

MARGARETE LOPES DA SILVA

**VALORES DE REFERÊNCIA DE CORTISOL SALIVAR
PARA AVALIAÇÃO ADRENAL EM CRIANÇAS
MENORES DE TRÊS ANOS, SEM PATOLOGIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Pediatria, Área de Concentração em Pediatria, da Faculdade de Medicina de Botucatu –UNESP, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Giesela Fleicher Ferrari
Co-Orientadora: Prof^ª Dr^ª Márcia Carvalho Mallozi

**BOTUCATU
2002**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, *Ivaldo e Celeste*, os quais com todo sacrifício me possibilitaram que hoje eu pudesse atingir este ponto, realizando o meu sonho. Aos meus pais, que sempre me acompanham, nos momentos de alegria ou nos mais árduos e, que eternamente, guardarei dentro do meu coração.

Dedico também ao Igor, meu irmãozinho e, espero que ele um dia tenha a possibilidade de realizar os seus sonhos, seguindo um caminho de forma responsável, sempre respeitando ao próximo.

AGRADECIMENTOS

À *Profª. Drª. Giesela Fleischer Ferrari*, minha orientadora, que se espelhou num espírito de paciência e dedicação, impondo, nos momentos certos, os limites dos desafios imaginários. Mostrou o seu lado humano, de mãe preocupada, dispondo-se de toda atenção à sua aluna, envolvendo sentimentos de ternura e apoio.

À *Profª. Drª. Márcia Carvalho Mallozzi*, minha co-orientadora que de forma amiga e sincera me ofereceu todo o seu apoio, proporcionando associar minha atividade profissional com a pós-graduação.

O estímulo científico que tenho hoje devo ao *Drº. Juang Horng Jhy*. Através dele, eu passei a cultivar o interesse didático, que pouco a pouco se amadureceu, tornando um objetivo de busca para a realização do meu sonho. Ao meu mestre, meu ídolo hoje agradeço a chance de ter aprendido, de poder continuar aprendendo e de poder passar a outras pessoas seus ensinamentos, pois este é o verdadeiro espírito didático.

Porém é importante lembrar como tudo começou, partindo do dia do concurso para docência na Faculdade de Medicina Fundação ABC, onde tive meu início acadêmico e participo da atividade didática. As principais pessoas que me deram muito apoio no início da carreira foram os meus professores, *Drº. Dráuzio Viegas*, *Drª. Neusa Falbo Wandelsen* e o *Drº. Emílio Jaldin Caldéron (in memorian)* aos quais eternamente devo e, hoje demonstro o meu reconhecimento.

Na Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP) a primeira pessoa que tive contato, apesar de um breve período, foi suficiente para perceber que se tratava de um professor muito especial, capaz de irradiar qualidades de entusiasmo e reconhecimento de valores. Hoje este professor

não está entre nós, mas com certeza ele está lá em cima olhando por todos,
Profº. Drº. Pádua.

Na UNESP tive auxílio de outros professores, *Profº. Drº. Cláudio Antônio Rabello Coelho*, que forneceu orientações a respeito da análise estatística e, o *Profº. Drº. Antônio Caetano Pereira Simões*, que também colaborou muito através da sua iniciativa de apoio e sugestões.

*Quando se viaja em direção a um objetivo é muito importante prestar atenção no caminho. O caminho é que sempre nos ensina a melhor maneira de chegar, e nos enriquece, enquanto estamos cruzando **. E nesta trajetória para realização do meu trabalho, dentre os aspectos positivos foi conhecer várias pessoas, onde hoje posso dizer que são meus amigos. Estes, nos momentos mais difíceis deram palavras de conforto e de estímulo, com total paciência. Destes agradeço:

Aos profissionais do Departamento de Pediatria da UNESP, *Adriana de Fátima Bazzo Tavares, Maria do Carmo da Silva Oliveira, Paulo Cezar Lopes, Fabiano Luiz Michelin.*

Aos profissionais do Departamento de Pós-Graduação da UNESP, *Vera Lúcia Aparecida Megue, Regina Célia Espadin, Natanael Pinheiro Salles, Lilian Cristina Biachi Nunes.*

Aos médicos, docentes da Faculdade de Medicina Fundação ABC *Marisa S. Laranjeira, Roseli Saccardo Sarni, Denise de Oliveira Schöeps.*

À secretária da residência médica da Faculdade de Medicina Fundação ABC, Srª. Fátima no seu apoio de encaminhamento do projeto de pesquisa à Comissão de Ética e Pesquisa da faculdade.

Porém nesta trajetória árdua *existem momentos na vida em que a única alternativa possível é perder o controle *** e neste momento tive uma atenção muito especial, que soube me confortar; por este momento, sempre lhe serei grata, *Profª. Drª. Tamara Beres Lederer Goldberg.*

Nas horas de maior dificuldade posso dizer que fui protegida por um anjo, um irmão, que soube dar todo apoio necessário, *Drº. Ho Chi Hsien*. Muito obrigada por ser meu amigo.

Outro ponto fundamental para a realização do trabalho foi o *Profº. Drº. José Gilberto H. Vieira* que diretamente se dispôs a dar orientações quanto à técnica de dosagem laboratorial, colaborando também para a possibilidade dos exames serem processados no laboratório Fleury. Aproveito o momento para agradecer toda a equipe do Fleury que participou diretamente do trabalho, *Humberto A. Lanzara, Fátima Cabral* (departamento comercial), *Drª. Maria Hsu Rocha*.

Agradeço ao grupo de enfermagem Ismael, Elvio, Neusa, Cléria, Maria Aparecida, Lia, aos agentes de saúde de Capuava, Ruth e Fernando e, aos agentes de saúde dos serviços Alaíde Maria e Cidade dos Meninos.

Pela atenção de alguns especialistas agradeço *Drª. Sônia* (endocrinologista da Faculdade de Medicina Fundação ABC) que colaborou na fase de opção de técnica laboratorial para o estudo; *Profª. Drª. Tatiana Rozov* que também ofereceu seu apoio, de forma muito gentil. Também devo lembrar do agradecimento à *Drª Sandra Passos*, à *Diretoria do Hospital PS Central de São Bernardo* e ao *Drº Vladimir* (Alaíde Maria).

Na colaboração do procedimento estatístico agradeço aos professores *Fábio Tadeu Montesano, Flávio Ferrari Aragon* e *Carlos Roberto Padovani*.

Agradeço à ternura, à dedicação e à paciência das bibliotecárias da UNESP, Rosimary Cristina da Silva e Elza Numata.

Por fim, não posso deixar de lembrar da participação de cada criança no estudo, pois sem elas nada poderia ter sido possível.

Cada pessoa, em sua existência, pode ter duas atitudes, Construir ou Plantar. Os construtores podem demorar anos em suas tarefas,

*mas um dia terminam aquilo que estavam fazendo. Então param, e ficam limitados por suas próprias paredes. A vida perde sentido quando a construção acaba. Os que plantam sofrem com as tempestades, as estações e raramente descansam. Mas ao contrário de um edifício, o jardim jamais pára de crescer. E ao mesmo tempo que exige a atenção do jardineiro, também permite que, para ele, a vida seja uma grande aventura. ***

*O seu coração está onde está o seu tesouro. E seu tesouro precisa ser encontrado para que tudo possa fazer sentido ***. O maior tesouro que o homem tem é o sonho. A partir do sonho são lançados os desafios, dando a razão de viver.*

*Coelho P. *O Diário de um Mago* (1999).

* Coelho P. *Brida* (1998).

*** Coelho P. *O Alquimista* (1998).

GLOSSÁRIO DE ABREVIATURAS

- ACTH** – Hormônio adrenocorticotrófico
- ADH** – Hormônio anti-diurético
- AP- 1** – Proteína ativadora A-1
- CBG** – “cortisol- binding- globulin”
- CE(s)** – Corticosteróide (s)
- CRH** – Hormônio liberador da corticotrofina
- D (s)** – Dia (s)
- DNA** – Ácido desoxirribonucléico
- HHA** – Eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal
- IL (s)** – Interleucina (s)
- LDL** – Lipoproteína de densidade baixa
- ml** – Mililitro (s)
- NF- κ B** – Proteína kapa B
- ng / dl** – Nanograma por decilitro
- RNA m** – Ácido ribonucléico mensageiro
- rpm** – Rotações por minuto
- TSC** – Transcortina
- VLDL** – Lipoproteína de densidade muito baixa
- 17 OH** – 17 Hidroxicorticosteróide
- 17 KS** – 17 Cetoesteróide
- > , <** – Maior, Menor

SILVA, ML. VALORES DE REFERÊNCIA DE CORTISOL SALIVAR PARA AVALIAÇÃO ADRENAL EM CRIANÇAS MENORES DE TRÊS ANOS, SEM PATOLOGIAS. Botucatu, 2002. 141p.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP).

Objetivo: Estabelecer nível de normalidade de cortisol salivar em crianças menores de três anos, saudáveis, assim como identificar período etário possível de maturidade do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal.

Métodos: Dosagem de cortisol salivar por método de radioimunoensaio.

Resultados: Não foram observadas diferenças significativas na dosagem de cortisol salivar entre as faixas etárias estudadas. Todos os grupos apresentaram uma produção elevada de cortisol pela manhã e reduzida à tarde.

Conclusões: *Considerou-se como valor de normalidade no percentil 50 para menores de três anos, sem patologias de 160ng/dl (cortisol salivar cedo) e de 101ng/dl (cortisol salivar tarde). A partir de 45 dias de vida, a criança tem a capacidade de produzir um ritmo circadiano normal.*

ABSTRACT

SILVA, ML. REFERENCE VALUES OF SALIVARY CORTISOL TO STUDY THE FUNCTION ADRENAL FOR CHILDREN UNDER THREE YEARS OLD WITHOUT PATHOLOGIES

Post Graduation – Pediatrics Department, Botucatu Faculty of Medicine (UNESP) – São Paulo - Brazil

Objective: To establish normal salivary cortisol levels for healthy children under 3 years old, and to identify the possible age of maturity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis.

Methods: Salivary cortisol dosage by radioimmunoassay.

Results: There were no significant differences in salivary cortisol dosage between the age bands studied. All groups displayed higher cortisol production in mornings than afternoons.

Conclusions: *The normal value was considered as the median, and was 160ng/dl (early salivary cortisol) and 101ng/dl (late salivary cortisol). Starting at 45 days old, the child was able to produce in a normal circadian rhythm.*

INTRODUÇÃO

No começo do século XX, a partir da observação de que a epinefrina era incapaz de manter a vida de animais adrenalectomizados, intensificaram-se estudos para descobrir o “ princípio ativo ” que salvaria vidas. O primeiro extrato obtido através de córtex adrenal, recebeu de Hartman a denominação “cortina”. Somente em 1949, Sarett e colaboradores produziram cortisona para terapêutica de pacientes com insuficiência adrenal primária, a doença de Addison. Neste período, o sucesso medicamentoso em artrite reumática despertou uma grande euforia, tornando o cortisol a droga mais freqüentemente prescrita (HENCH et al., 1949).

O cortisol ou corticosteróide (*CE*), como agente anti-inflamatório, apresenta uma grande variedade de aplicações clínicas. É indicado desde momentos adversos intra-útero, como na imaturidade pulmonar, estendendo-se a doenças do colágeno, infecciosas, gastrointestinais, cardiovasculares, endócrinas, oncológicas, alérgicas, renais, hepáticas, metabólicas, auto-imunes, oftálmicas e inclusive para prevenir rejeição a transplantes (KUPERMAN, 1997).

Na pediatria mesmo o profissional não especializado faz uso freqüente de *CE*, dando-se maior destaque a situações de doenças respiratórias.

Com relação aos distúrbios respiratórios de crianças, a corticoterapia é importante na Broncodisplasia Pulmonar (BANCALARI, 1998; HALLIDAY & EHRENKRANZ, 2000 a,b,c), no comprometimento de vias aéreas superiores pós-extubação (MARKOVITZ & RANDOLPH, 2000), evitando a necessidade de reintubar, na garantia de possível oferta de parâmetros ventilatórios menos agressivos durante a ventilação mecânica e, em pacientes com alergia respiratória. Na asma, o *CE* controla os sintomas, diminui

exacerbações e tratamento hospitalar, promovendo melhora da função respiratória e menor hiperreatividade brônquica, além de prevenir mudanças estruturais irreversíveis, decorrentes do remodelamento das vias aéreas (SOLÉ & NASPITZ, 1998).

Estima-se que 10% das crianças sejam asmáticas em todo o mundo, tendo a asma maior prevalência em pacientes pediátricos que adultos, com início geralmente antes dos cinco anos de idade e, um terço dos casos anterior aos dois anos. A asma é a principal causa de internação hospitalar nos Estados Unidos, com registro médio no ano de 1998 de 2,2 milhões de consultas ambulatoriais pediátricas, 47 internações para cada 100000 habitantes, sendo no Brasil em 1996 observada uma taxa de 1,36 óbitos para cada 100000 habitantes em asmáticos menores de 4 anos de idade (CDC, 2001). Quanto à corticoterapia, atenção especial deve ser dada às crianças com asma severa, que em maior frequência, usam altas doses de glicocorticóides inalatórios, cursos rápidos de corticosteróides (CEs) por via sistêmica, ou ainda, corticoterapia crônica (CHAN et al., 1998).

Considerando estes aspectos, os corticóides tornam-se drogas essenciais na terapêutica clínica da criança portadora de alergia respiratória. Todavia, é válido considerar seus efeitos adversos, os quais podem trazer seqüelas, por vezes irreversíveis, no desenvolvimento da criança (GRUMACH & CASTRO, 1999).

Outro enfoque são os lactentes com sibilância aguda, em particular a bronquiolite, que representa uma das principais causas de morbimortalidade, cuja terapêutica atual recomendada inclui β 2 agonista, anticolinérgico, oxigênio, sendo controverso o uso de corticóide (PRACTICAL GUIDE, 1997). Segundo Azevedo et al. (1997) (a,b) a justificativa da corticoterapia no lactente com bronquiolite é baseada na detecção, em lavado broncoalveolar, de mediadores inflamatórios, tais como Fator de Necrose Tumoral α , Tromboxano B2, Prostaglandina E2, Proteína Catiônica Eosinofílica,

os quais podem ser inibidos pelo *CE*. Woensel et al. (1997) utilizaram prednisolona (1mg/Kg/d) em crianças com bronquiolite por Vírus Respiratório Sincicial, verificando benefício terapêutico para reduzir o tempo de internação (6 dias), comparado ao grupo sem corticóide.

Mangovan et al. (1993), De Blie et al. (1996) e Wennergan et al. (1996), constataram eficácia no controle de sibilância em lactentes em uso de corticoterapia inalatória. Goodwin (1995) e Sano et al. (2000) observaram restrição no tempo de permanência hospitalar e menor necessidade de terapêutica intravenosa. Outros autores também ressaltam que lactente chiador, em corticoterapia inalatória prévia, apresenta, na reagudização da crise, menor necessidade de tratamento hospitalar (BISGAARD et al., 1990; CARLSEN et al., 1992; NOBLE et al., 1992; ILANGO VAN et al., 1993).

Muitos trabalhos correlacionam bronquiolite com o desenvolvimento de doença pulmonar crônica, asma e hiperreatividade. No entanto, o mecanismo envolvido para explicar essas complicações ainda não está bem esclarecido (GURWITZ et al., 1981; HENRY et al., 1983; DUIVERMAN et al., 1987; LONG et al., 1995; RODRIGUEZ et al., 1999). Acredita-se que o vírus respiratório sincicial, possa induzir à alteração na arquitetura pulmonar em indivíduos geneticamente predispostos e, foi demonstrada a presença de leucotrieno C4, potente broncoconstritor, e a proteína catiônica eosinofílica, de ação citotóxica em altas concentrações, nas crianças portadoras de infecção de vias aéreas por este vírus e com chiado (MARTINEZ, 1995).

Sendo os *CEs* efetivos para reduzir a responsividade das vias aéreas e o processo inflamatório que ocorre em crianças e adultos asmáticos, inibindo diretamente as células inflamatórias envolvidas, assim como a exsudação de plasma e secreção de muco, torna estas drogas uma terapêutica de grande importância em lactentes sibilantes (SHIMURA et al., 1990; DJUKANOVIC et al., 1992). Para ilustrar o efeito profilático dos glicocorticóides inalatórios no tratamento da asma na criança, Solé & Naspitz (1998), reuniram

23 estudos, que verificaram em uso de *CE* melhora dos sintomas (50%), redução no consumo de droga broncodilatadora β 2 agonista (37%) e de *CE* oral (68%) quando comparado aos placebos. A partir desta metaanálise, os autores concluíram que os glicocorticóides são drogas eficazes no tratamento profilático da asma na criança.

Os inúmeros análogos sintéticos que vêm sendo desenvolvidos, com maior potência biológica e tempo de ação, menores efeitos colaterais e, a existência de dispositivos para evitar os efeitos indesejáveis da droga, poderiam favorecer o uso do *CE*, entretanto o desconhecimento e o despreparo do não especialista dificultam a sua prescrição (KATER, 2001).

ASPECTOS BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS

Os *CEs*, também chamados de adrenocorticosteróides ou corticóides, são hormônios esteróides produzidos no córtex da glândula adrenal, representados por Cortisol (Hidro cortisona), Androgênio e Aldosterona. Apresentam um precursor comum, o colesterol com síntese regulada pelo eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal (*HHA*) exceto para a aldosterona, que sofre ação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (figura 1) (KATER, 2001).

Cortisol e androgênio são produzidos sob controle da hipófise através do *ACTH* (hormônio adrenocorticotrófico), secretado na porção anterior da hipófise; enquanto a aldosterona é regulada pela angiotensina. *ACTH* tem produção dependente do hormônio liberador de corticotrofina (*CRH*), originado no núcleo paraventricular hipotalâmico.

“Stress” físico, metabólico ou emocional, hormônio anti-diurético e catecolamina induzem à liberação de *CRH* pelo hipotálamo, resultando no estímulo do *HHA* e aumento de cortisol. Níveis maiores de cortisol plasmático colaboram de forma a diminuir secreção de *ACTH* e *CRH*, levando ao chamado “feed-back” negativo, que permite o controle da taxa de cortisol (BONDY, 1985; MUNCK et al., 1990). Desta forma é fácil compreender como o uso de *CE* pode proporcionar o mecanismo de “feed-back” negativo, suprimindo a síntese de cortisol endógena, caracterizando a chamada insuficiência adrenal secundária.

Todo este mecanismo regulador da síntese de *CEs* é chamado de *HHA* e, tem uma característica específica do seu ritmo de funcionamento, denominado circadiano ou nictemeral. Neste é verificado que em indivíduos normais, a produção de cortisol é máxima ao amanhecer, decrescendo gradualmente à tarde, com níveis mínimos à noite (figura 2) (BONDY, 1985).

Um ritmo circadiano normal é capaz de ser expresso a partir

FIGURA 1- Mecanismo regulador da síntese de cortisol

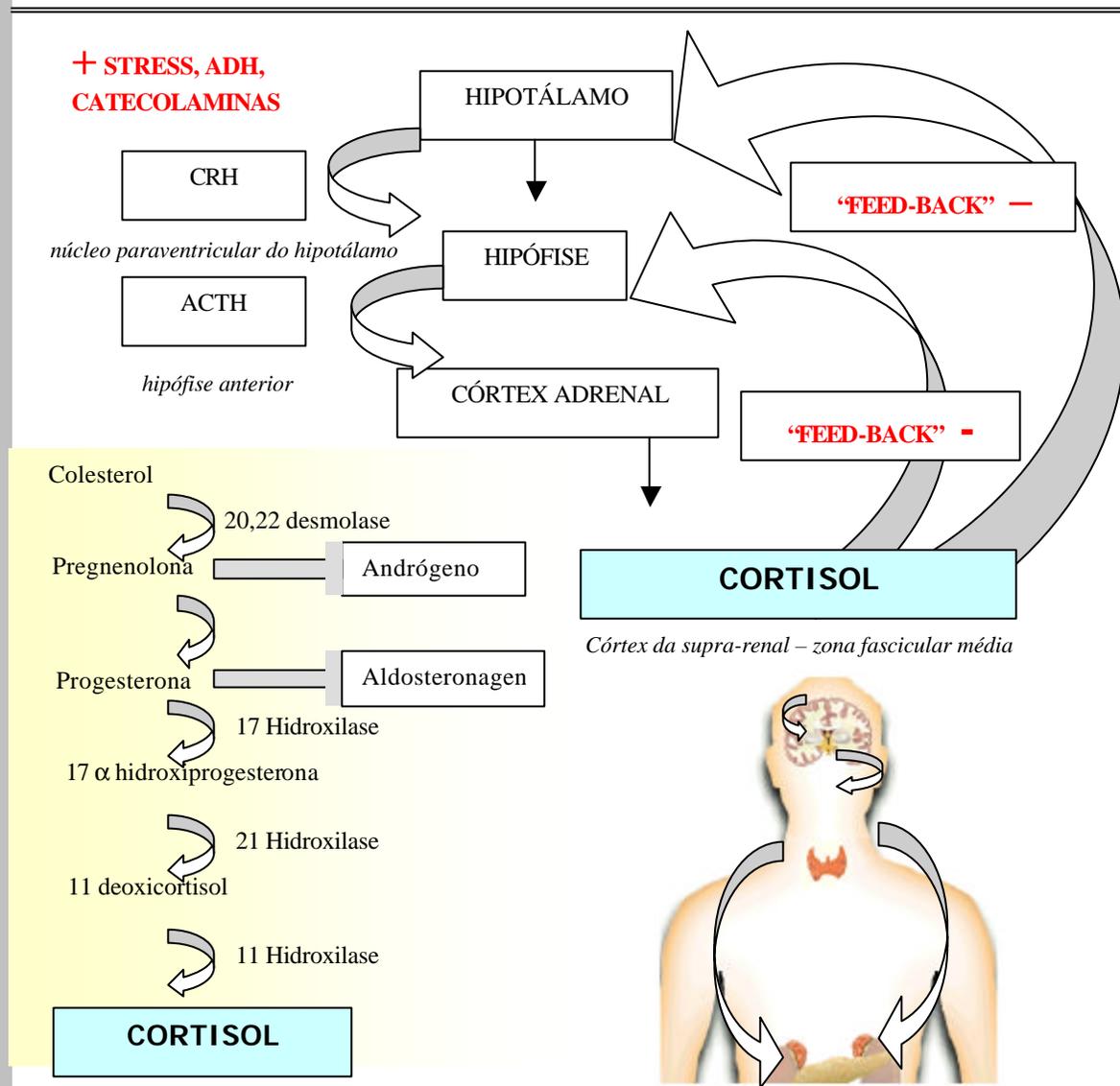


FIGURA 1- A síntese de cortisol é estimulada (+) por fatores como “stress”, ADH (hormônio anti-diurético) e catecolaminas, que levam à liberação de CRH (hormônio corticotrófico) no núcleo paraventricular do hipotálamo. Este age na hipófise anterior, liberando ACTH (hormônio adrenocorticotrófico), o qual, diretamente no córtex adrenal, estimula a síntese de cortisol. O cortisol é formado a partir do colesterol, seguindo uma seqüência enzimática. Concentração elevada de cortisol atua de forma (-) (“feed-back-”) sobre a hipófise e hipotálamo, desativando o sistema de produção de corticóide.

