

DANIELA MENCARONI RODRIGUES LOURENÇO

**Avaliação da esteroidogênese adrenal e ovariana em mulheres
adultas com lúpus eritematoso sistêmico juvenil**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Programa de Pediatria

Orientador: Prof. Dr. Clovis Artur Almeida da
Silva

São Paulo

2023

DANIELA MENCARONI RODRIGUES LOURENÇO

**Avaliação da esteroidogênese adrenal e ovariana em mulheres
adultas com lúpus eritematoso sistêmico juvenil**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Programa de Pediatria

Orientador: Prof. Dr. Clovis Artur Almeida da
Silva

São Paulo

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Lourenço, Daniela Mencaroni Rodrigues
Avaliação da esteroidogênese adrenal e ovariana
em mulheres adultas com lúpus eritematoso sistêmico
juvenil / Daniela Mencaroni Rodrigues Lourenço. --
São Paulo, 2022.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Pediatria.
Orientador: Clovis Artur Almeida da Silva.

Descritores: 1.Lúpus eritematoso sistêmico
2.Fertilidade 3.Hormônios 4.Reserva ovariana
5.Prednisona

USP/FM/DBD-454/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Emilio e Elaine, por todo apoio e incentivo.

Aos meus filhos Eduarda e Bernardo, por me ensinarem o que é um amor incondicional.

Ao meu esposo, Benito por toda compreensão e companheirismo nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que em sua infinita bondade, sempre aplainou meus caminhos e permite a cada amanhecer uma nova oportunidade para a evolução espiritual.

Ao meu pai, Emilio Ruas, minha referência de equilíbrio, bondade e resiliência. Obrigada por sempre estar presente e me “salvar” desde a infância de todos os perigos.

A minha amada mãe, Elaine Aparecida, meu exemplo de mulher. Sempre forte, determinada e destemida. Com seu apoio e ensinamentos todos os desafios ficam mais fáceis...

Agradeço ao meu esposo, Benito, pela família linda que construímos juntos, por toda paciência, apoio e compreensão. Obrigada por não medir esforços para me fazer feliz. Te amo infinitamente...

Eduarda, minha pequena, minha filha animada, extrovertida e de riso fácil que me lembrou a alegria de ser criança. Bernardo, amor da mamãe, meu filho doce e amoroso, cujos abraços e beijinhos transformam o meu dia. Vocês me motivam a ser uma pessoa e uma mãe cada dia melhor...

Ao meu querido irmão, Lucas, exemplo de perseverança, foco e fé.

Agradeço a toda minha família, por ser meu esteio e me ensinar a ser uma pessoa melhor, alegre e otimista. Em especial, minha querida Tia Lu e minha amada prima Fernanda, por toda amorosidade e amizade. Obrigada por fazerem esta travessia mais leve...

Um agradecimento especial ao meu querido chefe, mestre e mentor Prof. Dr. Clovis Artur Almeida da Silva. Obrigada por ser esta pessoa generosa, carinhosa, amiga, um médico e ser humano exemplar. Obrigada por toda acolhida e por todo incentivo. Sem dúvida, nosso convívio contribuiu para mudanças de caminhos em minha vida. Sinto-me muito orgulhosa em ser sua aluna...

Agradeço as queridas assistentes da Reumatologia Infantil do Instituto da Criança do Adolescente: Dra Lucia, Dra Adriana, Dra Katia e Dra Nadia. Obrigada por toda amizade, ensinamentos e conhecimentos compartilhados. Obrigada por me acolherem na “Família Reumato - ICr”

Agradeço meus queridos amigos contemporâneos, Roberta, Maria Fernanda, Vitor, Camila, Izabel e, em especial, a minha querida parceira Gabriela Viola. Que felicidade foi compartilhar a “salinha do sétimo andar” durante alguns anos com vocês e quanta alegria tínhamos em estar e trabalhar juntos!

Agradeço meus amigos do Instituto da Criança e do Adolescente; Dr Ulysses Dória Filho pelos ensinamentos e paciência em me ensinar e ajudar com as estatísticas deste e de outros trabalhos. Ao querido Nivaldo, sempre disposto e animado em me auxiliar com artigos, cópias e com a finalização desta tese. A Mariza Kazue por sua solicitude e carinho.

