cells proliferation and migration, contributing to plaque development. On the other hand, decreased expression of IGF-I leads to apoptosis of these same cells, and results in plaque destabilization [2]. Furthermore, GH and IGF-I also stimulate endothelial cells proliferation, angiogenesis [3], and nitric oxide production, which induce vasodilatation and participate in inflammation repair after ischemic events [4]. Accordingly, low nitric oxide generation, endothelial dysfunction, increased visceral fat mass, reduced lean mass, increased levels of LDL cholesterol, increased intima-media thickness, plaques formation, and other cardiovascular abnormalities are described in patients with GH deficiency (GHD), mostly in the context of hypopituitarism [4]. In this setting, pituitary tumors and surgery or radiation, other pituitary hormones deficits, with lack or inadequacy of respective replacement therapies, may also influence vascular status, and the contribution of GHD to these vascular aspects seems modest [5]. Despite historical studies associate increased cardiovascular [6] and cerebrovascular [7] mortality to GHD in hypopituitarism, more recent papers do not support this association [8, 9].

We have previously described an extended kindred with severe, congenital isolated GHD (IGHD) due to the c.57+1G>A mutation in the GH-releasing hormone (GHRH) receptor gene (*GHRHR* MIM n.618157) residing in Itabaianinha county, in the northeastern Brazilian state of Sergipe [10]. These subjects exhibit throughout life very low GH levels and mostly undetectable IGF-I levels [11]. They have severe short stature, visceral obesity [12] but increased insulin sensitivity [13], higher systolic blood pressure, increased levels of total and LDL cholesterol and C-reactive protein (CRP) [14], but no evidence of premature atherosclerosis in the coronary and aorta sites [15–17]. Accordingly, they have normal longevity [18]. We have registered thirty deaths of IGHD subjects born since 1892 in Itabaianinha: fourteen due to undetermined causes; four due to stroke; four due to external causes; three due to infection; two “natural deaths” at the ages of 103 and 94 years; one due to heart attack; one due to hepatic cirrhosis; and one to skin cancer [19]. To assess whether these IGHD individuals have an increased risk of CeVD, we have here used a surrogate marker, cerebral vasoreactivity, a measure of cerebrovascular endothelial function, and cerebrovascular injury of small and large vessels. This method has been widely used in the assessment of stroke risk in groups without GHD [20–23]. Recently, cerebral vasoreactivity has also been used to assess brain function and cognition [24]. Vasoreactivity was assessed by transcranial Doppler ultrasound [25–27]. We also measured carotid intima-media thickness, and examined the clinical and metabolic profile

of these IGHD adult subjects and age- and gender-matched controls.

Subjects and methods

Subjects

In a cross-sectional study, IGHD and age- and sex-matched control subjects were recruited by advertising placed in the local Dwarfs Association building, and by word of mouth among the inhabitants of Itabaianinha. Inclusion criteria for IGHD were homozygosity for the c.57+1A → G *GHRHR* mutation, while homozygosity for the wild-type *GHRHR* allele was required for the control group. Exclusion criteria were age <30 years and previous GH replacement therapy. After 25 IGHD individuals who met our inclusion criteria volunteered, we noted that there were four diabetics, with duration of diabetes of 6.5 (2.9) years. From our database of genotyped homozygous normal subjects, we invited one control with the same age and sex for each IGHD subject. We also included four diabetic in the control group. One control subject was diagnosed with diabetes by OGTT during this study, bringing to five the number of diabetics in the control group. The duration of diabetes in this group was 4.0 (3.7) years, similar to that of the IGHD group. Therefore, the groups included 25 IGHD (12 women, mean age 46, range 32–82 years old, four diabetics, with mean height of 1.26 (0.2) m, and weight of 40.5 (7.5) kg); and 25 controls (12 women, mean age 46, range 32–82 years old, five diabetics, with mean height of 1.60 (0.1) m and weight of 73.9 (24.7) kg). The Federal University of Sergipe Institutional Review Board approved these studies, and all subjects gave written informed consent.

Interview, physical examination, and laboratory assessment

The subjects were first submitted to a detailed interview including risk factors for cardiovascular disease, hypertension, smoking, dyslipidemia, comorbidities, and their treatments. In the IGHD group, one subject used statin alone, and six in combination with antihypertensive or hypoglycemic drugs, three used only antihypertensive drugs, and one only a hypoglycemic agent. One subject had known chronic coronary atherosclerosis. In the control group, four used antihypertensive drugs, one hypoglycemic agent, and two the combination of these two drugs.

A complete physical examination was carried out, with measurement of body weight and height, and body mass index was calculated. Blood pressure was measured by the average of three measurements obtained in the left arm after 10 min of rest in the sitting position by one physician

(C.G.M.) using a mercury sphygmomanometer with a cuff appropriate for the size of the arm. The Framingham risk score was calculated, as published [28]. Blood was collected after an overnight fast for glucose, hemoglobin A1C, total and HDL cholesterol, triglycerides, creatinine, and CRP, all measured by standard techniques. The LDL-C concentration was calculated (Friedwald formula). Afterwards, an oral glucose tolerance test was performed, except for patients with known diabetes. We used 1.75 g/kg of glucose for IGHD subjects as done before [15].

Carotid intima-media thickness

The same operator (M.A.P.N.) measured intima-media thickness, by using the ATL Ultramark (Advanced Technology Laboratories, Bothell, WA) apparatus, equipped with a 10.0 MHz linear-array transducer. Subjects were examined in the supine position with the neck in slight hyperextension. Longitudinal ultrasonography scans of the carotids artery were performed on the far wall of the distal 1.0 cm of both common carotid arteries immediately proximal to the origin of the bifurcation. In each examination, the sonographer used different scanning angles (anterior and posterior) to identify the greatest intima-media thickness, defined as the distance between the junction of the lumen and intima and that of the media and adventitia. Three measurements were obtained on the right and left carotid arteries and averaged. The number of individuals with atherosclerotic plaques causing a reduction in the lumen of the artery >50% was registered.