Kater (2001).

de uma determinada faixa etária, na qual a criança exibe maturidade hipotalâmica-hipofisária-adrenal e pode sofrer influência de inúmeros fatores externos como atividade/repouso, luminosidade, dieta, uso de drogas, dentre as quais o esteróide.

É fundamental o conhecimento do ritmo circadiano durante a administração corticoterápica. Com base na fisiologia, preconiza-se o *CE* na dose total ou na dose maior pela manhã, para que o uso exógeno de cortisol interfira o menos possível sobre a homeostase orgânica (KATER, 2001).

FIGURA 2- Ritmo circadiano de secreção diária de cortisol em indivíduos normais

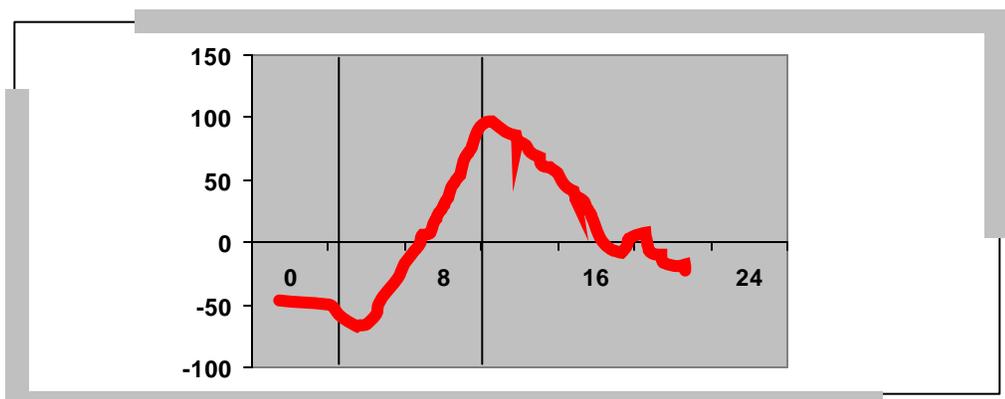


FIGURA 2- Ritmo circadiano ou nictemeral do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal em indivíduos normais, onde a produção de cortisol é máxima ao amanhecer, decrescendo gradualmente à tarde, com níveis mínimos à noite.

Bondy (1985).

Os hormônios produzidos pelas glândulas adrenais apresentam efeitos específicos, descritos no quadro 1, sendo que alguns autores consideram o cortisol e a aldosterona essenciais à manutenção de inúmeras atividades orgânicas.

Todavia, o cortisol como glicocorticóide pode apresentar, ao mesmo tempo, graus variados de efeito mineralocorticóide (quadro 2). Assim, a hidrocortisona, por exemplo, além de glicocorticóide, predispõe ao armazenamento de sódio e secreção de potássio; a prednisona, um derivado sintético do cortisol, tem 20% da atividade mineralocorticóide da hidrocortisona

e, a betametasona é praticamente desprovida da ação mineralocorticóide. Alto poder anti-inflamatório e imunossupressor, com mínima retenção de sódio e líquidos, caracterizam a corticoterapia ideal (KATER, 2001).

QUADRO 1- Hormônios produzidos pela glândula supra-renal e seus efeitos sobre o organismo

TIPO DE HORMÔNIO	EFEITO	DESCRIÇÃO DO EFEITO
CORTISOL (Hidrocortisona)	Glicocorticóide	Aumento da glicemia
		Aumento da mobilização de proteínas
		Aumento da mobilização de gorduras
		Anti-inflamatório; imunossupressor
ALDOSTERONA	Mineralocorticóide	Retém sódio e água
		Elimina potássio
ANDROGÊNIO	Virilizante	Desenvolvimento e manutenção dos caracteres sexuais masculinos

Kater (2001).

QUADRO 2 - Efeito de retenção de sódio equivalente entre os glicocorticóides

TIPO DE GLICOCORTICÓIDE	EQUIVALÊNCIA DO EFEITO MINERALOCORTICÓIDE
Cortisol (hidrocortisona)	1
Prednisona	0,2
Prednisolona	0,2
Metilprednisolona	0
Triancinolona	0
Betametasona	0
Dexametasona	0

Kater (2001).

MECANISMO DE AÇÃO

Derivado lipídico, de baixa solubilidade no plasma, a maior parte de cortisol é transportada ligada à proteína, com a seguinte distribuição:

- 80-85% ligada à globulina fixadora do cortisol (*CBG* – “cortisol-binding-globulin”), ou então chamada transcortina (*TSC*)
- 10-15% ligada à albumina
- 5% em forma livre

A fração livre normalmente determina a atividade biológica do hormônio, enquanto a fração ligada serve como reserva. A meia vida biológica do cortisol é cerca de 90 minutos e, algumas situações podem alterar a atividade do cortisol por interagir sobre o nível da *TSC*. Assim, o hipotireoidismo, a obesidade, a doença hepática e a renal colaboram para a diminuição da *TSC*, enquanto que o uso de estrógeno, a gravidez e o hipertireoidismo, aumentam a *TSC* (MACHADO et al., 1986).

O cortisol é metabolizado no fígado, formando diidro e tetraidrocortisol e, após, para aumentar sua solubilidade em água, é conjugado ao ácido glicurônico, facilitando a excreção urinária; na urina é eliminado na forma de 17 cetoesteróide e 17 hidroxisteróide e, menos de 1% do cortisol, é excretado livre na urina (DLUHY et al., 1973; KATER, 1999).

Os efeitos biológicos e farmacológicos do *CE* ocorrem nas células-alvo, a partir de difusão passiva do cortisol livre pela membrana celular lipídica. Após, o esteróide interage com estruturas localizadas no citoplasma, conhecidas como receptores dos glicocorticóides, formando o complexo esteróide-receptor; este último sofre alterações adaptativas, dirigindo-se ao núcleo da célula.

A partir deste ponto, no núcleo, há o acoplamento em elementos específicos do ácido desoxirribonucléico (*DNA*), ativando a transcrição de ácido

ribonucléico mensageiro (*RNAm*), responsável pela síntese de proteínas, as quais, ao final do processo, produzem os efeitos dos *CEs* (figura 3) (CLAMAN, 1983 ab; KALINER, 1985; MUNCK et al., 1990; KATER, 1999 e 2001). Dentre as proteínas sintetizadas, tem-se:

- Lipocortina: inibe a fosfolipase A2 no ciclo do ácido aracdônico (figura 4).
- Vasocortina: restringe edema.
- Endopeptidase neutra: destrói substância P, um neuropeptídeo que causa broncoespasmo

FIGURA 3- Ação do corticóide na célula

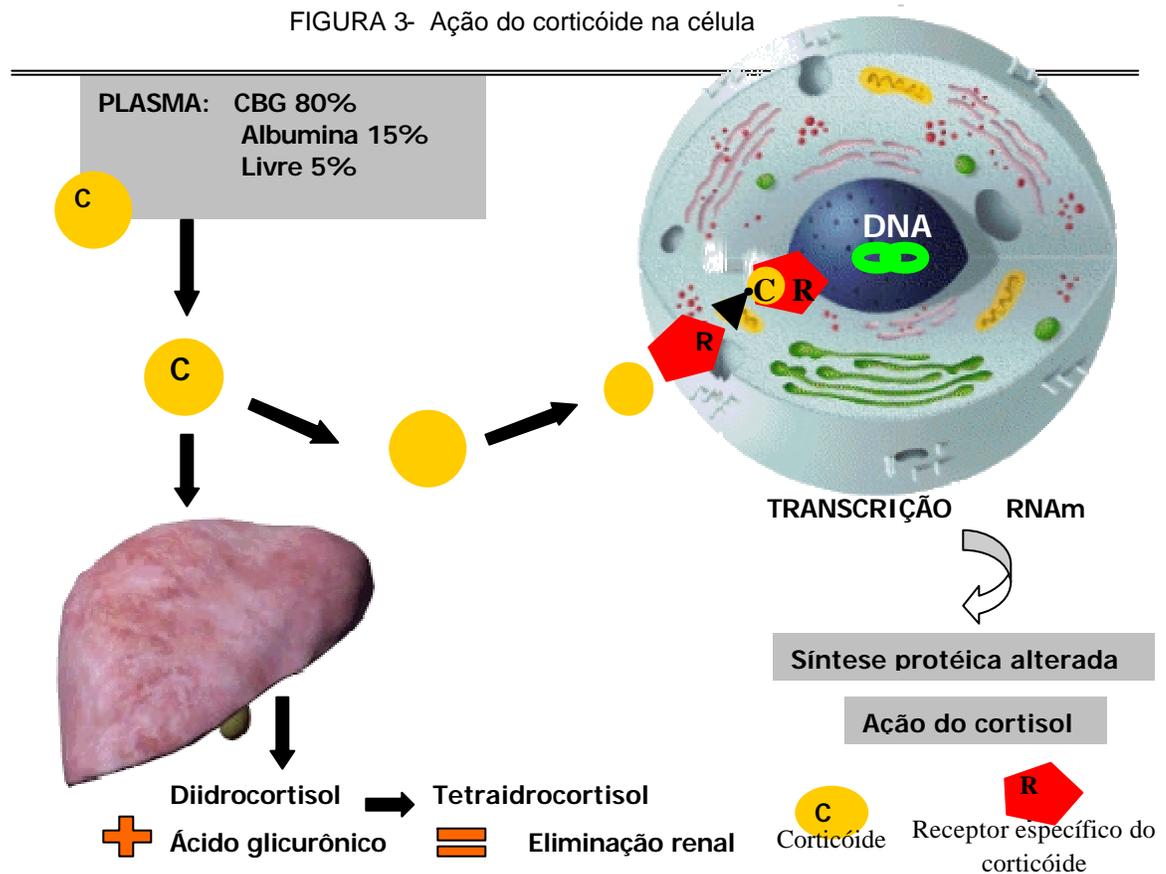


FIGURA 3- A fração livre de cortisol (C) difunde-se passivamente pela membrana celular lipídica, interagindo no citoplasma com os receptores dos glicocorticóides (R), formando o complexo esteróide-receptor (CR). Este complexo se dirige ao núcleo celular, acoplado ao ácido desoxirribonucléico (DNA), com formação do ácido ribonucléico mensageiro (*RNAm*); a partir deste, há o estímulo da síntese de proteínas específicas, responsáveis pelos efeitos corticosteróides.

Parte do corticóide tem metabolização hepática, sendo transformado em diidro e tetraidro cortisol, além de ser conjugado ao ácido glicurônico, tornando-se mais solúvel, facilitando sua excreção na urina.

Kater (1999, 2001).

Como os *CEs* dependem de uma síntese protéica própria, a evidência de seus efeitos demora pelo menos de 1 a 4 horas, podendo dispor de um intervalo maior para alcançar a resposta máxima; e, o tempo de ação varia de acordo com o “turnover” das proteínas originadas (KALINER, 1985; MORRIS, 1985 e 1988).

Indiretamente os glicocorticóides favorecem a ação de outras substâncias, como glucagon e catecolamina, garantindo a resposta vasoativa e broncodilatadora desta última (KATER, 1999). Isto explica a insensibilidade da musculatura lisa da parede dos vasos ao efeito vasoconstritor das catecolaminas na insuficiência adrenal, resultando em colapso vascular, restaurado apenas com a administração de glicocorticóides (KOKRON, 1992).

O cortisol exerce inúmeros efeitos em quase todos os sistemas do organismo, uma vez que seus receptores dispõem de ligação na maioria das células (KALINER, 1985). Estes efeitos variam desde supressão imunológica até catabolismo protéico e aumento de síntese de enzimas hepáticas. Estudos, mais recentes, demonstram que a função fisiológica primária do *CE* é assegurar a oferta adequada de energia, garantindo o armazenamento calórico e disponibilidade de glicose, principalmente no “stress” (DALLMAN et al., 1989).

EFEITOS ESPECÍFICOS DOS GLICOCORTICÓIDES

METABOLISMO DOS CARBOIDRATOS, PROTEÍNAS E LIPÍDIOS

No metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios, os *CEs* podem levar a algumas alterações, caracterizadas abaixo (KATER, 1999; RIBEIRO & GUGLIELMI, 1999):

- Hiperglicemia desencadeada por:
 - Estímulo da neoglicogênese.
 - Resistência à atividade insulínica, inibindo a captação e aproveitamento da glicose nos tecidos periféricos, além do bloqueio do seu transporte para o interior das células.

- Balanço nitrogenado negativo, com crescimento somático inadequado (BERRY et al., 1997; BLOOMFIELD et al., 2001), através de:
 - Maior catabolismo protéico (MORRIS, 1983 e 1985; BONDY, 1985; KALINER, 1985).
 - Restrição da síntese protéica.

- Catabolismo lipídico, predispondo à lipólise, e maior ação da lipase endotelial hepática, resultando no aumento de colesterol, triglicerídeos, frações lipoproteína de densidade baixa (*LDL*) e lipoproteína de densidade muito baixa (*VLDL*).

- Redistribuição de gordura alterada com predominância de adiposidade central (região dorso-cervical e supra-clavicular) e perda de tecido celular subcutâneo nas extremidades.

METABOLISMO HÍDRICO

O *CE* interfere na concentração do hormônio anti-diurético, sendo que na insuficiência adrenal, é predominante a inabilidade de excreção de sobrecarga hídrica com menor taxa de filtração glomerular, somente restabelecidos após a corticoterapia (KATER, 1999).

SISTEMA NERVOSO CENTRAL

A deficiência ou administração excessiva de *CE* é deletéria ao sistema nervoso. Na insuficiência adrenal pode ser observada a existência de ondas eletroencefalográficas lentas, distúrbio de comportamento com irritabilidade, déficit de concentração, aumento da sensibilidade gustatória e olfativa, somente revertidos com o uso de glicocorticóides (KATER, 1999).

Em corticoterapia prolongada, tem-se comprometimento do humor, euforia, sensação de bem estar geral e, posteriormente, depressão, fase de movimentos rápidos do sono reduzida e incremento da fase II.

O *CE* também pode restringir a mielinização e a mitose dos neurônios (ANTUNES & BELIK, 2001). Tem efeitos a longo prazo, podendo ocorrer prejuízo do quociente de inteligência (YEH et al., 1998; THE VICTORIAN

INFANTIL COLLABORATIVE STUDY GROUP, 2000), além de colaborar para o crescimento deficiente da circunferência craniana (PAPILE et al., 1998).

SISTEMA SANGÜÍNEO E LINFÁTICO

Após 4 a 6 horas da oferta de uma única dose de *CE*, já é possível verificar o desarranjo no leucograma, que se normaliza apenas 24 horas após a retirada do cortisol (KOKRON, 1992). O menor número de células deve-se à redistribuição em outros tecidos e não à morte celular. As alterações hematológicas na corticoterapia podem ser observadas no quadro 3 (FAUCI et al., 1976; CLAMAN, 1983 a; MORRIS, 1983; KALINER, 1985; SCHLEIMER, 1985).

Quadro3 – Alterações hematológicas na corticoterapia

- Eosinopenia – pelo seqüestro no baço e pulmões
- Linfopenia – os linfócitos migram para os tecidos linfóides como baço, ducto torácico e medula óssea
- Diminuição de monócitos e basófilos
- Neutrofilia – em resposta acelerada da medula óssea e por inibir a adesão dos neutrófilos na parede do vaso
- Plaquetose
- Aumento de hemácias
- Número e tamanho reduzidos dos linfonodos e timo decorrente do prejuízo da atividade mitótica dos linfócitos

FAUCI et al, (1976); CLAMAN (1983 a); MORRIS (1983); KALINER (1985); SCHLEIMER (1985).

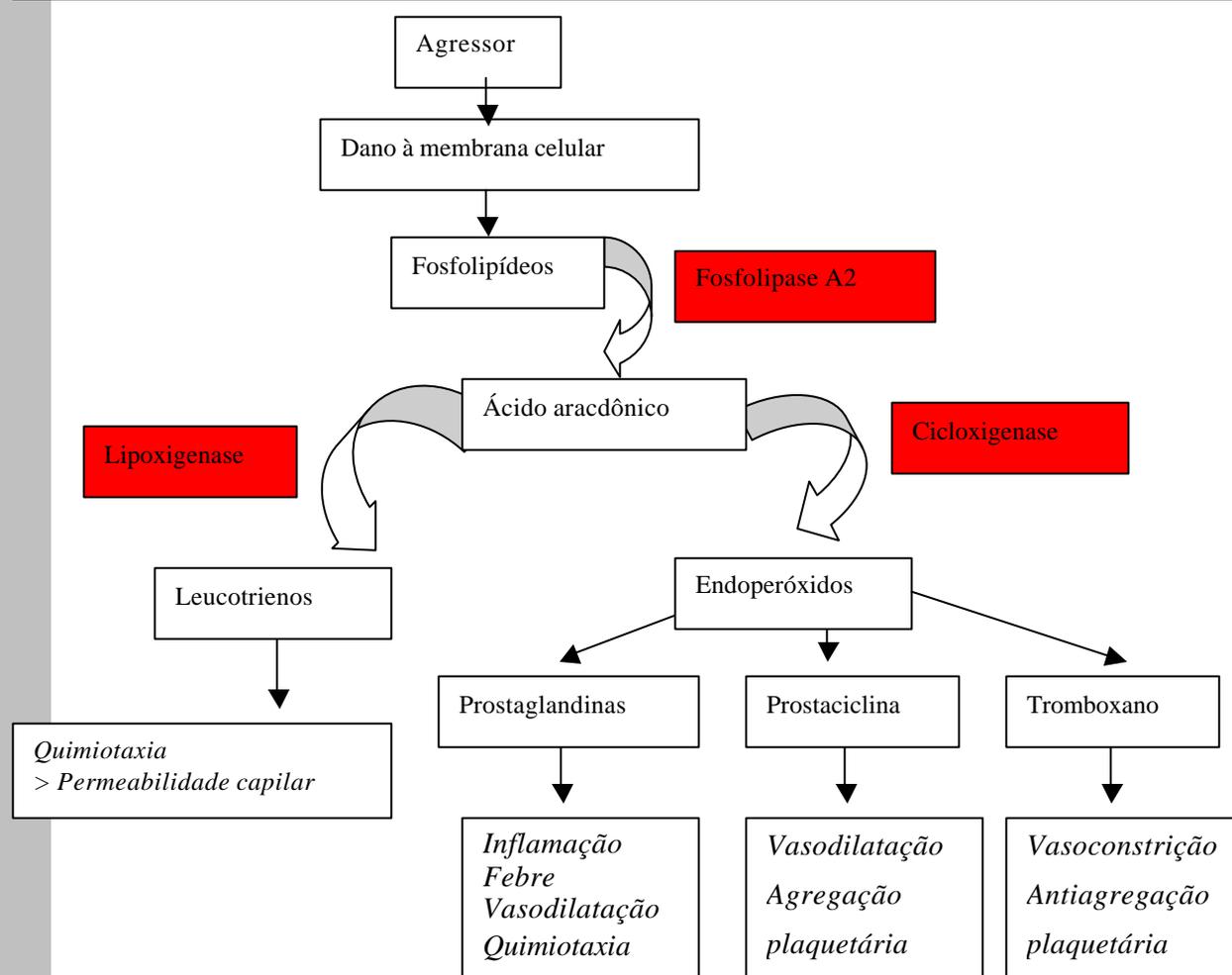
SISTEMA IMUNOLÓGICO E RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Os *CEs* em doses terapêuticas atuam no processo inflamatório, reduzindo as manifestações clínicas, através de algumas atividades específicas (KATER, 1999 e 2001):

1. Interferência na via do ácido aracdônico.

A via do ácido aracdônico é de grande importância, pois a partir de um estímulo agressor sobre a membrana celular, são formados leucotrienos e prostaglandinas. Estes, por mecanismos vasoativos, de adesividade plaquetária, quimiotaxia, febre, aumento da permeabilidade capilar, desencadeam os sinais clássicos do processo inflamatório, dor, calor, rubor e edema (figura 4).

FIGURA 4 - Processo inflamatório – via ácido aracdônico



Os *CEs* interferem nesta via através de dois processos:

- Prejudicando transcrição gênica da cicloxigenase e da fosfolipase A2, enzimas responsáveis pela integridade da via inflamatória.
- Restringindo a liberação de prostaglandinas, leucotrienos e Fator Ativador de Plaquetas, através da síntese de lipocortina-1, proteína que suprime a fosfolipase A2 (SOLE & NASPITZ, 1998).

Outras ações dos glicocorticóides sobre a resposta inflamatória incluem :

2. Inibição de outras substâncias da resposta inflamatória, como aminas vasoativas, proteases plasmáticas, radicais livres derivados do oxigênio, citocinas, além de reduzir a atividade expressiva das moléculas de adesão.
3. Impede a transcrição dos genes das interleucinas (*ILs*): $IL-1\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-2$, $IL-3$, $IL-6$, $IL-8$, Fator de Necrose Tumoral, Intérferon gama (LÓPEZ, 1992).
4. Bloqueio de *NF-kB* e *AP-1*

Proteína kapa B (*NF-kB*) e Proteína ativadora A-1 (*AP-1*) são formadas pela interação de citocina sobre as células, com responsabilidade de exercer efeitos inflamatórios e mantenedores do processo crônico. Sofrem ação direta do glicocorticóide, desarmando a resposta inflamatória.

5. Controle da síntese de óxido nítrico

Os glicocorticóides agem diretamente sobre a sintetase, enzima produtora de óxido nítrico, controlando a síntese deste gás, que em concentração elevada ocasiona broncoespasmo.

6. Prejuízo do acúmulo de neutrófilos no local da inflamação, facilitado pela menor quimiotaxia, conseqüente ao bloqueio da via do ácido aracdônico.

7. Impedem a liberação do fator agregador de plaqueta, que ao nível pulmonar causa broncoespasmo, hipertensão pulmonar e edema.

8. Inibem a diferenciação em macrófagos e suas ações fagocíticas e citotóxicas.

9. Estimulam a síntese do inibidor da protease secretória dos leucócitos, fator importante na redução do processo inflamatório em vias aéreas.

SISTEMA RESPIRATÓRIO

O *CE* por ser capaz de amenizar a responsividade à histamina e aos agonistas colinérgicos, controlando processo inflamatório e desarranjo da arquitetura da via aérea, torna-se um elemento importante na terapêutica de criança com chiado (THE BRITISH GUIDELINES ON ASTHMA MANAGEMENT, 1995; BARNES, 1998).

Quanto à asma, os *CEs* são eficazes no manejo da hiperreatividade, revertendo o processo obstrutivo nas pequenas vias aéreas, através do relaxamento da musculatura brônquica (ANTUNES & BELIK, 2001) e do aumento da expressão dos receptores β adrenérgicos (MANO et al., 1979; COTECCHIA & DE BLASI, 1984; SOLÉ & NASPITZ, 1998).

É básico considerar que o *CE* no período antenatal diminui a Síndrome do Desconforto Respiratório, por induzir síntese de surfactante no pulmão prematuro; no entanto, hoje acredita-se numa influência mais complexa dos esteróides na maturidade pulmonar. Após 24 a 48 horas do uso do *CE*, já é possível a duplicação do volume pulmonar, com melhora da complacência e redução do edema e extravasamento líquido pelo endotélio e epitélio pulmonar, ilustrando o restabelecimento da função respiratória; contudo, mesmo sob corticoterapia, a quantidade de surfactante nos pulmões imaturos permanece baixa, indicando que o principal efeito do esteróide independe do sistema surfactante (JOBE, 1998; ANTUNES & BELIK, 2001).