Dr. Daniel Araujo pela generosidade em compartilhar o banco de dados para a realização deste trabalho.

Finalmente, não poderia deixar de agradecer a todos meus pacientes e seus familiares, por toda troca e afeto. Vocês são especiais e nos ensinam mais do que possam imaginar...

"A consciência é meu guia.
A paz é meu abrigo.
A experiência é minha escola.
O obstáculo é minha lição."

Chico Xavier

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo. Divisão de Biblioteca e Documentação: 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS.....	9
3. MÉTODOS.....	11
3.1. Desenho do Estudo e População.....	12
4. RESULTADOS.....	19
5. DISCUSSÃO.....	26
6. CONCLUSÕES.....	30
8. REFERÊNCIAS	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACR= American College of Rheumatology
- ACTH= Hormônio adrenocorticotrófico
- ANOVA= Análise de variância
- anti-CoL= Anticorpo anti-corpo lúteo
- CFA= Contagem de folículos antrais
- CFE= Ciclofosfamida intravenosa
- CVs= Coeficientes de variação intra e inter-ensaio
- DHEA= Dehidroepiandrosterona
- DP= Desvio padrão
- ELISA= Ensaio de imunoabsorção enzimática
- FSH= Hormônio folículo estimulante
- GnRH= Hormônio liberador de gonadotrofina
- HAM= Hormônio anti-Mülleriano
- HC-FMUSP= Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo
- IMC= índice de massa corporal
- LES= Lúpus eritematoso sistêmico
- LESj= Lúpus eritematoso sistêmico juvenil
- LH= Hormônio luteinizante
- LIM/42= Laboratório de Hormônios e Genética Molecular
- MTX= Metotrexato
- NA= Não aplicável

PD= Prednisona

SDHEA= Deidroepiandrosterona, androstenediona e sulfato de deidroepiandrosterona

SLE= Disease Activity Index

SLEDAI-2K= SLE Disease Activity Index 2000

SLICC/ACR-DI= SLE International Collaborating Clinics/ACR Damage Index

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Dados demográficos, ciclo menstrual e esteroidogênese adrenal (hormônios mineralocorticoide, glicocorticoide e androgênico) em mulheres adultas com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj) adultos e controles saudáveis.....	20
Tabela 2-	Dados demográficos, ciclo menstrual e esteroidogênese adrenal (hormônios mineralocorticoide, glicocorticoide e androgênico) em mulheres adultas com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj) com ou sem terapia atual com prednisona (PD) e controles saudáveis.....	23
Tabela 3-	Parâmetros de reserva ovariana e níveis de prolactina em mulheres adultas adultos com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj) com e sem uso atual de prednisona (PD) e controles saudáveis.....	25

Resumo

Lourenço DMR. Avaliação da esteroidogênese adrenal e ovariana em mulheres adultas com lúpus eritematoso sistêmico juvenil [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

Objetivo: Avaliar a esteroidogênese adrenal mineralocorticoide, glicocorticoide e androgênica em pacientes adultos que apresentaram lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil (LESj) e o possível efeito da prednisona sobre os hormônios adrenais e a reserva ovariana. **Métodos:** Cinquenta e um adultos que apresentaram LESj (critérios do Colégio Americano de Reumatologia) e 23 controles saudáveis foram avaliados para esteroidogênese adrenal, incluindo os mineralocorticoides (progesterona, desoxicorticosterona, aldosterona), glicocorticóide (17-OHprogesterona, 11-desoxicortisol, cortisol) e androgênio (androstenediona, sulfato de deidroepiandrosterona, testosterona total e diidrotestosterona). A avaliação da reserva ovariana incluiu hormônio folículo estimulante (FSH), estradiol, hormônio anti-Mülleriano, volumes ovarianos e contagem de folículos antrais. **Resultados:** A mediana da idade atual [29,11 (19-39,8) vs. 30,8 (19,6-42,1) anos, $p=0,502$] foi semelhante em adultos LESJ e controles. Em relação aos hormônios mineralocorticoide e glicocorticoide, as medianas da progesterona ($p=0,003$), 17-OH progesterona ($p<0,001$) e 11-desoxicortisol ($p=0,036$) foram significativamente menores nos pacientes em comparação aos controles. Todos os hormônios da esteroidogênese androgênica foram reduzidos no primeiro grupo [sulfato de deidroepiandrosterona ($p<0,001$), androstenediona ($p=0,001$), testosterona total ($p=0,005$) e diidrotestosterona ($p<0,001$)]. Comparações adicionais de pacientes com e sem uso atual de prednisona e controles revelaram um impacto predominante sobre os glicocorticóides adrenais e esteroidogênese androgênica, pacientes sob este medicamento apresentaram níveis reduzidos de 17-OH progesterona [0,17 (0-0,5) vs. 0,27 (0,1-2,9) vs. 0,33 (0,1-0,8) ng/mL, $p<0,001$], sulfato de deidroepiandrosterona [0,155 (0-0,6)