Transcranial Doppler ultrasound

The same operator (H.A.M.) evaluated the intracranial hemodynamics with transcranial Doppler ultrasound (Doppler box DWL with a 2-MHz probe (DWL, Germany). This is the only imaging modality that is capable of real-time measurements of blood flow velocity and microembolic signals in the cerebral circulation. It generates reproducible data on the middle cerebral artery velocities [29]. The normal spectral waveform shows a sharp systolic upstroke and stepwise deceleration with positive end-diastolic flow. The principal variables of the transcranial Doppler ultrasound spectra are: (1) the peak systolic velocity (cm/s), which is the first peak on the ultrasound waveform from each cardiac cycle. A rapid upstroke represents the absence of a severe stenotic lesion between the insonated intracranial arterial segment and heart; (2) the end-diastolic velocity (cm/s), which lies between 20 and 50% of the peak systolic velocity values, indicating a low resistance intracranial arterial flow pattern; (3) the mean flow velocity (cm/s), calculated as end-diastolic velocity plus one-third of the difference between peak systolic velocity and end-diastolic

velocity; (4) the pulsatility index, a measure of flow resistance calculated by subtracting end-diastolic velocity from peak systolic velocity and dividing the value by mean flow velocity. Pulsatility index is independent of the angle of insonation, has no unit, and a value more than 1.2 represents high resistance blood flow; (5) the resistance index represents flow resistance distal to the site of insonation, calculated by subtracting end-diastolic velocity from peak systolic velocity and dividing the value by peak systolic velocity. Any value below 0.75 is normal [30].

We then performed a vasodilatory stimulus test, using the breath-holding maneuver. During this maneuver the right middle cerebral artery was recorded continuously and the mean flow velocity calculated. This maneuver induces hypercapnia, and consequently a vasodilatory response, and an increase in mean flow velocity. Subjects were instructed to hold their breath after a normal inspiratory breath. The rise in mean flow velocity immediately after the end of the breath-holding period was registered as the maximal increase of the middle cerebral artery mean blood velocity (while breath holding). The time of breath holding was also registered. The breath-holding index is obtained by the difference between the mean flow velocity at the end of breath holding and mean flow velocity at rest, divided by mean flow velocity at rest, and multiplied by 100 divided by seconds of breathing holding [31]. Normal subjects have mean breath-holding index of 1.2, with standard deviation of 0.6 [26, 31, 32]. Lower values indicate lower cerebral vasoreactivity. All the laboratory analyses and ultrasound parameters were performed at the University Hospital of the Federal University of Sergipe, in Aracaju, the capital of the state of Sergipe.

Statistical analysis

Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk test were used to test variables that have a normal distribution. The variables with normal distribution were expressed as mean (standard deviation) and compared by the Student's *t* test. The variables with non-normal distribution (triglycerides, 2-h glucose) were expressed as median (interquartile range) and compared by the Mann-Whitney test. Categorical variables were analyzed by the chi square test. We also provide the 95% confidence interval (95% CI) for each comparison of the continuous variables [33]. The 95% CI that does not contain zero implies a significant difference between the groups. ANOVA was used to see if there was any difference in transcranial Doppler variables when the risk factors for CeVD were categorized in zero or one, two, or three or more risk factors. Correlations between vascular and clinical variables were assessed by the Pearson coefficient, in the pooled groups. MANCOVA using the transcranial Doppler variables (peak systolic velocity, mean flow

Table 1 Comparison of the continuous variables between 25 IGHD and 25 controls

Parameters	IGHD	Controls	95% CI	<i>p</i>
SBP (mmHg)	117 (21)	128 (13.8)	-21.82 to -1.19	0.030
DBP (mmHg)	73 (10.9)	83 (9.7)	-15.2 to -3.45	0.002
Fasting glucose (mg/dl)	89.6 (24)	99.4 (49.7)	-32.01-12.41	0.273
2-h glucose (mg/dl)	130 (41)	135 (44)	-38.76-8.36	0.358
Hemoglobin A1C (%)	5.9 (0.9)	5.8 (1.4)	-0.576-0.745	0.158
Total cholesterol (mg/dl)	214.3 (36)	211.7 (47)	-21.16-26.36	0.827
LDL cholesterol (mg/dl)	143.4 (33)	141.9 (39)	-18.86-21.92	0.881
HDL cholesterol (mg/dl)	43.7 (7.0)	44.0 (9.9)	-5.13-4.65	0.922
Triglycerides (mg/dl)	105 (81)	104.5 (117)	-42.6-43.4	0.634
Creatinine (mg/dl)	0.7 (0.2)	0.8 (0.2)	-0.22 to -0.04	0.015
C-reactive protein (mg/l)	6.7 (6.1)	2.8 (1.4)	1.13-6.55	0.007
Framingham Score	17.3 (17.6)	16.4 (14.8)	-8.19-10.29	0.820
IMT (mm)	1.08 (0.26)	1.11 (0.24)	-0.177-0.111	0.703
Peak systolic velocity (cm/s)	108.7 (23)	98.1 (17)	-1.47-22.60	0.084
Mean flow velocity (cm/s)	65.98 (15.3)	61.0 (14.9)	-3.99-13.86	0.271
Pulsatility index	1.09 (0.25)	1.02 (0.25)	-0.08-0.218	0.335
Resistance index	0.65 (0.72)	0.63 (0.11)	-0.037-0.07	0.518
BHI	0.96 (0.48)	1.13 (0.49)	-0.426-0.145	0.326

Data are expressed as mean (standard deviation), except for triglycerides and 2-h glucose expressed as median (interquartile range)

SBP systolic blood pressure, DBP diastolic blood pressure, IMT intima-media thickness, BHI breath-holding index

velocity, pulsatility, resistance, and breath-holding index) as dependent variables, with two factors (sex and group) as independent variables, and age as covariate, was performed to examine main and interaction effects of the factors and of the covariate on the defined multiple dependent variables. This is accomplished, by estimating their effect size by the partial eta-square. Partial eta-square indicates maximum effect when it is 1.0. No effect is indicated when partial eta-square is 0.0. The statistical software SPSS/PC 8.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL) was used. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results

Comparing the two groups, there was no significant difference in gender, smokers (three in IGHD and one in controls), number of diabetics (four in IGHD and five in control), number of subjects with impaired fasting glucose (none in IGHD and two in controls), with impaired glucose tolerance (seven in IGHD and eight in controls), and previous diagnostics of arterial hypertension (eight in IGHD and seven in controls), myocardial infarction (two in IGHD and none in controls), stroke (none in both groups), and in subjects with plaques with stenosis above 50% (one IGHD and none control). There was also no significant difference in the number of individuals being medically treated for

cardiovascular risk factors (eleven in IGHD and seven in controls).

Table 1 shows the comparison of the variables between 25 IGHD and 25 controls. Data are expressed as mean (standard deviation), except for triglycerides and 2-h glucose expressed as median (interquartile range). The 95% CI is also shown. Blood pressure and creatinine were lower, whereas CRP was higher in the IGHD group. The Framingham risk score and all the vascular measures (intima-media thickness, peak systolic velocity, mean flow velocity, pulsatility, the resistance, and breath-holding indexes) were similar between the IGHD and the controls, even when we excluded the subjects treated for cardiovascular morbidity (data not shown). Similarly, there was no difference in transcranial Doppler variables when the risk factors for CeVD were categorized in zero or one, two, or three or more risk factors, (data not shown). There were positive correlations in pooled groups between age and pulsatility index ($r = 0.618$, $p < 0.0001$), age and resistance index ($r = 0.691$, $p < 0.0001$), age and carotid intima-media thickness ($r = 0.667$, $p < 0.0001$), carotid intima-media thickness and pulsatility index ($r = 0.606$, $p < 0.0001$), carotid intima-media thickness and resistance index ($r = 0.607$, $p < 0.0001$), and carotid intima-media thickness and 2-h glucose after the OGTT ($r = 0.313$, $p = 0.041$).