CUIDADOS NA ADMINISTRAÇÃO DOS CORTICOSTERÓIDES

DOSE, HORÁRIO DE ADMINISTRAÇÃO

A corticoterapia de preferência deve ser empregada por menor tempo e dose possível, pela manhã, em dias alternados, para interferir menos sobre o *HHA* (RIBEIRO & GUGLIELMI, 1999; KATER, 2001).

Covar et al. (2000) revisando 163 casos de crianças asmáticas graves, com idade média de $14,4 \pm 2,1$ anos, sob glicocorticóide inalatório contínuo (dose média de 1675 ± 94 microgramas diários, associado ao *CE* oral, por exacerbação de crise de broncoespasmo (dose média de $13,7 \pm 1,5$ miligramas diários, com período médio de $38,3 \pm 4$ meses) observaram insuficiência adrenal em 56% dos pacientes, com predomínio significativo no grupo de corticoterapia sistêmica diária.

RETIRADA DA CORTICOTERAPIA

Interrompendo-se a corticoterapia, o *HHA* é recuperado de forma progressiva e individual e, com o intuito de se promover esta adaptação, a retirada do *CE* deve ser lenta.

Ribeiro & Guglielmi (1999) orientam que a suspensão abrupta do *CE* pode ser realizada se o mesmo estiver em uso contínuo no máximo há cinco dias, caso contrário deve ser gradual.

CORTICOTERAPIA NO “STRESS”

“Stress”, representado por situações como cirurgia, partos, traumas, infecções graves, leva ao aumento de *ACTH* e cortisol, sugerindo que os *CEs* predisõem proteção contra os efeitos nocivos do “stress” na garantia de sobrevivência.

Por este motivo, pacientes que estejam sob corticoterapia prolongada, ou em situações específicas (quadro 4) expostos a fatores representativos de “stress” devem ter suas doses de *CE* reajustadas, para evitar os agravos da insuficiência adrenal (DLUHY, 1998; GRUMACH & CASTRO, 1999; KATER, 1999). Kater (2001) orienta um aumento da dose de *CE* em relação à oferta anterior de 50 a 100% na vigência de “stress”.

QUADRO 4- Indicações do reajuste da dose de corticóide no “stress”

- *No uso de glicocorticóide inalatório em doses maiores ou iguais a 1500 mg/dia e 200-400 mg/dia, respectivamente para adultos e crianças.*
- *Todos os pacientes cushingóides.*
- *Todos os pacientes em uso prolongado (maior de 10 dias) de esteróides orais.*

Dluhy (1998).

Outro cuidado, durante o “stress”, é repor o *CE* quando a suspensão da corticoterapia ocorreu em período menor ou igual a um ano (KUPERMAN, 1997).

CORTICOTERAPIA INALATÓRIA

O glicocorticóide inalatório tem grande importância no controle e prevenção da asma grave, moderada e leve, devido a sua potente ação anti-inflamatória local, com reduzidos efeitos sistêmicos, mesmo no uso crônico, quando comparado às apresentações intravenosa, intramuscular e oral

(KUPERMAN, 1997; SOLÉ & NASPITZ, 1998; VOLOVITZ et al., 1998). Essas características dos glicocorticóides inalatórios são decorrentes de:

- Seu caráter hidrossolúvel, garantindo uma afinidade dez vezes maior a seus receptores específicos, em comparação aos *CEs* sistêmicos (KOKRON, 1992).
- Inatividade rápida por biotransformação no fígado após acesso sistêmico.

Os efeitos sistêmicos dos glicocorticóides inalatórios também são dependentes do grau absorptivo da droga, caracterizando a chamada biodisponibilidade sistêmica, que pode ser dividida em, pulmonar e oral (SOUZA, 1998). A pulmonar corresponde à droga que chega à circulação sistêmica, absorvida pela mucosa respiratória, incluindo as vias aéreas baixas; a oral tem acesso sistêmico a partir da mucosa do trato gastrointestinal, facilitada pela massa do *CE* inalada e depositada em orofaringe, que posteriormente é deglutida (SOLÉ & NASPITZ, 1998). No entanto, os efeitos adversos dos *CEs* são amenizados ao nível sistêmico através da metabolização hepática (MARTIN et al., 1975).

Os *CEs* inalados mais recentes sofrem grande influência do metabolismo hepático, atenuando a biodisponibilidade oral. Neles, os efeitos sistêmicos originam-se principalmente a partir da fração absorvida nos pulmões. Outros *CEs*, frente ao menor metabolismo hepático, apresentam efeitos sistêmicos favorecidos pela absorção oral (PEDERSEN, 2001).

Considerando os mecanismos descritos, é fácil relacionar a ínfima biodisponibilidade dos glicocorticóides inalatórios, possibilitando utilização de doses mais altas, com discretos efeitos sistêmicos em comparação aos *CEs* administrados por via oral e parenteral (PAUWELS & VAN DER STRAETEN, 1982; GILDER, 1987).

Na corticoterapia inalatória crônica os efeitos adversos dependem, como na terapêutica oral, da dose, do tempo e da frequência de

administração, podendo ser locais e sistêmicos (CLARK, 1985; SMITH, 1987; KUPERMAN, 1997; SOLÉ & NASPITZ, 1998). Dentre os primeiros, citamos:

- Disfonia (5 a 10%)
- Candidíase orofaríngea, prevenida com o enxágüe da boca
- Tosse reflexa
- Broncoespasmo (mais raro)
- Odinofagia
- Rouquidão
- Infecções respiratórias ou alteração da mucosa brônquica (mais raro)

Como destaque dos efeitos sistêmicos dos glicocorticóides inalatórios, tem-se (KUPERMAN, 1997; SOLÉ & NASPITZ, 1998) :

- Déficit de crescimento
- Osteoporose
- Supressão do *HPA*

De forma geral, na literatura é observado que o uso de glicocorticóides inalatórios em doses menores de 1500 microgramas diários em adultos e 200 a 400 microgramas diários em crianças não é capaz de suprimir o eixo (GRUMACH & CASTRO, 1999).

Quanto ao crescimento em crianças asmáticas, é difícil avaliar a interferência do glicocorticóide inalatório, uma vez que a asma por si só, sem o uso do *CE*, em forma mais grave e menos controlada, interfere negativamente no crescimento da criança. O efeito mais comum é a redução da velocidade de crescimento, prolongando o tempo para se alcançar a altura final, sem o prejuízo do valor atingido na fase adulta; embora, eventualmente, isto possa ocorrer nos casos mais graves.

Vários estudos demonstram com segurança a corticoterapia inalatória em crianças e, estabelecem que doses de glicocorticóides inalatórios

menores de 400 microgramas diários não apresentam efeitos adversos significativos sobre os marcadores de crescimento, formação, e degradação óssea (GRUMACH & CASTRO, 1999; PEDERSEN, 2001).

Os efeitos adversos da corticoterapia inalatória podem ser reduzidos se mantivermos os cuidados quanto ao uso de espaçadores e lavagem oral, sobretudo em crianças com asma grave, onde pelo menor calibre das vias aéreas, apresentam de forma mais significativa deposição da droga na cavidade oral.

Yallouros et al. (1997) verificaram que a corticoterapia inalatória associada a espaçador resulta em menor supressão dos esteróides endógenos. Certamente, os espaçadores vieram revolucionar a terapêutica inalatória, garantindo melhor absorção local da droga, com reduzidos efeitos sistêmicos, simplificando a técnica, sem a necessidade de sincronia entre o acionamento do inalador e a inspiração. Isto permitiu estender o uso do inalador pressurizado a todas faixas etárias (SOLÉ & MELLO, 1994; SOUZA, 1998).

A lavagem oral é imprescindível para amenizar a porção de glicocorticoide inalado com depósito em orofaringe, colaborando desta forma, para menor biodisponibilidade sistêmica, e, conseqüentemente mínimos efeitos colaterais (SOLÉ & NASPITZ, 1998).

É de consenso que a via inalatória proporciona reduzidos efeitos adversos, início de ação rápida, maior concentração da substância ativa no próprio local, com menores doses para exercer a mesma resposta terapêutica, além da conveniência na administração, tornando atualmente, o tratamento por via inalatória, o método de escolha (BERNSTEIN, 1980; SOLÉ & MELLO, 1994; BALKRISHNAN et al., 1998; SOUZA, 1998). Todavia, a eficácia terapêutica inalatória tem relação direta com a técnica, a escolha de um dispositivo que garanta menor perda do aerossol, conciliando conforto e maior aderência ao tratamento (BISGAARD, 1997; PEDERSEN, 1997; SANTOS, 1997; BARNES, 1998).

EFEITOS ADVERSOS DA CORTICOTERAPIA

Como todas as células nucleadas do corpo humano apresentam receptores para os *CEs*, múltiplos sistemas orgânicos podem ser afetados em vigência desta terapêutica (KOKRON, 1992; GRUMACH & CASTRO, 1999).

Estes efeitos correlacionam-se à dose e tempo de tratamento, manifestando já no início da terapia ou a longo prazo, com a possibilidade de serem observados apenas pela alteração na dosagem em laboratório do nível de cortisol, sem queixas clínicas significativas. Eventualmente, são graves e até fatais, amenizados com o uso de *CE* tópico, inalatório ou nasal (HARRISON et al., 1982; KOKRON, 1992).

É ressaltado, que a retirada abrupta dos glicocorticóides pode desencadear uma série de reações, isoladas ou agrupadas, como (KUPERMAN, 1997):

- 1- Manifestação da doença de base, provavelmente o mais comum.
- 2- Insuficiência supra-renal, apresentando sintomas como: anorexia, náuseas, vômitos, fraqueza, perda de peso, fadiga, dor abdominal, mialgia, confusão, letargia, psicose, hipotensão, apatia. Observa-se também febre, artralgia, pericardite, hipoglicemia, hiponatremia, tolerância prejudicada ao “stress”. Se a condição não for reconhecida e tratada pode ocorrer a crise adrenal, onde de forma súbita o paciente torna-se cianótico, taquidispneico, com sinais clínicos de colapso circulatório, tendo a partir disto um curso rapidamente fatal (BEHRMAN, 1994).
- 3- Síndrome da retirada de *CE* – mialgia, mal-estar e anorexia que respondem prontamente ao uso de *CE*, sem prejudicar o *HHA*.

Durante a corticoterapia, mesmo de curta duração, o cuidado deve ser dado à possibilidade de supressão do eixo por mecanismo de “feed-back” negativo (insuficiência adrenal secundária) (JOHANSSON et al., 1982; SHERMAN et al., 1982; CHRISTY, 1984; SANTOS, 1997). Os sinais e sintomas de insuficiência adrenal podem aparecer em 12 a 36 horas após a suspensão do *CE* ou mais freqüentemente, podem ser precipitados por situações de “stress”. Em contraste à insuficiência adrenal primária, geralmente não apresenta deficiência mineralocorticóide e tão poucas anormalidades eletrolíticas, assim como alterações de pigmentação da pele (BONDY, 1985).

De regra, a suspensão do esteróide oral, utilizado até dez dias de terapêutica contínua, é incapaz de acarretar efeito importante. A partir deste período, sua retirada abrupta pode comprometer o *HHA* (KUPERMAN, 1997). Esta alteração foi retratada em alguns estudos sob prednisona 1mg/kg/d, por mais de dez dias com depressão do eixo (STRECK & LOCKWOOD, 1979; ZORA et al., 1986; DOLAN et al., 1987; TOWNLEY & SULIAMAN, 1987; HELFER & ROSE, 1989).

A literatura mostra que mesmo em períodos menores de dez dias, já é possível notar sinais de insuficiência adrenal. Volovitz et al. (1998) verificaram comprometimento do *HHA* sob prednisolona no sétimo dia de terapêutica; Zora et al. (1986) mostraram que cinco dias de prednisona (2 mg/Kg/d) é capaz de suprimir o eixo; Ribeiro & Guglielmi (1999) estabeleceram que corticoterapia por mais de cinco dias bloqueia o *HHA*.

Outra questão, é o tempo necessário para se normalizar o *HHA* após a retirada do *CE*, que certamente tem dependência individual. Alguns estudos, em recém-nascidos, observaram que a supressão do *HHA* pode durar até um mês depois de interrompida a corticoterapia (NG et al., 1989; KARI et al., 1993). Ribeiro & Guglielmi (1999) ressaltaram que o tempo para a recuperação do eixo após o término da corticoterapia pode atingir nove meses.

MÉTODOS LABORATORIAIS DE AVALIAÇÃO DE EIXO

Um número cada vez maior de pesquisas tem demonstrado a possibilidade do uso prolongado dos *CEs* em suprimir o *HHA*. Todavia, quando verificamos os trabalhos, devemos ter atenção quanto ao método laboratorial de análise utilizado, a respeito da influência da corticoterapia sobre o eixo. Os métodos mais utilizados, são (CRAPO, 1979):

- Testes basais: dosagem do cortisol livre no plasma ou saliva.
- Estudo dinâmico: dosagem de cortisol livre em urina 24 horas.
- Testes de estímulo para avaliar a reserva adrenal, realizados com:
 - ACTH – hormônio adrenocorticotrófico sintético.
 - CRH – hormônio liberador da corticotrofina sintético.
 - Metirapona.
 - Testes de hipoglicemia induzida por insulina – teste de tolerância à insulina.

Relacionando cada teste, há alguns pontos a serem destacados:

METIRAPONA

Restringe a síntese de cortisol através do bloqueio da enzima 11β hidroxilase, possibilitando avaliar a ativação do mecanismo de “feed-back” e não a capacidade de resposta ao “stress” (HOLT et al., 1990; KOKRON, 1992). Após a administração da metirapona é feita a dosagem sérica de 11 - deoxicortisol e urinária de 17 OH (17-hidroxicorticosteróide) em 3 amostras consecutivas de urina 24 horas coletadas no dia anterior, no dia coincidente e no dia posterior ao teste.

Metirapona pode induzir a náuseas, vômitos, amenizados pela oferta junto ao leite, em dose única, de preferência pela manhã (DICKSTEIN et

al., 1986). Outro inconveniente, são alguns pontos de dificuldade técnica, como a coleta de urina 24 horas por 3 dias consecutivos; necessidade de recursos laboratoriais específicos que permitam reduzir deoxicortisol plasmático e facilitem a dosagem de 17OH (KOKRON, 1992).

No entanto, é fortemente correlacionada ao teste de estímulo sob insulina, sendo importante na avaliação do eixo durante a corticoterapia (HOLT et al., 1990).

Pode receber a influência de outros inúmeros fatores, prejudicando seu resultado, como “stress” pelo procedimento de coleta, alterações na concentração da proteína carregadora de cortisol por origem congênita, em uso de estrógeno, pela gestação, hepatopatias, outras desordens endócrinas e metabólicas, além da possibilidade de falsos resultados da concentração de 17OH mediante ao uso de drogas como espironolactona, fenitoína e alguns antibióticos (BAXTER & TYRRELL, 1981; EVANS et al., 1984).

CORTISOL PLASMÁTICO

A simples dosagem de cortisol plasmático, tem sido relatada para avaliar o eixo (FARRER et al., 1990; RASMUSON et al., 1996; PRICE, 1997; VOLOVITZ et al., 1998; ZARKOVIC et al., 1999). Contudo, sua interpretação pode ser dificultada pelo fato de que a síntese de cortisol é dinâmica e flutuante, levando a um resultado normal pela secreção episódica (WAND & NEY, 1985; HÄGG et al., 1987; VOLOVITZ et al., 1995; KONG et al., 1999; ZADIK et al., 1999); em conseqüência, a dosagem sérica de cortisol é considerada um método insensível (CONTRERAS et al., 1986; HOLT et al., 1990; PRIFTIS et al., 1990; FLUTICASONE PROPIONATE COLLABORATIVE PEDIATRIC WORKING GROUP, 1994; HOKSTRA et al., 1996; PEDEN et al., 1998; KONG et al., 1999; ZADIK et al., 1999).

É útil como uma triagem, uma vez que os valores baixos são fortes indícios de supressão do eixo; e, para maior esclarecimento do exame, exige um estudo suplementar, auxiliado por outro método de análise do *HHa* (HÄGG et al., 1987).

DOSAGEM DE CORTISOL EM URINA 24 HORAS

A medida de cortisol livre na urina de 24 horas na detecção dos efeitos da corticoterapia sobre o produto endógeno cortisol, oferece vantagem de ser um método não invasivo, livre de efeitos colaterais, além de ser sensitivo e tradicional (CONTRERAS et al., 1986; HOLT et al., 1990; PRIFTIS et al., 1990; BROWN et al., 1991a; PRAHL, 1991; TEELUCKSINGH et al., 1991; BROWN et al., 1992; FLUTICASONE PROPIONATE COLLABORATIVE PEDIATRIC WORKING GROUP, 1994; MCINTYRE et al., 1995; VOLOVITZ et al., 1995; WOLTERS & PEDERSEN, 1995; HOKSTRA et al., 1996; TOOD et al., 1996; LIPWORTH et al., 1997; PEDEN et al., 1998; KONG et al., 1999; ZADIK et al., 1999).

Para a realização do exame é feita a dosagem urinária de produtos metabólicos do cortisol excretados pela urina (17OH – 17 hidroxicorticosteróide; 17 KS – 17 cetoesteróide) ou pela mensuração do cortisol livre. Lembrar que a parte bioativa de cortisol (cortisol livre) excretada na urina, representa menos do que 1% do cortisol secretado pelas adrenais. Todavia, esta correlação com a síntese de cortisol e quantidade diária do mesmo na urina detecta acuradamente o hipercortisolismo (STREETEN et al., 1969; CRAPO, 1979).

De aspectos negativos, há a dificuldade prática na garantia de uma coleta de urina sem perdas no período de 24 horas, em especial de crianças pequenas (WALKER et al., 1978; UMEDA et al., 1981), sendo que a coleta incompleta leva a erros (CONTRERAS et al., 1986). Além da

possibilidade de falsos níveis de 17 OH mediante o uso de certas medicações como espironolactona, fenitoína e alguns antibióticos.

TESTE DE ESTÍMULO POR ACTH

A corticoterapia altera o *HHA*, diminuindo secreção de *ACTH* e, conseqüentemente, de cortisol (KOKRON, 1992).

O teste de estímulo por *ACTH* é capaz de demonstrar a presença de uma córtex adrenal responsiva, todavia não dá informação sobre a capacidade da hipófise em satisfazer normalmente as necessidades fisiológicas (ZORA et al., 1986). Isto torna o estímulo direto da adrenal, por este método, uma forma inapropriada de se avaliar a supressão do eixo (HOLT et al., 1990; ANTUNES & BELIK, 2001).

Bisgaard et al., 1988, estudando a resposta do *HHA* de 30 crianças asmáticas de 7 a 15 anos de idade sob beclometasona ou budesonida (200, 400, 800 microgramas diários) durante um mês, não evidenciaram alterações com o método de estímulo por *ACTH*; por outro lado, através do cortisol livre urinário, a alteração decorrente pela corticoterapia foi observada.

Freigang & Ashford (1990) estudaram 10 crianças asmáticas sob beclometasona 400 microgramas diários durante um ano e não observaram a supressão do eixo pelo teste de *ACTH*, coincidindo com estudos anteriores de Godfrey & König (1973 e 1974); Kerrebijn (1976); Goldstein & König (1983).

Estes relatos de literatura ilustram a fundamental importância da metodologia utilizada na análise do *HHA* durante o uso do *CE*.

TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA

É o melhor na avaliação completa do *HHA* (HARTZBAND et al., 1988; HOLT et al., 1990), podendo acarretar riscos e efeitos colaterais graves, relacionados ao desencadeamento de hipoglicemia como, convulsões e coma hipoglicêmico. Estes riscos são muito mais exacerbados em crianças do que adultos, uma vez que nesta faixa etária há uma reserva calórica de menor significância.

Para o exame são administradas 0,15 unidades de insulina (intravenosa) por quilograma de peso e, após pela hipoglicemia induzida há o aumento da taxa de cortisol, atingindo seu pico em 45 minutos numa situação de eixo funcionante.

Portanto, este teste só pode ser indicado de forma muito criteriosa, balanceando os riscos e benefícios ao paciente (KOKRON, 1992).

DOSAGEM DE CORTISOL SALIVAR

A dosagem de cortisol salivar é um método que avalia a atividade do *HHA* de forma não invasiva, não expoliativa, empregando um procedimento de obtenção de material simples que pode ser inclusive realizado ao nível domiciliar, evitando a possibilidade de falsos resultados por “stress” durante a coleta. É muito utilizado por psiquiatras, psicobiologistas e endócrinos adultos, mas tem escassa informação sobre o uso em crianças e adolescentes; porém alguns trabalhos mostram ser uma técnica interessante na análise da função adrenal (WALKER et al., 1978, 1989; FIET et al., 1981; HIRAMATSU, 1981; UMEDA et al., 1981; RIAD et al., 1982; PRICE et al., 1983; VINING et al., 1983; WOOLSTON et al., 1983; EVANS et al., 1984; LUISI & FRANCHI, 1984; PRICE, 1984; VINING & MCGINLEY, 1984 e 1986; WILLIAMS et al., 1984; BURKE et al., 1985; HANADA et al., 1985; FRANCIS et al., 1987; FOREMAN & GOODYER, 1988; LAUDAT et al., 1988; WILSON et al., 1988; KIRSCHBAUM & HELLHAMMER, 1989; MAGNANO et al., 1989; MEULENBERG & HOFMAN,

1990; KIRSCHBAUM, 1991; LARSON et al., 1991; MALAMUD & TABAK, 1993; KIESS et al., 1995; SANTIAGO et al., 1996; BETTENDORF et al., 1998).

Umeda et al. (1981) comparando dosagem de cortisol plasmática e salivar, verificaram que o método de mensuração na saliva foi capaz de demonstrar a ritmicidade circadiana de forma equivalente à avaliação plasmática (figura 5).