vs. 0,49 (0,1-1,6) vs. 1,11 (0,1-2,6) mg /mL, $p < 0,001$], androstenediona [0,56 (0,2-4,4) vs. 1,7 (0,5-4,5) vs. 2,33 (0,3-3,8) ng/mL, $p < 0,001$], testosterona total [12 (12-167) vs. 16 (12-28) vs. (16,5 (0-50) ng/dL, $p = 0,002$] e dihidrotestosterona [92,68 (11,8-198,5) vs. 160,62 (37,9-842,1) vs. 188,3 (71,3-543,9) pg/ml, $p < 0,001$. Além disso, os pacientes em uso de prednisona também tiveram volumes ovarianos medianos reduzidos [4,14 (2-12) vs. 7,13 (2-25,7) vs. 5,18 (2,4-17,3) cm^3 , $p = 0,028$) o que não foi associado com dose cumulativa de ciclofosfamida ($p > 0,05$). A dose mediana de prednisona foi 15/mg/dia (2,5-40). **Conclusão:** Fornecemos novas evidências de que os pacientes com LESJ apresentam um comprometimento da esteroidogênese adrenal em relação ao grupo controle. Além disso, o uso de prednisona baixo/moderado parece estar subjacente a essas anormalidades e pode afetar adversamente a produção dos hormônios da suprarrenal e a reserva ovariana, independentemente do uso de outros imunossuppressores

Descritores: Lúpus eritematoso sistêmico; Fertilidade; Hormônios; Reserva ovariana; Prednisona.

Abstract

Lourenço DMR. *Adrenal steroidogenesis and ovarian reserve in adult childhood-onset systemic lupus erythematosus patients* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

Objective: To assess overall adrenal mineralocorticoid, glucocorticoid and androgen steroidogenesis in juvenile systemic lupus erythematosus (jSLE) patients and the possible effect of prednisone on adrenal hormones and ovarian reserve. **Methods:** Fifty-one adult jSLE (American College of Rheumatology criteria) patients and 23 healthy controls were evaluated for adrenal steroidogenesis including mineralocorticoid (progesterone, deoxycorticosterone, aldosterone), glucocorticoid (17-OHprogesterone, 11-desoxycortisol, cortisol), and androgen (dehydroepiandrosterone-sulfate, androstenedione, total testosterone, and dihydrotestosterone) hormones. Ovarian reserve assessment included follicle-stimulating hormone (FSH), estradiol, anti-Müllerian hormone, ovarian volumes, and antral follicle count.

Results: The median of current age [29.11 (19-39.8) vs. 30.8 (19.6-42.1) years, $p=0.502$] was similar in adult jSLE and controls. Regarding mineralocorticoid and glucocorticoid, the median of progesterone ($p=0.003$), 17-OH progesterone ($p<0.001$), and 11-desoxycortisol ($p=0.036$) were significantly lower in patients compared to controls. All androgen steroidogenesis hormones were reduced in the former group [dehydroepiandrosterone-sulfate ($p<0.001$), androstenedione ($p=0.001$), total testosterone ($p=0.005$), and dihydrotestosterone ($p<0.001$)]. Further comparison of patients with and without current use of prednisone and controls revealed a predominant impact on adrenal glucocorticoid and androgen steroidogenesis with reduced levels of 17-OH progesterone [0.17 (0-0.5) vs. 0.27 (0.1-2.9) vs. 0.33 (0.1-0.8) ng/mL, $p<0.001$], dehydroepiandrosterone-sulfate [0.155 (0-0.6) vs. 0.49 (0.1-1.6) vs. 1.11 (0.1-2.6) µg/mL, $p<0.001$], androstenedione [0.56 (0.2-4.4) vs. 1.7 (0.5-4.5) vs. 2.33 (0.3-3.8) ng/mL, $p<0.001$], total testosterone [12 (12-167) vs. 16 (12-28) vs. (16.5 (0-50) ng/d, $p=0.002$], and dihydrotestosterone [92.68 (11.8-

