UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

Estudo da hiperprolactinemia e macroprolactinemia no
Lúpus Eritematoso Sistêmico e relação de seus níveis
com a atividade da doença

CAMILA TOFFOLI RIBEIRO

Ribeirão Preto

2006

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

CAMILA TOFFOLI RIBEIRO

Estudo da hiperprolactinemia e macroprolactinemia no
Lúpus Eritematoso Sistêmico e relação de seus níveis
com a atividade da doença

Ribeirão Preto

2006

CAMILA TOFFOLI RIBEIRO

**Estudo da hiperprolactinemia e macroprolactinemia no
Lúpus Eritematoso Sistêmico e relação de seus níveis
com a atividade da doença**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em Medicina**

**Área de concentração: Tocoginecologia
Orientador: Prof. Dr. Marcos Felipe Silva de Sá**

RIBEIRÃO PRETO

2006

DEDICATÓRIA

Aos **meus pais e irmão**, pelo exemplo de vida acadêmica, estímulo constante e amor incondicional.

Ao **Fabício**, por quem as coisas fazem sentido.

Às **minhas avós** por me mostrarem o caminho reto.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Marcos Felipe pelas discussões enriquecedoras e apoio durante todo o processo. A convivência foi um real privilégio.

Ao Prof. Dr. Paulo Louzada Jr. pela ajuda no processo de elaboração deste trabalho, disponibilidade para as discussões envolvidas e utilização do material do Laboratório de Imunologia.

Ao Well, amigo sempre disponível a tirar as (inúmeras) dúvidas em estatística, e a quem cabe grande parte do mérito deste trabalho.

À Carolina Sales, exemplo de pessoa e de amiga. Agradeço pelos conselhos e pelo apoio.

À querida Albina, pela enorme disposição em ajudar.

À Muriel e Juliana do Laboratório de Imunologia pela inominável ajuda prestada.

À Ilza e Taísa, secretárias queridas por todos, ajudando a aparar as arestas encontradas durante a pós-graduação.

Ao Júlio e Ana Carolina, exemplos de profissionais e de seres humanos. Obrigada por toda a ajuda durante o período de residência médica, e estímulo durante o mestrado.

A todos os médicos contratados e docentes do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, pelas bases lançadas em minha formação, pelo prazer da convivência e ajuda em inúmeras etapas do desenvolvimento deste trabalho. A gratidão por ter feito parte desta equipe é algo que levarei para a vida toda.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE GRÁFICOS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1. Propriedades imunoestimuladoras da prolactina.....	01
1.2. Hiperprolactinemia e LES.....	05
1.3. Hiperprolactinemia e Atividade do LES.....	09
1.4. A Macroprolactina.....	11
2. OBJETIVOS.....	15
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	16
3.1. Casuística.....	16
3.2. Métodos.....	18
3.3. Identificação da macroprolactinemia.....	19
3.4. Análise Estatística.....	20
3.5. Cálculo Amostral.....	21

3.6. Aspectos Éticos.....	21
4. RESULTADOS.....	22
5. DISCUSSÃO.....	41
6. CONCLUSÕES.....	50
7. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	51
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
9. ANEXOS.....	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Hipóteses de mecanismos fisiopatológicos da hiperprolactinemia no	
LES.....	08

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Comparação entre a média da concentração de prolactina (após transformação logarítmica) entre pacientes lúpicas e controles (teste t com correção de Welch).....	24
Gráfico 2 -	Distribuição da concentração mediana de PRL (em ng/ml) de todas as amostras ($n = 135$) de acordo com o grau de atividade do LES (teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn).....	27
Gráfico 3 -	Correlação entre concentração de PRL (ng/ml) e SLEDAI pelo coeficiente de Spearman: A. momento de doença em atividade (SLEDAI 1); B: doença inativa ou com a menor atividade obtida (SLEDAI 2).....	28
Gráfico 4 -	Comparação entre a concentração mediana de prolactina no momento 1 e no momento 2 (teste de Wilcoxon).....	29
Gráfico 5 -	Distribuição da amostra de acordo com a concentração de PRL entre as diferentes formas de manifestação do LES (teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn).....	30
Gráfico 6 -	Comparação entre os níveis de prolactina total das pacientes com predomínio de macroprolactina quando comparadas às portadoras de prolactina monomérica no grupo L (teste U de Mann-Whitney).....	33
Gráfico 7 -	Concentração de prolactina total em ng/ml nas pacientes hiperprolactinêmicas do grupo L nos momentos 1 e 2 (teste t pareado).....	37
Gráfico 8 -	Concentração de prolactina livre em ng/ml nas pacientes hiperprolactinêmicas do grupo L nos momentos 1 e 2 (teste t pareado).....	38

Gráfico 9 -	Detecção de macroprolactina nas pacientes hiperprolactinêmicas do grupo L nos momentos 1 e 2 (teste t pareado).....	39
Gráfico 10 -	Comparação do SLEDAI entre pacientes lúpicas com forma macro predominante (n = 15) e pacientes com a forma monomérica (n= 58) (teste t de student).....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Caracterização da amostra no momento 1 de acordo com faixas de atividade da doença, considerando o SLEDAI.....	23
Tabela 2 -	Distribuição da concentração mediana de PRL (ng/ml) nas 135 amostras, de acordo com a atividade do LES.....	26
Tabela 3 -	Distribuição das pacientes lúpicas portadoras de hiperprolactinemia de acordo com os valores do SLEDAI, concentração de PRL total (PRLt), PRL livre (PRLl) e porcentagem de macroprolactina (% macro) nos momentos 1 e 2, em ng/ml; mediana da concentração de prolactina total e livre (p25 – p75) global nos três grupos estudados.....	34 - 35

LISTA DE ABREVIATURAS

BRC – Bromocriptina

GH – *Growth Hormone*

HCFMRP – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Ig – Imunoglobulina

IL – Interleucinas

INF – Interferon

KD – kilodaltons

KS – Kolmogorov-Smirnov

LES – Lúpus Eritematoso Sistêmico

LNP – Lúpus Neuropsiquiátrico

Me – Média

Med – Mediana

PEG – Polietilenoglicol

PRL – Prolactina

SAAF – Síndrome dos Anticorpos Antifosfolípidos

SLEDAI – *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*

SNC – Sistema Nervoso Central

RESUMO

RIBEIRO, C. T. **Estudo da hiperprolactinemia e macroprolactinemia no Lúpus Eritematoso Sistêmico e relação de seus níveis com a atividade da doença.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

Introdução: A prolactina (PRL) exerce efeitos imunoestimulatórios *in vitro* e *in vivo*, porém a literatura é controversa quanto ao papel deste hormônio na atividade do Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES). A macroprolactina possui menor atividade biológica *in vivo* e poderia explicar os resultados díspares. **Objetivos:** avaliar a prevalência de hiperprolactinemia e macroprolactinemia em pacientes lúpicas; analisar a correlação entre a atividade do LES e PRL, e interferência da macroprolactina nesta associação. **Casuística e Métodos:** Em 73 mulheres com LES ativo foi dosada a PRL pelo Immulite 2000®, e a macroprolactina pelo método do Polietilenoglicol (momento 1); em 62 destas pacientes foi colhida uma segunda amostra com a menor atividade do LES ao longo do tratamento (momento 2). Os controles foram 29 mulheres híginas no menacme (grupo C) e 34 gestantes no terceiro trimestre (grupo G). **Resultados:** Houve 15 casos (20,55%) de hiperprolactinemia nas lúpicas, e nenhum entre as mulheres híginas ($p = 0,005$). Todas as gestantes apresentaram hiperprolactinemia. A concentração de PRL foi maior (Med = 11,70 ng/ml) ($p = 0,01$) no LES do que no grupo C (Med = 8,81 ng/ml), e correlacionou-se com a atividade da doença pelo SLEDAI ($r = 0,41$; $p = 0,0003$) no momento 1. No LES muito ativo os níveis de PRL foram maiores do que na doença inativa (Med = 17,10 ng/ml vs. Med = 8,36 ng/ml) ($p < 0,01$), e moderadamente ativa (Med = 7,75 ng/ml) ($p < 0,05$).

Dentre as lúpicas hiperprolactinêmicas, 04 casos (26,7%) foram devidos à macroprolactina, e nas gestantes, 02 casos (5,9%). O LES foi tão ativo na macroprolactinemia quanto nos casos pela forma monomérica, porém a correlação entre PRL e SLEDAI foi maior para a PRL livre ($r = 0,44$; $p = 0,0001$). O tratamento das pacientes lúpicas hiperprolactinêmicas resultou em diminuição da concentração de PRL (Me momento 1 = $56,71 \pm 43,87$ ng/ml vs. Me momento 2 = $18,68 \pm 24,20$ ng/ml) ($p = 0,015$). **Conclusões:** pacientes lúpicas apresentam hiperprolactinemia mais frequentemente do que mulheres híginas, e a PRL correlaciona-se com a atividade do LES. A macroprolactinemia não é marcador de doença inativa/pouco ativa.

ABSTRACT

RIBEIRO, C. T. **Correlation of prolactin and macroprolactin levels with activity of Systemic Lupus Erythematosus before and after treatment. 2006.** Master's paper – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

Introduction: Prolactin (PRL) is a hormone with widespread influences in the cells of the immune system, which have been demonstrated by several *in vitro* and *in vivo* studies. However, the role of this hormone in the pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is controversial within the medical literature. The potentially lower biological activity of macroprolactin could explain the disparity of the results. **Methods:** PRL levels were determined by chemo luminescence method (Immulite 2000®) in 73 women with active SLE (group L), while the screening for macroprolactinemia was determined by the polyethylene glycol precipitation method (first moment). Sixty two of these patients had their PRL levels determined in a second occasion, when the disease was inactive or with the lowest activity observed after treatment (second moment). The control groups were 29 healthy women (group C) and 34 third-trimester healthy pregnant (group P). The levels of PRL were correlated with the SLE Disease Activity Index (SLEDAI). **Results:** In the study group there were 15 (20.55%) cases of hyperprolactinemia, while in the group C there were none ($p = 0,005$). All pregnant women presented hyperprolactinemia. Prolactin levels were higher in group L (Med = 11,70 ng/ml) than in group C (Med = 8,81ng/ml) ($p = 0,01$) and correlated with the SLEDAI in the first moment ($r = 0,41$; $p = 0,0003$). We also detected that PRL levels were higher at highly active SLE (SLEDAI ≥ 11) than when the disease

was inactive (SLEDAI = 0) (Med = 17,10 ng/ml vs. Med = 8,36 ng/ml) ($p < 0,01$) or moderately active SLE ($6 \leq \text{SLEDAI} \leq 10$) (Med = 7,75 ng/ml) ($p < 0,05$). In the 15 patients of group L with hyperprolactinemia, there were 04 cases of macroprolactinemia (26.7%), while 02 subjects in group P presented it (5.9%). SLE was as active in the patients with hyperprolactinemia caused by the monomeric form of the hormone, as in the ones with macroprolactinemia. The correlation of the PRL levels and the SLEDAI was, nevertheless, stronger for free PRL ($r = 0,44$; $p = 0,0001$). The SLE treatment in the hyperprolactinemic patients reduced PRL levels from 56,71 ng/ml (sd = 43,87) to 18,68 ng/ml ($\pm 24,20$) ($p = 0,015$). **Discussion:** the frequency of hyperprolactinemia is higher in SLE than in the general population, and the levels of PRL correlate with the activity of the disease. Macroprolactin is also associated to active SLE.