FIGURA 5 - Variação diária do nível de cortisol

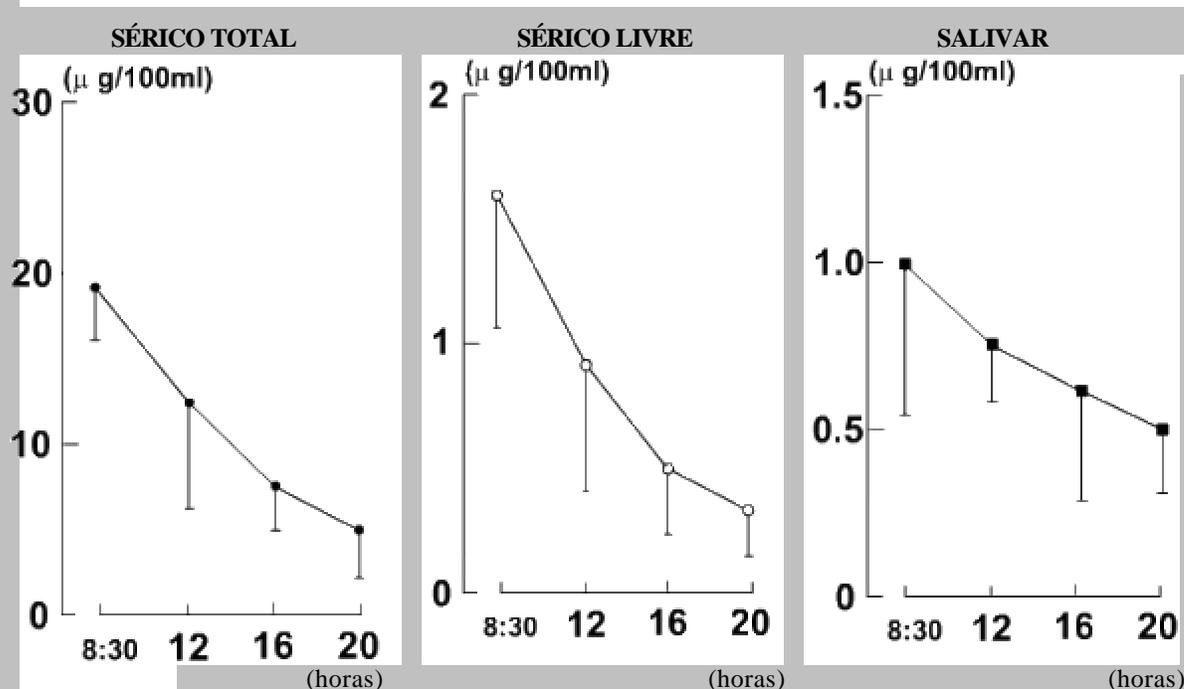


FIGURA 5 - Variação diurna do cortisol plasmática total (λ), plasmática livre (μ), cortisol salivar (ν). Cada ponto representa a média \pm desvio padrão dosado em dez adultos (sexo masculino) saudáveis, marcando de forma definida a ritmicidade de síntese diária de cortisol.

Umeda et al. (1981).

Baseia-se na dosagem de cortisol livre, independente do fluxo de saliva (PAXTON et al, 1976; WALKER et al., 1978) e do conteúdo protéico salivar (RIAD et al., 1982; VINING et al., 1983; LAUDAT et al., 1988; MALAMUD & TABAK, 1993; SANTIAGO et al., 1996). Este fato leva ao aspecto

mais positivo do exame, tornando-o insensível às possíveis variações de proteínas séricas, conforme idade, estado da doença ou mesmo no hipercortisolismo, onde pode existir a alteração da concentração do cortisol livre sem alterar a taxa de cortisol total (VIEIRA et al., 1982).

No trabalho de Umeda et al. (1981) foi verificado que a dosagem de cortisol na saliva por radioimunoensaio tem uma excelente relação linear entre a dosagem de cortisol livre no sangue (figura 6).

FIGURA 6 - Correlação entre os níveis de cortisol salivar e cortisol plasmático

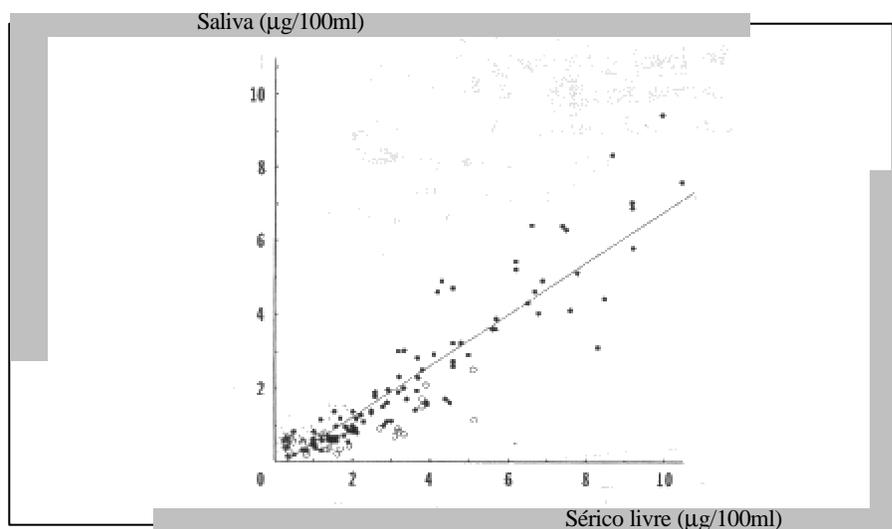


FIGURA 6 - Correlação entre os níveis de cortisol salivar (ordenada) e cortisol sérico livre (abscissa) de dez adultos do sexo masculino voluntários.

Umeda et al. (1981).

Isto confirma a especulação prévia por vários autores (WALKER et al., 1977, 1978; KIESS et al., 1995) que somente a fração de cortisol livre no plasma é transferida à saliva através da membrana epitelial celular da glândula parótida, levando ao equilíbrio entre estes dois compartimentos (saliva e sangue). Este aspecto foi também elucidado por Umeda et al. (1981),

comparando as curvas de eliminação de cortisol nos níveis plasmático total, plasmático livre e salivar, durante as primeiras quatro horas da administração de 20mg de hidrocortisona intravenosa a dez adultos saudáveis (figura 7); além disto foi possível a constatação de parâmetros farmacocinéticos, incluindo a eliminação constante e meia vida do *CE* administrado que foram equivalentes apenas para os métodos salivar e plasmático livre (tabela 1).

Neste mesmo estudo ainda foi observado, que a concentração de cortisol salivar é cerca de 30% mais baixa do que os valores obtidos pela dosagem plasmática livre. Isto sugere que alguns processos mais complexos, do que uma simples difusão, podem estar envolvidos na passagem do esteróide proveniente do sangue periférico à parótida.

FIGURA 7 - Curvas de eliminação de cortisol após uso de hidrocortisona

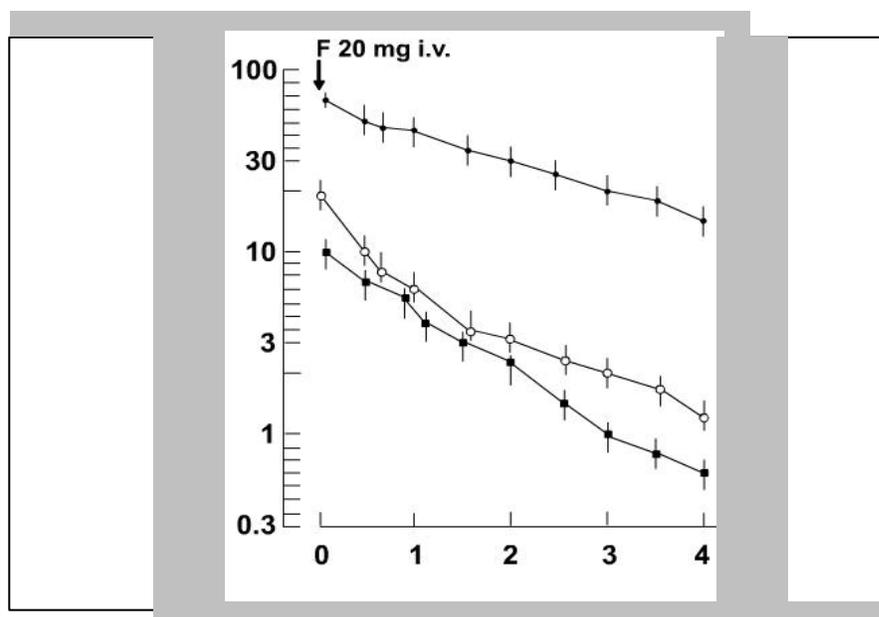


FIGURA 7 - Curvas de eliminação de cortisol sérico (λ), sérico livre (μ), cortisol salivar (ν) após administração intravenosa de 20 mg de cortisol (Hidrocortisona). Cada ponto representa a média \pm desvio padrão de cortisol dosado em dez adultos (sexo masculino) saudáveis, voluntários.

Umeda et al. (1981).

TABELA 1 - Parâmetros cinéticos após administração de cortisol

COMPARTIMENTO	Co ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	K (min^{-1})	T/2 (min)
Cortisol sérico total	59,6 \pm 13,5	-0,0050 \pm 0,0015	152 \pm 51
Cortisol sérico livre	13,6 \pm 3,9	-0,0103 \pm 0,0025	72 \pm 19
Cortisol salivar	10,3 \pm 3,4	-0,0124 \pm 0,0025	58 \pm 10

TABELA 1 - Parâmetros cinéticos estimados após a injeção intravenosa de 20mg de hidrocortisona em dez voluntários saudáveis adultos do sexo masculino. **Co**: Concentração teórica no tempo zero; **k**: Eliminação constante; **t/2**: meia-vida. Valores expressos como média \pm desvio padrão.

Umeda et al. (1981).

Para a dosagem de cortisol salivar é retirado, através de cateter colocado na cavidade oral (OLIVEIRA et al., 1993; BETTENDORF et al., 1998), um volume de 0,5 a 2 ml de saliva, que a seguir é armazenada no “freezer” e, posteriormente centrifugada a uma velocidade de 2000 rotações por minuto durante 5 minutos e conservada à temperatura de -20 a -25° C. A centrifugação não interfere com o nível de cortisol livre que posteriormente é dosado por radioimunoensaio.

A técnica de radioimunoensaio tem alta especificidade e sensibilidade, podendo dosar níveis de cortisol livre tão baixos quanto de 5 picogramas, se tornando a técnica ideal para a dosagem de esteróide na saliva. Em acréscimo, representa um método de realização simples, que requer pequeno volume de material na sua análise (WALKER et al. 1978, 1979; FIET et al., 1981; UMEDA et al., 1981; VIEIRA et al., 1982; PRICE et al. 1983; LARSON et al., 1991; KIESS et al., 1995; SANTIAGO et al., 1996)

A amostra salivar pode ser obtida da cavidade oral ($\text{pH} < 4$) ou diretamente da glândula parótida ($\text{pH} > 7,5$), pois como nesta técnica se considera o cortisol livre sem a influência das proteínas carregadoras, o uso de meio alcalino ou ácido não interfere na análise quantitativa de cortisol (WALKER et al., 1978).

OBJETIVOS

Frente a necessidade de um método prático, confiável, sem exigir alto custo e, que pudesse facilitar a atividade diária do profissional, que se preocupa com a possibilidade de supressão do *HHA* pelo *CE*, o estudo aborda a avaliação da adrenal pelo método cortisol salivar. Por outro lado, considerando a existência de grande variação na literatura a respeito da idade na qual a criança é capaz de estabelecer um ritmo circadiano adequado, sem um valor padrão de normalidade de cortisol salivar para as crianças menores, os objetivos considerados foram os seguintes:

1. Objetivo geral

Avaliar a função adrenal em crianças saudáveis, menores de três anos, com o intuito de se estabelecer as taxas de normalidade de cortisol salivar nos períodos matutino e vespertino.

2. Objetivos específicos

- 2.1. Verificar provável diferença nos valores da taxa de normalidade de cortisol salivar, de acordo com a faixa etária.
- 2.2. Estabelecer indiretamente, o período etário possível de maturidade hipotalâmica-hipofisária-adrenal.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

CASUÍSTICA

O estudo incluiu crianças de 45 dias a 30 meses de idade, submetidas à coleta domiciliar de saliva para a dosagem de cortisol no período de 19 a 26 de setembro de 2001.

Todas as crianças eram moradoras do Bairro Parque Novo Oratório, em Santo André (São Paulo), pertencentes ao campo de atuação de trabalho comunitário coordenado pela Faculdade de Medicina Fundação ABC.

Noventa e três crianças, independente de sexo ou raça, foram selecionadas ao acaso, obedecendo os seguintes critérios de inclusão:

- Num período mínimo de 2 semanas antecedentes à coleta, sem uso conhecido das medicações:
 - Corticoterapia sistêmica, inalatória ou tópica.
 - Cromoglicato dissódico.
 - Cetotifeno.
 - Xantinas (aminofilina, teofilina).
 - Anti-convulsivantes em geral.
 - Cetoconazol (sistêmico ou tópico).
- Sem diagnóstico conhecido de:
 - Cardiopatia, displasia broncopulmonar, tuberculose, doença do refluxo-gastro-esofágico, Vírus da Imunodeficiência Humana, nefropatia, tuberculose, fibrose cística, hepatopatia, Cushing, insuficiência adrenal, hiperaldosteronismo, genitália ambígua, tireoidopatia, convulsão, neoplasia, alergia à proteína do leite de vaca, encefalopatia crônica.
- Ausência de processo infeccioso atual, incluindo a não detecção de febre precedente às 48 horas da coleta.
- Mucosa oral íntegra.

- ❑ Critério de Gomez e Waterlow maior ou igual a 75%.
- ❑ Circunferência do braço no percentil maior que 5%.

Para a avaliação nutricional utilizaram-se os critérios de Gomez (menores de 2 anos) (GOMEZ et al., 1956), Waterlow (maiores de 2 anos) (WATERLOW et al., 1977) e circunferência do braço. Esta foi aferida pela medida do braço não dominante, na altura do ponto médio da linha que liga o acrômio ao olécrano, tendo as medidas comparadas aos percentis baseados na idade e sexo (FRISANCHO, 1974).

Considerados casos excluídos onde durante a coleta ocorresse vômito, regurgitação ou presença de sangue devido trauma local ao procedimento.

Mediante análise e aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina Fundação ABC, parecer do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade de Botucatu (UNESP) e livre consentimento pelo responsável do menor, todos os pacientes tiveram coleta de saliva. As amostras foram obtidas pela autora do estudo em dois momentos, manhã (entre 7 às 10 horas) e tarde (entre 15 e 18 horas).

As crianças selecionadas, conforme faixa etária, tiveram uma divisão em grupos representados no quadro 5, especificando o número amostral.

QUADRO 5 - Grupos de estudo, conforme faixa etária

IDENTIFICAÇÃO GRUPAL	FAIXA ETÁRIA	NÚMERO DE PACIENTES
F1	45ds — 179 ds	16
F2	180ds — 359 ds	22
F3	360ds — 539 ds	16
F4	540ds — 749 ds	21
F5	750ds — 929 ds	18
TOTAL	45ds — 929 ds	93

MÉTODOS

Em todos os pacientes houveram as avaliações de peso (gramas), altura (centímetros), circunferência de braço (centímetros), atitude (choro ou normal) e hora exata (hora e fração da hora) do momento da coleta. Através de interrogatório à mãe do menor, registraram-se informações a respeito de horário de repouso (diurno e noturno) assim como características de luminosidade local (escuro, claro, meia luz), presença de interrupção do sono noturno (número de vezes), freqüência de dieta, e o tempo (minutos) que antecedeu a última dieta e o último sono até a retirada da amostra salivar (anexos 1,2, 3; tabelas 4-11).

TÉCNICA DE COLETA

A amostra salivar foi obtida em dois períodos, manhã (entre 7 às 10 horas) e tarde (entre 15 às 18 horas), distante no mínimo 30 minutos das refeições.

Sob exploração da boca para garantir ausência de resíduo alimentar, fez-se gotejamento de ácido cítrico a 5% no leito gengival inferior (5 gotas); após 1 a 2 minutos aspirado, com auxílio de uma seringa descartável sem agulha, um volume de meio a um mililitro (*ml*) de saliva.

Seguida da coleta, a saliva era transferida a um tubo tipo Eppendorff (com tampa) e armazenada em “freezer” até o encaminhamento ao laboratório. Nos momentos necessários de transporte, o material teve o resfriamento garantido pelo uso de gelo seco, isopor e bolsa térmica.

DOSAGEM LABORATORIAL

No laboratório, o material foi centrifugado por 15 minutos a 2500 rotações por minuto (*rpm*) e a seguir armazenado a -20° C até o momento do ensaio (VIEIRA et al., 1984).

Na determinação de cortisol livre, utilizou-se o método radioimunológico que emprega anticorpo altamente específico. Esta técnica é sensível para detectar níveis mínimos de cortisol como de 5 picogramas por decilitro (*ng/dl*) em volume de amostra salivar equivalente a 0,1 *ml*.

Para a técnica de radioimunoensaio associou-se 0,7 *ml* de saliva centrifugada com 50 picogramas de cortisol triciado (cortisol radioativo) por tubo. Realizada a incubação de 24 horas à 4° C, seguida do acréscimo de 0,2 *ml* de Carvão-Dextran e nova centrifugação à 4° C e 2500 *rpm*. Por fim, através de cintilador líquido, determinou-se a taxa de cortisol livre da amostra por contagem do sobrenadante que foi decantado no frasco de cintilação.

O anticorpo normalmente utilizado no radioimunoensaio é um anti-soro produzido em coelhos contra um derivado de cortisol-3-oxima, acoplado a albumina bovina.

Nos oito ensaios utilizados no presente estudo, o coeficiente de variação inter-ensaio com um “pool” de valor médio de cortisol 251 *ng/dl* era de 11,5% e no intra-ensaio, inferior a 10%.

MÉTODO ESTATÍSTICO

Para avaliar os fatores interferentes nos dados de pesquisa, teve-se a consideração das seguintes variáveis quantitativas:

- Valor de cortisol (manhã e tarde)
- Hora de coleta (manhã e tarde)
- Tempo de intervalo da dieta em relação à coleta (manhã e tarde)

- Número de interrupções do sono noturno
- Horas de sono noturno

Estas variáveis foram representadas em função das faixas etárias, empregando-se o teste de Kruskal-Wallis (teste H). A significância ($p < 0,05$) foi expressa por letras minúsculas ao lado da medida de tendência central própria do procedimento. Na análise considerou-se duas medidas seguidas de pelo menos uma mesma letra, não ter diferença de 5% entre si (NORMAN & STRAINER, 1994).

Quanto ao aspecto descritivo os valores de cortisol (manhã e tarde) foram representados graficamente por “Box plot” e tabela de acordo com a faixa etária (CAMPANA et al., 2001).

Na análise estatística três pontos foram considerados:

- 1- Comparação das medidas de cortisol (manhã e tarde) – teste t de Student.
- 2- Comparação das medidas de cortisol nas diferentes faixas etárias – análise de variância com um fator sob transformação logarítmica.
- 3- Comparação dos resultados obtidos no presente estudo com os observados na literatura através de gráfico de dispersão.

A presença de significância ao lado e no alto do coeficiente foi realizada por um asterisco (*) para 5% de probabilidade e por dois asteriscos (**) para 1% de probabilidade. A ausência desses símbolos indica a não ocorrência de associação significativa.

Num aspecto mais secundário do método estatístico, foi investigada a possibilidade de interferência de um conjunto de variáveis nas medidas de cortisol, pelo método de regressão linear múltipla. Variáveis observadas: peso, altura, circunferência do braço, peso para idade, peso para estatura, estatura para idade, hora da coleta de cortisol pela manhã e tarde, intervalo de dieta e sono até o momento da coleta de saliva manhã e tarde, tempo de sono diurno e noturno, número de interrupções do sono noturno, condições de luminosidade durante o repouso, frequência de dieta.

RESULTADOS

1- Quanto às variáveis quantitativas interferentes pelo teste de Kruskal-Wallis, evidenciou-se a presença de uma letra “a” em todas as variáveis, independente da faixa etária, com $p > 0,05$ (tabelas 2 a 11).

2- Para relacionar medidas de cortisol nas diferentes faixas etárias foi utilizada a análise de variância com um fator, sob transformação logarítmica da variável resposta, tendo o nível descritivo para o cortisol da manhã de 0,637 e da tarde de 0,254.

3- Para comparação das medidas de cortisol da manhã e da tarde aplicado teste t de Student obtendo-se o nível descritivo $p < 0,001$.

4- A variação da taxa de cortisol cedo e tarde em relação às faixas etárias foi representada por gráfico de dispersão (gráfico 1).

5- Os valores de cortisol manhã e tarde foram expressos nos gráficos 2 e 3, tabela 12, anexo 4. Obteve-se valor mediano para o cortisol da manhã de 160 ng/dl e para o cortisol da tarde de 101ng/dl.

6- Gráfico 4 representa a comparação entre os valores máximos e mínimos de cortisol dosado pelo método salivar entre os diversos trabalhos de literatura.

O uso de um modelo de regressão linear múltipla permitiu estudar a correlação entre as medidas de cortisol da manhã e da tarde (uma de cada vez) com as demais variáveis abordadas nesta pesquisa. Foi possível perceber que existe uma correlação linear negativa entre a medida de cortisol obtida na manhã e a quantidade de horas de sono noturno (nível descritivo = 0,026) e frequência de dieta (nível descritivo = 0,017) (gráficos 5 e 6, respectivamente). Com respeito à medida de cortisol da tarde, encontrou-se uma tendência à correlação linear negativa entre ela e a circunferência do braço ($p = 0,080$) (gráfico 7).