198.5) vs. 160.62 (37.9-842.1) vs. 188.3 (71.3-543.9) pg/ml, $p < 0.001$] in patients under this drug. In addition, patients with this therapy had reduced median ovarian volumes [4.14 (2-12) vs. 7.13 (2-25.7) vs. 5.18 (2.4-17.3) cm^3 , $p = 0.028$) that was not associated with cyclophosphamide cumulative dose ($p > 0.05$). The median prednisone dose was 15/mg/day (2.5-40).

Conclusions: We provided novel evidence that jSLE patients have an overall androgen/glucocorticoid/mineralocorticoid adrenal suppression. Furthermore, low/moderate prednisone use seems to underlie these abnormalities and may also adversely affect ovarian reserve, independently of immunosuppressants.

Descriptors: Systemic lupus erythematosus, fertility, hormones, ovarian reserve, prednisone.

1. INTRODUÇÃO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória autoimune crônica que acomete principalmente as mulheres durante a sua idade reprodutiva¹⁻⁵. Esta doença apresenta extenso espectro clínico e laboratorial, envolvendo simultaneamente vários órgãos e sistemas, incluindo repercussões em mecanismos hormonais⁶⁻¹³, particularmente na endocrinologia da glândula adrenal, em que, por exemplo, baixos níveis de andrógenos e/ou cortisol já foram relatados nos pacientes adultos com LES¹¹⁻²⁰.

A diferença sexual na incidência de LES é amplamente reconhecida, com nítida predileção pelo sexo feminino. De fato, a proporção de sexos feminino:masculino varia de 4:3 nos pacientes com início da doença durante a primeira década de vida, enquanto é de 9:1 naqueles com início durante a segunda década de vida. Os hormônios sexuais ou adrenais parecem exercer relações causais ou imunomodulatórias com indução do LESj e/ou reativação da doença no sexo feminino²¹.

O diagnóstico cada vez mais precoce, decorrente de um melhor reconhecimento clínico da doença, estabelecimento de critérios classificatórios e a introdução de testes laboratoriais mais específicos, além do surgimento de modalidades terapêuticas mais efetivas para o controle da doença, têm contribuído para uma melhora do prognóstico com uma maior sobrevida dos pacientes com LES. Essa maior sobrevida implica em um aumento do interesse no estudo de complicações de longo prazo decorrentes da própria doença ou daquelas decorrentes das terapêuticas utilizadas, contribuindo para uma melhor qualidade de vida desses pacientes⁴. Uma das complicações de longo prazo no LES é a diminuição da reserva ovariana que pode comprometer a

saúde reprodutiva destas mulheres¹⁰. Nesse sentido, avaliação completa da função gonadal feminina em doenças reumáticas juvenis, incluindo marcadores de reserva ovariana como os níveis do hormônio anti-Mülleriano (HAM) e ultrassom ovariano, e anticorpo anti-corpo lúteo (anti-CoL) é relevante^{1,10}.

O ciclo menstrual representa modificações cíclicas, sendo dividido em duas fases: folicular e lútea, ocorrendo sob regulação do eixo hipotálamo-hipófise-gônada, cursando com modificações uterinas secundariamente^{22,23}. O primeiro dia do ciclo, começo da fase folicular, inicia-se no primeiro dia da menstruação e cursa com níveis aumentados de hormônio folículo estimulante (FSH), que é a gonadotrofina responsável pelo recrutamento dos folículos secundários. Durante um único ciclo menstrual, aproximadamente mil folículos são recrutados, entretanto, somente um folículo amadurece, sendo caracterizado como folículo dominante⁴.