MANCOVA revealed that age had a significant effect (partial eta-square 0.550, power 1, $p < 0.0001$) on the

Doppler variables. This effect is verified on resistance index (partial eta-square 0.459, power 1, $p < 0.0001$), and the pulsatility index (partial eta-square 0.34, power 0.997, $p < 0.0001$).

Discussion

To our knowledge, this work is the first study that used cerebral vasoreactivity as a surrogate marker for CeVD risk in congenital, lifetime, severe, and untreated IGHD. We show that untreated IGHD subjects, assessed by transcranial Doppler ultrasound, have four measures of intracranial hemodynamics (the peak systolic velocity, the mean flow velocity, the pulsatility index and the resistance index), and the response to a vasodilatory stimulus by the breath-holding maneuver that were similar to sex- and age-matched control subjects from the same community. All these measures, both in the IGHD and in the control groups, are in the normal range reported in several studies, which validates our experimental conditions [26, 29–32].

A recent meta-analysis involving data from 754 non-GH deficient patients from nine studies supports the utility of the vasodilatory transcranial Doppler stimulus test provoking hypercapnia via CO₂ inhalation or breath-holding in predicting CeVD risk for symptomatic and asymptomatic patients with severe carotid artery stenosis or occlusion. The authors emphasize that breath-holding may be easier to use in clinical practice than CO₂ inhalation, as it does not require the use of additional equipment [22].

The finding of normal cerebral vasoreactivity in these IGHD subjects is particularly interesting, if we keep in mind that these subjects have increased visceral adiposity [12], and this could be expected to have an adverse effect on cerebrovascular status. Nevertheless, in this IGHD model, visceral obesity is associated to improved insulin sensitivity [13] and high adiponectin levels [34]. The seemingly paradoxical association of increased insulin sensitivity with increased visceral adiposity is also shown in GH resistant mice, with changes in visceral fat secretory activity along with a significant increase in adiponectin concentrations [35, 36]. The transplantation of visceral fat from these mice improves insulin sensitivity of normal mice, suggesting a beneficial metabolic role of visceral adipose tissue in states of abolished GH action and severe IGF-I deficiency [37].

The normality of the cerebral vasoreactivity in these IGHD subjects confirms our previous data [12, 13, 38] that visceral adiposity does not have the harmful metabolic and vascular effects of relative [39], or acquired GHD in hypopituitarism [40], often accompanied by insulin resistance. In addition to visceral obesity, these IGHD subjects exhibit (since childhood) high levels of LDL cholesterol and CRP, and increased systolic pressure in adulthood, but

they do not have premature atherosclerosis [14–17]. However, because atherosclerosis is not completely absent, for ethical reasons, cardiovascular risk factors are routinely treated in this population.

Reduced cerebral vasoreactivity has been described in several conditions, including, among others, treated, virally suppressed HIV-infection [25], down syndrome [26], multiple sclerosis [27], arterial hypertension [41], and Alzheimer disease [42]. In all these conditions, the reduction in cerebral vasoreactivity was associated with cognitive impairment via endothelial dysfunction, vascular damage, or microembolism. In this study, we found that all the transcranial Doppler ultrasound parameters in IGHD group were similar to matched local controls. The most robust of these parameters is the breath-holding index, a noninvasive, simple, and physiologic method of assessing cerebral vasoreactivity. The breath-holding index of the IGHD was similar to controls, and in the range of normality [26, 31, 32]. Measurement of cerebrovascular reactivity may represent a better assessment of the hemodynamic effect of a carotid stenosis than the anatomical degree of stenosis, because it also takes into account the collateral supply, and it has been recommended to be used in the selection of patients who will benefit from carotid endarterectomy [31]. To compare a functional (transcranial Doppler ultrasound) with an anatomical (carotid scan) assessment, we measured the intima-media thickness. We had previously reported normal intima-media thickness in this IGHD group [15]. Although the current group is in average 7 years older than the previous one, including now individuals over 80 years of age, intima-media thickness was still similar to the control group, indicating again slow evolution of the atherosclerosis. It seems that age is more important for vascular status than IGHD, as it correlates with intima-media thickness and two parameters of the intracranial hemodynamics, the pulsatility and the resistance indexes. In addition, MANCOVA revealed that age, but not group, has a significant effect in Doppler transcranial measures.

Historically, there were four deaths in our IGHD cohort due to stroke, and only one by heart attack [19]. We had therefore hypothesized the possibility of finding worse cerebrovascular reactivity in the IGHD subjects. It is recognized that the parameters of the cerebral flow in the transcranial Doppler ultrasound are adversely influenced by accretion of cardiovascular risk factors [43]. In this sense, we assessed in the current study several cardiovascular risk factors: age, gender, glucose tolerance, previous coronary or CeVD, intima-media thickness, smoking, total and LDL cholesterol, triglycerides, blood pressure, creatinine, and CRP, keeping the matching of the IGHD to the control group, with exception of the three last parameters. The lower blood pressure in the IGHD likely reflects the

antihypertensive treatment offered to these subjects, who are known to have a mild increase in blood pressure [14]. Indeed, nine of the IGHD and only four of the control subjects were on antihypertensive medications. The lower creatinine levels reflect their lower muscular mass [16]. The higher CRP is a well-known characteristic of this group [15, 44]. In fact, there is an inverse mutual reaction between CRP and GH, and CRP is significantly reduced in acromegaly [45]. Now, we add that the peak systolic velocity, the mean flow velocity, the pulsatility, resistance, and breath-holding indexes were similar between the IGHD and the control subjects, indicating similar cerebrovascular reactivity between the two groups.