TABELA 2- Medidas descritivas da **dosagem de cortisol pela manhã** (ng /dl) e respectivo teste estatístico de comparações das faixas etárias

<i>medida descritiva</i>	<i>Geral</i>	<i>Faixas etárias</i>				
		<i>F1</i>	<i>F2</i>	<i>F3</i>	<i>F4</i>	<i>F5</i>
n. de crianças	93	16	22	16	21	18
V. mínimo	14	14	34	23	49	59
1. quartil	100	83	75	102	105	131
Mediana	160	126 <i>a</i>	144 <i>a</i>	156 <i>a</i>	143 <i>a</i>	188 <i>a</i>
3. quartil	288	272	331	281	334	294
V. máximo	836	403	836	398	543	570
Média	202	168	212	182	211	227
Desvio padrão	141,3	109	184	110	139	141,5

F1: 45 |—| 179 dias; F2: 180 |—| 359 dias; F3: 360 |—| 539 dias; F4: 540 |—| 749 dias; F5: 750 |—| 929 dias

2,08 (p > 0,05)

TABELA 3 - Medidas descritivas da **dosagem de cortisol da tarde** (ng / dl) e respectivo teste estatístico de comparações das faixas etárias

<i>Medida descritiva</i>	<i>Geral</i>	<i>Faixas etárias</i>				
		<i>F1</i>	<i>F2</i>	<i>F3</i>	<i>F4</i>	<i>F5</i>
n. de crianças	93	16	22	16	21	18
V. mínimo	17	26	23	17	17	18
1. quartil	69	59	76	45	58	89
Mediana	101	94 <i>a</i>	149 <i>a</i>	95 <i>a</i>	95 <i>a</i>	117 <i>a</i>
3. quartil	160	206	244	176	122	142
V. máximo	639	420	639	301	206	172
Média	128	140	173	113	96	112
Desvio padrão	96	117,5	138	78	48	39

F1: 45 |—| 179 dias; F2: 180 |—| 359 dias; F3: 360 |—| 539 dias; F4: 540 |—| 749 dias; F5: 750 |—| 929 dias

4,28 (p > 0,05)

TABELA 4- Medidas descritivas da **hora da coleta de cortisol matutino** e respectivo teste estatístico de comparações das faixas etárias

<i>Medida descritiva</i>	<i>Geral</i>	<i>Faixas etárias</i>				
		<i>F1</i>	<i>F2</i>	<i>F3</i>	<i>F4</i>	<i>F5</i>
n. de crianças	93	16	22	16	21	18
V. mínimo	7	8	7	7	7	7
1. quartil	8	8	8	8	8	8
Mediana	9	9 <i>a</i>	9 <i>a</i>	9 <i>a</i>	9 <i>a</i>	9 <i>a</i>
3. quartil	10	10	10	10	9	10
V. máximo	10	10	10	10	10	10
Média	9	9	9	9	9	9
Desvio padrão	0,8	0,7	0,8	0,9	0,8	1

F1: 45 |—| 179 dias; F2: 180 |—| 359 dias; F3: 360 |—| 539 dias; F4: 540 |—| 749 dias; F5: 750 |—| 929 dias

1,86 ($p > 0,05$)

TABELA 5- Medidas descritivas da **hora da coleta de cortisol vespertino** e respectivo teste estatístico de comparações das faixas etárias

<i>Medida descritiva</i>	<i>Geral</i>	<i>Faixas etárias</i>				
		<i>F1</i>	<i>F2</i>	<i>F3</i>	<i>F4</i>	<i>F5</i>
n. de crianças	93	16	22	16	21	18
V. mínimo	15	15	15	15	15	15
1. quartil	15	15	15	15	16	15
Mediana	16	16 <i>a</i>	15 <i>a</i>	15 <i>a</i>	16 <i>a</i>	16 <i>a</i>
3. quartil	16	16	16	16	16	16
V. máximo	17	16	17	17	17	17
Média	16	16	16	16	16	16
Desvio padrão	0,6	0,4	0,7	0,5	0,6	0,6

F1: 45 |—| 179 dias; F2: 180 |—| 359 dias; F3: 360 |—| 539 dias; F4: 540 |—| 749 dias; F5: 750 |—| 929 dias

5,01 ($p > 0,05$)

TABELA 6- Medidas descritivas do **intervalo de dieta (minutos) em relação à coleta da manhã** e respectivo teste estatístico de comparações das faixas etárias

Medida descritiva	Geral	Faixas etárias				
		F1	F2	F3	F4	F5
n. de crianças	93	16	22	16	21	18
V. mínimo	30	30	60	30	30	50
1. quartil	90	63	90	101	80	99
Mediana	130	115 <i>a</i>	145 <i>a</i>	128 <i>a</i>	120 <i>a</i>	135 <i>a</i>
3. quartil	225	180	233	165	413	260
V. máximo	870	270	870	660	860	660
Média	193	126	221	159	249	183
Desvio padrão	182	68,5	207	141	251	141

F1: 45 |—| 179 dias; F2: 180 |—| 359 dias; F3: 360 |—| 539 dias; F4: 540 |—| 749 dias; F5: 750 |—| 929 dias

2,85 (p > 0,05)

TABELA 7- Medidas descritivas do **intervalo de dieta (minutos) em relação à coleta da tarde** e respectivo teste estatístico de comparações das faixas etárias

Medida descritiva	Geral	Faixas etárias				
		F1	F2	F3	F4	F5
n. de crianças	93	16	22	16	21	18
V. mínimo	10	10	30	30	50	60
1. quartil	83	74	80	63	85	90
Mediana	120	110 <i>a</i>	120 <i>a</i>	128 <i>a</i>	130 <i>a</i>	105 <i>a</i>
3. quartil	163	138	159	166	175	180
V. máximo	325	230	220	265	260	325
Média	126	109	123	124	137	135
Desvio padrão	59	52	51	72	59	64

F1: 45 |—| 179 dias; F2: 180 |—| 359 dias; F3: 360 |—| 539 dias; F4: 540 |—| 749 dias; F5: 750 |—| 929 dias

2,07 (p > 0,05)

TABELA 8- Medidas descritivas do **intervalo de sono (minutos) em relação à coleta da manhã** e respectivo teste estatístico de comparações das faixas etárias

Medida descritiva	Geral	Faixas etárias				
		F1	F2	F3	F4	F5
n. de crianças	93	16	22	16	21	18
V. mínimo	0	0	0	0	0	0
1. quartil	23	10	11	8	25	49
Mediana	90	78 <i>a</i>	75 <i>a</i>	103 <i>a</i>	90 <i>a</i>	103 <i>a</i>
3. quartil	150	155	146	130	150	200
V. máximo	300	210	300	190	225	290
Média	94	85	88	86	95	115
Desvio padrão	75	72	82	70	66	87

F1: 45 |—| 179 dias; F2: 180 |—| 359 dias; F3: 360 |—| 539 dias; F4: 540 |—| 749 dias; F5: 750 |—| 929 dias

1,70 ($p > 0,05$)

TABELA 9- Medidas descritivas do **intervalo de sono (minutos) em relação à coleta da tarde** e respectivo teste estatístico de comparações das faixas etárias

Medida descritiva	Geral	Faixas etárias				
		F1	F2	F3	F4	F5
n. de crianças	93	16	22	16	21	18
V. mínimo	0	0	0	0	0	0
1. quartil	10	0	9	18	80	69
Mediana	110	10 <i>a</i>	75 <i>a</i>	120 <i>a</i>	135 <i>a</i>	105 <i>a</i>
3. quartil	160	141	160	176	383	315
V. máximo	685	460	440	265	620	685
Média	136	77	112	108	193	176
Desvio padrão	148	126	125	84	171	183

F1: 45 |—| 179 dias; F2: 180 |—| 359 dias; F3: 360 |—| 539 dias; F4: 540 |—| 749 dias; F5: 750 |—| 929 dias

7,25 ($p > 0,05$)

TABELA 10 - Medidas descritivas do **número de interrupções do sono noturno** e respectivo teste estatístico de comparações das faixas etárias

Medida descritiva	Geral	Faixas etárias				
		F1	F2	F3	F4	F5
n. de crianças	93	16	22	16	21	18
V. mínimo	0	0	0	0	0	0
1. quartil	0	0	0	0	0	0
Mediana	0	0,5 <i>a</i>	0 <i>a</i>	0 <i>a</i>	0 <i>a</i>	0 <i>a</i>
3. quartil	1	2	1	1	0,5	1
V. máximo	3	3	3	3	3	2
Média	0,6	1	0,7	0,7	0,4	0,3
Desvio padrão	1	1	1	1	1	0,6

F1: 45 |—| 179 dias; F2: 180 |—| 359 dias; F3: 360 |—| 539 dias; F4: 540 |—| 749 dias; F5: 750 |—| 929 dias

3,02 (p > 0,05)

TABELA 11 - Medidas descritivas das **horas de sono noturno** e respectivo teste estatístico de comparações das faixas etárias

Medida descritiva	Geral	Faixas etárias				
		F1	F2	F3	F4	F5
n. de crianças	93	16	22	16	21	18
V. mínimo	6	7	7	7	8	6
1. quartil	9	8	9	8	9	9
Mediana	10	10 <i>a</i>	11 <i>a</i>	11 <i>a</i>	10 <i>a</i>	10 <i>a</i>
3. quartil	11	11	12	12	10	10
V. máximo	14	13	14	14	14	12
Média	10	10	11	10	10	9
Desvio padrão	1,7	2	1,7	2	1,4	1,4

F1: 45 |—| 179 dias; F2: 180 |—| 359 dias; F3: 360 |—| 539 dias; F4: 540 |—| 749 dias; F5: 750 |—| 929 dias

5,94 (p > 0,05)

GRÁFICO 1 - Valores medianos da taxa de cortisol salivar de acordo com as faixas etárias

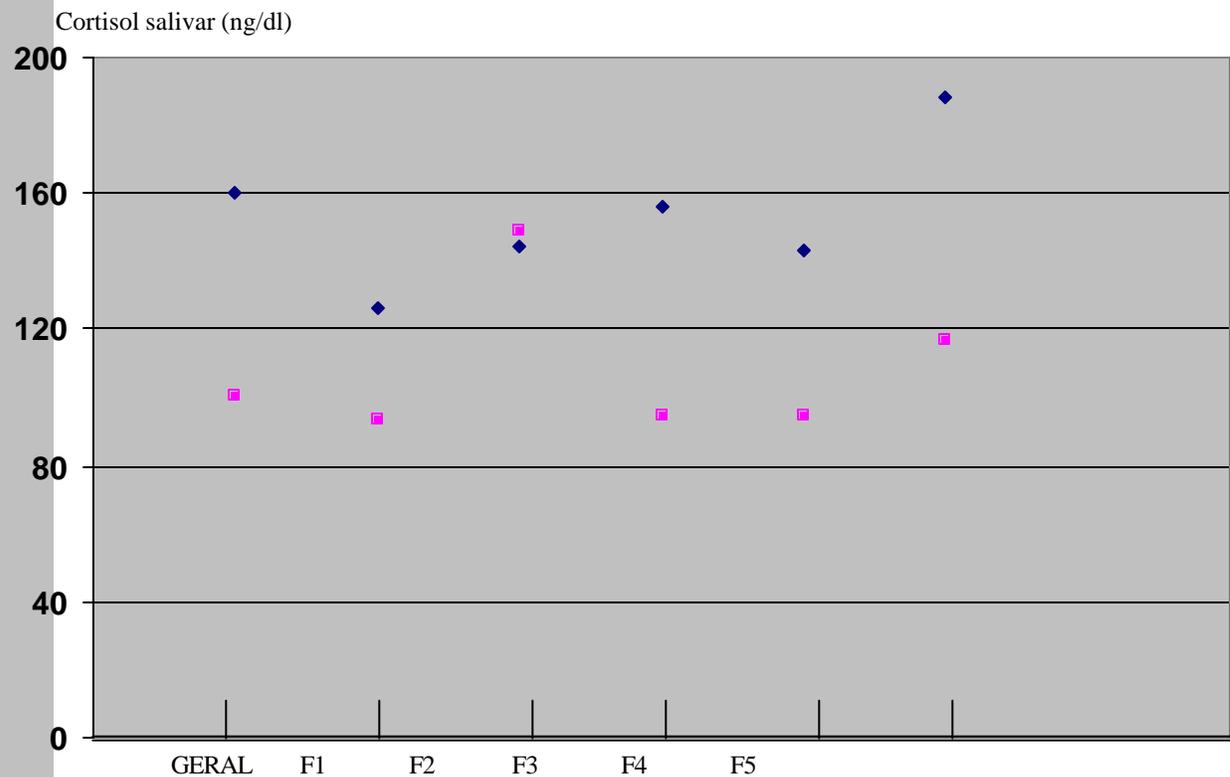


GRÁFICO 1 - Valores medianos da taxa de cortisol salivar (ng/dl) de acordo com as faixas etárias (geral a F5), sendo ◆ referente ao cortisol da manhã e ■ cortisol da tarde.
GERAL: 45 |—| 929 dias 45; *F1*: 45 |—| 179 dias; *F2*: 180 |—| 359 dias; *F3*: 360 |—| 539 dias; *F4*: 540 |—| 749 dias; *F5*: 750 |—| 929 dias.

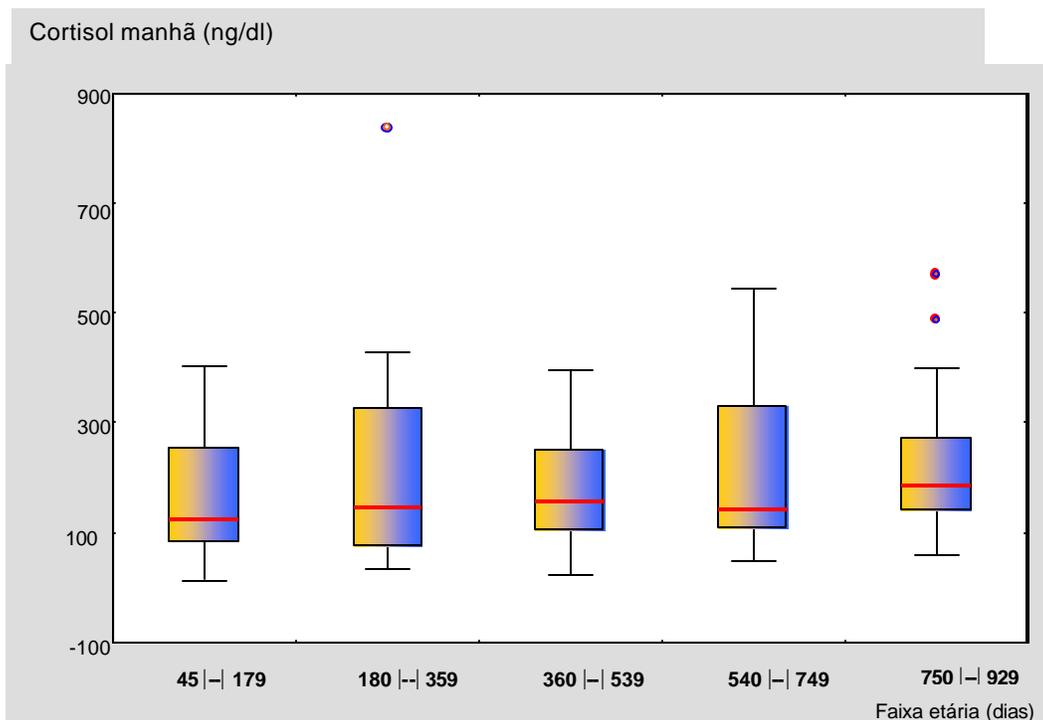
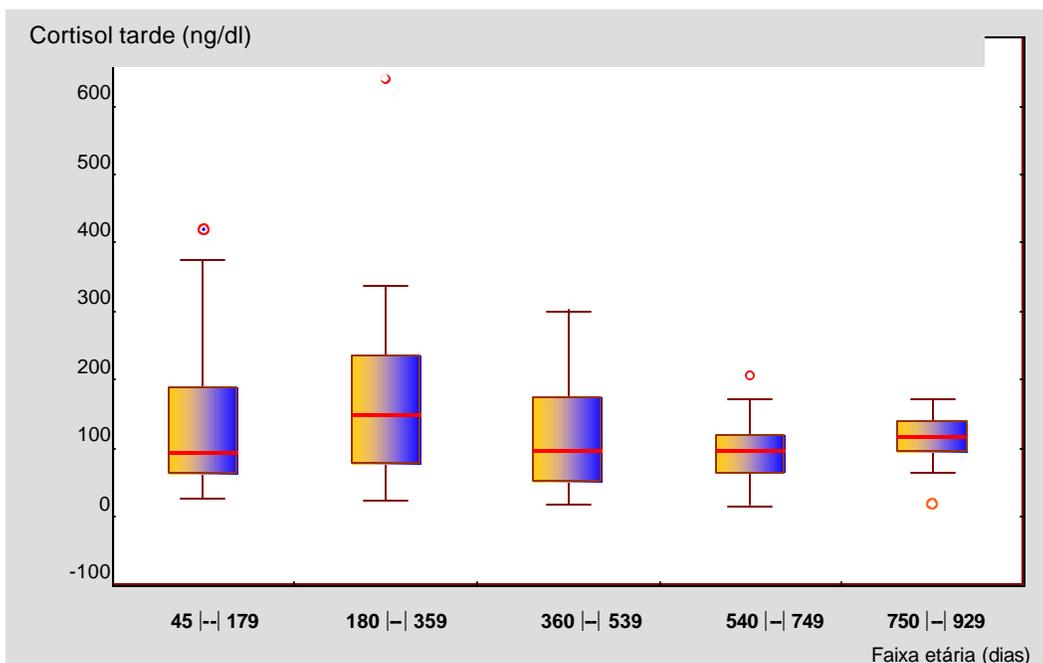
GRÁFICO 2- Distribuição do **cortisol da manhã**, segundo cada faixa etáriaGRÁFICO 3- Distribuição do **cortisol da tarde**, segundo cada faixa etária

TABELA 12 - Percentis empíricos da distribuição das medidas de cortisol salivar manhã e tarde em crianças menores de três anos

PERCENTIL	CORTISOL (MANHÃ) ng/dl	CORTISOL (TARDE) ng/dl
2,5	26,6	17,62
5	52,16	22,88
10	70,64	41,04
15	78,26	49,66
20	88,02	60,46
25	99,65	69,25
30	107,20	73,66
35	115,60	86,50
40	137,80	92,88
45	142,30	95,52
50	160,00	101,00
55	179,50	111,70
60	190,00	120,40
65	215,00	129,20
70	232,00	147,40
75	288,00	160,00
80	326,80	174,60
85	361,20	196,80
90	392,40	240,00
95	459,70	311,20
97,5	560,55	404,60

GRÁFICO 4- Valores máximo e mínimo (ng/dl) de cortisol salivar observados na literatura e no presente estudo

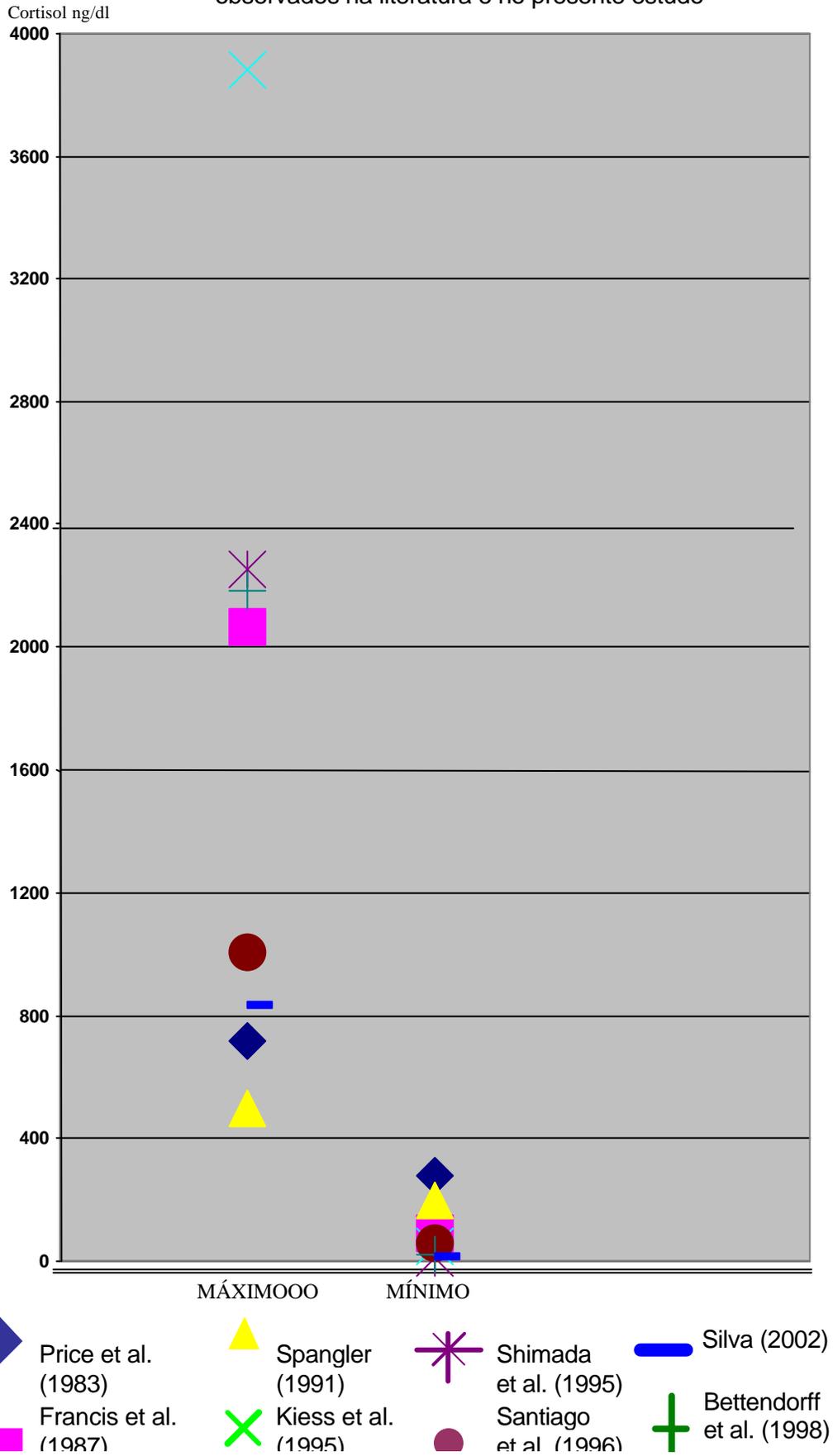


GRÁFICO 5 – Representação da correlação linear negativa das horas de sono noturno com o nível de cortisol salivar matutino

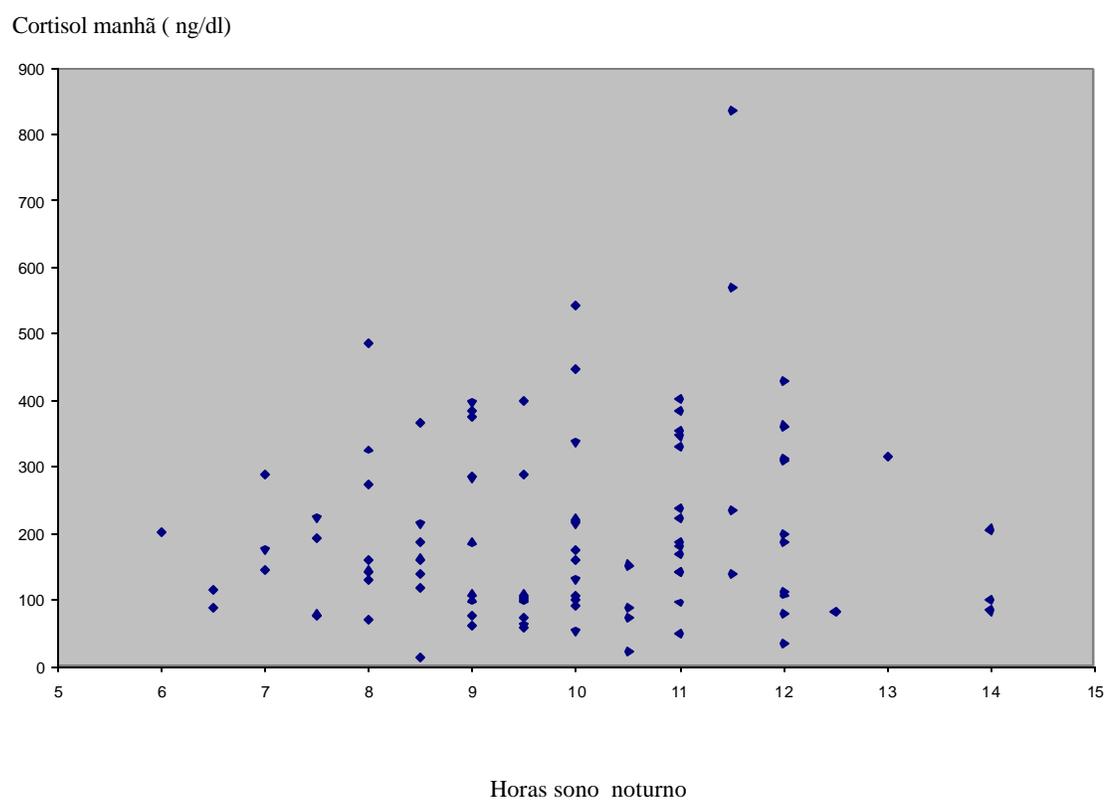
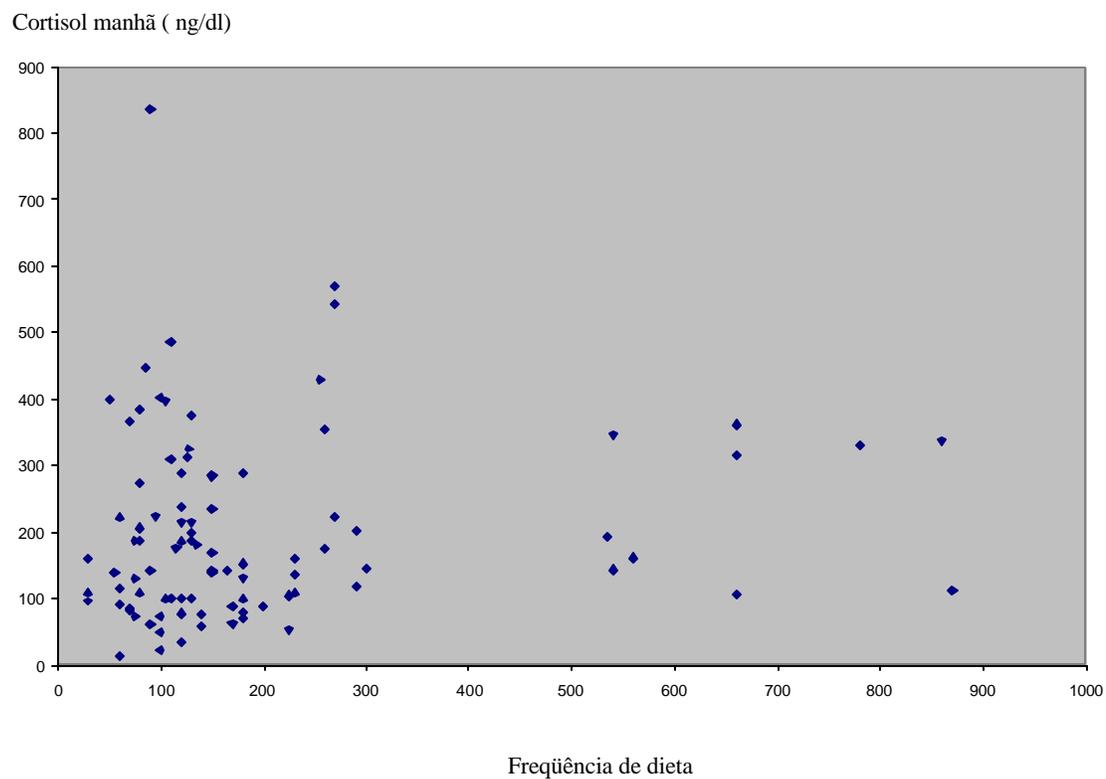


GRÁFICO 6- Representação da correlação linear negativa da frequência de dieta com o nível de cortisol salivar matutino



DISCUSSÃO

MÉTODOS DE DOSAGEM

Os efeitos colaterais da corticoterapia e sua ação sobre o *HHA* têm sido amplamente abordados pela literatura médica, em justificativa ao uso freqüente do *CE* em inúmeras situações clínicas, desde do neonato ao idoso.