O aumento do estradiol produzido nos folículos em crescimento desencadeia as alterações proliferativas no endométrio e estimula aumento das gonadotrofinas, principalmente do hormônio luteinizante (LH). Aproximadamente no 14^o dia do ciclo, ocorre o pico de LH, que culmina na ovulação e início da fase lútea, com formação do corpo lúteo. O corpo lúteo produzirá progesterona, responsável pelas alterações secretórias do endométrio. Na ausência de fecundação, o corpo lúteo atresia, ocorrendo descamação do endométrio por declínio do aporte hormonal, com nova menstruação e reinício do ciclo menstrual^{22,23}.

O HAM é secretado pelas células da granulosa dos folículos ovarianos em crescimento e pode ser usado como marcador indireto de reserva ovariana^{1,9,10}. Este marcador estima quantidade e atividade das unidades

recrutáveis de uma população inicial de folículos em estágios iniciais de maturação. Além disto, tem a vantagem de seus valores séricos manterem-se geralmente estáveis durante todo o ciclo menstrual¹. A contagem de folículos antrais (CFA) pelo ultrassom ovariano também é um marcador confiável para a estimativa indireta da reserva ovariana, com clara correlação positiva com a concentração sérica do HAM^{22,23}.

A esteroidogênese envolve processos em que o colesterol é convertido em hormônios esteroides biologicamente ativos. Os hormônios esteroides regulam vários processos fisiológicos e de desenvolvimento desde a idade fetal até a adulta²⁴. O córtex adrenal é crítico para a função fisiológica, sendo o local central para sínteses de glicocorticoides e de mineralocorticoides²⁵. As adrenais são duas glândulas situadas sobre o polo superior de cada rim, cujo tamanho varia com idade, pesando cerca de 10 gramas nos adultos.

A adrenal é um órgão encapsulado e dividido em duas camadas: córtex e medula²⁶. O córtex adrenal pode ainda ser subdividido em três camadas cujos limites não são precisamente demarcados: zona glomerulosa, zona fasciculada e zona reticulada²⁶. Além disto, uma outra camada importante das adrenais é a medula adrenal, que é composta de células responsáveis pela produção das catecolaminas: epinefrina ou norepinefrina. As duas camadas (córtex e medula) podem ser consideradas dois órgãos distintos, com origens embriológicas e funções diferentes²⁶. O presente estudo avaliará apenas o córtex adrenal.

A esteroidogênese adrenal consiste em três vias principais: a mineralocorticoide, que ocorre na zona glomerulosa, a mais externa do córtex adrenal, com produção final de aldosterona; a via dos glicocorticoides que

ocorre predominantemente na zona fasciculada e produz o cortisol e a via androgênica, ocorrendo na zona reticular, mais interna do córtex adrenal com produção final de deidroepiandrosterona, androstenediona e sulfato de deidroepiandrosterona (SDHEA)^{11,14}.

Na zona reticular do córtex adrenal são produzidos principalmente deidroepiandrosterona (DHEA) e sua forma sulfatada DHEAS classificados como esteroides androgênicos e além de precursores dos hormônios sexuais também apresentam efeito imunorregulador, devido a capacidade de modular a secreção de citocinas pelas células do sistema imune. Uma série de estudos de caso-controle clínico e ensaios clínicos prospectivos randomizados observaram um efeito positivo da suplementação de DHEA em mulheres com reserva ovariana diminuída^{27,28,29}. No entanto, o mecanismo subjacente pelo qual o DHEA melhora a reserva ovariana permanece obscuro. DHEA funciona como um regulador imunológico em muitos tecidos diferentes e pode desempenhar um papel importante na regulação da resposta imunológica nos ovários, influenciando o crescimento folicular ovariano e agindo como um ligante para os receptores de andrógenos²⁹.

Prall et al, mostraram em uma pequena população de pacientes que DHEA e DHEA-S impactaram diferentemente alguns ramos do sistema imunológico. Neste estudo, o DHEA foi negativamente correlacionado com a proliferação de células T e positivamente correlacionado com a morte de bactérias salivares em participantes do sexo masculino coletadas em três dias consecutivos. Esta pesquisa ressaltou que o DHEA pode inibir certas facetas da imunidade inata e mediada por células, sugerindo um papel mais complexo na regulação da imunocompetência³⁰.