Two historical Swedish papers established an association between GHD and increased vascular mortality. The Rosen's report analyzed retrospectively 333 patients with hypopituitarism, and found that life expectancy was shortened, suggesting that GHD could be a factor in the increased mortality from vascular diseases [6]. The Bulow's report studied 344 patients who were receiving conventional hormone replacement for hypopituitarism. CeVD was the main contributor of the increased overall cardiovascular mortality, while the increase in mortality from cardiac diseases was much smaller [7]. It is possible that replacement therapies (thyroid, glucocorticoid, and gonadal steroids), combined with the consequences of neurosurgery and radiotherapy, may have contributed to the findings of these two important papers. Accordingly, a more recent study analyzed 1286 Swedish patients with hypopituitarism prospectively monitored in KIMS (Pfizer International Metabolic Database), with deaths from 1995 to 2009, and compared them with the general population data in the Swedish National Cause of Death Registry. An excess mortality was found, but it was mostly due to adrenal crises and intercurrent illness, and to the appearance of de novo malignant brain tumors in patients who previously received radiotherapy. The cardiovascular and cerebrovascular mortality did not significantly exceed that of the reference population [8]. In a nation-wide autopsy database of Japanese patients with hypopituitarism not treated with GH replacement therapy, there was a twofold increase in cerebrovascular mortality, and a four- to fivefold increase in intracerebral hemorrhage [9], possibly caused by cranial radiation therapy [46–48]. In a recent meta-analysis including 23,515 patients, hypopituitarism was associated with an overall excess mortality. The risk factors for increased mortality included younger age at diagnosis, female gender, diagnosis of craniopharyngioma, radiation therapy, transcranial surgery, diabetes insipidus, and hypogonadism [49]. The data of our study, raised in a model without any these confounders, suggest that IGHD is not, per se, a risk factor for CeVD.

One of the most salient features of human evolution is the dramatic increase in the brain size. This increase marks the basis of the higher cognitive functions, such as the social and environment interactions and the tools use. However, this was also coupled with the evolution of the bipedal stance, resulting in upright posture and consequent gravitational force against the blood flow above the heart level [24]. We have recently shown that these IGHD subjects have advantages in terms of walking and balance [50], somewhat related to their small body size. Now, we add that their cerebral vasoreactivity is also preserved, possibly increasing their survival capacity.

Our work has some limitations. First, we used a surrogate marker of CeVD, not the disease itself. Second, we used only one maneuver, the stimulus by hypercapnia, to assess the dynamic of the vasocerebral reactivity. Other stimulus may have different results. Third, as the IGHD subjects live a long time, and some become centenarians, we cannot determine whether the normal reactivity persists after 80 years of age.

In conclusion, in adult subjects without or with controlled cardiovascular risk factors, lifetime, untreated IGHD does not seem to impair vasocerebral reactivity.

Acknowledgements The authors thank the Associação do Crescimento Físico e Humano de Itabaianinha, for assistance.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest R.S. serves on Novordisk advisory board.

Ethical approval All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and National Research Committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

References

1. E.J. Benjamin, S.S. Vinnin, C.W. Callaway, A.M. Chamberlain, A.R. Chang, S. Cheng, S.E. Chluev, M. Cushman, F.N. Delling, R. Deo, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 137, e67–e492 (2018)
2. P. Delafontaine, Y.H. Song, Y. Li, Expression, regulation and function of IGF-1, IGF-1R and IGF-1 binding proteins in blood vessels. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24, 435–444 (2004)
3. W.E. Sonntag, C. Lynch, P. Thornton, A. Khan, S. Bennett, R. Ingram, The effects of growth hormone and IGF-I deficiency on cerebrovascular and brain ageing. *J. Anat.* 197, 575–585 (2000)
4. A. Colao, The GH-IGF-I axis and the cardiovascular system: clinical implications. *Clin. Endocrinol.* 69, 347–358 (2008)