De fato, na análise do eixo, há uma tendência de se supervalorizar os testes de estímulo, uma vez que estes identificam a reserva e a capacidade sintética hormonal endógena (HARRISON et al., 1982; STEWART et al., 1988). Contudo, estudos de estímulo em crianças são limitados, por serem invasivos e de alto risco (SCHLAGHECKE et al., 1992; HANNA et al., 1993; KONG et al., 1999). Christy (1984) e Law et al. (1986) discutem a validade dos testes de estímulo, uma vez que estes, são habitualmente estímulos anormais e, podem não refletir o estado adrenal e sua resposta a fatores menores, como ocasionado pelo processo infeccioso em vias aéreas superiores.

Zarkovic et al. (1999) mostraram que a dosagem de cortisol livre na urina de 24 horas é, sensitivamente, comparável ao teste de *ACTH* (250 microgramas) e ao teste de insulina (ambos de estímulo), enquanto que a dosagem de cortisol plasmática sozinha é muito menos sensível (BROWN et al., 1991b). Ainda, a medida de cortisol urinário correlaciona-se com a dosagem plasmática, sugerindo ser o marcador mais sensível da supressão do eixo, quando comparado ao cortisol sérico (CONTRERAS et al., 1986; TABACHIK & ZADIK, 1991; PADFIELD & TEELUCKSINGH, 1993; TRAINER et al., 1993; UTIGER, 1993; BRITISH THORACIC SOCIETY et al., 1995; PEACY et al., 1997). McIntyre et al. (1995) relacionando nível sanguíneo de cortisol pela manhã e de

cortisol livre em urina de 24 horas, concluíram que a dosagem urinária é mais sensível que a sérica para avaliar o eixo em uso de *CE* inalatório.

Holt et al.(1990) relacionaram métodos de avaliação do eixo em indivíduos normais, de 25 a 50 anos de idade, em uso de 1000 microgramas diários de glicocorticóide inalatório. A avaliação ocorreu nos primeiros sete dias (*D*) sem *CE* (*D*0 a *D*7), nos sete dias de corticoterapia (*D*7 a *D*14) e após sete dias sem *CE* (*D*14 a *D*21) com a análise do eixo mensurada nos dias *D*5, *D*14 e *D*21, usando diferentes métodos:

- ❑ Dosagem de cortisol plasmático (coletado às 9 horas).
- ❑ Dosagem de cortisol livre de urina 24 horas.
- ❑ Teste de metirapona.
- ❑ Teste de estímulo com *ACTH* (tetracosactrim®), dosando-se cortisol plasmático antes e trinta minutos após a administração do *ACTH*.

Houve depressão do eixo no *D*14, que se mostrou recuperado no *D*21 e como resultados entre os diferentes testes, os autores observaram:

- A dosagem de urina 24 horas ser um método mais sensível e menos invasivo para avaliar o eixo do que o cortisol plasmático.
- O teste de estímulo com o *ACTH* não mostra satisfatoriamente o efeito da depressão do eixo sob corticoterapia. Estes achados também já haviam sido descritos nos artigos de Harrison et al. (1982) e Bisgaard et al. (1988), considerando o teste de estímulo sob *ACTH* inviável na avaliação do eixo. A justificativa destes autores foi por ser o teste de *ACTH* somente capaz de verificar a depressão do eixo, se o indivíduo tivesse um comprometimento secundário da adrenal, o que normalmente não existe pelo simples fato do uso de esteróide exógeno. Ainda, este teste é contra-indicado em indivíduos asmáticos pela possibilidade de choque anafilático (CIBA LABORATORIES, 1989).

Ao final, Holt et al. (1990) concluem que os melhores métodos na avaliação do eixo, sob corticoterapia inalatória, é a dosagem de cortisol livre na urina de 24 horas e teste (único) de metirapona às 6 horas.

O teste de metirapona é considerado de maior sensibilidade para detectar insuficiência adrenal secundária (HARTZBAND et al., 1988 e HOLT et al., 1990). Por outro lado, Kuperman (1997) ressalta o risco deste recurso diagnóstico em desencadear crise adrenal em pacientes com insuficiência glandular, recomendando sua utilização com cautela.

A dosagem de cortisol salivar na avaliação adrenal é um método alternativo e confiável quando comparado à dosagem de cortisol plasmático e urinário (WALKER et al., 1978; UMEDA et al., 1981). O cortisol salivar, acima de tudo, representa ser um exame que permite repetidas coletas sem levar ao “stress”, não predispondo à espoliação sangüínea e os potenciais riscos irritativos e infecciosos na pele desencadeados pela punção venosa, de fácil coleta especialmente nos lactentes (WALKER et al., 1978 e 1979; FIET et al., 1981; UMEDA et al., 1981; FRANCIS et al., 1987; LAUDAT et al., 1988; MAGNANO et al., 1989; KIESS et al., 1995).

A dosagem de cortisol salivar tem a capacidade de estabelecer o ritmo circadiano, refletindo diretamente a concentração do cortisol livre no sangue (WALKER et al., 1978; UMEDA et al., 1981; MACHADO et al., 1986). Para ilustrar este fato, tem-se que Umeda et al. (1981) estudando a dosagem de cortisol em dez adultos saudáveis, após estímulo com *ACTH* exógeno (0, 30, 60 minutos da administração de *ACTH*), observaram que a resposta foi duas vezes mais proeminente para o método salivar do que o plasmático (figura 8). Isto sugere que a monitorização do cortisol salivar possa ser superior à dosagem sérica em várias situações clínicas, coincidindo com os achados de Walker et al. (1978) durante o teste de supressão sob dexametasona, de Luisi & Franchi (1984).

O valor discriminativo da mensuração do cortisol total é influenciado pela quantidade de proteína transportadora de *CE*. Esta por sua vez, é alterada mediante uso de drogas como estrógeno, cetoconazol e por comprometimento sistêmico como insuficiência hepática e renal (VIEIRA et al., 1982).

Certamente outros esteróides no soro, além do cortisol, podem interferir na dosagem, falsificando os resultados de exame. Daí a importância de se utilizar métodos de separação dos esteróides, quantificando apenas o cortisol livre. Para separar o cortisol plasmático é necessário o método de diálise, que exige uma técnica complexa, incluindo a necessidade de confeccionar células de diálise, preparo em banho-maria com agitação contínua, em volume significativo de material para dosagem e maior tempo de execução; tais fatores limitam o uso da diálise a poucos laboratórios de referência e de pesquisa. Neste aspecto o método de cortisol salivar apresenta uma grande vantagem, uma vez que a membrana basal das células glandulares salivares se comporta à semelhança da membrana de diálise, permitindo selecionar o cortisol livre, tornando o exame mais simples e barato. (VIEIRA et al., 1984).

FIGURA 8- Dosagem do cortisol após estímulo com ACTH

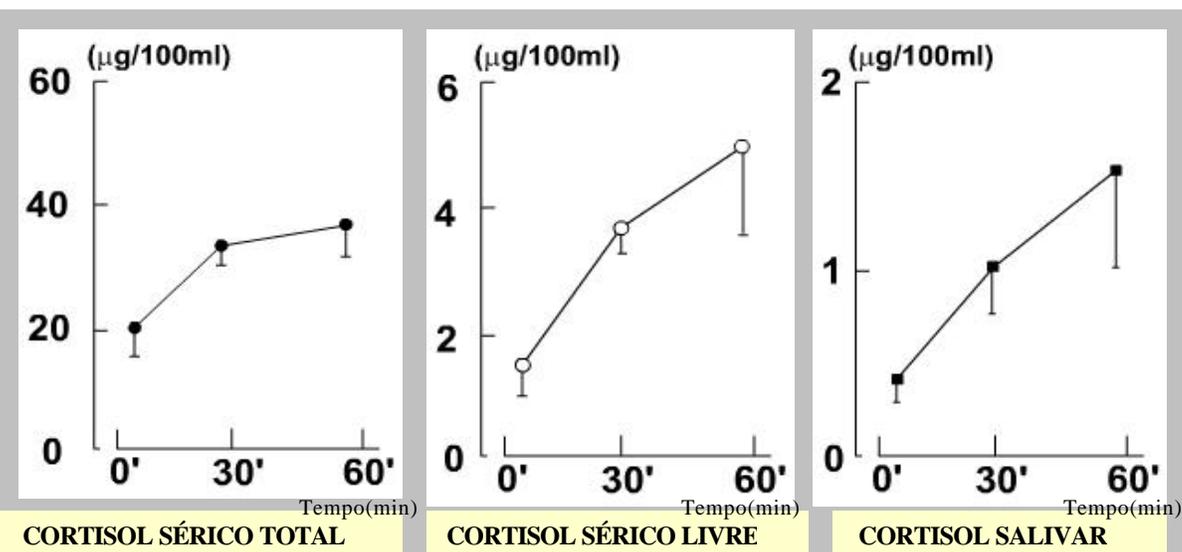


FIGURA 8 - Dosagem de cortisol sérico total, cortisol sérico livre e cortisol salivar após 0, 30, 60 minutos da administração de ACTH (Cortrosyn® 0,25mg endovenoso). A dosagem salivar foi realizada pelo método de radioimunoensaio, precedida pela extração com diclorometano e diálise.

Umeda et al. (1981).

Sendo o cortisol livre o mais representativo da função glicocorticóide (WALKER et al., 1978 e 1979; UMEDA et al., 1981) e, por considerar que o cortisol não ligado à proteína se difunde rapidamente para a saliva, tem-se o cortisol salivar um método de estudo funcional do *HHA* que serve não apenas como um “screening”, mas também como um recurso acurado (HORNING et al., 1977; WALKER et al., 1978; UMEDA et al., 1981).

Enfatizando que a corticoterapia prolongada é capaz de suprimir o *HHA* por mecanismo de “feed-back” negativo, com o bloqueio da secreção sem comprometer a síntese de *CRH* e *ACTH*, Kuperman (1997) observou durante o tratamento de pacientes neoplásicos, que a atividade adrenal permaneceu em supressão até 2 semanas após o uso contínuo de 35 dias de dexametasona, em oposto à função hipofisária que se mostrou responsiva pelo teste de *CRH* ovino. Em justificativa do comprometimento da função adrenal durante o uso de *CE*, alguns autores consideram suficiente a dosagem de cortisol basal para a avaliação da integridade do eixo sob glicocorticóide exógeno.

Todavia neste aspecto, a literatura atual não apresenta de forma prática uma padronização para avaliar o *HHA* em crianças, em contraste a uma realidade de múltiplos comprometimentos atribuídos à corticoterapia, vivenciada pelo pediatra no dia a dia de seu exercício profissional.

Em virtude da necessidade de um método não invasivo, prático e de fácil coleta mesmo em crianças pequenas, que pudesse ser utilizado como referência de normalidade para verificar os efeitos da corticoterapia, optou-se no presente estudo pela dosagem de cortisol salivar em crianças sem patologias.

TÉCNICAS DE COLETA

Partindo do fato que “stress” interfere diretamente no *HHA*, para evitar a agitação da criança durante a coleta salivar, procurou-se oferecer ao paciente um local mais agradável, descontraído, ou seja o ambiente domiciliar; sobre este mesmo aspecto também foi mantida a presença do adulto responsável, geralmente a mãe que deixava a criança aconchegada em seu colo durante a obtenção da amostra de saliva.

Outro cuidado importante, para evitar a interferência sobre os resultados, foi descartar qualquer possibilidade de resíduo de alimento oral, através da exploração da boca previamente ao exame; também foram excluídos os casos de possível vômito ou regurgitação durante a coleta, estabelecendo-se um período mínimo de 30 minutos entre o procedimento e a dieta.

A atenção deve ser principalmente quanto ao contato do material de saliva com o leite, seguido da ingesta imediata ou da regurgitação, contaminando a amostra salivar. O leite apresenta substâncias que podem dar reação cruzada com o cortisol, falsificando os resultados de exame, sem esquecer de que relativamente níveis significativos de hormônios esteróides, incluindo o cortisol, são encontrados no leite humano e animal (KULSKI & HARTMANN, 1973).

Magnano et al. (1989) dosaram, por radioimunoensaio, a quantidade de cortisol nos diferentes leites, similac, enfamil, leite materno, considerando dois períodos:

- Medida da amostra sem preparo (dosagem direta).
- Medida da amostra previamente ultracentrifugada e submetida à extração.

Nota-se que os valores obtidos pós preparo da amostra foram bem menores, em comparação à dosagem direta, reforçando a melhora do método de dosagem, ao eliminar a possibilidade de reação cruzada com outras substâncias, incluindo o cortisol (tabela 13). Por fim, os autores sugerem que para aumentar a acurácia e reduzir a variação do cortisol salivar, as amostras não devem ser coletadas durante a dieta. Há o questionamento dos valores obtidos para a dosagem do cortisol em crianças na literatura (PRICE et al., 1983; FRANCIS et al., 1987; LARSON et al., 1991; KIESS et al., 1995; BETTENDORF et al., 1998), cujos trabalhos deixaram de mencionar a possibilidade ou ausência de contaminação da amostra da saliva pelo leite, por vezes, sem discriminar o tempo precedido da dieta.

TABELA 13- Concentração de cortisol em fórmulas infantis comerciais e no leite materno

FÓRMULA	CORTISOL (mg/dl)	
	DOSAGEM DIRETA	DOSAGEM PÓS EXTRAÇÃO
Similac	4,76	0,02
Enfamil	82,20	0,03
Leite materno 1	6,90	0,15
Leite materno 2	0,02

TABELA 13 - *Dosagem de cortisol por radioimunoensaio em material de leite sem preparo (dosagem direta); material submetido previamente à ultrafiltração e extração química, utilizando fórmulas lácteas comerciais e leite materno – analisando cinco amostras de cada material, em duplicata.*

Magnano et al. (1989).

Considerando que a dosagem de cortisol não sofre influência de maior ou menor fluxo de saliva e, para tornar o procedimento mais rápido e confortável, realizado previamente à coleta a instilação de ácido cítrico a 5% na cavidade oral. Walker et al. (1978) evidenciaram que com o uso de drops de ácido cítrico há o aumento da drenagem de saliva sem alterar a dosagem de cortisol (figura 9). Esta observação também foi percebida por Levy et al. (1974) e Paxton et al. (1976); outros estudos utilizaram o estímulo da produção salivar com ácido cítrico a 5%, sem interferência nos resultados (FRANCIS et al., 1987; SANTIAGO et al., 1996).

FIGURA 9 – Dosagem de cortisol nos grupos com e sem estímulo salivar com ácido cítrico

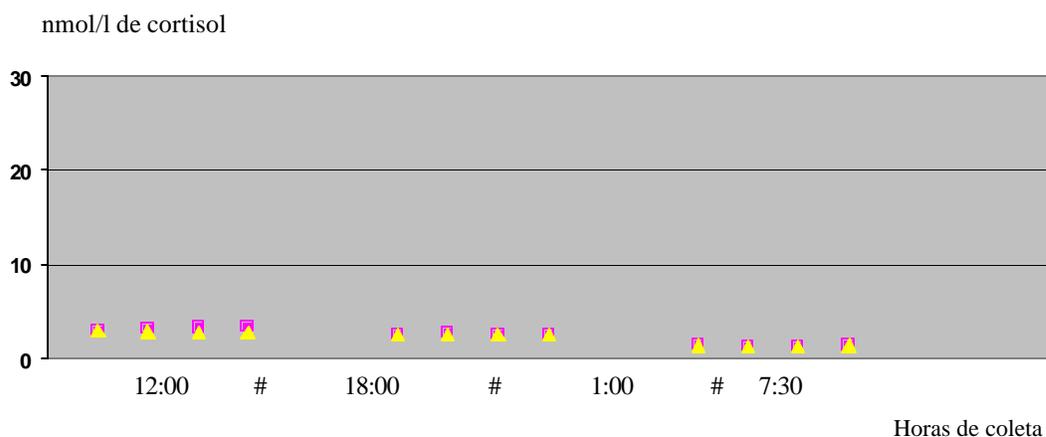


FIGURA 9 - **V** *Dosagem de cortisol salivar de material coletado diretamente da cavidade oral sem estímulo*

O *Dosagem de cortisol salivar de material coletado diretamente da parótida com estímulo de fluxo salivar através de drops de ácido cítrico*

Walker et al. (1978)

ANÁLISE DOS RESULTADOS

Considerando a possibilidade de fatores interferentes no ritmo circadiano como, horário de dieta, número de refeições, intervalo de sono / atividade, ambiente claro / escuro, idade, peso (KRIEGER, 1979; GANDIA et al., 1990; LINDER et al. 1990; SPANGLER, 1991; OLIVEIRA et al., 1993; LEAL et al., 1995; KIESS et al., 1995; SANTIAGO et al., 1996) procuramos inicialmente no estudo, verificar a homogeneidade destas variáveis entre os grupos, através da aplicação de teste estatístico. As variáveis quantitativas consideradas foram:

- ❑ Valor de cortisol (manhã e tarde)
- ❑ Hora de coleta (manhã e tarde)
- ❑ Tempo de intervalo da dieta em relação à coleta (manhã e tarde)
- ❑ Tempo de intervalo do sono em relação à coleta (manhã e tarde)
- ❑ Número de interrupções do sono noturno
- ❑ Horas de sono noturno

O teste de Kruskal-Wallis evidenciou a presença de uma mesma letra “a” em todas as medidas, independente da faixa etária, caracterizando a homogeneidade entre os grupos. Além disto, por apresentarem um nível descritivo maior de 5% ($p > 0,05$), pôde também reforçar que no estudo estes dados, em relação à faixa etária não apresentavam diferença entre si, incluindo dosagem de cortisol manhã e tarde.

A medida de cortisol foi novamente considerada homogênea entre os grupos etários através da análise de variância com um fator, sob transformação logarítmica. Neste método obteve-se para o cortisol da manhã um nível descritivo de 0,637, mostrando que as crianças de diferentes faixas etárias apresentam médias de cortisol iguais no período da manhã; com relação à

medida de cortisol da tarde, foi executado o mesmo processo, obtendo-se nível descritivo de 0,254, levando a uma conclusão análoga à anterior.

Desta forma, estes resultados permitiram estender a análise às noventa e três crianças e não apenas aos subgrupos etários para a estimativa de normalidade da taxa de cortisol, ampliando a possibilidade de observação.

Sabendo-se que o *HHA* maturo é capaz de produzir valores altos de cortisol pela manhã com queda progressiva no decorrer do dia (BONDY, 1985), conseguimos no estudo, identificar a possibilidade de um ritmo circadiano normal nas crianças a partir de 45 dias de vida. Isto foi verificado através da comparação das médias de dosagem de cortisol da manhã e da tarde pelo teste *t* de Student para todos os grupos relacionados, com um nível descritivo $p < 0,001$, permitindo inferir que o cortisol da manhã é mais alto que o cortisol da tarde, do ponto de vista estatístico.

Muitos trabalhos de pesquisa tentam esboçar a curva de normalidade de cortisol para crianças nas diferentes faixas etárias. Zurbrügg (1974) avaliando dosagem de cortisol sérico em seis neonatos, cinco crianças de 18 meses e onze crianças de 18 meses a 11 anos observou ritmo circadiano aos 2 anos de vida. Onish et al. (1983) dosando cortisol sérico total em vinte e quatro crianças de 1 mês a 10 meses e oito crianças de 1 ano a 3 anos, verificaram ritmo a partir dos 6 meses, coincidindo com a evidência de Van Cauter & Turek (1995).

No entanto, a respeito da maturidade do eixo nota-se muitas controvérsias na literatura. Kiess et al. (1995) usando cortisol salivar por imunofluorescência em crianças de 1 mês a 12 meses (10 amostras) e de 1 ano a 4 anos (17 amostras) notaram ritmo aos 9 meses. Price et al. (1983) (8 crianças de 1 a 24 semanas); Francis et al. (1987) (8 neonatos); Larson et al. (1991) (crianças de 9,5 meses – 24 amostras); Spangler (1991) (onze recém nascidos e quatorze entre 3 a 7 meses), utilizando dosagem de cortisol salivar, observaram ritmo aos 3 meses de vida. Já os trabalhos de Santiago et al. (1996) e de Antonini

et al. (2000), ambos estudando o eixo por dosagem de cortisol salivar de 9 recém nascidos, verificaram ritmo a partir de 8 a 12 semanas.

No presente trabalho, a idade observada para desenvolvimento da maturidade do *HHA* foi de 45 dias, idade esta inferior à consideração na literatura. É certo sobre este aspecto, que os estudos existentes relacionam um pequeno número de crianças, dificultando a comparação entre si (SANTIAGO et al., 1996). Ressalta-se ainda, que o número de crianças selecionadas no estudo atual, por consideração à homogeneidade da amostra, foi de 93 que, comparado a outros trabalhos em literatura tem um valor relevante.