Até o presente momento, não existem estudos que avaliaram de forma combinada a repercussão do LES nessas três principais vias da esteroidogênese adrenal, o que não permite ainda, uma conclusão definitiva sobre a interferência do LES em uma possível supressão adrenal. Além disso, os escassos trabalhos existentes utilizam metodologias diferentes de avaliação hormonal, como dosagens em urina e saliva, sem informações sobre nível sérico desses hormônios^{18,31}.

Estudo progresso evidenciou influência do LES na esteroidogênese adrenal androgênica, com baixos níveis de SDHEA e testosterona, sem terapia com glicocorticoides, em comparação com controles saudáveis¹⁹. O comprometimento dos níveis androgênicos em mulheres com LES também já foi relacionado à atividade da doença^{13,14}.

Níveis mais baixos de cortisol foram identificados em pacientes com lúpus em atividade, também em um contexto de número limitado de sujeitos de pesquisa³¹. O efeito da corticoterapia nas vias androgênica e glicocorticoide da adrenal do portador de LES ainda não foi totalmente determinado, uma vez que o único relato avaliando essa ação foi limitado a pacientes com uso prévio do corticosteroide, dificultando a interpretação desses achados¹¹. Além disso, não há dados sobre o possível impacto do uso de glicocorticoides nos marcadores de reserva ovariana, como CFA, AMH, FSH e/ou volume ovariano. Todos estes parâmetros são marcadores de fertilidade em pacientes com LES, sendo que CFA e AMH têm melhor acurácia na predição de gravidez futura e sucesso em futura fertilização *in vitro*³². Esses parâmetros são reduzidos em pacientes adultas com LES do sexo feminino e nas que apresentam lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj), caracterizados pelo seu início na infância^{8,9,33}, e o fator

de risco mais importante identificado foi o uso de ciclofosfamida intravenosa (CFE). No entanto, estes estudos não analisaram a possível influência da terapia com glicocorticoides^{8,9}.

A via mineralocorticoide da adrenal, com produção de aldosterona e desoxicorticosterona está implicada na regulação da homeostase dos eletrólitos no líquido extracelular. Os estudos sobre a avaliação da via dos mineralocorticoides em LES são escassos e mostram que salvo pacientes com insuficiência adrenal primária, os níveis de aldosterona estão normais em pacientes com LES³⁴. Um outro estudo avaliou o impacto, na função adrenal, do uso crônico de prednisona em 5 mulheres com LES, através da dosagem urinária desses hormônios e demonstrou uma supressão modesta da aldosterona urinária e baixos níveis de DHEA, sugerindo que o estímulo da aldosterona também esteja relacionado ao hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), neste estudo suprimido pelo uso de corticosteroide³¹.

Não existem, portanto, estudos que avaliaram as três vias da esteroidogênese adrenal de forma concomitante além de parâmetros de reserva ovariana em mulheres adultas com LESj. Da mesma forma inexistem estudos que verificaram o possível efeito do uso atual de prednisona concomitantemente na supressão dos hormônios adrenais e redução dos parâmetros da reserva ovariana.

As hipóteses do presente estudo são que pacientes com LESj apresentam alterações da esteroidogênese adrenal independente do uso ou não de medicações e atividade da doença. Não há estudo que avalie concomitantemente os hormônios adrenais (mineralocorticoide, glicocorticoide e andrógenos) e parâmetros de reserva ovariana em mulheres adultas com

LES de início juvenil (LESj) versus controles saudáveis. Assim como, não há pesquisas que considerem a relação da terapêutica com corticosteroides e hormônios adrenais e parâmetros de reserva ovariana.

2. OBJETIVOS

1. Avaliar os hormônios da esteroidogênese adrenal em mulheres adultas com LESj comparando com grupo controle saudável;
2. Avaliar possíveis associações relacionadas a dados demográficos, ciclo menstrual, alterações da esteroidogênese adrenal, reserva ovariana e tratamento no grupo de mulheres adultas com LESj em uso atual da prednisona comparando-se com pacientes sem corticoterapia e controles saudáveis.