5. A.S. Bates, W. Van't Hoff, P.J. Jones, R.N. Clayton, The effect of hypopituitarism on life expectancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **81**, 1169–1172 (1996)
6. T. Rosen, B.A. Bengtsson, Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. *Lancet* **336**, 285–288 (1999)
7. B. Bulow, L. Hagmar, Z. Mikoczy, C.H. Nordström, E.M. Erfurth, Increased cerebrovascular mortality in patients with hypopituitarism. *Clin. Endocrinol.* **46**, 75–81 (1997)
8. P. Burman, A.F. Mattsson, G. Johansson, C. Höybye, H. Holm, P. Dahlqvist, K. Berinder, B.E. Engström, B. Ekman, E.M. Erfurth, J. Svensson, J. Wahlberg, P.A. Karlsson, Deaths among adult patients with hypopituitarism: hypopituitarism during acute stress, and de novo malignant brain tumors contribute to an increased mortality. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **98**, 1466–1475 (2013)
9. H. Kaji, K. Chihara, Direct causes of death in Japanese patients with hypopituitarism as analyzed from a nation-wide autopsy database. *Eur. J. Endocrinol.* **150**, 149–152 (2004)
10. R. Salvatori, C.Y. Hayashida, M.H. Aguiar-Oliveira, J.A. Phillips III, A.H. Souza, R.G. Gondo, S.P. Toledo, M.M. Conceição, M. Prince, H.D. Maheshwari, G. Baumann, M.A. Levine, Familial Dwarfism due to a novel mutation of the growth hormone-releasing hormone receptor gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **84**, 917–923 (1999)
11. M.H. Aguiar-Oliveira, M.S. Gill, E.S. Barreto, M.R. Alcântara, F. Miraki-Moad, C.A. Menezes, A.H. Souza, C.E. Martinelli, P.A. Pereira, R. Salvatori, M.A. Levine, S.M. Shalet, C. Camacho-Hubner, P.E. Clayton, Effect of severe growth hormone (GH) deficiency due to a mutation in the GH-releasing hormone receptor on insulin-like growth factors (IGFs), IGF-binding proteins, and ternary complex formation throughout life. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **84**, 4118–4126 (1999)
12. E. Gomes-Santos, R. Salvatori, T.O. Ferrito, C.R. Oliveira, R.D. Diniz, J.A. Santana, P.A. Pereira, R.A. Barbosa, A.H. Souza, E.V. Melo, C.C. Epitácio-Pereira, A.A. Oliveira-Santos, J.A. Oliveira, J.A. Machado, P.J. Santana-Júnior, J.A.S. Barreto-Filho, M.H. Aguiar-Oliveira, Increased visceral adiposity and cortisol to cortisone ratio in adults with congenital lifetime isolated GH deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **99**, 3285–3289 (2014)
13. C.R. Oliveira, R. Salvatori, J.A. Barreto-Filho, I.E. Rocha, A. Mari, R.M. Pereira, V.C. Campos, M. Menezes, E. Gomes, R.A. Meneguz-Moreno, V.P. Araújo, N.T. Leite, C. Nascimento-Junior, M.I. Farias, T.A. Vicente, R.D. Araújo, E.V. Melo, M.H. Aguiar-Oliveira, Insulin sensitivity and β -cell function in adults with lifetime, untreated isolated growth hormone deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **97**, 1013–1019 (2012)
14. J.A. Barreto-Filho, M.R. Alcântara, R. Salvatori, M.A. Barreto, A. C. Sousa, V. Bastos, A.H. Souza, R.M. Pereira, P.E. Clayton, M. S. Gill, M.H. Aguiar-Oliveira, Familial isolated growth hormone deficiency is associated with increased systolic blood pressure, central obesity, and dyslipidemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **87**, 2018–2023 (2002)
15. J.L.M. Oliveira, C. Marques-Santos, J.A. Barreto-Filho, R. Ximenes Filho, A.V.O. Brito, A.H.O. Souza, C.M. Prado, C.R.P. Oliveira, R.M. Pereira, T.A.R. Vicente, C.T. Farias, M.H. Aguiar-Oliveira, R. Salvatori, Lack of evidence of premature atherosclerosis in untreated severe isolated growth hormone (GH) deficiency due to a GH-releasing hormone receptor mutation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91**, 2093–2099 (2006)
16. U.M. Costa, C.R. Oliveira, R. Salvatori, J.A. Barreto-Filho, V.C. Campos, F.T. Oliveira, I.E. Rocha, J.L. Oliveira, W.A. Silva, M. H. Aguiar-Oliveira, Brazilian adult individuals with untreated isolated GH deficiency do not have accelerated subclinical atherosclerosis. *Endocr. Connect.* **5**, 41–46 (2016)
17. A.H. Souza, M.I. Farias, R. Salvatori, G.M. Silva, J.A. Santana, P. A. Pereira, P.J. de Paula, E.H. Valença, E.V. Melo, R.A. Barbosa, R.M. Pereira, M.B. Gois-Junior, M.H. Aguiar-Oliveira, Lifetime, untreated isolated GH deficiency due to a GH-releasing hormone receptor mutation has beneficial consequences on bone status in older individuals, and does not influence their abdominal aorta calcification. *Endocrine* **47**, 191–197 (2014)
18. M.H. Aguiar-Oliveira, F.T. Oliveira, R.M. Pereira, C.R. Oliveira, A. Blackford, E.H. Valença, E.G. Santos, M.B. Gois-Junior, R.A. Meneguz-Moreno, V.P. Araújo, L.A. Oliveira-Neto, R.P. Almeida, M.A. Santos, N.T. Farias, D.C. Silveira, G.W. Cabral, F. R. Calazans, J.D. Seabra, T.P. Lopes, E.O. Rodrigues, L.A. Porto, I.P. Oliveira, E.V. Melo, M. Martari, R. Salvatori, Longevity in untreated congenital growth hormone deficiency due to a homozygous mutation in the GHRH receptor gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**, 714–721 (2010)
19. M.H. Aguiar-Oliveira, A. Bantke, Growth hormone deficiency: health and longevity. *Endocr. Rev.* **40**, 575–601 (2019)
20. S. Nakajima, J.S. Meyer, T. Amano, Cerebral vasomotor responsiveness during 100% oxygen inhalation in cerebral ischemia. *Arch. Neurol.* **40**, 271–276 (1983)
21. M. Menzel, E.M. Döppner, A. Zanner, J. Soukup, M.M. Reinert, T. Clausen, P.B. Brockenbrough, R. Bullock, Cerebral oxygenation in patients after severe head injury: monitoring and effects of arterial hyperoxia on cerebral blood flow, metabolism and intracranial pressure. *J. Neurosurg. Anesth.* **11**, 240–251 (1999)
22. M. Reinhardt, G. Schwitzer, M. Briel, C. Altamura, P. Palazzo, A. King, N.M. Bornstein, N. Petersen, E. Motschall, A. Hetzel, S. Randolph, R.S. Marshall, C.J. Klijn, M. Silvestrini, H.S. Markus, F. Vernieri, Cerebrovascular reactivity predicts stroke in high-grade carotid artery disease. *Neurology* **83**(16), 1424–1431 (2014)
23. I. Hegedüs, J. Milić, A. Čosić, K. Buljan, I. Drenjančević, Cerebrovascular reactivity in acute hypoxia in patients with acute ischaemic stroke. *Brain Injury* **31**(4), 560–566 (2017)
24. E.D. Ozturk, C.O. Tan, Human cerebrovascular function in health and disease: insights from integrative approaches. *J. Physiol. Anthropol.* **37**, 1–11 (2018)
25. F.C. Chow, W.J. Boscardin, C. Mills, N. Ko, C. Carroll, R.W. Price, S. Deeks, F.A. Sorond, P.Y. Hsue, Cerebral vasoreactivity is impaired in treated, virally suppressed HIV-infected individuals. *AIDS* **30**, 45–55 (2016)
26. M. Colella, C. Stilo, A. Cocchella, D. Bianchini, A. Pilotto, P. Del Sette, R. Musolino, Cerebral vasoreactivity and intima-media thickness in Down syndrome: a case-control study. *J. Neurol. Sci.* **385**, 57–63 (2018)
27. A. Metzger, E. Le Bars, J. Deverdan, F. Molino, B. Marchal, M. C. Picot, X. Aygnac, C. Carra, L. Bauchet, A. Krainik, P. Labauge, N.M. Champfleury, Is impaired cerebral vasoreactivity an early marker of cognitive decline in multiple sclerosis patients? *Eur. Radiol.* **28**, 1204–1214 (2018)
28. R.B. D'Agostino, S. Grundy, L.M. Sullivan, P. Wilson, Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores. *JAMA* **286**, 180–187 (2001)
29. J. Kacynski, R. Home, K. Shields, M. Walters, W. Whiteley, J. Wastlaw, D.E. Newby, Reproducibility of Transcranial Doppler ultrasound in the middle cerebral artery. *Cardiovasc. Ultrasound* **16**, 15 (2018)
30. L. Bathala, M. Mehndiratta, V.K. Sharma, Transcranial doppler: technique and common findings (Part 1). *Ann. Indian Acad. Neurol.* **16**, 174–179 (2013)
31. H.S. Markus, M.J. Harrison, Estimation of cerebrovascular reactivity using transcranial Doppler, including the use of breath-holding as the vasodilatory stimulus. *Stroke* **23**, 668–673 (1992)
32. R. Totaro, C. Marini, M. Baldassarre, A. Cameli, Cerebrovascular reactivity evaluated by transcranial Doppler: reproducibility of different methods. *Cerebrovasc. Dis.* **9**, 142–145 (1999)