Entre as medidas de cortisol manhã / tarde e as variáveis interferentes, observou-se para o cortisol matutino, uma correlação linear negativa envolvendo horas de sono noturno e frequência de dieta. Isto significa que quanto maior o tempo de sono noturno e número de refeições, menor é a taxa de cortisol matutino.

Com relação ao sono tem-se que o cortisol sérico nos recém-nascidos é menor durante o repouso do que em atividade sem “stress” (TENNES & CARTER, 1973; GUNNAR et al., 1985). O mesmo foi observado por Tennes & Vernadakis (1977) através da dosagem de cortisol urinário em menores de um ano.

A interferência da dieta sobre o cortisol é claramente ilustrada por Oliveira et al. (1993). Neste trabalho verificou-se a concentração de corticosterona sérica em camundongos com acesso livre e restrito de dieta por 2 semanas. Foi observado que quanto maior restrição de dieta, maior a taxa de corticosterona pela manhã, não ocorrendo o mesmo com o vespertino. Envolvendo seres humanos, isto foi verificado pelo estudo de Spangler (1991), mensurando cortisol salivar em recém nascidos e em crianças de 3 a 7 meses.

No estudo atual também foi notado uma correlação linear negativa entre o cortisol vespertino e a circunferência do braço. A explicação deste fato não foi encontrada na literatura, porém é válida a lembrança de que a medida da

circunferência do braço representa depósito de gordura subcutânea e que o *CE* tem ação lipolítica.

Com base na literatura de que sexo (KIESS et al. 1995) e raça (YANOVSKI, et al. 1995) não interferem na dosagem de cortisol, a seleção dos pacientes ocorreu independentemente destes dois aspectos. Por outro lado, houve o cuidado fundamental de se especificar os parâmetros nutricionais de cada criança, influenciado pelo trabalho de Kiess et al. (1995) que observaram uma correlação positiva do cortisol matutino pelo peso e massa corpórea (figura10). Todavia, no presente estudo não se encontrou, por teste estatístico, a influência destes parâmetros nutricionais sobre a taxa de cortisol. Provavelmente esta resposta em contraste à observação de Kiess et al. (1995) é justificada pelo fato da variação de cortisol pelo peso obedecer uma reta ascendente; desta forma, sob menor peso há baixa influência sobre os níveis de cortisol.

Finalmente como resultados da mensuração de cortisol obteve-se para manhã um valor mediano de 160 ng/dl com variação no percentil 2,5 de 26,6 ng/dl e no percentil 97,5 de 560,5 ng/dl; para o cortisol da tarde, verificou um valor mediano de 101 ng/dl e variação no percentil 2,5 de 17,62 ng/dl e no 97,5 de 404,60ng/dl.

FIGURA 10 – Nível de cortisol salivar em relação ao peso

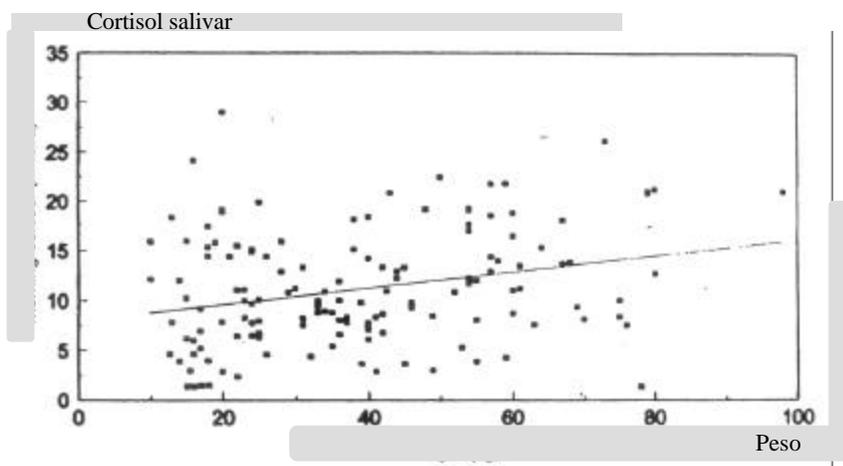


FIGURA 10 – Nível de cortisol salivar em relação ao peso. Cortisol salivar mensurado pela técnica de imunofluorescência em 152 indivíduos saudáveis. Nível de cortisol salivar (nmol/l) é positivamente correlacionado com o peso corpóreo (Kg) ($r = 0,28$, $p < 0,001$, $y = (2,88 + 0,03x) \times 2,8$).

O anexo 5 resume as características de vários trabalhos da literatura a respeito da dosagem de cortisol na criança. Neste aspecto foi realizada uma comparação dos níveis máximos e mínimos de cortisol salivar entre os estudos já realizados e o atual, esboçando os resultados no gráfico 4. Esta representação gráfica evidenciou os valores mínimos de cortisol salivar aparentemente proporcionais entre os trabalhos. Todavia, isto não foi constatado para os valores máximos, que ilustram indiretamente a dosagem de cortisol pela manhã. Dentre os dados de literatura observa-se que o estudo atual tende a um posicionamento numa situação de proximidade aos valores dos trabalhos de Price et al. (1983), Santiago et al. (1996) e de Spangler (1991). Os trabalhos de Kiess et al. (1995) e Shimada et al. (1995) mostraram dados que se afastam totalmente da tendência central.

Como explicações possíveis a estes achados, vale a pena ressaltar que no estudo de Shimada et al. (1995) foram consideradas crianças expostas ao ambiente hospitalar, que de certa forma poderia contribuir para maiores níveis de cortisol representados pelo “stress”. Kiess et al. (1995) apresentaram um grupo amostral pequeno em relação às crianças mais jovens, podendo por esta razão ter os resultados de exames influenciados pelo hábito alimentar; lembrando que de acordo com os achados de nosso estudo, a dosagem de cortisol pela manhã tem correlação linear negativa para a frequência de dieta e, sob um grupo amostral predominante de crianças maiores, tende-se a uma reduzida frequência alimentar em comparação às crianças mais jovens e, certamente níveis de cortisol matutino mais significativos.

É certo que para o esclarecimento destas diferenças sobre os valores de cortisol na literatura, são importantes algumas observações a respeito dos estudos já realizados:

- 1- Pequeno número de amostras envolvidas entre os estudos.
- 2- Em geral, ausência de informações a respeito dos cuidados na limpeza e inspeção da boca à busca da existência de resíduo alimentar, e reconhecimento de intervalo mínimo entre dieta e coleta de saliva.
- 3- Onish et al. (1983) também consideraram casos envolvendo processo infeccioso com febre, situações estas que possibilitam a interferência na dosagem de cortisol (MASON et al., 1979).
- 4- Muitos trabalhos realizaram a coleta de cortisol de pacientes sob “stress” representado pela internação hospitalar, procedimentos médicos, ausência integral do membro familiar.
- 5- Diferentes técnicas empregadas para a dosagem de cortisol, retirando a uniformidade entre os grupos, dificultando uma análise comparativa.
- 6- Na maioria dos trabalhos há falta de informação a respeito da freqüência alimentar e o período de sono noturno, fatores estes que poderiam interferir nos resultados.

CONCLUSÕES

1. Partindo da homogeneidade dos grupos estudados, considerou-se em relação às noventa e três crianças da amostra, que o valor de cortisol salivar esperado para crianças abaixo de três anos de idade, saudáveis e de grau nutricional acima de 75% (Gomez ou Waterlow), com amostra de saliva coletada entre 7 e 10 horas é de 160 ng/dl em 50% dos casos com variação nos percentis 2,5 a 97,5 próximo de 27 a 560 ng/dl; para a dosagem do cortisol coletado entre 15 às 18 horas, em 50% dos casos apresenta uma taxa de 101 ng/dl, com variação aproximada nos percentis 2,5 a 97,5 de 18 a 405 ng/dl.

2. Pelo método de dosagem de cortisol salivar, crianças a partir de 45 dias de vida são capazes de apresentar maturidade hipotálamo-hipofisária-adrenal.

REFERÊNCIAS

- Antonini SRR, Jorge SM, Moreira AC. The emergence salivary cortisol circadian rhythm and its relationship to sleep activity in preterm infants. *Clinical Endocrinology* 2000; 52: 423-426.
- Antunes M, Belik J. Análise crítica do uso de esteróides no período neonatal. *Jornal de Pediatria (Rio J)* 2001; 77 (Supl1): S25-S31.
- Azevedo I, De Blie J, Dumary CH, Scheinmann P, Vargaftig BB, Bachelet M (a). Increased spontaneous release of tumor necrosis factor - α by alveolar macrophages from wheezy infants. *Eur Respir J* 1997; 10: 1767-1773.
- Azevedo I, De Blie J, Scheinmann P, Vargaftig BB, Bachelet M (b). Eosinophil cationic protein in bronchoalveolar lavage from wheezy infants. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1997; 7: 346-347.
- Balkrishnan R, Norwood JG, Anderson A. Outcomes and Cost Benefits Associated with Introduction of Inhaled Corticosteroid Therapy in a Medicaid Population of Asthmatic Patients. *Clinical Therapeutics* 1998; 20 (3): 567-580.
- Bancalari E. Corticosteroids and Neonatal chronic lung disease. *Eur J Pediatr* 1998; 157: S31-S37.
- Barnes PJ. Efficacy of inhaled corticosteroids in asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998; 102 (4): 531 – 538.
- Baxter JD, Tyrrell JB. The adrenal cortex. In: Felig P, Baxter JD, Broadus AE, Frohman LA (eds). *Endocrinology and Metabolism*. McGraw-Hill, New York 1981: 385.
- Bernstein A. Inhalation Therapy. *Journal of the Royal Society of Medicine* 1980; 73: 769.

Behrman RE. O sistema endócrino – Distúrbios das glândulas supra-renais – Insuficiência córtico-supra-renal. 14ª edição- editora Guanabara Koogan, 1994; 2 (19 – pt 22): 1270-1275.

Berry MA, Abrahamowicz M, Usher RH. Factors associated with growth of extremely premature infants during initial hospitalization. *Pediatrics* 1997; 100: 640-646.

Bettendorf M, Albers N, Bauer J, Heinrich EU, Linderkamp O, Maser-Gluth C. Longitudinal Evaluation of Salivary Cortisol levels in Full- Term and Preterm Neonates. *Hormone research* 1998; 50 (6): 303-308.

Bisgaard H. Use of Inhaled Corticosteroids in Pediatric Asthma. *Pediatric Pulmonology, Supplement* 1997; 15: 27 – 33.

Bisgaard H, Munck SL, Nielsen JP, Petersen W, Ohlsson SV. Inhaled budesonide for treatment of recurrent wheezing in early childhood. *Lancet* 1990; 336: 649-651.

Bisgaard H, Nielsen MD, Andersen B, Andersen P, Foged N, Fuglsang G, et al. Adrenal function in children with bronchial asthma treated with beclomethasone dipropionate or budesonide. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1988; 81: 1088-1095.

Bloomfield FH, Knight DB, Breier BH, Harding JE. Growth restriction in dexamethasone-treated preterm infants may be mediated by reduced IGF-I and IG'FBP-3 plasma concentrations. *Clinical Endocrinology (Oxf)* 2001; 54: 235-242.

Bondy PK. Disorders of the adrenal cortex. In: Wilson, JD & FASTER, DW eds. *Williams-Textbook of Endocrinology*: W. B. Saunders Company, 1985: 816.

British thoracic society, National asthma campaign, Royal College of physicians of London, General practitioner in medicine, British paediatric respiratory society, et al (1997). *The British Guidelines on Asthma Management Review and Position Statement*. *Thorax* 1995; 52 (suppl1): S1-S21.

Brown PH, Greening AP, Crompton GK. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis suppression in asthmatics adult taking high dose beclomethasone dipropionate. *Br J Clin Pract* 1992; 46: 102-104.

Brown PH, Blundell G, Greening AP, Crompton GK (a). Screening for hypothalamo-pituitary-adrenal axis suppression in asthmatics taking high dose inhaled corticosteroids. *Respiratory Medicine* 1991; 85: 511-516.

Brown PH, Blundell G, Greening AP, Crompton GK (b). Hypothalamo-pituitary-adrenal axis suppression in asthmatics inhaling high dose inhaled corticosteroids. *Respiratory Medicine* 1991; 85: 501-510.

Burke PM, Reichler RJ, Smith E, Dugaw K, McCauley E, Mitchell J. Correlation between serum and salivary cortisol levels in depressed and non-depressed children and adolescents. *Am J Psychiatry* 1985; 142: 1065-1067.

Campana AO, Padovani CR, Timo-lara C, Freitas CBD, Paiva SAR, Hosne WS. *Investigação científica na área médica*- editora Manole – São Paulo. 2001: 245p.

Carlsen KCL, Nikander K. Carlsen K-H. How much nebulized budesonide reaches infants and toddlers ? *Archives of Disease in Childhood* 1992; 67: 1077- 1079.

CDC. department of health and human services – centers for disease control and prevention – national center for health statistics e- stats- division of data services – fact sheet – released 10/05/2001 [cited 2001 Oct 09]. Available from: <http://www.cdc.gov/nchs/products/pubs/pubd/hestats/asthma/asthma.htm>.

Chan MTS, Leung DYM, Szeffler SJ, Spahn JD. Difficult-to-control asthma; clinical characteristics of steroid-insensitive asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998; 101: 594-601.

Christy NP. HPA failure and glucocorticoid therapy. *Hosp Pract* 1984; 19: 77-89.

Ciba Laboratories Synacthen TM. In: ABPI Data Sheet Compendium 1989-90. London: Datapharm 1989: 33-334.

Claman HM (a). Glucocorticosteroids I: Antiinflammatory mechanisms. *Hosp Pract* 1983; 18: 123-134.

Claman HM (b). Glucocorticosteroids II: The clinical responses. *Hosp Pract* 1983; 18: 143-151.

Clark TJH. Inhaled corticosteroid therapy. A substitute for theophylline as well as prednisolone ? *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1985; 76: 330-334.

Contreras, LN, Hane S, Tyrrell JB. Urinary cortisol in the assessment of pituitary-adrenal function: utility of 24 hour and spot determination. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1986; 62 (5): 965-969.

Cotecchia S, De Blasi A. Glucocorticoids increase beta-adrenoceptors on human intact lymphocytes in vitro. *Life Sciences* 1984; 35: 2359-2364.

Covar RA, Leung DYM, McCormick D, Steelman J, Zeitler P, Spahn J. Risk factors associated with glucocorticoid – induced adverse effects in children with severe asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2000; 106: 651-659.

Crapo L. Cushing's syndrome: a review of diagnostic tests. *Metabolism* 1979; 28: 955.

Dallman MF, Darlington DN, Suemaru S, Cascio CS, Levin N. Corticosteroids in homeostasis. *Acta Physiol Scand* 1989; 136: 27-34.

De Blie J, Delacourt C, Bourgeois M, Mahur B, Ostinelli J, Caswell C, et al. Efficacy of nebulized budesonide in the treatment of severe infantile asthma: a double-blind study. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1996; 98: 14-20.

Dickstein E, Lahav M, Orr Z. Single- dose metyrapone test at 0600h: an accurate method for assessment of pituitary-adrenal reserve. *Acta Endocrinol* 1986; 112: 28-34.

Djukanovic R, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Walls AF, Roche WR, et al. Effect of an inhaled corticosteroid on airway inflammation and symptoms of asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 669-674.

Dluhy RG. Clinical relevance of inhaled corticosteroids and HPA axis suppression. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998; 101: S447-S450.

Dluhy RG, Lauler DP, Thorn GM. Pharmacology and chemistry of adrenal glucocorticoids. *Med Clin North Am* 1973; 57: 1155-1166.

Dolan LM, Kesarwala H, Holroyde JC, Fisher TJ. Short-term, high-dose, systemic steroids in children with asthma: the effect on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1987; 80: 81-87.

Duiverman EJ, Neijin HJ, Van Strik R, Affourtit MJ, Kerrebijn KF. Lung function and bronchial responsiveness in children who had infantile bronchiolitis. *Pediatric Pulmonology* 1987; 3: 38-44.

Evans PJ, Peters JR, Dyas J, Walker RF, Riad-fahmy D, Hall R. Salivary cortisol levels in true and apparent hypercortisolism. *Clinical Endocrinology (Oxf)* 1984; 20: 709-715.

Farrer M, Francis AJ, Pearce SJ. Morning serum cortisol concentrations after 2 mg inhaled beclomethasone dipropionate in normal subjects: effect of a 750 ml spacing device. *Thorax* 1990; 45: 740-742.

Fauci AS, Dale DC, Ballou JE. Glucocorticosteroid therapy: mechanisms of action and clinical considerations. *Ann Int Med* 1976; 84: 304-315.

Fiet J, Passa PH, Guehot J, Gourmel B, Villette JM, Cathelineau G. Intérêt du dosage du cortisol dans la salive. *La Nouvelle Presse Médicale*. 1981; 10 (32): 2664.

Fluticasone propionate collaborative pediatric working group. Treatment of seasonal allergic rhinitis with once-daily intranasal fluticasone propionate therapy in children. *Journal of Pediatrics* 1994; 125 (4): 628-634.

Foreman DM, Goodyer IM. Salivary cortisol hypersecretion in juvenile depression. *J Child Psychol Psychiatry* 1988; 29: 311-320.

Francis SJ, Walker RF, Riad- Fahmy D, Hughes D, Murphy JF, Gray, OP. Assessment of adrenocortical activity in term newborn infants using salivary cortisol determinations. *Journal of Pediatrics* 1987; 11: 129-133.

Freigang B, Ashford DR. Adrenal cortical function after long-term beclomethasone aerosol therapy in early childhood. *Ann Allergy* 1990; 64: 342-344.

Frisancho AR. Triceps skin fold and upper arm muscle size norms for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1974; 27: 1052-1058.

Gandia A, Bolufer P, Rodriguez A, Antônio P. Salivary cortisol increases with age in children. *J Clin Chem Clin Biochem* 1990; 28: 655.

Gilder SSB. Steroids in asthma. *S Afr Med J* 1987; suppl 1:1-8.

Godfrey S, Konig P. Treatment of asthma for 13 months and longer with beclomethasone dipropionate aerosol. *Archives of Disease in Childhood* 1974; 49: 591-596.

Godfrey S, Konig P. Beclomethasone aerosol in childhood asthma. *Archives of Disease in Childhood* 1973; 48: 665-670.

Goldstein DE, Konig P. Effect of inhaled beclomethasone dipropionate on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in children with asthma. *Pediatrics* 1983; 72: 60-64.

Gomez F, Galvan R, Frenk S, Cravioto J, Chavez R, Vasquez J. Mortality in second and third degree malnutrition. *J Trop Ped* 1956; 2: 77-83.

Goodwin A . An uncontrolled assessment of nebulized budesonide in the treatment of acute infantile bronchiolitis. *Br J Clin Res* 1995; 6: 113-119.

Grumach AS, Castro APBM. Corticosteróides na criança. In: Castro FFM, Castro ML. Corticosteróides nas alergias respiratórias. São Paulo: Editora Vivali, 1999; 3: 101-111.

Gunnar M, Malone S, Vance G, Fisch RO. Coping with Aversive stimulation in the neonatal period: Quiet sleep and plasma cortiços levels during recovery from circumcision. *Child Development* 1985; 56: 824-834.

Gurwitz D, Mindorff C, Levinson H. Increased evidence of bronchial reactivity in children with a history of bronchiolitis. *Journal of Pediatrics* 1981; 98: 551-555.

Hägg E, Asplund K, Lithner F. Value of basal plasma cortisol assays in the assessment of pituitary-adrenal insufficiency. *Clinical Endocrinology* 1987; 26: 221- 226.

Halliday HL, Ehrenkranz RA (a). Moderately early (7-14 days) postnatal corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; CD 001144.

Halliday HL, Ehrenkranz RA (b). Delayed (> weeks) postnatal corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; CD 001145.

Halliday HL, Ehrenkranz RA (c). Early postnatal (< 96 hours) corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; CD 001146.

Hanada K, Yamada N, Shomoda K, Takahashi S. Direct RIA of cortisol in saliva and its application to the dexamethasone suppression test in affective disorders. *Psychoneuroendocrinology* 1985; 10: 193-201.

Hanna CE, Keith D, Colasurdo MA. Hypothalamic pituitary and renal function in the extremely low birth weight infant. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1993; 76: 384-387.

Harrison BDW, Rees LH, Cayton RM, Nabarro JDN. Recovery of hypothalamo-pituitary-adrenal function in asthmatics whose oral steroids have been stopped or reduced. *Clinical Endocrinology* 1982; 17: 109-118.

Hartzband PI, Van Herle AJ, Sorger L, Cope D. Assessment of hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis dysfunction: comparison of ACTH stimulation, insulin-hypoglycemia and metyrapone. *J Endocrinol Invest* 1988; 11: 769-776.

Helfer EL, Rose LI. Corticosteroids and adrenal suppression: characterising and avoiding the problem. *Drugs* 1989; 38: 838-845.

Hench P, Kendal E, Slocumb C, Polley H. The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone, compound E) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid arthritis. *Proc Staff Meet Mayo Clin* 1949; 24: 181-197.

Henry RL, Hodges IGC, Milner AD, Stokes GM. Respiratory problems 2 years after acute bronchiolitis in infancy. *Archives of Disease in Childhood* 1983; 58: 713-716.

Hiramatsu R. Direct assay of cortisol in human saliva by solid phase radioimmunoassay and its clinical applications. *Clin Chim Acta* 1981; 117: 239-242.

Holt PR, Lowndes DW, Smithies E, Dixon GT. The effect of an inhaled steroid on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis with tests should be used ? *Clinical and Experimental Allergy* 1990; 20: 145-149.

Hokstra MO, Grol MH, Bouman K, Stijnen T, Koëter GH, Kauffman HF, et al. Fluticasone propionate in children with moderate asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care* 1996; 154 (4 pt1): 1039-1044.

Horning MG, Brown L, Nowlin J, Lertratanangkoon K, Kellaway P, Zion TE. Use of saliva in therapeutic drug monitoring. *Clinical Chemistry* 1977; 23: 157-164.

Ilangovan P, Pedersen S, Godfrey S, Nikander K, Noviski N, Warner JO. Treatment of severe steroid dependent preschool asthma with nebulized budesonide suspension. *Archives of Disease in Childhood* 1993; 68: 356-359.

Jobe AH. Perspectivas da terapêutica de reposição com surfactante exógeno. In: Kopelman B, Miyoshi M, Guinsburg R. Distúrbios respiratórios no período neonatal – editora Atheneu 1998; 33: 363-375.

Johansson AS, Andersson KE, Brattsand R, Gruvstad E, Hedner P. Topical and systemic glucocorticoid potencies of budesonide, beclomethasone dipropionate and prednisolone in man. *Eur J Respir Dis* 1982; 63 (supl 122): 74-81.

Kaliner M. Mechanisms of glucocorticosteroid action in bronchial asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1985; 76: 321-329.

Kari MA, Heinonen K, Ikonen RS, Koivisto M, Raivio KO. Dexamethasone treatment in preterm infants at risk for bronchopulmonary dysplasia. *Archives of Disease in Childhood* 1993; 68: 566-569.

Kater, CE. Programa de atualização em corticoterapia desenvolvido pela Indústria Farmacêutica Schering-Plough São Paulo 2001: 1-39.