3. MÉTODOS

3.1. Desenho do Estudo e População

Foi realizado um estudo transversal que incluiu 113 mulheres adultas em idade reprodutiva (entre 18 e 45 anos) que preenchiam os critérios de classificação do “*American College of Rheumatology*” (ACR) para o LESj e que foram atendidas na Divisão de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP). Todos as pacientes tinham idade ao diagnóstico menor ou igual a 18 anos^{35,36}.

Esse grupo de pacientes pertenciam há um banco de dados de estudo que foi realizado entre novembro de 2009 e junho de 2012, e seguiram os seguintes critérios de exclusão foram: gravidez atual, hiperplasia adrenal congênita, disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-ovariano e adrenal, tumores adrenais ou ovarianos, lesão renal crônica, diabetes mellitus, contraindicação ou recusa em interromper o anticoncepcional hormonal por pelo menos 12 meses ou até a retomada da menstruação por pelo menos pelo menos três ciclos menstruais consecutivos, cirurgia ginecológica prévia, tratamento com agonista do hormônio de liberação de gonadotrofina ou aquelas que se recusaram a participar do estudo. Assim sessenta e duas pacientes foram excluídas: gravidez atual (n=5), hipofisite linfocítica (n=1), lesão renal crônica (n=1), contraindicação ou recusa em interromper o anticoncepcional hormonal (n=38), histerectomia anterior (n=3) ou não consentiram em participar do estudo (n=14).

No total, 51 pacientes adultas com LESj foram incluídas neste estudo. O grupo controle foi composto por 23 mulheres saudáveis, utilizando os mesmos critérios de exclusão. O Comitê de Ética local aprovou o estudo e o

consentimento informado foi obtido de todas as pacientes com LESj e controles saudáveis.

Avaliação Clínica, Laboratorial e Tratamento das Pacientes com LESj

Foi realizada uma revisão cuidadosa dos prontuários incluindo dados prévios clínicos, laboratoriais e terapêuticos. Manifestações do LES foram definidas como: lesões mucocutâneas (exantema malar ou discoide, úlceras orais e/ou fotossensibilidade), envolvimento articular (artrite não erosiva), doença neuropsiquiátrica (convulsão ou psicose), comprometimento renal (proteinúria $\geq 0,5\text{g}/24\text{h}$, presença de cilindros, hematúria persistente ≥ 10 hemácias por campo e/ou insuficiência renal), serosite (pleurite ou pericardite) e anormalidades hematológicas (anemia hemolítica, leucopenia com leucócitos $< 4.000/\text{mm}^3$, linfopenia com linfócitos $< 1.500/\text{mm}^3$ em duas ou mais ocasiões, e trombocitopenia com plaquetas $< 100.000/\text{mm}^3$, desde que excluídas causas infecciosas e/ou medicamentosas). Anti-DNA de dupla hélice foi detectado através de imunofluorescência indireta usando *Crithidia luciliae* como substrato. Ensaio de hemaglutinação com extrato de timo de coelho foi usado para avaliar a presença de anticorpos contra RNP e Sm. Detecção de anticorpos contra antígenos salino-solúveis, Ro/SS-A e La/SS-B, foi realizada através de contraímunoeletroforese contra extrato salino de baço de cachorro.

Esteroidogênese Adrenal: Hormônios Mineralocorticoides, Glicocorticoides e Androgênicos

O perfil hormonal foi avaliado pelos níveis séricos de hormônios na fase folicular inicial do ciclo menstrual (entre o segundo e o quarto dia da

menstruação) data que não pôde ser considerada nas pacientes com amenorreia. Os hormônios foram coletados em jejum, pela manhã, entre 8 e 9 horas.

Hormônios Adrenais da Via Mineralocorticoide

A desoxicorticosterona (valor de referência normal: <0,47 pg/ml) e a aldosterona (valor de referência considerado normal: 25-315 pg/ml) foram aferidas por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) usando um Kit comercial DIAsource Immuno Assaya SA. Os coeficientes de variação intra e inter-ensaio (CVs) foram limitados a 8,5% e 8,7%, respectivamente.