1. Introdução

1.1. Propriedades imunoestimuladoras da prolactina

A prolactina (PRL) é um hormônio de 198 aminoácidos produzido pela adeno-hipófise, com peso molecular de 23 KD, cuja secreção ocorre sob controle hipotalâmico, por meio do tônus dopaminérgico, o qual inibe a síntese e liberação da PRL na corrente sanguínea. Outros neuropeptídeos tais como o ácido gama-aminobutírico também podem exercer alguma função no mecanismo de inibição da secreção da PRL, mas acredita-se que a dopamina seja o principal inibidor (Silva de Sá MF, 2000).

Apesar de classicamente ter sua atuação vinculada a efeitos mamotróficos, mais de 300 funções são atualmente atribuídas a este hormônio, o qual é considerado como uma verdadeira citocina por alguns autores (Vera-Lastra O, Jara LJ, Espinoza LR, 2002). A reprodução, a osmorregulação, o metabolismo do cálcio e o comportamento também parecem ser afetados pela PRL (Chikanza IC, 1999). Além destes, outro efeito estudado é a sua influência sobre o metabolismo glicídico, tendo sido demonstrada resistência à insulina em pacientes hiperprolactinêmicos (Foss MC, Paula FJ, Paccola GM et al, 1995).

Contudo, a função que mais destaque tem assumido diz respeito às suas propriedades imunomoduladoras. As evidências sobre tal capacidade são crescentes, apontadas tanto por estudos experimentais como clínicos.

Os receptores de PRL estão amplamente distribuídos e tem homologia estrutural com a superfamília de receptores do hormônio do crescimento (GH), que inclui os

receptores de GH propriamente dito, de eritropoetina, e interleucinas 2 e 6 (IL-2, IL-6) (Reber PM, 1993).

Estudos em ratos têm comprovado a importância da PRL no funcionamento regular do sistema imunológico e sobrevivência destes animais.

Ao tratar ratos com bromocriptina (BRC), Bernton et al demonstraram que havia supressão da atividade tumoricida de macrófagos induzida por linfócitos T, em resposta à injeção intra-peritoneal de *Mycobacterium bovis* e *Listeria monocytogenes*. Os ratos que recebiam o tratamento apresentavam maior mortalidade. Este efeito era suprimido pela administração de PRL ovina exógena. Foi demonstrado, ainda neste estudo, que a principal função prejudicada ao induzir hipoprolactinemia foi a secreção de interferon- γ (INF- γ) pelos linfócitos T, assim como sua capacidade de responder a IL-2 (Bernton EW, Meltzer MS, Holaday JW, 1988).

Seguiram-se a este outros trabalhos em animais, como o estudo de Nagy e Berczi, em que os ratos tornados hipoprolactinêmicos por hipofisectomia e anti-soro anti PRL, apresentavam anemia, anergia imunológica, e morte prematura, efeitos que eram revertidos quando os animais recebiam transplantes singênicos de hipófise sob a cápsula renal (Nagy E & Berczi I, 1991).

Colocou-se em discussão os achados acima, questionando-se a possibilidade dos efeitos observados serem devidos a propriedades imunossupressoras da BRC, que poderia atuar diretamente sobre os linfócitos. Assim, a imunossupressão relatada seria devida à droga utilizada e não à redução da PRL propriamente dita.

Em resposta a estas indagações, Neidhart isolou linfócitos de baço de ratos em meio de cultura e estudou se a BRC exercia efeitos diretos sobre essas células. Nesse modelo, a BRC não seria capaz de influenciar a secreção de IL-2 ou INF- γ como ocorre *in vivo*. O

autor verificou que o efeito direto da BRC sobre a capacidade dos linfócitos murinos sofrerem proliferação em resposta a antígenos foi muito pequeno. Foi necessária uma concentração muito elevada de BRC, cinquenta vezes superior à obtida *in vivo*, para que algum efeito fosse observado. A conclusão é de que os efeitos imunossupressores relatados nos outros estudos com o uso da BRC são dependentes da inibição da secreção de PRL e não por ação direta da droga (Neidhart M, 1997).

Uma vez comprovados os efeitos imunoestimulatórios da PRL, a sua capacidade de interferir em doenças auto-imunes foi aventada. Surgiu a hipótese de que a hiperprolactinemia poderia atuar como fator desencadeador ou de piora nessas morbidades. Tal associação passou a ser buscada incessantemente na literatura, visando o objetivo final de aplicação prática no tratamento de pacientes portadores de doenças auto-imunes, os quais poderiam se beneficiar com o uso de drogas inibidoras da secreção de PRL.

McMurray et al estudaram ratos da linhagem NZB/NZW, os quais são um modelo de LES experimental. A doença desenvolvida por estes animais assemelha-se à forma humana, tendo em vista seu desencadeamento espontâneo com o início da puberdade nas fêmeas, as quais morrem prematuramente quando comparadas aos machos, que desenvolvem a doença de forma tardia. Neste estudo, ratos lúpicos tratados com BRC apresentaram maior sobrevida, ao passo que os animais que receberam transplante de hipófise (hiperprolactinêmicos) apresentaram albuminúria prematura e mortalidade acelerada (McMurray R, Keisler D, Kanuckel K et al, 1991).

Ao induzir Síndrome dos Anticorpos Antifosfolípides (SAAF) e LES em murinos, Blank et al obtiveram resultados semelhantes, com diminuição na produção de auto-anticorpos e menor perda fetal mediada pela BRC (Blank M, Krause I, Buskila D et al, 1995).

A análise da influência *in vitro* da PRL sobre linfócitos humanos de pacientes lúpicos passou a ser estudada, com resultados díspares entre diferentes grupos de pesquisadores. Gutiérrez et al detectaram que a PRL estimulou a produção de anticorpos por linfócitos tanto de indivíduos normais como lúpicos, sendo a resposta mais intensa nos primeiros (Gutiérrez MA, Molina JF, Jara LJ et al, 1996).

Por outro lado, Jacobi et al verificaram aumento da produção de anticorpos somente por linfócitos de pacientes com LES, o que não foi observado nos linfócitos de controles normais, e o efeito estimulatório foi mais intenso em concentrações de PRL próximas à fisiológica (20 ng/ml). A explicação para o fenômeno é que em altas concentrações de PRL ocorre bloqueio da dimerização do receptor, enquanto em concentrações mais baixas há a ligação de uma molécula/receptor, com efeitos otimizados (Jacobi AM, Rohde W, Volk HD et al, 2001).

A capacidade da hiperprolactinemia de desencadear a produção de auto-anticorpos no contexto clínico foi estudada por Buskila et al, que analisaram o perfil de 15 auto-anticorpos no soro de mulheres hiperprolactinêmicas, comparando-as a controles hígidas. Surpreendentemente, 75,7% das hiperprolactinêmicas apresentavam ao menos um auto-anticorpo, ao passo que nenhuma das controles apresentou essa alteração. A hiperprolactinemia poderia atuar, dessa forma, como um gatilho para a instalação de doenças auto-imunes (Buskila D, Berezin M, Gur H et al, 1995).

Esta hipótese foi reforçada por relatos clínicos de outros autores que, ao estudarem pacientes com hiperprolactinemia idiopática ou com microadenomas de hipófise, verificaram o desenvolvimento de LES ao longo do seguimento (Jara LJ, Vera-Lastra O, Miranda JM et al, 2001).

1.2. Hiperprolactinemia e LES

Uma vez que a PRL passou a ser tida como citocina capaz de estimular a liberação de INF- γ por linfócitos T, atuar como co-mitógeno essencial para linfócitos em resposta à IL-2, além de estar associada à produção de auto-anticorpos *in vitro* e *in vivo* como demonstrado acima, questões lógicas e fundamentais seguiram-se:

- Pacientes com LES apresentam hiperprolactinemia com frequência superior à população geral?
- A hiperprolactinemia no LES tem relação com a atividade da doença?

A presença de hiperprolactinemia no LES é consensual entre a maioria dos autores. Enquanto na população geral sua prevalência é de aproximadamente 0,4 a 5% (Serri O, Chik CL, Ur E et al, 2003), no LES tem sido descrita em 15,9 a 40% em diferentes estudos (Buskila D, Lorber M, Neumann L et al, 1996; Rovenský J, Juránková E, Rauová L et al, 1997; Moszkorzová L, Lacinová Z, Marek J et al, 2002). Exceção deve ser feita ao trabalho de Ostendorf et al, que a encontrou em apenas 2% dos casos (Ostendorf B, Fischer R, Santen R et al, 1996).

As causas responsáveis pela hiperprolactinemia no LES ainda são, todavia, objeto de especulações.

As principais hipóteses são as que seguem, apresentando-se ilustradas na figura 1:

1. interação entre citocinas e hipófise: haveria interação direta entre sistema neuroendócrino e imunológico, com as citocinas liberadas periféricamente pelo processo inflamatório (linfócitos ativados no LES) chegando pela corrente sanguínea ao Sistema Nervoso Central (SNC) e estimulando a produção de PRL. O fato de IL-1, IL-6

e outras citocinas serem capazes de promover a liberação de PRL e outros hormônios de células hipofisárias murinas em meio de cultura favorece essa hipótese. Todavia, a capacidade desses mediadores da inflamação de atravessar a barreira hemato-encefálica não está definida. O achado de PRL e IL-6 no líquido de pacientes com lúpus neuropsiquiátrico sugere a plausibilidade biológica dessa hipótese (Jara LJ, Irigoyen L, Ortiz MJ et al, 1998).

2. a PRL produzida pelos linfócitos (“PRL-like”) interferiria na dosagem total de PRL: pacientes com LES em atividade têm maior quantidade de linfócitos ativados no sangue periférico. É fato comprovado por estudos experimentais a capacidade dos linfócitos de produzir PRL, a qual é denominada de “PRL-like” por alguns autores (Méndez I, Alcocer-Varela J, Parra A et al, 2004). Assim, ao dosar-se a PRL no sangue periférico, estaríamos medindo simultaneamente a PRL hipofisária e a PRL “periférica”; a medida seria apenas um reflexo de que há processo de ativação do sistema imunológico em curso, sendo uma consequência do LES em atividade e não causa de maior atividade da doença.