Kater CE. Mecanismo de ação dos glicocorticóides: efeitos fisiológicos, farmacológicos e propriedades terapêuticas, desenvolvido pela Indústria Química e Farmacológica Schering-Plough 1999; 1: 1-20.

Kerrebijn KF. Beclomethasone dipropionate in long term treatment of asthma in children. *Journal of Pediatrics* 1976; 89: 821-826.

Kiess W, Meidert A, Dressendörfer RA, Schriever K, Kessler U, König A, et al. Salivary cortisol levels throughout childhood and adolescence: Relation with age, pubertal stage, and weight. *Pediatric Research* 1995; 37 (4): 502-506.

Kirschbaum C. Cortisolmessung im Speichel – eine Methode der biologischen Psychologie Verlag H Huber, Seattle 1991.

Kirschbaum C, Hellhammer DH. Salivary cortisol in psychobiological research: an overview. *Neuropsychobiology* 1989; 22: 150-169.

Kokron, CM. Lisina-Vasopressina na avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal de crianças alérgicas tratadas com corticosteróides, oral ou inalatório. [Tese]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina; 1992.

Kong, WM, Alaghand- Zadeh J, Jones J, Carter J, O' Shead. The Midnight to Morning Urinary cortisol increment is an accurate, noninvasive method for Assessment of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1999; 84 (9): 3093 – 3098.

Krieger DT. Rhythms in CRF, ACTH and corticosteroids. In *Endocrine Rhythms* (ed. DT Krieger). Raven Press, New York 1979: 123-142.

Kulski J, Hartmann P. Changes in the concentration of cortisol in milk during different stages of human lactation. *AJEBAK* 1973; 59: 769-778.

Kuperman H. Avaliação do eixo hipotálamo-hipófise supra-renal em crianças com leucemia sob corticoterapia [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1997.

Larson MC, Gunnar MR, Hertzgaard L. The effects of morning naps, car trips and maternal separation on adrenocortical activity in human infants. *Child Development* 1991; 62: 362-372.

Laudat MH, Cerdas S, Fournier C, Guiban D, Guilhaume B, Luton JP. Salivary cortisol measurement: a practical approach to assess pituitary-adrenal function. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1988; 66: 343-348.

Law CM, Marchant JL, Honour JW, Preece MA, Warner JO. Nocturnal adrenal suppression in asthmatic children taking inhaled beclomethasone dipropionate. *Lancet* 1986; I: 942-944.

Leal AMO, Forsling ML, Moreira AC. Diurnal variation of the pituitary-adrenal and AVP responses to stress in rats under food restriction. *Life Sciences* 1995; 56: 191-198.

Ley G, Elliot FE, Kaysooko R. Indirect plasma-theophylline monitoring in asthmatic children by determination of theophylline concentration in saliva. *Pediatrics* 1974; 53: 873.

Linder BL, Esteban NV, Yergey AL, Winterer JC, Loriaux DL, Cassorla F. Cortisol production rate in childhood and adolescence. *Journal of Pediatrics* 1990; 117: 892-896.

Lipworth BJ, Clark DJ, MacFarlane LC. Adrenocortical activity with repeated twice daily dosing of fluticasone propionate and budesonide given via a large volume spacer to asthmatic school children. *Thorax* 1997; 52: 686-689.

Long CE, McBride JT, HALL CB. Sequelae of Respiratory Syncytial Virus infections: a role for intervention studies. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 1995; 151: 1678-1681.

López FM. Glicocorticóides no tratamento da asma infantil. II Encontro Latino-Americano de Pediatras alergistas (ALAPE) – V Curso Latino-Americano de Imunologia e Alergia Infantil – Rio de Janeiro – Brasil 1992.

Luisi M, Franchi F. Salivary steroid measurements. An alternative approach to plasma assays in assessing endocrine function. In: Kawamura Y, Ferguson DB (eds). *Frontiers of oral Physiology. Steroid hormones in saliva*. S. Karger, Basel 1984; 124-155.

Machado CE, Kater CE, Draibe SA, Vieira JG, Chacra AR, Ajzen H. Técnicas de dosagem de cortisol plasmático e salivar em nefropatas crônicos em programa de hemodiálise. *Rev Ass Med Brasil* 1986; 32 (3/4): 42-46.

Magnano CL, Diamond EJ, Gardner JM. Use of salivary measurements in young infants: A note of caution. *Child Development* 1989; 60: 1099-1101.

Malamud D, Tabak L. Saliva as a diagnostic fluid. *Ann NY Acad Sci* 1993; 694: 1-343.

Mangovan P, Pedersen S, Godfrey S, Nikander K, Noviski N, Warner JO. Treatment of severe steroid dependent preschool asthma with nebulized budesonide suspension. *Archives of Disease in Childhood* 1993; 68: 356-359.

Mano K, Akbarzadeh A, Townley RG. Effect of hydrocortisone on beta-adrenergic receptors in lung membranes. *Life Sciences* 1979; 25: 1925-1930.

Markovitz BP, Randolph AG. Corticosteroids for the prevention and treatment of post-extubation stridor in neonates, children and adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; CD 001000.

Martin LE, Harrison C, Tanner RJN. Metabolism of beclomethasone dipropionate by animals and man. *Postgrad Med J* 1975; 51: 11-20.

Martinez FD. Viral infections and the development of asthma. *American Journal Respiratory Critical Care Medicine* 1995; 151: 1644-1647.

Mason JW, Buescher EL, Belfer ML, Artenstein MS, Mougey EH. A prospective study of corticosteroids and catecholamine levels in relation to viral respiratory illness. *Journal of Human Stress* 1979; September: 18-28.

McIntyre HD, Mitchell CA, Bowler SD, Armstrong JG, Wooler JA, Cowley DM. Measuring the systemic effects of inhaled beclomethasone timed morning urine collections compared of inhaled with 24 hour specimens. *Thorax* 1995; 50: 1280-1284.

Meulenberg PM, Hofman JA. Differences between concentrations of salivary cortisol and cortisone and of free cortisol and cortisone in plasma during pregnancy and post partum. *Clinical Chemistry* 1990; 36: 70-75.

Morris HG. Mechanisms of glucocorticoid action in pulmonary disease. *Chest* 1988; 2: 133S-141S.

Morris HG. Mechanisms of action and therapeutic role of corticosteroids in asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1985; 75: 1-13.

Morris, HG. Pharmacology of corticosteroids in asthma. In: Middleton E, Reed CE, Ellis EF, eds. *Allergy – Principles and Practice*. CV Mosby Company 1983: 593.

Munck A, Mendel DB, Smith LI, Orti E. Glucocorticoid receptor and actions. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: S2-S10.

Ng PC, Blackburn ME, Brownlee KG, Buckler JM, Dear PR. Adrenal response in very low birthweight babies after dexamethasone treatment for bronchopulmonary dysplasia. *Archives of Disease in Childhood* 1989; 64: 1721-1726.

Noble V, Ruggins NR, Everard ML, Milner AD. Inhaled budesonide for chronic wheezing under 18 months of age. *Archives of Disease in Childhood* 1992; 67: 285-288.

Norman GR, Streiner DL . *Biostatistics the bare essentials*. Mosby-year book. St Louis. 1994: 260.

Oliveira MHA, Rodrigues JA, Leal, AMO, Elias LLK, Moreira, AC. Circadian variations of plasma atrial natriuretic peptide and corticosterone in rats with continuous or restricted access to food. *Life Sciences* 1993; 53 (24): 1795-1801.

Onish S, Miyazawa G, Nishimura Y, Sugiyama S, Yamakawa T, Inagaki H, et al. Postnatal development circadian rhythm in serum cortisol levels in children. *Pediatrics* 1983; 72: 399-404.

Padfield PL, Teelucksingh S. Inhaled corticosteroids: the endocrinologist's view. *Eur Respir Rev* 1993; 3; 494-500.

Papile LA, Tyson JE, Stoll BJ, et al. A multicenter trial of two dexamethasone regimens in ventilator – dependent premature infants. *The New England Journal of Medicine* 1998; 338: 1112-1118.

Pauwels R, Van Der Straeten M. Human pharmacokinetics of glucocorticosteroids. *Eur J Respir Dis* 1982; 63: 83-85.

Paxton JW, Whiting B, Rowell FJ, Ratcliffe JG. *Lancet* iii-letter 1976; 639.

Peacy SR, Guo CY, Robinson AM, Price A, Giles MA, Eastell R, et al. Glucocorticoid replacement therapy: are patients over treated and does it matter ? *Clinical Endocrinology* 1997; 46: 251-261.

Peden DB, Berger WE, Noonan MJ, Thomas MR, Hendricks VL, Hamedani AG, et al. Inhaled fluticasone propionate delivered by means of two different multidose powder inhalers is effect and safe in a large pediatric population with persistent asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998; 102 (1): 32-38.

Pedersen S. Revisão sobre os efeitos dos corticosteróides inalados sobre o crescimento em crianças. *Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2001; 164: 521-535 [capturado em 05/10/01]. Disponível em: URL:<http://www.PneumoAtual.com.br> - *Pneumo Atual Express News*: nº 31.

Pedersen S. Early use of inhaled steroids in children with asthma. *Clinical and Experimental Allergy* 1997; 27: 995 – 1006.

Practical guide for the diagnosis and management of asthma. Based on the expert panel report 2: Guidelines for the Diagnosis and management of asthma. Bethesda (MD): National Intitutes of Health 1997; 97: 4053.

Prahl P. Adrenocortical suppression following treatment with beclomethasone and budesonide. *Clinical and Experimental Allergy* 1991; 21: 145-146.

Price JF. Inhaled Corticosteroids: Clinical Relevance of Safety Measures *Pediatric Pulmonology, Supplement* 1997; 15: 40 - 45 .

Price DA. Salivary hormone levels in infants and children. In: Kawamura Y, Ferguson DB (eds): *Frontiers in Oral Physiology: Steroid Hormones in Saliva*. S. Karger Verlag, Basel 1984: 51-66.

Price DA, Close GC, Fielding BA. Age of appearance of circadian rhythm in salivary cortisol values in infancy. *Archives of Disease in Childhood* 1983; 58: 454-456.

Priftis K, Milner AD, Conway E, Honour JW. Adrenal Function in Asthma. *Archives of Disease in Childhood* 1990; 65: 838-840.

Rasmuson S, Olsson T, Hägg E. A low dose ACTH test to assess the function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Clinical Endocrinology* 1996; 44 (2):151 – 156.

Riad-Fahmy D, Read GF, Walker RF, Griffiths K. Steroids in saliva for assessing endocrine function. *Endocrine Reviews* 1982; 3: 367-395.

Ribeiro JD, Guglielmi AAG. Terapêutica corticóide na patologia pulmonar. In Rozov, T. *Doenças Pulmonares em Pediatria – Diagnóstico e Tratamento – Editora Atheneu* 1999; 69: 572-585.

Rodriguez WJ, Arrobio J, Fink R, Kim HW, Milburn C. Prospective follow-up and pulmonary functions from a placebo-controlled randomized trial of Ribavirin therapy in Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine* 1999; 153 (5): 469-474.

Sano F, Cortez GK, Solé D, Naspitz CK. Inhaled budesonide for the treatment of acute wheezing and dyspnea in children up to 24 months old receiving intravenous hydrocortisone. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2000; 105 (4): 699-703.

Santiago LB, Jorge SM, Moreira AC. Longitudinal evaluation of the development of salivary cortisol circadian rhythm in infancy. *Clinical Endocrinology* 1996; 44: 157-161.

Santos JML. Inhaled Corticosteroids in Childhood Asthma. *Pediatric Pulmonology, Supplement* 1997; 16: 98 – 100.

Schlaghecke R, Kornely E, Santen RT, Ridderskamp P. The effect of long-term glucocorticoid therapy on pituitary-adrenal responses to exogenous corticotropin-releasing hormone. *The New England Journal of Medicine* 1992; 326 (23): 226-230.

Schleimer, RP. The mechanisms of anti-inflammatory steroid action in allergic diseases. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1985; 25: 381-412.

Sherman B, Weinberger M, Chen-Walden H. Further studies of the effects of inhaled glucocorticoids on pituitary-adrenal function in healthy adults. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1982; 69: 208-212.

Shimada M, Takahashi K, Ohkawa T, Segawa M, Hirugashi M. Determination of salivary cortisol by Elisa and its application to the assessment of the circadian rhythm in children. *Hormone Research* 1995; 44: 213-217.

Shimura S, Sasaki T, Ikeda K, Yamauchi K, Sasaki H, Takishima T. Direct inhibitory action of glucocorticoid on glycoconjugate secretion from airway submucosal glands. *Am Rev Resp Dis* 1990; 141: 1044-1049.

Smith MJ. The place of high-dose inhaled corticosteroids in asthma therapy. *Drugs* 1987; 33: 423-429.

Solé D, Mello JF. Importância da via inalatória no tratamento das afecções respiratórias. *Conferências Médicas* 1994; 3 (3):1-14.

Solé D, Naspitz CK. Glicocorticóides inalados. *Publicações científicas da Sociedade Brasileira de Pediatria – Departamento Científico de Alergia e Imunologia* 1998; 1: 1-7.

Souza LSF. Aerossolterapia na asma da criança- artigo de revisão. *Jornal de Pediatria*. 1998; 74 (3): 189-204.

Spangler G. The emergence of adrenocortical circadian function in newborns and infants and its relationship to sleep, feeding and maternal adrenocortical activity. *Early Human Development* 1991; 25: 197-208.

Stewart PM, Corrie J, Seckel JR, Edwards CRW, Padfield PL. A rational approach for assessing the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Lancet* 1988; 1: 1208-1210.

Streck WF, Lockwood DH. Pituitary-adrenal recovery following short-term suppression with corticosteroids. *Am J Med* 1979; 66: 910-914.

Streeten DHP, Stevenson CT, Dalakos TG, Nicholas JJ, Dennick LG, Fellerman H. The diagnosis of hypercortisolism. Biochemical criteria differentiating patients from lean and obese normal subjects and from females on oral contraceptives. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1969; 29: 1191.

Tabachik E, Zadik Z. Diurnal cortisol secretion during therapy with inhaled beclomethasone dipropionate in children with asthma. *Journal of Pediatrics* 1991; 118: 294-297.

Teelucksingh S, Padfield PL, Dicker I, Holt PR. A double-blind placebo controlled crossover study of effects upon the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of beclomethasone dipropionate metered dose inhaler at 100 mcg, 200 mcg, 350 mcg and 500 mcg four times daily in healthy adults [abstract]. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: A626

Tennes K, Vernadakis A . Cortisol excretion levels and daytime sleep in one-year-old infants. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1977; 44: 175-179.

Tennes K, Carter D. Plasma cortisol levels and behavioral states in early infancy. *Psychosomatic Medicine* 1973; 35: 121-128.

The British Guidelines on asthma management. 1995 review and Position Statement. *Thorax*. 1997; 52 (suppl): S1- S21.

The Victorian Infantil Collaborative study group. Postnatal corticosteroids and sensorineural outcome at 5 years of age. *J Paediatr Child Health* 2000; 36: 256-261.

Tood G, Dunlop K, McNaboe J, Ryan MF, Carson D, et al. Growth and adrenal suppression in asthmatic children treated with high dose fluticasone propionate. *Lancet* 1996; 348 (9010): 27-29.

Townley RG, Suliaman F. The mechanism of corticosteroid in treating asthma. *Ann Allergy*. 1987; 58: 1-8.

Trainer PJ, McHardy KC, Harvey RD, Reid IW. Urinary free cortisol in the assessment of hydrocortisone replacement therapy. *Hormone and Metabolic Research* 1993 (b); 24: 117-120.

Umeda T, Hiramatsu R, Iwaoka T, Shimada T, Miura F, Sato T. Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clinica Chimica Acta* 1981; 110: 245-253.

Utiger RD. Differences between inhaled and oral glucocorticoid therapy. *The New England Journal of Medicine* 1993; 329: 1731-1733.

Van Cauter E, Turek FW. Endocrine and other biological rhythms. In: *Endocrinology* (ed. LJ De Groot). WB Saunders Philadelphia 1995: 2487-2548.

Vieira JG, Noguti KO, Russo EMK, Hidal JT, Maciel RMB. Ensaio do cortisol na saliva como um método para avaliação da fração livre sérica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia* 1984; 28: 8-10.

Vieira JG, Noguti KO, Russo EMK, Hidal JT, Maciel RMB. Adaptação de um radioimunoensaio de cortisol para a dosagem da fração livre do soro obtida por diálise. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia* 1982; 26 (4): 105-112.

Vining RF, McGinley RA. Hormones in saliva. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1986; 23: 95-146.

Vining RF, McGinley RA. Flux of steroids between blood and saliva. In: Kawamura Y, Ferguson DB (eds) *Frontiers of oral Physiology: Steroid hormones in saliva*. S. Karger, Basel 1984: 21-32.

Vining RF, McGinley RA, Maksvytis JJ, Ho KY. Salivary cortisol: a better measurement of adrenal function than serum cortisol. *Ann Clin Biochem.* 1983; 20: 329-341.

Volovitz B, Bentur L, Finkelstein Y, Mansour Y, Shalitin S, Nussinovitch M, et al. Effectiveness and Safety of inhaled corticosteroids in controlling acute asthma attacks in children who were treated in the emergency department: A controlled comparative study

with oral prednisolone. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998; 102 (4): 605 – 609.

Volovitz OB, Kauschansky A, Nussinovitch M, Harel L, Varsano I. Normal diurnal variation in serum cortisol concentration in asthmatic children treated with inhaled budesonide. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1995; 96 (6 pt 1): 874-878.

Yallouros PK, Milner AD, Conway E, Honour JW. Adrenal function and high dose inhaled corticosteroids for asthma. *Archives of Disease in Childhood* 1997; 76: 405-410.

Yanovski JA, Yanovski SZ, Harrington L, Gold PW, Chrousou GP. Differences in the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis of black and white men. *Hormone Research* 1995; 44: 208-212.

Yeh TF, Lin YJ, Huang CC, et al. Early dexamethasone therapy in preterm infants: a follow-up study. *Pediatrics*. 1998; 101 (5): E71-E78.

Walker RF. Salivary corticosteroids: clinical and research applications. *J Clin Chem Clin Biochem* 1989; 27: 234-235.

Walker RF, Read GF, Hughes LA, Riad-Fahmy D. Radioimmunoassay of 17α -hydroxyprogesterone in saliva, parotid fluid, and plasma of Congenital Adrenal hyperplasia patients. *Clinical Chemistry* 1979; 25 (4): 542-545.

Walker RF, Riad-Fahmy, Llewelyn DEH. A direct radioimmunoassay for cortisol in parotid fluid and saliva. *Proceedings of the Society for Endocrinology, 151 st Meeting and J Endocrinol* 1978; 77: 26-27

Walker RF, Riad-Fahmy, Read GF. Adrenal status assessed by direct RIA of cortisol in whole saliva or parotid saliva. *Clinical Chemistry* 1978; 24 (9): 1460-1463.

Walker RF, Read GF, Fahmy DR. The radioimmunoassay of biologically active compounds in parotid fluid and plasma. *International Symposium on Radioimmunoassay and Related Procedures in Medicine, Berlin (West) IAEA - SM*. In press 1977; 220: 35.

Wand GS, Ney RL. Disorders of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Clin Endocrinol Metab* 1985; 14: 33-53.

Waterlow JC, Buzina R, Keller W, Lane JM, Nichaman MZ, Tanner JM. The Presentation and use of height and weight data for comparing the nutritional status of groups of children under the age of 10 years. *Bul WHO* 1977; 55 (4); 489-498.

Wennergan G, Nordwall SL, Hedlin G, Moller C, Willes S, Nilsson EA. Nebulized budesonide for the treatment of moderate to severe asthma in infants and toddlers. *Acta Paediatr.* 1996; 85: 183-189.

Williams H, Read GF, Verrier-Jones ER, Hugher IA. Effect on inhaled beclomethasone dipropionate on saliva cortisol concentrations. *Archives of Disease in Childhood* 1984; 59: 553-556.

Wilson DM, Baldwin RB, Ariagno RL. A randomized, placebo-controlled trial of effects of dexamethasone on hypothalamic-pituitary-adrenal axis in preterm infants. *Journal of Pediatrics* 1988; 113: 764-768.

Woensel JBM, Wolfs TFW, Aalderen WMC, Brand PLP, Kimpen JLL. Randomized double blind placebo controlled trial of prednisolone in children admitted to hospital with Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis. *Thorax* 1997; 52: 634-637.

Wolthers OD, Pedersen S. Measures of systemic activity if inhaled glucocorticosteroids in children: a comparison of urine cortisol excretion and Knemometry. *Respiratory Medicine* 1995; 89: 347-349.

Woolston JL, Gianfredi S, Gertner JM, Paugus JA, Mason JW. Salivary cortisol: a nontraumatic sampling technique for assaying cortisol dynamics. *J Am Acad Child Psychiatry* 1983; 22: 474-476.

Zadik Z, Armer R, Dolfin Z, Arnon S, Cohen D, Mogilner B, Reifern R. Urinary free cortisol (UFC) Values in newborns under stress. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* 1999; 12 (4): 543-547.

Zarkovic M, Ciric J, Stojamovic M, Penezic Z, Trbojevic B, Drezgic M, et al. Optimizing the Diagnostic Criteria for Standard (250- μ g) and low dose (1- μ g) Adrenocorticotropin tests in the Assessment of Adrenal Function. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1999; 84 (9): 3170 – 3173.

Zora JA, Zimmerman MD, Carey TL, O'Connell EJ, Yunginger JW. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis suppression after short-term high-dose glucocorticoid therapy in children with asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1986; 77: 9 – 13.

Zurbrügg RP. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) regulation. Assessment, development and disorders in infancy and childhood. In preparation 1974.

BIBLIOGRAFIA

Ferner HSS. Tórax, Abdômen, Pelve, Membros inferiores, Pele. In: Atlas de Anatomia Humana Sobota, editora Guanabara Koogan SA. 18ª edição, Rio de Janeiro; 1982. P. 131-135.

Gyton AC. Introdução à Endocrinologia e Hormônios hipofisários. In: Tratado de Fisiologia Médica – 6ª edição – Editora Guanabara, Rio de Janeiro; 1981: 75. P. 795-812.

James WHT, Serio M, Giusti G, Martini. The Endocrine function of the Human Adrenal Cortex. Ed. By Academic Press London New York San Francisco – A subsidiary of Harcourt Brace Janovich, Publishers; 1978.

Rother ET; Braga MER. Como elaborar sua tese: Estrutura e referências. 1ª edição. São Paulo; 2001. 86p.

Coelho P. Palavras essenciais . Ed. Vergara & Riba – São Paulo. 2001. P. 105.

Manual do Guerreiro da Luz. Editora Objetiva, Rio de Janeiro. 1997.

As Valkírias. Editora Rocco. Rio de Janeiro. 1995.

O Diário de um Mago. Editora Rocco. Rio de Janeiro. 1999.

Na Margem do Rio Pedra Eu Sentei e Eu Chorei. Editora Rocco. Rio de Janeiro. 1999

Brida. Editora Rocco. Rio de Janeiro. 1998.

O Alquimista. Editora Rocco. Rio de Janeiro. 1998.

O Monte Cinco. Editora Objetiva. Rio de Janeiro. 1998.

O Demônio e a Srta. Prym. Editora Objetiva. Rio de Janeiro. 2000.

Ilustrações: Aquarelas de Ana Cenzato.