33. O.M. Dekkers, Why not to (over) emphasize statistical significance. *Eur. J. Endocrinol.* **181**(3), E1–E2 (2019)
34. C.R.P. Oliveira, R. Salvatori, R.A. Menegaz-Moreno, M.H. Aguiar-Oliveira, R.M.C. Pereira, E.H.A. Valença, V.P. Anajo, N. T. Farias, D.C.R. Silveira, J.G.H. Vieira, J.A.S. Barreto-Filho, Adipokine profile and urinary albumin excretion in isolated growth hormone deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**(2), 693–698 (2010)
35. K.A. Al-Regaiey, M.M. Masternak, M. Bonkowski, L. Sun, A. Bartke, Long-lived growth hormone receptor knockout mice: interaction of reduced insulin-like growth factor 1/insulin signaling and caloric restriction. *Endocrinology* **146**(2), 851–860 (2005)
36. M.M. Masternak, A. Bartke, F. Wang, A. Spong, A. Gesing, Y. Fang, A.B. Salmon, L.F. Hughes, T. Liberati, R. Bopani, J.J. Kopchick, R. Westbrook, Metabolic effects of intra-abdominal fat in GHRKO mice. *Aging Cell* **11**(1), 73–81 (2012)
37. M.T. Bennis, A. Schneider, B. Victoria, A. Do, D.S. Wiesenborn, L. Spinel, A. Gesing, J.J. Kopchick, S.A. Siddiqi, M.M. Masternak, The role of transplanted visceral fat from the long-lived growth hormone receptor knockout mice on insulin signaling. *Geroscience* **39**(1), 51–59 (2017)
38. M.H. Aguiar-Oliveira, A.H.O. Souza, C.R.P. Oliveira, V.C. Campos, L.A. Oliveira-Neto, R. Salvatori, Mechanisms in endocrinology: the multiple facets of GHRH/GH/IGF-I axis: lessons from lifetime, untreated, isolated GH deficiency due to a GHRH receptor gene mutation. *Eur. J. Endocrinol.* **177**, R85–R97 (2017)
39. K.K. Miller, B.M. Biller, J.G. Lipman, G. Bradwin, N. Rifai, A. Klibanski, Truncal adiposity, relative growth hormone deficiency, and cardiovascular risk. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **90**, 768–774 (2005)
40. M. Gola, S. Bonadonna, M. Doga, A. Giustina, Clinical review: growth hormone and cardiovascular risk factors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **90**, 1864–1870 (2005)
41. I. Hajjar, V. Marmorelis, D.C. Shin, H. Chui, Assessment of cerebrovascular reactivity during resting state breathing and its correlation with cognitive function in hypertension. *Cerebrovasc. Dis.* **38**, 10–16 (2014)
42. A. Tomek, B. Urbanová, J. Hort, Utility of transcranial ultrasound in predicting Alzheimer's disease risk. *J. Alzheimers Dis.* **42**, S365–S374 (2014)
43. A. Kwiat, J. Gapowski, B. Wizner, Z. Kasprzyk, M. Cwynar, K. Rewiuk, T. Grodzicki, Cardiovascular risk factors as determinants of cerebral blood flow – a cross-sectional and 6-year follow-up study. *Blood Press.* **29**(3), 182–190 (2020)
44. C.S. Barros-Oliveira, R. Salvatori, J.S.S. Dos Santos, P.F.C. Santos, A.A. Oliveira-Santos, C.G. Marinho, E.G. Santos, A.C.G. B. Leal, V.C. Campos, N.P. Damascena, C.R.P. Oliveira, M.H. Aguiar-Oliveira, Sweat and vitamin D status in congenital, lifetime, untreated GH deficiency. *Endocrine* **68**, 710–713 (2019)
45. J. Verhelst, B. Velkeniers, D. Maiter, P. Haetjens, G. T'Sjoen, E. Riettschel, B. Corvilain, P. Abrams, F. Nobels, R. Abs, M. Bex, Active acromegaly is associated with decreased hs-CRP and NT-proBNP serum levels: insights from the Belgian registry of acromegaly. *Eur. J. Endocrinol.* **168**, 177–184 (2013)
46. K.E. Muros, J.F. Toole, The effect of radiation on carotid arteries. *Arch. Neurol.* **46**, 449–455 (1989)
47. J. Bowen, C.A. Paulsen, Stroke after pituitary irradiation. *Stroke* **23**, 908–911 (1992)
48. M. Bitzer, H. Topka, Progressive cerebral occlusive disease after radiation therapy. *Stroke* **26**, 131–136 (1995)
49. S. Jasim, F. Alahdab, A.T. Ahmed, S. Tamhane, L.J. Prokop, T.B. Nippoldt, M.H. Murad, Mortality in adults with hypopituitarism: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine* **56**, 33–42 (2017)
50. A.A. Santana-Ribeiro, G.A. Moreim-Brasileiro, M.H. Aguiar-Oliveira, R. Salvatori, V.O. Carvalho, C.K. Alvim-Pereira, C.R. Araújo-Daniel, J.G. Reis-Costa, A.L. Andrade-Guimarães, A.A. Oliveira-Santos, E.R. Vieira, M.B. Gois-Junior, Walking and postural balance in adults with severe short stature due to isolated GH deficiency. *Endocr. Connect.* **8**, 416–424 (2019)

Apêndice B: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Estamos convidando-o a participar como voluntário da pesquisa **“DOENÇA CEREBROVASCULAR EM PACIENTES COM DEFICIÊNCIA ISOLADA DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO”** que faz parte da linha de pesquisa **“Consequências da Deficiência Isolada e Vitalícia do Hormônio de Crescimento”** que há 24 anos procura estabelecer as consequências da falta do hormônio de crescimento no organismo dos “anões de Itabaianinha”.

A doença cerebrovascular – com o evento mais importante o acidente vascular encefálico (“derrame”) – é uma das causas mais prevalentes de morte e incapacidade do mundo, tendo diversos fatores de risco como o diabetes e o colesterol elevado, mas há outros ainda a serem estudados. Sendo assim, a nossa pesquisa objetiva avaliar a relação entre a deficiência isolada de hormônio de crescimento e a ocorrência da doença cerebrovascular.

Serão realizados exames não invasivos de ultrassonografias, onde uma sonda é deslizada através de um gel sobre a pele, similar ao exame normal de ultrassom. O presente trabalho envolve uma coleta de 10 ml de sangue que pode provocar alguma dor ou mancha que desaparece espontaneamente no local. Também serão submetidos a exame físico geral, com aferição de peso, estatura e pressão arterial.

Todos os resultados serão entregues aos participantes. Diante de resultados anormais, será procedido o encaminhamento necessário. Você têm a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores.

Em caso de dúvidas sobre o estudo, você poderá entrar em contato com Cindi G. Marinho Coutinho por meio de telefone (79) 99192-8282 ou pelo e-mail cindigm@yahoo.com.br. Após ter sido esclarecido sobre a natureza da pesquisa, objetivos, riscos e benefícios, aceito participar.