3. alteração dos mecanismos regulatórios centrais que controlam a secreção da PRL: pacientes lúpicos teriam menor turnover de dopamina, à semelhança da hiperprolactinemia idiopática, como sugerido por um estudo clínico que analisou a quantidade de um metabólito da dopamina, o ácido homovanílico plasmático (Ferreira C, Paes M, Gouveia A et al, 1998). Contudo, deve ser feita a ressalva de que a dosagem deste metabólito no sangue periférico está sujeita a variação, e não reflete necessariamente a atividade dopaminérgica no sistema nervoso central. Contrariamente, outros dois estudos sugerem ser o tônus dopaminérgico aumentado em pacientes lúpicos. Zoli et al realizaram teste de estímulo com 10 mg de metoclopramida em

pacientes lúpicos, comparando os níveis de PRL basais e pós-teste com controles normais. Os pacientes lúpicos exibiram PRL basal mais elevada, assim como maior resposta pós-estímulo (Zoli A, Ferlisi EM, Pompa A et al, 1999). Méndez et al obtiveram resultados semelhantes, e o efeito foi mais intenso ao se considerar a PRL biologicamente ativa. Se considerarmos que o teste da metoclopramida é uma avaliação indireta do tônus dopaminérgico, e que uma resposta exacerbada sugere que este se encontra aumentado, poderíamos considerar que pacientes lúpicos tem maior tônus dopaminérgico, contrariando a primeira hipótese citada. Méndez et al comprovaram no mesmo estudo produção de PRL linfocitária (“PRL-like”), e os autores postulam que na tentativa de normalizar a hiperprolactinemia gerada por sítios extra-hipofisários, o hipotálamo aumentaria o tônus dopaminérgico, visando à manutenção da PRL dentro dos limites fisiológicos (Méndez I, Alcocer-Varela J, Parra A et al, 2004).

4. anticorpos anti-PRL: estes anticorpos formariam imunocomplexos com a PRL, gerando a macroprolactina (PRL ligada a uma IgG), que não é capaz de atravessar a barreira hemato-encefálica. Assim, a PRL que está ligada, não exerce retrocontrole negativo sobre o hipotálamo. Este interpreta que a PRL está em baixa concentração na corrente sanguínea e diminui o tônus dopaminérgico, o que eleva a PRL (Blanco-Favela F, Chávez-Rueda KA, Leños-Miranda A, 2001).

Figura 1 – Hipóteses de mecanismos fisiopatológicos da hiperprolactinemia no LES.

A: interação direta entre citocinas liberadas periféricamente por linfócitos e o SNC; B: a PRL medida no soro corresponde à PRL hipofisária somada à PRL periférica produzida pelos linfócitos ativados; C: pacientes lúpicos teriam maior predisposição a metabolismo alterado de dopamina; D: anticorpos anti-PRL ligariam-se à PRL, formando imunocomplexos que não atravessam a barreira hemato-encefálica, impedindo retrocontrole negativo adequado pela PRL na hipófise e hipotálamo

1.3. Hiperprolactinemia e Atividade do LES

Apesar de haver evidências irrefutáveis quanto à capacidade imunoestimuladora da PRL e quanto à maior prevalência de hiperprolactinemia no LES, a associação entre esta condição e atividade do LES é assunto permeado por controvérsias.

Existem diversos trabalhos publicados que notaram a associação, enquanto outros não foram capazes de descrevê-la.

Vera-Lastra et al estudaram 43 pacientes portadores de LES, constatando hiperprolactinemia em 69,7% dos que apresentavam doença ativa, com correlação linear entre os níveis de PRL e o SLE Disease Activity Index (SLEDAI) (Vera-Lastra O, Mendez C, Jara LJ et al, 2003). A associação positiva entre a PRL sérica e urinária e maior atividade da glomerulonefrite lúpica, além de correlação inversa entre níveis de PRL e concentração de C3, haviam sido previamente relatadas pelo mesmo grupo, sugerindo atuação na fisiopatologia da agressão renal (Miranda JM, Prieto RE, Paniagua R et al, 1998).

A participação da PRL no envolvimento orgânico específico também foi sugerida após avaliação de um grupo de pacientes pré-púberes com LES juvenil, no qual foi constatada hiperprolactinemia em três pacientes com a forma neuropsiquiátrica da doença (El-Garf A, Salah S, Shaarawy M et al, 1996). Posteriormente, o achado de níveis líquidos aumentados de PRL e IL-6 em pacientes com LES neuropsiquiátrico fortaleceu essa possibilidade (Jara LJ, Irigoyen L, Ortiz MJ et al, 1998).

Estudos recentes com casuísticas variáveis (García M, Colombani-Vidal ME, Zylbersztejn CC et al, 2004; Leños-Miranda A, Cárdenas-Mondragón G, 2006) também verificaram a associação entre hiperprolactinemia e atividade do LES, sem menção a formas orgânicas específicas da doença.

Outros autores não lograram obter correlação entre LES e índices de atividade, porém observaram associação com outros parâmetros, tais como maior dose necessária de corticoesteróides entre os hiperprolactinêmicos (Rovenský J, Juránková E, Rauová L et al, 1997), maior velocidade de hemossedimentação, e correlação inversa com a contagem total de leucócitos (El-Garf A, Salah S, Shaarawy M et al, 1996).

No outro extremo, encontramos estudos em que nenhuma relação entre hiperprolactinemia e atividade do LES foi constatada, dentre os quais podemos citar os trabalhos de Pauzner et al (Pauzner R, Urowitz MB, Gladman DD et al, 1994), Buskila et al (Buskila D, Lorber M, Neumann L et al, 1996), Ostendorf et al (Ostendorf B, Fischer R, Santen R et al, 1996), Moszkorzová et al (Moszkorzová L, Lacinová Z, Marek J et al, 2002). As casuísticas variaram entre 65 e 182 pacientes com LES, não tendo sido encontrada correlação entre SLEDAI ou ECLAM (European Consensus Lupus Activity Measurement) e hiperprolactinemia, além de não ter havido relação entre níveis de auto-anticorpos ou dose da medicação utilizada.

Para tentar justificar resultados tão distintos, são propostas as seguintes explicações:

1. Em alguns trabalhos o poder do estudo não é relatado, não é passível de cálculo com as informações disponibilizadas, ou é $\leq 30\%$, o que compromete sua credibilidade (Blanco-Favela F, Quintal-Alvarez G, Leños-Miranda A, 1999);
2. Um destes estudos tido como transversal, incluiu dois resultados de dosagem de PRL dos mesmos pacientes, colhidos em momentos diferentes, como se fossem pertencentes a dois pacientes distintos (Leños-Miranda A, Pascoe-Lira D, Blanco-Favela F, 1998);

3. Os estudos citados não analisaram a influência da macroprolactina nos resultados encontrados. A macroprolactina tem sido relatada em frequência superior ao que anteriormente se pensava, chegando a mais de 40% dos casos de hiperprolactinemia em laboratórios de referência (Vieira JGH, 2002). Considerando que a macroprolactina é tida como forma biomolecular da PRL com menor atividade biológica *in vivo*, poderia responder pela falta de associação em alguns estudos, dependendo da sua prevalência na população analisada. Esse último tópico tem sido amplamente debatido na literatura, e será aprofundado a seguir.

1.4. A Macroprolactina

Existem diferentes formas moleculares de PRL. A PRL monomérica possui peso molecular de 23 KD (também denominada “little-PRL”), e possui plena atividade biológica. Podem ser encontradas, ainda, a forma “big”, de 45-60 KD, composta por duas moléculas de PRL unidas por ligações dissulfídicas e a forma “bib,big”, ou macroprolactina, cujo peso molecular é de 150-170 KD, composta por uma molécula de PRL ligada a uma Imunoglobulina G (Silva de Sá MF, Ferriani RA, Moura MD, 1988; Hauache OM, Rocha AJ, Maia Jr ACM et al, 2002).

A PRL monomérica corresponde a > 90% de todas as formas circulantes em condições habituais, e a bigPRL e big,bigPRL somadas perfazem os demais 10%. Existem, contudo, indivíduos em que a macroprolactina é a forma predominante, e corresponde a mais de 50% da PRL plasmática. Nessa situação diz-se que o paciente é portador de macroprolactinemia (Vallette-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A et al, 2002).

Devido ao seu elevado peso molecular, acredita-se que a macroprolactina possua menor atividade biológica do que a PRL monomérica, suspeitando-se da presença de macroprolactinemia em quadros clínicos assintomáticos ou oligossintomáticos.

A prevalência desta condição é de aproximadamente 25% dentre todos os casos de hiperprolactinemia (entre 10% e 40% em diferentes estudos) (Vallette-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A et al, 2002; Olukoga AO & Kane JW, 1999; Vieira JGH, 2002; Hauache OM, Rocha AJ, Maia Jr ACM et al, 2002; Bjørø T, Mørkrid L, Wergeland R et al, 1995).

Apesar de haver outros fatores envolvidos, a presença de anticorpos da classe IgG anti-PRL pode ser considerada uma das principais causas de macroprolactinemia, uma vez que tem sido detectados em 16% das hiperprolactinemias tidas como idiopáticas na população geral, e até 31,7% dos pacientes lúpicos na mesma condição (Blanco-Favela F, Chávez-Rueda KA, Leños-Miranda A, 2001). Foi observado, ainda, que o título dos anticorpos é diretamente proporcional à concentração sérica de PRL (Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T et al, 1994b).

O método padrão para diagnóstico da macroprolactinemia é a cromatografia líquida em coluna de gel filtração. Nesta, o soro é colocado em colunas de Sephacryl, a qual é calibrada com marcadores de peso molecular. Após eluição através da coluna, é feita análise por espectrofotometria em cada uma das frações coletadas, calculando-se na curva de PRL os picos correspondentes a cada uma das formas moleculares (Olukoga AO & Kane JW, 1999).

O processo é dispendioso e lento, e aplica-se principalmente a projetos de pesquisa. Formas alternativas de “screening” para macroprolactinemia têm sido desenvolvidas, visando sua aplicação na prática clínica.

O método de precipitação com o polietilenoglicol (PEG) tem sido apontado como a melhor escolha dentre os processos disponíveis, por apresentar elevada correlação com a cromatografia líquida, sendo suficiente para estabelecer o diagnóstico em cerca de 85% dos casos (Olukoga AO & Kane JW, 1999; Vieira JGH, 2002; Hauache OM, Rocha AJ, Maia Jr ACM et al, 2002; Bjørø T, Mørkrid L, Wergeland R et al, 1995). O princípio do teste baseia-se na capacidade do PEG de tornar insolúveis compostos contendo imunoglobulinas, causando a sua precipitação. Após esta etapa, o soro sobrenadante ficará livre da macroprolactina, contendo somente moléculas de peso molecular $< 100\text{KD}$. A triagem positiva para macroprolactina é dada em função da porcentagem de recuperação neste soro sobrenadante.

O ponto de corte de recuperação positivo para macroprolactina varia entre os diferentes autores. Para alguns, quando a recuperação é $\leq 30\%$ o “screening” é tido como positivo (Hauache OM, Rocha AJ, Maia Jr ACM et al, 2002), enquanto para outros este valor deverá ser $\leq 40\%$ (Olukoga AO & Kane JW, 1999). O limite superior (teste negativo) também é variável, entre $>50\%$ e $\geq 65\%$ (Hauache OM, Rocha AJ, Maia Jr ACM et al, 2002; Olukoga AO & Kane JW, 1999). Valores intermediários correspondem a uma zona indefinida, em que a cromatografia deve ser aplicada para elucidação diagnóstica. São casos em que geralmente há proporções variáveis da forma bigPRL, ou formas glicosiladas, que interferem no resultado geral.

É interessante notar que a macroprolactina pode interferir na dosagem total de PRL, a qual pode ser subestimada dependendo do teste laboratorial utilizado (Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T et al, 1994a). Este é outro fator que pode ter exercido influência para

resultados discordantes no estudo da correlação entre a dosagem de PRL e a atividade do LES.

Assim, a macroprolatina tem assumido destaque no estudo das síndromes hiperprolactinêmicas, tanto pela sua elevada prevalência, como por sua capacidade em mascarar as dosagens de PRL realizadas na rotina e por sua atividade biológica potencialmente inferior à forma monomérica. Estudos que visem avaliar a correlação entre a atividade do LES e a presença de hiperprolactinemia devem, portanto, considerar a influência desse fator.

2. Objetivos

- Avaliar a prevalência de hiperprolactinemia nas pacientes lúpicas atendidas no ambulatório de Imunologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (HCFMRP - USP);
- Estudar a prevalência de macroprolactinemia nestas pacientes, utilizando o método de precipitação com o PEG;
- Analisar a correlação entre os níveis de PRL e a atividade do LES por meio do SLEDAI (Systemic Lúpus Erythematosus Disease Activity Index);
- Avaliar se a ocorrência de macroprolactinemia interfere nos resultados da associação entre SLEDAI e hiperprolactinemia.

Objetivo Secundário

- Avaliar se há diferenças entre os níveis de PRL e as diferentes formas clínicas de LES

3. Casuística e Métodos

3.1. Casuística

Foram analisados os soros de 73 pacientes portadoras de LES em seguimento pelo Ambulatório de Colagenoses do Departamento de Imunologia do HCFMRP-USP (Grupo L).

Em 62 destas pacientes a amostra foi obtida em duas ocasiões diferentes: em momento de maior atividade da doença, de acordo com o índice de SLEDAI (Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB et al, 1992), e em período de doença inativa ou com a menor atividade observada ao longo do tratamento.

Os resultados foram comparados a dosagens de PRL nos soros de 29 mulheres hígdas (Grupo C) e a 34 mulheres grávidas (Grupo G). Foram analisadas, ao todo, 198 amostras.

Os prontuários médicos foram estudados desde a primeira consulta, considerando-se como critérios de inclusão entre as pacientes lúpicas:

- Sexo feminino;
- Possuir ao menos quatro critérios dentre os propostos pelo Colégio Americano de Reumatologia para classificação diagnóstica de LES (Tan EM, Cohen AS, Fries JF et al, 1982);
- Idade entre 18 e 45 anos.

O uso dos diferentes tipos de tratamento para o LES tais como ciclofosfamida, metilprednisolona, outros corticoesteróides e cloroquina não foram utilizados como critérios discriminatórios.

As variáveis de exclusão foram as que seguem:

- Hipotireoidismo;
- Insuficiência Renal Crônica;
- Prolactinomas;
- Gravidez ou lactação;
- Uso de drogas capazes de aumentar a secreção de PRL

O grupo controle (C) foi constituído por mulheres híginas no menacme, com idade mínima de 18 anos e máxima de 40 anos, que apresentassem:

- Ciclos menstruais com periodicidade de 21 a 35 dias, duração entre 03 e 07 dias;
- Índice de massa corpórea entre 18 e 25.

Os critérios de exclusão foram:

- Presença da Síndrome dos Ovários Micropolicísticos;
- Uso de medicação hormonal oral ou parenteral de qualquer espécie;
- Uso de medicamentos sabidamente capazes de provocar hiperprolactinemia;
- Presença de qualquer doença crônica;
- Hipotireoidismo;
- Gravidez ou lactação.

O grupo de gestantes (G) foi recrutado no Ambulatório de Pré-Natal de Baixo Risco do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia HCFMRP-USP. Os critérios de inclusão foram:

- Terceiro trimestre de gestação (≥ 28 semanas);
- Concepção por meios naturais;
- Seguimento pré-natal regular, com ao menos 05 consultas realizadas até a data de inclusão no estudo.

As gestantes que preenchessem os critérios abaixo foram excluídas:

- Presença de morbididades clínicas, tais como hipertensão arterial, diabetes mellitus, hipotireoidismo;
- Histórico de anovulação crônica previamente à concepção;
- Uso de quaisquer medicamentos, exceto polivitamínicos e sulfato ferroso;
- Morbididades obstétricas como pré-eclâmpsia, restrição de crescimento intra-uterino ou diabetes gestacional;

3.2. Métodos

Para a dosagem sérica de PRL foram colhidos 2ml de sangue da veia antecubital sob pressão a vácuo (Vacutainer®), em repouso de pelo menos 30 minutos, jejum de ao menos três horas, antes das 10 horas da manhã. O sangue foi submetido à centrifugação a 3000g durante 10 minutos. O soro extraído foi armazenado a -30°C para posterior dosagem nos grupos C e G.

Nas pacientes lúpicas foi realizado o mesmo processo, contudo o sangue encontrava-se previamente estocado a -70°C antes do início deste trabalho. A PRL apresenta imunoreatividade estável ao ser congelada a -20°C (Kubasik NP, Ricotta M, Hunter T et al, 1982), e o armazenamento de amostras congeladas garante a conservação

por vários anos (Nyberg F, Bergman P, Wide L et al, 1985). O hormônio é capaz de resistir, ainda, a até cinco ciclos de congelamento e degelo, sem perda de estabilidade (Livesey JH, Hodgkinson SC, Roud HR et al, 1980).

A PRL inicial foi dosada por quimioluminescência utilizando o método Immulite® 2000 (Diagnostic Products, Los Angeles, CA), cuja sensibilidade é de 0,16 ng/ml.

A variabilidade intra-ensaio foi de 5,02% e a variabilidade inter-ensaio de 1,2%.

Os soros foram considerados hiperprolactinêmicos quando $PRL \geq 25$ ng/ml (Cardoso Neto AA, Silva de Sá MF, Ferriani RA et al, 1989).

3.3. Identificação da Macroprolactinemia

O reconhecimento de macroprolactinemia foi feita pelo método de precipitação por polietilenoglicol (PEG), o qual tem como princípio a capacidade do PEG de tornar insolúveis compostos contendo imunoglobulinas, como é o caso da macroprolactina, causando a sua precipitação.

Desta forma, após uma primeira dosagem da PRL, 200 µl da amostra foram adicionados a 200 µl de solução de PEG 6000 a 25%. A mistura resultante foi homogeneizada no vórtex durante 1 minuto e novamente centrifugada a 10.000g durante 5 minutos. A PRL no sobrenadante foi dosada pelo mesmo método inicial.

Para definirmos as pacientes com macroprolactinemia utilizamos os critérios de Leños-Miranda et al (Leños-Miranda A, Pascoe-Lira D, Chávez-Rueda KA et al, 2001), aplicando a fórmula abaixo:

$$\% \text{ macroprolactina} = \frac{\text{PRL total} - \text{PRL no sobrenadante}}{\text{PRL total}} \times 100$$

Estes autores propõem que precipitações $< 50\%$ indicam a ausência de macroprolactinemia, enquanto precipitações $\geq 58,4\%$ indicam a presença desta condição, com sensibilidade de 100% e especificidade de 96,6%. Valores intermediários são considerados inconclusivos, e para elucidação da forma predominante de PRL nesta situação seria necessária a aplicação da cromatografia líquida em coluna de gel filtração, considerado padrão-ouro.

Optamos por adotar ponto de corte $> 50\%$ como indicativo de macroprolactina.

3.4. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se os programas GraphPad Prism 4.0[®] 32-Bit Executable software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) e MedCalc[®] para Windows, versão 7.2.1.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

O teste U de Mann-Whitney foi utilizado para comparação entre variáveis quantitativas contínuas sem distribuição normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (teste KS) quando comparados dois grupos independentes, e o teste de Kruskal-Wallis para comparações entre três ou mais grupos independentes.

Para variáveis qualitativas (análises de frequência) foi utilizado o teste exato de Fisher ou teste do χ^2 entre grupos independentes. Análises de correlação entre duas variáveis numéricas contínuas foram feitas por meio do coeficiente de Spearman, quando a amostra não seguiu a distribuição normal pelo teste KS.

A comparação entre os mesmos pacientes em diferentes momentos de tratamento (grupos pareados) foi feita pelo teste de McNemar para comparação de frequências, teste de

Wilcoxon nas variáveis quantitativas sem distribuição normal, ou teste t pareado para distribuição normal.

O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$ para todos os testes estatísticos.

3.5. Cálculo amostral

A prevalência real de hiperprolactinemia na população geral é difícil de ser estimada, pois há casos oligo ou assintomáticos. Há variação entre 0,4 a 5% entre diferentes estudos (Serri O, Chik C, Ur E et al , 2003). A prevalência desta condição no LES tem sido estimada em 16 a 40% dos pacientes afetados, conforme descrito na introdução deste trabalho.

Para efeito de cálculo amostral, consideramos prevalência de 1% na população geral, e de 16% para pacientes lúpicos. Assumindo-se $\alpha = 0,05$, e um erro tipo $\beta = 0,10$, obtivemos o número de 68 pacientes a serem estudados para detecção da condição, com o poder do estudo de 90%. Utilizou-se o programa MedCalc® para Windows, versão 7.2.1.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium), para gerar os cálculos.

3.6. Aspectos Éticos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, sob o número: 2586/2005. Todas as pacientes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

4. Resultados

Caracterização dos grupos

A idade média para as pacientes lúpicas foi de $35,44 \pm 12,18$ anos, enquanto para os controles, foi de $32,04 \pm 5,15$ anos no grupo C e $23,50 \pm 5,10$ anos no grupo G. Não se encontrou diferenças significativas entre o grupo de estudo e as mulheres hígdas no menacme ($p > 0,05$), ao passo que a média de idade das gestantes foi significativamente menor do que os outros dois grupos ($p < 0,01$ para ambos).