Aracaju, ____ de _____ de _____

Assinatura ou datiloscopia do participante

Assinatura do pesquisador

Apêndice C: Formulário com perguntas aos participantes da pesquisa.

PESQUISA

NOME: _____

DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____ Idade: _____

Doenças pessoais prévias:

Hipertensão arterial	() Sim	() Não
Diabetes mellitus	() Sim	() Não
Infarto agudo de miocárdio	() Sim	() Não
Acidente Vascular Encefálico	() Sim	() Não
Outras	_____	

Histórico Familiar:

Infarto agudo de miocárdio	() Sim	() Não
Acidente Vascular Encefálico	() Sim	() Não

Medicamentos em uso:

Hábitos e vícios:



Etilismo (tipo e frequência)		
Tabagismo atual	() Sim	() Não
Atividade física	() Sim	() Não



Exame físico:

Peso		Pressão arterial medida 1	
Altura		Pressão arterial medida 2	
IMC		Pressão arterial medida 3	
		Média da PA	

ANEXO – Aprovação do Projeto na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP



UFS - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Doença Cerebrovascular em Pacientes com Deficiência Isolada do Hormônio do Crescimento

Pesquisador: CINDI GUIMARAES MARINHO COUTINHO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 14383319.5.0000.5546

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.423.043

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo "Informações Básicas da Pesquisa" (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1363606.pdf 21/06/2019).

INTRODUÇÃO

A doença cerebrovascular (DCEV) é uma das causas mais prevalentes de morte e incapacidade no mundo. Nos Estados Unidos da América, uma pessoa apresenta um acidente vascular encefálico (AVE) a cada 40 segundos e, a cada 4 minutos, um norte-americano morre pelo evento. No mundo, cerca de 795.000 pessoas sofrem um AVE anualmente. Estima-se que em 2030 haverá um aumento de 20,5% em sua prevalência

comparada ao ano de 2012 de acordo com a American Heart Association. Cerca de 87% dos eventos são provocados por isquemia decorrente de obstrução arterial, devido a trombo ou embolia. Vários fatores estão associados à DCEV como dislipidemia, diabetes, hipertensão arterial, sobrepeso/obesidade e tabagismo¹. Neste sentido, o aumento da espessura médio-intimal carotídea (EMIC) e a presença de placa carotídea são fortemente associados a eventos cerebrovasculares². Similarmente, indivíduos com escore de cálcio coronariano elevado são mais propensos a terem estenose carotídea significativa e irregularidade da placa carotídea, aumentando potencialmente o risco de um evento isquêmico cerebral³. No entanto, embora a DCEV seja frequentemente associada à doença cardiovascular

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

CEP: 49.060-110

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)3194-7208

E-mail: cephu@ufs.br



UFS - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE



Continuação do Parecer: 3.423.043

(DCV), é possível que haja dissociação entre as duas condições. Ambos GH e IGF-I estimulam proliferação de células endoteliais e angiogênese 4. A elevada expressão de IGF-I na vasculatura sugere que ambos os peptídeos tem um importante papel no crescimento e reparo vascular 5. Além disso, as células endoteliais possuem ligação de alta afinidade para IGF-I, estimulando, assim, a produção do óxido nítrico 6. Também o IGF-I e seus IGF-BPs (proteínas ligadoras de IGF) participariam da angiogênese e de processos de reparo da inflamação após eventos isquêmicos 7. A deficiência de GH (DGH), frequentemente adquirida, provoca diminuição da produção de óxido nítrico, aumento da atividade simpática, elevação do fibrinogênio e dos níveis de proteína C reativa 8, disfunção endotelial 9, hipercoagulabilidade 10, obesidade abdominal, resistência insulínica, dislipidemia 11, aterosclerose, DCV e eventualmente DCEV 8. Neste sentido, trabalhos de duas a três décadas atrás evidenciaram uma maior mortalidade cardiovascular em pacientes com hipopituitarismo com deficiência de GH (DGH), associada a múltiplas deficiências de outros hormônios pituitários, com frequentes déficits de hormônios tireoidianos, adrenais e sexuais, repostos "convencionalmente" (com as imperfeições da época), mas sem terapia com GH 12,13,14. Dados mais recentes não evidenciaram o aumento de mortalidade por causas cardiovasculares, mas sim em decorrência de crise adrenal e surgimento de um novo tumor cerebral em quem havia recebido radioterapia 15. No entanto, a mortalidade cerebrovascular persiste elevada em alguns estudos em pacientes com hipopituitarismo 13,14,16. A relação deste aumento da mortalidade cerebrovascular e a DGH não é comprovada nestes estudos, devido a vários fatores confundidores, como deficiências hormonais, seu tratamento, radioterapia e diferentes causas do hipopituitarismo. Um modelo de deficiência isolada de hormônio de crescimento (DIGH), congênito e sem tratamento seria ideal para avaliar a relação entre a deficiência de GH e a DCEV. Há vinte e quatro anos, uma coorte de 105 indivíduos - vivos e mortos - com DIGH devido à mutação homozigótica c.57+1G>A no gene do receptor do hormônio liberador de GH (GHRHR) foi descrita no município de Itabalaninha no estado de Sergipe e vem sendo estudada minuciosamente. Estes indivíduos apresentam baixa estatura severa, fômites de boneca, voz aguda e obesidade central, com aumento do percentual de massa gorda 17. Esses indivíduos exibem níveis mais elevados de colesterol total e LDL-colesterol e proteína C reativa 18, elevada frequência de periodontite 19,20, porém sem evidências de aterosclerose prematura avaliada pela espessura médio-intimal das carótidas (EMIC) 21, escore de cálcio coronariano 22 e calcificações da aorta abdominal 2.

Desenho

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

CEP: 49.060-110

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)3194-7208

E-mail: cephu@ufs.br



UFS - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE



Continuação do Parecer: 3.423.043

O presente estudo faz parte da pesquisa "Consequências da Deficiência Isolada e Vitalícia do Hormônio de Crescimento" da linha de pesquisa "Doenças Genéticas Endócrinas do NPGME". Esta pesquisa utiliza uma coorte de indivíduos com deficiência isolada de hormônio de crescimento (DIGH) que vive no município de Itabalaninha, na qual procura-se estabelecer o inventário das consequências do hormônio de crescimento no organismo humano. Pretende-se estudar todos os indivíduos com DIGH residentes em Itabalaninha que se voluntariarem. Trata-se de um estudo transversal utilizando um grupo controle. O tamanho amostral mínimo seria de 25 indivíduos com DIGH e de 25 indivíduos controles. Serão avaliados dados antropométricos como aferição de peso, altura, bem como medida de pressão arterial. Dados laboratoriais como glicemia de jejum, hemoglobina glicada, colesterol total e suas frações e proteína C reativa serão utilizados. Além disso, serão dosados marcadores inflamatórios como

Interleucina 6, TNF alfa e MCP-1. Serão avaliados parâmetros da ultrassonografia doppler transcraniana em repouso e após manobra que induza hipercapnia. Adicionalmente, será avaliada a espessura intimal-média da carótida e será feita correlação entre os achados da ultrassonografia transcraniana e o ultrassonografia de carótidas. Os exames de imagem e parte dos exames laboratoriais serão realizados no Hospital Universitário por profissionais devidamente habilitados sem custos adicionais. Uma parte dos exames laboratoriais (marcadores inflamatórios, de longevidade) será feita também sem custos adicionais na Universidade da Flórida.