Com relação às diferentes formas de manifestação do LES, observamos 31 pacientes com LES neuropsiquiátrico (LNP), 19 pacientes com LES acometendo sistema renal, 23 pacientes com forma cutânea-articular e/ou SAAF.

Os valores do Índice de SLEDAI observados nas pacientes com LES no momento 1, com doença em atividade, podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização da amostra no momento 1 de acordo com faixas de atividade da doença, considerando o SLEDAI.

SLEDAI	Atividade	n	Frequência (%)
0	Inativo	0	0
1 – 5	Leve	16	21,92
6 – 10	Moderada	25	34,25
≥ 11	Alta (11-19) ou muito alta (≥ 20)	32	43,83
Total		73	100

Concentração de prolactina e frequência de hiperprolactinemia

Observamos que a concentração mediana de PRL foi significativamente superior ($p = 0,01$) no grupo L (11,70 ng/ml ; $p_{25} = 6,20$; $p_{75} = 21,0$) quando comparada ao grupo C (8,81ng/ml; $p_{25} = 6,85$; $p_{75} = 12,45$) (gráfico 1).

Gráfico 1 – Comparação entre a média da concentração de prolactina (após transformação logarítmica) entre pacientes lúpicas e controles (teste t com correção de Welch).

Foram detectados 15 casos (20,55%) de hiperprolactinemia no grupo L, ao passo que nenhuma das pacientes do grupo C foi diagnosticada com esta alteração ($p = 0,005$). Todas as gestantes (grupo G) apresentaram hiperprolactinemia, com concentração mediana de PRL de 158,5 ng/ml ($p_{25} = 130,0$; $p_{75} = 198,0$).

Associação entre prolactina e SLEDAI

O SLEDAI foi significativamente maior ($p < 0,0001$) na primeira amostra sérica (momento 1), cuja mediana foi de 10,0 ($p_{25} = 6,5$; $p_{75} = 15,50$), quando comparado ao momento 2, no qual foi igual a zero ($p_{25} = 0$; $p_{75} = 1,0$).

A seguir, agrupamos todas as amostras obtidas ($n = 135$), de acordo com o SLEDAI, em quatro categorias, calculando-se a mediana da concentração de PRL para cada uma das faixas de atividade, conforme a tabela 2.

Tabela 2 – Distribuição da concentração mediana de PRL (ng/ml) nas 135 amostras, de acordo com a atividade do LES.

SLEDAI	Atividade	n	PRL ng/ml (mediana; p25 – p75)	Hiperprolactinemia n (%)
0	inativo	46	8,36 (4,86 – 13,95)	05 (10,87)
1 - 5	leve	31	7,97 (6,15 – 14,20)	04 (12,90)
6 - 10	moderada	27	7,75 (5,46 – 17,40)	03 (11,11)
≥ 11	alta (11-19) ou muito alta (≥ 20)	31	17,10 (10,60 – 28,40)	10 (32,26)

A frequência de hiperprolactinemia foi maior no grupo com LES de atividade alta ou muito alta ($p = 0,05$).

A concentração de PRL foi maior neste grupo quando comparado ao LES inativo ($p < 0,01$), e ao LES com atividade moderada ($p < 0,05$), conforme o gráfico 2.

Gráfico 2 – Distribuição da concentração mediana de PRL (em ng/ml) de todas as amostras (n = 135) de acordo com o grau de atividade do LES (teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn).

Houve correlação entre a concentração de PRL total e a atividade do LES medida pelo SLEDAI ($r = 0,41$; $p = 0,0003$) somente no período de doença ativa (Gráfico 3). Ao analisarmos a correlação considerando-se somente a PRL livre (monomérica), esta se tornou ainda mais significativa ($r = 0,44$; $p = 0,0001$).

Gráfico 3 – Correlação entre concentração de PRL (ng/ml) e SLEDAI pelo coeficiente de Spearman: A. momento de doença em atividade (SLEDAI 1); B: doença inativa ou com a menor atividade obtida (SLEDAI 2).

A concentração mediana de PRL foi maior no momento 1 (12,15 ng/ml, p25 = 6,52; p75 = 21,00), do que no momento 2 (8,36 ng/ml, p25 = 5,91; p75 = 13,95), conforme ilustrado no gráfico 4 ($p=0,04$).

Gráfico 4 – Comparação entre a concentração mediana de prolactina no momento 1 e no momento 2 (teste de Wilcoxon).

Apesar de a frequência de hiperprolactinemia ser maior no momento 1 (12 casos, ou 19,35%) do que no momento 2 (07 casos, ou 11,3%) a diferença não atingiu significância estatística pelo teste de McNemar ($p = 0,27$). Para as duas últimas análises (comparação da concentração de PRL entre os dois momentos, bem como frequência de hiperprolactinemia)

foram utilizados testes pareados, portanto as 11 pacientes com amostra somente durante o momento 1 foram excluídas.

Hiperprolactinemia e formas de manifestação da doença

A concentração de PRL não apresentou diferenças significativas entre as diversas formas de manifestação do LES ($p = 0,27$). As medianas observadas foram: LNP = 12,60 ng/ml ($p25 = 7,06$; $p75 = 27,40$); renal = 14,60 ng/ml ($p25 = 6,21$; $p75 = 26,60$); cutânea-articular = 8,43 ($p25 = 5,20$; $p75 = 16,30$) (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Distribuição da amostra de acordo com a concentração de PRL entre as diferentes formas de manifestação do LES (teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn).

Quanto à prevalência, dentre os 15 casos observados de hiperprolactinemia, 08 ocorreram entre as portadoras de LNP, enquanto os outros 07 casos ocorreram entre todas as demais formas agrupadas. Contudo, esta diferença não atingiu significância estatística ($p = 0,39$).

A Macroprolactina

Como previamente mencionado, foram detectados 15 casos de hiperprolactinemia ($PRL \geq 25\text{ng/ml}$) no grupo L, nenhum no grupo C e em 100% do grupo G.

A presença de macroprolactinemia, considerando as normo e as hiperprolactinêmicas, no grupo L, foi de 15 casos no momento 1 e 14 no momento 2, enquanto que no grupo C não foi encontrado nenhum caso e apenas 2 casos no grupo G. Considerando apenas as normoprolactinêmicas ($n = 58$), a frequência de macro foi significativamente maior no grupo L do que no grupo C (11 vs. 0; $p = 0,01$).

Tomando-se todo o grupo L no momento 1, as pacientes com predomínio da macroprolactina tiveram mediana de 18,70 ng/ml ($p_{25} = 14,10$ ng/ml; $p_{75} = 42,10$ ng/ml) nos níveis de PRL, contra 9,80 ng/ml ($p_{25} = 5,45$ ng/ml; $p_{75} = 17,7$ ng/ml) naquelas com predomínio da forma monomérica ($p = 0,004$) (Gráfico 6).

Gráfico 6 – Comparação entre os níveis de prolactina total das pacientes com predomínio de macroprolactina quando comparadas às portadoras de prolactina monomérica no grupo L (teste U de Mann-Whitney).

Nas pacientes hiperprolactinêmicas do grupo L, houve 04 casos de macroprolactinemia detectados no momento 1 (26,7% do total de hiperprolactinêmicos), e 03 casos no momento 2 (Tabela 3).

Tabela 3 – Distribuição das pacientes lúpicas portadoras de hiperprolactinemia de acordo com os valores do SLEDAI, concentração de PRL total (PRLt), PRL livre (PRLl) e porcentagem de macroprolactina (% macro) nos momentos 1 e 2, em ng/ml; mediana da concentração de prolactina total e livre (p25 – p75) global nos três grupos estudados.

Casos	Momento 1				Momento 2			
	SLEDAI	PRLt	PRLl	% macro	SLEDAI	PRLt	PRLl	% macro
1	24	43,7	20,1	54,0	0	9,1	5,88	35,4
2	24	74,7	49,6	33,6	0	3,99	2,95	26,1
3	17	28,9	18,6	35,6	0	11,6	5,1	56,0
4	10	117,0	70,5	39,7	--	--	--	--
5	03	65,7	35,2	46,4	--	--	--	--
6	15	177,5	115,0	35,2	3	7,07	4,29	39,3
7	11	97,4	42,6	56,3	2	85,9	40,3	53,1
8	16	60,6	36,9	39,1	0	5,87	3,93	33,0
9	10	41,9	28,3	32,5	0	28,6	18,2	36,4
10	18	26,6	16,9	36,5	0	3,93	3,25	17,3

11	04	42,1	7,36	82,5	0	43,3	11,9	72,5
12	25	27,4	15,3	44,1	0	7,17	4,07	43,2
13	09	59,2	5,93	90	--	--	--	--
14	20	31,3	16,8	46,3	2	11,9	6,31	47,0
15	19	28,4	15,5	45,4	7	5,73	4,15	27,6
Grupo L	11,70 (6,20 - 21,00)		5,93 (3,77 - 10,35)					
Grupo C	8,81 (6,85 - 12,45)		6,07 (4,56 - 7,98)					
Grupo G	158,5 (130,0 - 198,0)		91,00 (79,25 - 119,8)					
Tempo Médio de tratamento entre momento 1 e momento 2			3,35 ± 2,47 anos					

No caso 1 houve macroprolactinemia somente no momento de doença ativa, enquanto no momento de SLEDAI igual a zero houve predominância da forma monomérica, com normalização dos níveis de PRL.

Note-se que no caso 03 ocorreu justamente o oposto: a forma predominante de PRL foi a monomérica somente na doença em atividade, enquanto a macroprolactina predominou quando a doença estava inativa (paciente normoprolactinêmica neste momento).

No casos 07 e 11 os níveis de PRL foram muito semelhantes nos dois momentos de seguimento da doença, e a quantidade de macroprolactina pouco variou, correspondendo à forma predominante em ambos.

No caso 13 a macroprolactina foi vista somente no momento 1, pois esta paciente não foi analisada no momento 2.

O tempo médio de tratamento para as doze pacientes hiperprolactinêmicas cujas amostras foram analisadas em ambos os momentos foi de $3,35 \pm 2,47$ anos.

O efeito do tratamento do LES sobre as concentrações de PRL e PRL livre foram observadas de forma mais contundente nestas pacientes ($n = 12$), do que o observado para todo o grupo L com amostras pareadas ($n = 62$), conforme ilustrado nos gráficos que seguem.

Gráfico 7 – Concentração de prolactina total em ng/ml nas pacientes hiperprolactinêmicas do grupo L nos momentos 1 e 2 (teste *t* pareado).

A média da concentração de PRL foi de $56,71 \pm 43,87$ ng/ml no momento 1, enquanto após o tratamento esta foi de $18,68 \pm 24,20$ ng/ml. Importante ressaltar que não foi utilizado agonista dopaminérgico.

Para a PRL livre o efeito observado foi bastante semelhante (Gráfico 8), com a média da concentração de PRL livre no momento 1 ($31,91 \pm 29,06$ ng/ml) significativamente superior à observada no momento 2 ($9,19 \pm 10,74$ ng/ml).

Gráfico 8 – Concentração de prolactina livre em ng/ml nas pacientes hiperprolactinêmicas do grupo L nos momentos 1 e 2 (teste *t* pareado).

A detecção de macroprolactina, por outro lado, não sofreu qualquer alteração com o tratamento do LES ($p = 0,20$), conforme o gráfico 9.

Gráfico 9 – Detecção de macroprolactina nas pacientes hiperprolactinêmicas do grupo L nos momentos 1 e 2 (teste *t* pareado).

A média obtida no momento 1 foi de $45,09 \pm 14,13$ %, enquanto no momento 2 esta foi de $40,58 \pm 15,03$ %.

A seguir, avaliamos se as pacientes com predominância da forma macro ($n = 15$), tanto hiper como normoprolactinêmicas, apresentavam atividade da doença diferente do que as portadoras da forma monomérica ($n = 58$). Observamos que o SLEDAI foi semelhante entre os dois grupos ($10.93 \pm 1,4$ ng/ml vs. 10.43 ± 0.8 ng/ml) ($p = 0,77$), conforme o gráfico 10. Ao considerarmos apenas as hiperprolactinêmicas ($n = 15$), as portadoras de macroprolactinemia ($n = 4$) demonstraram SLEDAI inferior (média = $12,0 \pm 8,52$), porém sem diferença estatística quando comparado às demais ($n = 11$) (média = $16,09 \pm 6,46$) ($p = 0,33$).

Gráfico 10 – Comparação do SLEDAI entre pacientes lúpicas com forma macro predominante ($n = 15$) e pacientes com a forma monomérica ($n = 58$) (teste t de student).

5. Discussão

Existem evidências suficientes que apontam a maior prevalência de hiperprolactinemia entre os pacientes lúpicos, a qual oscila entre 15,9 a 40% (Buskila D, Lorber M, Neumann L et al, 1996; Rovenský J, Juránková E, Rauová L et al, 1997; Moszkorzová L, Lacinová Z, Marek J et al, 2002). Nossos resultados foram compatíveis com a literatura, com frequência de hiperprolactinemia de 20,55%. A concentração sérica média de PRL também foi maior nas lúpicas do que no grupo controle. O poder do estudo para detecção da hiperprolactinemia foi calculado em 90%, o qual foi adequado, portanto, para chegar-se a esta conclusão.

Sendo o LES uma moléstia auto-imune, ocorre a produção de auto-anticorpos direcionados a grande variedade de auto-antígenos, inclusive contra a PRL. Blanco-Favela et al descreveram anticorpos anti-prolactina em 31,7 % de pacientes lúpicos com hiperprolactinemia (Blanco-Favela F, Chávez-Rueda KA, Leños-Miranda A, 2001), ao passo que para população de pacientes portadores de hiperprolactinemia idiopática e não relacionada ao LES, foram descritos anticorpos anti-prolactina em 16%, havendo correlação entre seus níveis e a concentração sérica de PRL (Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T et al, 1994b). Em mulheres grávidas, alguns autores têm descrito anticorpos anti-prolactina em até 62% das portadoras de macroprolactinemias (Pascoe-Lira D, Duran-Reyes G, Contreras-Hernández I et al, 2001).

Além disso, Leños-Miranda A et al também constataram que 100% dos pacientes lúpicos portadores destes auto-anticorpos possuem hiperprolactinemia (Leños-Miranda A,

Pascoe-Lira D, Chávez-Rueda KA et al, 2001). Estes dados sugerem papel relevante desempenhado pela macroprolactina na hiperprolactinemia dos pacientes lúpicos.

Por não atravessar a barreira hemato-encefálica, a macroprolactina poderia afetar o mecanismo de retrocontrole de secreção de dopamina hipotalâmico. Além disso, possui clearance mais lento, permanecendo por maior tempo na circulação, o que produz maiores concentrações deste hormônio. O achado de níveis séricos mais elevados de prolactina total entre as pacientes lúpicas onde predominou a forma macro (ainda que o valor total de PRL estivesse dentro da normalidade em algumas), sugere que este mecanismo é relevante no aumento da PRL encontrado nas pacientes com LES.

A inclusão de mulheres grávidas normais como grupo controle visou à possibilidade de comparar situações em que ocorre hiperprolactinemia associada ao aumento de imunoglobulinas circulantes em situação fisiológica, como é o caso das grávidas e outra não fisiológica, como é o caso das lúpicas. (Ferriani RA, Silva de Sá MF, Lima-Filho EC, 1986). Quando comparadas com as mulheres grávidas, observamos que as lúpicas ainda assim apresentam maior incidência de macroprolactinemia, o que sugere ser o LES uma situação específica para a formação de maior quantidade desta forma molecular do hormônio. Tal fenômeno não surpreende, pois é esperado que em uma doença auto-imune sejam encontradas em maior frequência moléculas que tragam em sua composição um auto-anticorpo.

Embora as mulheres grávidas também possam produzir auto-anticorpos anti-prolactina os seus níveis não seriam suficientemente elevados para aumentar a frequência de macroprolactina entre elas, a qual foi constatada em apenas 5,9% das gestantes, contra 26,7% das lúpicas hiperprolactinêmicas. Este valor foi ligeiramente superior ao encontrado

na literatura, em que 2,9 a 3,8% das gestantes apresentam esta condição (Hattori N, 1996; Pascoe-Lira D, Duran-Reyes G, Contreras-Hernández I et al, 2001).

Em estudos que analisaram a prevalência de macroprolactinemia em pacientes com síndromes hiperprolactinêmicas em geral, esta foi a forma predominante do hormônio em 10 a 26% de todos os casos (Vallette-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A et al, 2002; Olukoga AO & Kane JW, 1999; Bjørø T, Mørkrid L, Wergeland R et al 1995).

A associação entre hiperprolactinemia e atividade do LES é questão controversa, sugerida por inúmeros estudos experimentais e clínicos, ao passo que vem sendo contestada por outros pesquisadores (Pauzner R, Urowitz MB, Gladman DD et al, 1994; Buskila D, Lorber M, Neumann L et al, 1996; Ostendorf B, Fischer R, Santen R et al, 1996; Moszkorzová L, Lacinová Z, Marek J et al, 2002).

Recentemente, García et al (García M, Colombani-Vidal ME, Zylbersztejn CC et al, 2004), em coorte de 34 pacientes lúpicos comprovaram a associação, e o trabalho de Leños-Miranda e Cárdenas-Mondragón (Leños-Miranda A & Cárdenas-Mondragón G, 2006) cuja casuística é a maior até o momento publicada (259 pacientes lúpicos), também a constatou, considerando a PRL livre.

Estudo experimental demonstrou que a macroprolactina tem plena atividade biológica *in vitro*, inclusive maior do que a PRL monomérica. A análise do clearance da molécula demonstrou, todavia, que a depuração plasmática é mais lenta, postulando-se que a menor atividade biológica *in vivo* deva-se à dificuldade em atravessar os capilares e exercer seus efeitos diretamente sobre os tecidos-alvo (Leños-Miranda A, Chávez-Rueda KA, Blanco-Favela F, 2001).

Assim, apesar de ser molécula potencialmente menos ativa *in vivo*, esta atividade está presente em algum grau. Os estudos clínicos são consonantes com esta idéia, uma vez

que tem contestado a clássica descrição da macroprolactina exclusivamente em associação a quadros clínicos assintomáticos.

Vallete-Kasic et al estudaram prospectivamente 106 pacientes com macroprolactinemia, comparando-os a 262 hiperprolactinêmicos pela forma monomérica (Vallette-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A et al, 2002). Apesar de apresentarem fertilidade preservada, os portadores de macroprolactinemia exibiram alguns sintomas clássicos como galactorréia (46%), e irregularidade menstrual (39%). Hauache et al chegaram a conclusão semelhante em série de 52 pacientes macroprolactinêmicos: 54% apresentavam sintomas (Hauache OM, Rocha AJ, Maia Jr ACM et al, 2002).

A implicação da hipótese de menor atividade biológica *in vivo* da macroprolactina no tocante à sua associação com a atividade do LES, é que os pacientes lúpicos hiperprolactinêmicos pela forma “*little*” teriam maior atividade da doença quando comparados aos lúpicos macroprolactinêmicos (Cruz J, Aviña-Zubieta A, Martinez de la Escalera GM et al, 2001).

Este poderia ter sido um fator crucial a interferir nos resultados dos estudos que não encontraram correlação entre os níveis de PRL e atividade do LES, uma vez que a presença da macroprolactina não foi considerada. Isto levou alguns autores a sugerir que seja estudada a correlação entre a PRL livre em relação ao SLEDAI, a qual seria mais fidedigna do papel imunoestimulador da PRL sobre o LES (Leaños-Miranda A & Cárdenas-Mondragón G, 2006).

Em nosso trabalho, encontramos correlação entre PRL e atividade do LES mesmo ao analisarmos a PRL total. Contudo, ao avaliarmos a PRL livre, esta associação tornou-se ainda mais intensa ($r = 0,41$ passou a $r = 0,44$; $p = 0,0003$ passou a $p = 0,0001$),

favorecendo a hipótese de que a macroprolactina pode, de fato, interferir na análise dos resultados devido a uma menor atividade biológica.

Por outro lado, as pacientes com macroprolactina não apresentaram melhor atividade clínica (SLEDAI inferior), constatando-se doença ativa mesmo na presença desta molécula. Outro fato interessante é que o tratamento do LES foi capaz de provocar redução nas concentrações de PRL total e livre, porém a quantidade de casos de macroprolactina permaneceu praticamente inalterada (15 casos no momento 1 vs. 14 casos no momento 2). Portanto, os dados não nos permitem concluir que a macroprolactina é marcador de doença inativa, achado que também foi descrito por outros autores (García M, Colombani-Vidal ME, Zylbersztejn CC et al, 2004).

O fato do coeficiente de correlação ter sido de 0,41 sugere associação moderada, e equivale a dizer que cerca de 17% da variação do SLEDAI podem ser explicados pelo fato de que a quantidade de PRL também varia entre os indivíduos (e vice-versa). Desta forma, nosso estudo sugere que a PRL é apenas um dentre vários fatores que podem alterar a atividade do LES, o qual sofre a influência de outras variáveis.