Hipótese:

Será que a prevalência de doença cerebrovascular é maior nas pessoas com DIGH do que na população geral?

METODOLOGIA

Pretende-se estudar todos os indivíduos com deficiência isolada do hormônio de crescimento residentes em Itabalaninha que se voluntariarem. O tamanho amostral mínimo seria de 25 indivíduos com DIGH e de 25 indivíduos controles. Trata-se de um estudo transversal utilizando grupo controle. A partir do número de indivíduos com DIGH localizados será constituído um grupo controle local pareado por idade e sexo. As variáveis de estudo serão qualitativas e quantitativas. Serão incluídos: sexo, idade, dados antropométricos, incluindo peso, altura e índice de massa corpórea, além da pressão arterial.

Dados laboratoriais como glicemia de jejum, hemoglobina glicada, colesterol total e frações e proteína C reativa serão utilizados, bem como marcadores inflamatórios. Esses exames serão feitos no laboratório do Hospital Universitário de Sergipe, mas os marcadores de longevidade como Interleucina 6, TNF alfa e MCP-1 serão realizados sem qualquer custo adicional na

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

CEP: 49.060-110

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)3194-7208

E-mail: cephu@ufs.br



UFS - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE



Continuação do Parecer: 3.423.043

Universidade da Flórida através da cooperação dos professores Andrzej Bartke e Michal Masternak sem qualquer custo adicional. Embora estas dosagens possam ser feitas no Brasil, a realização neste outro serviço permitirá comparar com a mesma metodologia esses marcadores em diversos modelos de camundongos com diferentes transtornos no eixo do hormônio de crescimento. Os dados do DTC de VPS, VDF, VM, IP e IR durante o repouso e após manobra que induza hipercapnia também serão evidenciados. Adicionalmente, será avaliada a espessura intimal-média da carótida e será feita correlação entre os achados da

ultrassonografia transcraniana e o ultrassonografia de carótidas. Os exames de ultrassonografia descritos serão feitos no Hospital Universitário de Sergipe. A realização do DTC será realizada sem custos por Dr. Hyder Aragão através do aparelho de Doppler box da empresa DWL utilizando-se um probe de 2 MHz. Já a ultrassonografia com doppler de carótidas será feita por Dr. Marco Prado também sem custos adicionais. Faremos a coleta dos dados antropométricos e pressão arterial no mesmo dia que a realização dos exames de imagem e coleta de exames de sangue. Só se encerrará a coleta após realização de exames de todos os indivíduos. Os dados laboratoriais e dos exames de imagem, que são de interesse clínico, serão realizados após cadastro dos pacientes no Hospital Universitário.

Critério de Exclusão: - Pacientes com deficiência isolada de GH submetidos a tratamento com hormônio do crescimento e - Menores de 18 anos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: - Avaliar a presença de Doença Cerebrovascular em indivíduos com DIGH

Objetivo Secundário: - Identificar ao DTC parâmetros como a velocidade sistólica de pico (VSP), velocidade diastólica final (VDF), velocidade média (VM), o índice de pulsatilidade (IP) e o índice de resistência (IR) durante o repouso e após manobra que induza hipercapnia (teste da apnéia)- Verificar a associação de parâmetros antropométricos e laboratoriais gerais bem como de marcadores inflamatórios com os dados do DTC- Medir a espessura mediantintimal carotídea (EMIC) - Correlacionar a DTC com a EMIC.

avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos incluem dor ou surgimento de mancha que geralmente desaparece espontaneamente no local, além de tonturas, ânsia de vômito pelo período longo de jejum. Durante o ultrassom com doppler transcraniano, será feito um procedimento que pode deixá-lo tonto, com dor de cabeça leve de forma bem rápida. Para reduzir as chances desses efeitos, os profissionais envolvidos na pesquisa tem experiência vasta, sempre com a presença de um médico no ambiente*.

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº	CEP: 49.060-110
Bairro: Sanatório	
UF: SE	Município: ARACAJU
Telefone: (79)3194-7208	E-mail: cephu@ufs.br



Continuação do Parecer: 3.423.043

Benefícios:

Os participantes terão acesso a exames complementares sem qualquer custo e, caso exames alterados, serão imediatamente encaminhados para os devidos profissionais para as intervenções adequadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Desfecho Primário: - Alteração do doppler transcraniano e ultrassonografia de carótida denotando desfechos substitutos para doença cerebrovascular.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os Termos de apresentação obrigatória se encontram de de acordo com as orientações da CONEP-MS.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram observados óbices éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com as RES. 466-2012 e 510-2016 é de responsabilidade do pesquisador enviar os relatórios parcial e final da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1363606.pdf	21/06/2019 11:51:16		Acelto
Outros	CartadeRespostaPendencias.doc	21/06/2019 11:42:15	CINDI GUIMARAES MARINHO COUTINHO	Acelto
Cronograma	Cronograma.docx	21/06/2019 11:30:48	CINDI GUIMARAES MARINHO COUTINHO	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	CEPCindiProjetoMestrado2.docx	21/06/2019 11:28:46	CINDI GUIMARAES MARINHO COUTINHO	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracaolab.pdf	21/06/2019 11:26:48	CINDI GUIMARAES MARINHO COUTINHO	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracaolimagem.pdf	21/06/2019 11:26:24	CINDI GUIMARAES MARINHO COUTINHO	Acelto

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

CEP: 49.060-110

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)3194-7208

E-mail: cephu@ufs.br



UFS - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE



Continuação do Parecer: 3.423.043

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEfinal.pdf	21/06/2019 11:19:10	CINDI GUIMARAES MARINHO COUTINHO	Acelto
Folha de Rosto	Folhaderostofinal.pdf	21/06/2019 11:14:38	CINDI GUIMARAES MARINHO COUTINHO	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACAJU, 28 de Junho de 2019

Assinado por:

Anita Herminia Oliveira Souza
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

CEP: 49.060-110

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)3194-7208

E-mail: cephu@ufs.br