É importante ressaltar que o desenho do presente estudo é transversal, em dois momentos de seguimento da doença, o que torna impossível afirmar de forma contundente que haja relação causal entre as duas variáveis (LES e SLEDAI), a qual pode ser apenas sugerida.

Os resultados obtidos ao analisarem-se todas as amostras séricas agrupadas reforçam a possibilidade da participação da PRL na exacerbação do LES, uma vez que o LES inativo apresentou concentração de PRL inferior ao LES com atividade alta ou muito alta, podendo-se dizer o mesmo do LES moderadamente ativo quando comparado ao muito ativo. Apesar da concentração de PRL ser progressivamente maior entre as faixas de

atividade descritas (gráfico 2), esta ainda assim não atingiu níveis supra-fisiológicos (mediana de 17,10 ng/ml no LES de atividade alta ou muito alta). Esse efeito pode ser justificado por achados de estudos *in vitro* com células mononucleares do sangue periférico (CMSP) de pacientes lúpicos, em que a PRL estimulou a produção de IgG em maior intensidade em concentrações próximas à fisiológica (20 ng/ml) do que em concentrações superiores (100 ng/ml) (Jacobi AM, Rohde W, Volk HD et al, 2001).

Takizawa et al também demonstraram que a ação imunoestimulatória da PRL sobre CMSP ocorre de forma concentração-dependente. Estes autores analisaram o efeito da PRL sobre a expressão de CD69 e CD25 por estas células quando co-estimuladas com fitohemagutina, em controles saudáveis. Observaram que a PRL aumenta a expressão de ambas as glicoproteínas de superfície celular, e que tal efeito é maior em concentrações de PRL de 2µg/ml para o CD69 e de até 1µg/ml para o CD25, decrescendo em concentrações superiores (Takizawa K, Kitani S, Takeuchi F et al, 2005).

O fato de ter sido encontrada correlação entre PRL e SLEDAI somente no período de doença ativa leva-nos a questionar se a maior quantidade de PRL nesse momento é apenas um reflexo de que há maior quantidade de linfócitos ativados no sangue periférico. Estas células produziram maiores quantidades de PRL linfocitária, a qual seria a verdadeira responsável por medidas de PRL total mais elevadas.

Há evidências suficientes na literatura que apontam para a produção de PRL pelos linfócitos, o que ocorre tanto no LES, como em outras desordens auto-imunes como a esclerose sistêmica. Nesta última moléstia também foram constatadas maiores concentrações de PRL sérica, assim como maior produção de PRL pelos linfócitos dos pacientes afetados, quando comparados a controles normais (Czuwara-Ladykowska J, Sicinska J, Olszewska M et al, 2006). Estudo *in vitro* com CMSP de pacientes lúpicos

chegou a resultados semelhantes, ao demonstrar, por meio da análise do RNAm para PRL e seu receptor, que estas células produzem e secretam o hormônio, o qual parece agir de forma autócrina (Chavez-Rueda K, Legorreta-Haquet MV, Cervera-Castillo H et al, 2005).

Apesar de ficar evidente a participação da PRL linfocitária nas doenças auto-imunes, a magnitude desse efeito (a quantidade da PRL total dosada que deve-se efetivamente à PRL produzida pelos linfócitos) ainda não é clara. O desenho deste estudo não permite responder a esta questão. Para tal seria necessário estudarmos a quantidade de PRL linfocitária existente nos dois momentos, comparando-a a PRL total.

Assim, a PRL linfocitária possivelmente exerce um papel na fisiopatologia da doença, pois foi recentemente demonstrado por Méndez et al (Méndez I, Alcocer-Varela J, Parra A et al, 2004) que linfócitos de pacientes lúpicos sintetizam e secretam PRL bioativa em maiores quantidades do que linfócitos de indivíduos normais em condições basais. Podemos conjecturar que talvez seja justamente a PRL linfocitária a responsável pela maior atividade do LES.

Outra questão controversa que surge ao examinarmos a possível relação entre LES e hiperprolactinemia é se esta associação não se trata de epifenômeno, devido ao estresse causado pelo LES em atividade. A PRL é secretada em maior quantidade em situações de estresse, como em pacientes criticamente doentes. Essa secreção diminui na fase crônica, especulando-se que a PRL possa ser importante para a ativação imunológica na fase aguda da doença crítica, assim como sua diminuição na fase crônica poderia ser um dos mecanismos de maior susceptibilidade a infecções (Van den Berghe G, 2000).

Em roedores a PRL aumenta em situações de estresse, o que parece proteger os animais contra a hipocalcemia e erosões gástricas, habitualmente presentes nessas condições. O efeito é mediado pela ligação da PRL a receptores no plexo coróide, com

transporte da PRL ao cérebro, local em que estimula a liberação do fator liberador de corticotrofina, o qual é responsável pelos efeitos protetores observados (Fujikawa T, Soya H, Tamashiro KLK et al, 2004). Dessa forma, a contribuição do estresse para o desencadeamento da hiperprolactinemia observada no LES ativo não pode ser descartada.

Quanto à participação da PRL como fator desencadeante de formas específicas de manifestação do LES, podemos dizer que a capacidade dos hormônios de participarem como fatores promotores de auto-imunidade específica contra os órgãos-alvo afetados pela doença é incerta (Jara LJ, Vera-Lastra O, Miranda JM et al 2001).

Miranda et al observaram que entre pacientes lúpicos com glomerulonefrite, a doença foi mais grave naqueles com hiperprolactinemia; estes exibiam PRL urinária em maiores concentrações e maior frequência de anticorpos anti-DNA (Miranda JM, Prieto RE, Paniagua R et al, 1998). El Garf et al sugeriram, por sua vez, que a PRL poderia estar associada a envolvimento orgânico específico no LES juvenil, uma vez que observaram que os pacientes com hiperprolactinemia apresentavam LNP, enquanto apenas 10% dos normoprolactinêmicos apresentavam esta forma de comprometimento orgânico (El-Garf A, Salah S, Shaarawy M et al, 1996).

Nossos resultados não sugerem a participação da PRL no desencadeamento de formas específicas de LES, uma vez que a concentração de PRL foi semelhante entre todas as formas de manifestação da doença. Ainda contrariando os resultados de El-Garf, a frequência de hiperprolactinemia não foi significativamente superior no LNP quando comparado às demais formas da doença.

Pudemos constatar, com o presente trabalho, que a prolactina é fator que pode atuar de forma significativa na exacerbação do LES, e que esta atuação estende-se à sua forma

macro, a qual, se não plenamente ativa, parece ter a capacidade de exercer alguma influência.

Esta perspectiva torna tentadora a proposta do uso de agonistas dopaminérgicos como tratamento adjuvante no LES; alternativa esta que já foi aventada em estudos iniciais mas necessita de evidências mais robustas para ser incorporada na prática clínica.

6. Conclusões

- Os níveis de PRL são, em média, superiores e a hiperprolactinemia é mais freqüente em mulheres lúpicas do que na população feminina hígida;
- Mais de um quarto dos casos de hiperprolactinemia nas pacientes lúpicas devem-se à macroprolactina;
- A concentração sérica de prolactina não é superior, tampouco é a hiperprolactinemia mais freqüente, entre as portadoras de Lúpus Neuropsiquiátrico;
- Existe correlação positiva entre níveis séricos de prolactina e atividade do LES;
- Esta correlação é mais intensa ao analisarmos a prolactina livre;
- Não podemos afirmar que a macroprolactina é um marcador de LES inativo/pouco ativo;
- O tratamento do LES provoca redução nos níveis de prolactina.

7. Perspectivas Futuras

A associação entre atividade do LES e hiperprolactinemia encontrada por este trabalho, com amplo respaldo na literatura, sugere que trabalhos de interesse terapêutico com grandes casuísticas, placebo-controlados, e duplo-cegos, sejam levados a cabo, utilizando drogas como a bromocriptina ou cabergolina, como adjuvantes ao tratamento tradicional. Os estudos a respeito são ainda modestos necessitando de maiores comprovações.

8. Referências Bibliográficas

- Bernton EW, Meltzer MS, Holaday JW. Suppression of macrophage activation and T-lymphocyte function in hypoprolactinemic mice. *Science* 1988; 239: 401-4.
- Bjørø T, Mørkrid L, Wergeland R et al. Frequency of hyperprolactinaemia due to large molecular weight prolactin (150 – 170 kD PRL). *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55: 139 – 47.
- Blanco-Favela F, Chávez-Rueda KA, Leños-Miranda A. Analysis of anti-prolactin autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2001; 10: 757 – 61.
- Blanco-Favela F, Quintal-Alvarez G, Leños-Miranda A. Association between prolactin and disease activity in systemic lupus erythematosus. Influence of statistical power. *J Rheumatol* 1999; 26: 55 – 9.
- Blank M, Krause I, Buskila D et al. Bromocriptine immunomodulation of experimental SLE and primary antiphospholipid syndrome via induction of nonspecific T suppressor cells. *Cell Immunol* 1995;162:114-22.
- Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB et al. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 630 – 40.

- Buskila D, Berezin M, Gur H et al. Autoantibody profile in the sera of women with hyperprolactinemia. *J Autoimmun* 1995; 8: 415-24.
- Buskila D, Lorber M, Neumann L et al. No correlation between prolactina levels and clinical activity in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1996 ; 23: 629-32.
- Cardoso Neto AA, Silva de Sá MF, Ferriani RA et al. Variações da prolactina durante o ciclo menstrual em mulheres normais. *J Bras Ginec* 1989; 99: 191 – 96.
- Chavez-Rueda K, Legorreta-Haquet MV, Cervera-Castillo H et al. Prolactin effect on CD69 and CD154 expression by CD4+ cells from systemic lupus erythematosus patients. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 769 – 77.
- Chikanza IC. Prolactin and neuroimmunomodulation: *in vitro* and *in vivo* observations. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 876: 119-30.
- Cruz J, Aviña-Zubieta A, Martinez de la Escalera GM et al. Molecular heterogeneity of prolactin in the plasma of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1331 – 35.
- Czuwara-Ladykowska J, Sicinska J, Olszewska M et al, Prolactin synthesis by lymphocytes from patients with systemic sclerosis. *Biomed Pharmacother* 2006; 60: 152 – 5.

- El-Garf A, Salah S, Shaarawy M et al. Prolactin hormone in juvenile systemic lupus erythematosus: a possible relationship to disease activity and CNS manifestations. *J Rheumatol* 1996; 23: 374 – 7.
- Ferreira C, Paes M, Gouveia A et al. Plasma homovanillic acid and prolactin in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1998; 7: 392 – 7.
- Ferriani RA, Silva de Sá MF, Lima-Filho EC. A comparative study of longitudinal and cross-sectional changes in plasma levels of prolactin and estriol during normal pregnancy. – *Braz J Med Biol Res* 1986; 19: 183-88.
- Foss MC, Paula FJ, Paccola GM et al. Peripheral glucose metabolism in human hyperprolactinaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 43: 721-6.
- Fujikawa T, Soya H, Tamashiro KL et al. Prolactin prevents acute stress-induced hypocalcemia and ulcerogenesis by acting in the brain of rat. *Endocrinology* 2004; 145: 2006 – 13.
- García M, Colombani-Vidal ME, Zylbersztein CC et al. Análisis of molecular heterogeneity of prolactin in human systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2004; 13: 575 – 83.
- Gutiérrez MA, Molina JF, Jara LJ et al. Prolactin-induced immunoglobulin and autoantibody production by peripheral blood mononuclear cells from systemic lupus

erythematosus and normal individuals. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 109: 229 – 35.

Hattori N. The frequency of macroprolactinemia in pregnant women and the heterogeneity of its etiologies. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 586 – 90.

Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T et al. Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements. *Eur J Endocrinol* 1994a; 130: 434 – 7.

Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T et al. Correlation of the antibody titers with serum prolactin levels and their clinical course in patients with anti-prolactin autoantibody. *Eur J Endocrinol* 1994b; 130: 438 – 45.

Hauache OM, Rocha AJ, Maia Jr ACM et al. Screening for macroprolactinemia and pituitary imaging studies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002; 57: 327-31.

Jacobi AM, Rohde W, Volk HD et al. Prolactin enhances the in vitro production of IgG in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus but not from healthy controls. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 242-7.

Jara LJ, Irigoyen L, Ortiz MJ et al. Prolactin and interleukin-6 in neuropsychiatric lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 1998; 17: 110-4.

Jara LJ, Vera-Lastra O, Miranda JM et al. Prolactin in human systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2001; 10: 748 – 56.

Kubasik NP, Ricotta M, Hunter T et al. Effect of duration and temperature of storage on serum analyte stability: examination of 14 selected radioimmunoassay procedures. Clin Chem 1982; 28: 164 – 5.

Leaños-Miranda A, Cárdenas-Mondragón G. Serum free prolactin concentrations in patients with systemic lupus erythematosus are associated with lupus activity. Rheumatology (Oxford) 2006; 45: 97 – 101.

Leaños-Miranda A, Chávez-Rueda KA, Blanco-Favela, F. Biologic activity and plasma clearance of prolactin-IgG complex in patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2001; 44: 866 – 75.

Leaños-Miranda A, Pascoe-Lira D, Blanco-Favela F. Re: Prolactin and systemic lupus erythematosus. Br J Rheumatol 1998; 37: 1029 – 35 (letter).

Leaños-Miranda A, Pascoe-Lira D, Chávez-Rueda K et al. Detection of macroprolactinemia with the polyethylene glycol precipitation test in systemic lupus erythematosus patients with hiperprolactinemia. Lupus 2001; 10: 340 – 45.

Leaños-Miranda A, Pascoe-Lira D, Chávez-Rueda KA et al. Antiprolactin autoantibodies in systemic lupus erythematosus: frequency and correlation with prolactinemia and disease activity. J Rheumatol 2001; 28: 1546 - 53.

Livesey JH, Hodgkinson SC, Roud HR et al. Effect of time, temperature and freezing on

the stability of immunoreactive LH, FSH, TSH, growth hormone, prolactin and insulin in plasma. Clin Biochem 1980; 13: 151 – 5.

McMurray R, Keisler D, Kanuckel K et al. Prolactin influences autoimmune disease activity in the female B/W mouse. J Immunol 1991; 147: 3780 – 7.

Méndez I, Alcocer-Varela J, Parra A et al. Neuroendocrine dopaminergic regulation of prolactin release in systemic lupus erythematosus: a possible role of lymphocyte-derived prolactin. Lupus 2004;13: 45 – 53.

Miranda JM, Prieto RE, Paniagua R et al. Clinical significance of serum and urine prolactin levels in lupus glomerulonephritis. Lupus 1998; 7: 387 – 91.

Moszkorzová L, Lacinová Z, Marek J et al. Hyperprolactinaemia in patients with systemic lupus erythematosus. Clin Exp Rheumatol 2002; 20: 807-12.

Nagy E, Berczi I. Hypophysectomized rats depend on residual prolactin for survival. Endocrinology 1991; 128: 2776-84.

Neidhart M. Bromocriptine has little direct effect on murine lymphocytes, the immunomodulatory effect being mediated by the suppression of prolactin secretion. Biomed Pharmacother 1997;51: 118-25.

Neuwelt CM, Lacks S, Kaye BR et al. Role of intravenous cyclophosphamide in the

treatment of severe neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1995; 98: 32-41.

Nyberg F, Bergman P, Wide L et al. Stability studies on human pituitary prolactin. *Ups J Med Sci* 1985; 90: 265 – 77.

Olukoga AO, Kane JW. Macroprolactinemia: validation and application of the polyethylene glycol precipitation test and clinical characterization of the condition. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 51:119 – 26.

Ostendorf B, Fischer R, Santen R et al. Hyperprolactinemia in systemic lupus erythematosus? *Scand J Rheumatol* 1996; 25: 97 – 102.

Pascoe-Lira D, Duran-Reyes G, Contreras-Hernández I et al. Frequency of macroprolactinemia due to autoantibodies against prolactin in pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 924 – 29.

Pauzner R, Urowitz MB, Gladman DD et al. Prolactin in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1994; 21: 2064 – 7.

Reber PM. Prolactin and Immunomodulation.. *Am J Med* 1993;95:637 - 44.

Rovenský J, Juránková E, Rauová L et al. Relationship between endocrine, immune, and clinical variables in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1997; 24:

2330 - 4.

Serri O, Chik C, Ur E et al. Diagnosis and management of hyperprolactinemia. CMAJ 2003; 169: 575-81.

Silva de Sá MF. Síndrome hiperprolactinêmica: galactorréia. In: Halbe HW (ed.). Tratado de Ginecologia, 3^a ed. Roca, 2000, pp.1638 – 1651.

Silva de Sá MF, Ferriani RA, Moura MD. Modificações nas proporções das três formas moleculares de prolactina secretada por tumores hipofisários. RBGO 1988; 10: 117-122.

Tan EM, Cohen AS, Fries JF et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1982; 25: 1271 – 7.

Takizawa K, Kitani S, Takeuchi F et al. Enhanced expression of CD69 and CD25 antigen on human peripheral blood mononuclear cells by prolactin. Endocr J 2005; 52: 635 – 41.

Vallette-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A et al. Macroprolactinemia revisited: a study on 106 patients. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87: 581 – 88.

Van den Berghe G. Novel insights into the neuroendocrinology of critical illness. Eur J Endocrinol 2000; 143: 1 – 13.

Vera-Lastra O, Jara LJ, Espinoza LR. Prolactin and autoimmunity. Autoimmun Ver 2002;

1: 360-4.

Vera-Lastra O, Mendez C, Jara LJ et al. Correlation of prolactin serum concentrations with clinical activity and remission in patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 2003; 30: 2140 - 6.

Vieira JGH. Macroprolactinemia. Arq Bras Endocrinol Metab 2002; 46: 45 – 50.

Zoli A, Ferlisi EM, Pompa A et al. Basal and after-stimuli test for prolactinemia in systemic lupus erythematosus. Ann N Y Acad Sci 1999; 876: 155 – 8.

9. Anexo

Systemic Lupus Erythematosus Index

Peso	SLEDAI	Descritor	Definição
8		Convulsão	Início recente. Excluir causas metabólicas, infecciosas ou relacionadas a drogas
8		Psicose	Capacidade funcional alterada para atividades normais devido a distúrbios severos de percepção da realidade. Inclui alucinações, incoerência, falta de associação, alteração do conteúdo do pensamento, pensamento ilógico, bizarro, desorganizado ou comportamento catatônico. Excluir drogas e uremia.
8		Síndrome Orgânica Cerebral	Função mental alterada com prejuízo da memória, orientação ou outra função intelectual, com início rápido e características clínicas flutuantes. Inclui embaçamento da consciência com pouca capacidade de concentração, e incapacidade de manter atenção ao meio-ambiente, mais pelo menos 2 das seguintes: distúrbio de percepção, fala incoerente, insônia ou sonolência durante o dia, ou atividade psicomotora reduzida ou aumentada. Excluir causas metabólicas, infecciosas ou drogas.
8		Distúrbios Visuais	Alterações retinianas do LES. Inclui corpos citóides, hemorragia retiniana, exsudatos serosos ou hemorragias na coróide ou neurite óptica. Excluir hipertensão, infecção ou drogas.
8		Desordens de Nervos Cranianos	Início recente de neuropatia sensorial ou motora envolvendo nervos cranianos.
8		Cefaléia lúpica	Cefaléia severa, persistente; pode ter características de migrânea, mas deve ser não responsiva à analgesia com narcóticos.
8		AVC	Acidente cerebrovascular recente. Excluir arterioesclerose.
8		Vasculite	Ulceração, gangrena, nódulos digitais

		dolorosos, infartos periungueais, hemorragias “ramificadas” ou prova angiográfica ou histopatológica de vasculite
4	Artrite	Mais de duas articulações com dor e sinais de inflamação (dor, edema ou derrame)
4	Miosite	Dor/fraqueza muscular proximal associada com aumento de creatinofosfoquinase/aldolase, ou alterações na eletromiografia ou biópsia demonstrando miosite
4	Cilindros Urinários	Cilindros heme-granulares ou de hemácias
4	Hematúria	> cinco hemácias por campo de grande aumento. Excluir litíase, infecção ou outras causas.
4	Proteinúria	> 0,5 g / 24 horas. Início recente ou aumento recente superior a este valor.
4	Piúria	> cinco piócitos por campo de grande aumento . Excluir infecção.
2	Novo “rash”	“Rash” inédito ou recorrente, do tipo inflamatório.
2	Alopecia	Perda de cabelo difusa ou localizada, podendo ser inédita ou recorrente.
2	Úlceras de mucosas	Úlceras nasais ou orais inéditas ou recorrentes.
2	Pleurisia	Dor torácica pleurítica com atrito, efusão ou espessamento pleural
2	Pericardite	Dor precordial com pelo menos um dos seguintes: atrito, efusão, ou confirmação por eletro ou ecocardiograma
2	↓ Complemento	Diminuição do CH50, C3, ou C4 abaixo do limite normal do teste utilizado
2	↑ ligação ao DNA	> 25% de ligação pelo ensaio de Farr ou acima do valor normal para o teste empregado
1	Febre	> 38° C. Excluir causas infecciosas.
1	Trombocitopenia	< 100.000 plaquetas/ml
1	Leucopenia	< 3000 leucócitos/ml. Excluir drogas.
Score total		

Adaptado de Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB et al, 1992.