Hormônios Adrenais da Via Glicocorticoide

O precursor progesterona (valor de referência normal: <1,5 ng/mL) foi medida por radioimunoensaio usando um kit comercial (Roche Diagnostics, série de analisador Cobas 6000, Mannheim, Alemanha). O precursor 17-OH progesterona (nível de referência nas fases foliculares: 0,1-0,8 ng/mL) e o cortisol (nível de referência normal: 3,95-27,23 mg/dl) foram medidos por ELISA. O 11-desoxicortisol (valores considerados normais sem estimulação: <7,2 ng/ml) foi avaliado por radioimunoensaio usando um kit comercial da DIAsource Immuno Assaya S.A. Os CVs intra e interensaio foram limitados a 9,4% e 8,7%, respectivamente.

Hormônios Adrenais da Via Androgênica

O precursor 17-OH progesterona (nível de referência nas fases foliculares: 0,1-0,8 ng/mL) foi medido por ELISA. Os níveis de Sulfato de dehidroepiandrosterona (valor de referência normal: 0,40-2,17 µg/dl), androstenediona (valor de referência normal: 0,75-3,89), testosterona total

(valor de referência normal: <8,4ng/dL) e dihidrotestosterona (valor de referência normal: 24-368 pg/ml) foram realizados por ELISA usando um kit comercial da DIAsource Immuno Assaya SA. Os CVs intra e inter-ensaio foram limitados a 7,6% e 15,1%, respectivamente.

Gonadotrofinas e Parâmetros Relacionados à Reserva Ovariana

Os hormônios foram coletados na fase folicular precoce (entre o 2º e o 4º dia da menstruação), e testados em duplicata no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular (LIM/42).

Hormônio folículo-estimulante (FSH) (valor de referência normal na fase folicular inicial do ciclo menstrual: 3,5-12,5 IU/L), LH (valor de referência normal na fase folicular inicial do ciclo menstrual: 2,4-12,6 U/L) e estradiol (valor de referência normal na fase folicular inicial do ciclo menstrual: ≤166 pg/mL) foram avaliados por radioimunoensaio usando um kit comercial (Cobas®, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Os CVs intra e inter-ensaio foram recomendados pelo fabricante (limitados a 5,7% e 3,6%, respectivamente).

O HAM (normal >1ng/mL) foi medido por dois métodos em amostras duplicadas. Os CVs intra e inter-ensaio foram limitados a 5,4% e 5,6%, respectivamente, por AMH Gen II ELISA, Beckman Coulter Inc., Brea, CA, EUA. O AMH também foi avaliado por imunoensaio quimioluminescente enzimático ligado à enzima AMH/Mulleriana ultrasensível (US AMH/MIS AnshLabs ELISA) com CVs intra e inter-ensaio limitados a 3,1% e 2,7%, respectivamente.

Ultrassonografia por Via Transvaginal

A ultrassonografia foi realizada em todos os indivíduos sexualmente ativos pelo mesmo ultrassonografista usando um transdutor endovaginal de 6,5 MHz (HD3, Philips Ultrasound, Bothell, WA, EUA). Este profissional desconhecia os outros resultados dos parâmetros da reserva ovariana e dos hormônios da esteroidogênese. Esse exame foi realizado na fase folicular inicial do ciclo menstrual ou de forma aleatória para as pacientes em amenorreia. O volume ovariano foi medido em três planos perpendiculares e calculado através da fórmula da elipsoide ($\text{Volume} = D1 \times D2 \times D3 \times \pi/6$), sendo D1, D2 e D3 os três diâmetros máximos nos planos longitudinal, ântero-posterior e transversal. Folículos de 2 a 10 mm foram considerados para avaliar a CFA. Reservas ovarianas baixas e muito baixas foram definidas como presença de ≤ 10 e ≤ 5 folículos, respectivamente¹⁰.

Avaliação dos Ciclos Menstruais

As pacientes foram orientadas a anotar os ciclos menstruais (últimos três ciclos consecutivos). Ciclo menstrual normal foi definido como aquele tendo um intervalo entre 25 e 35 dias, com duração de 3 a 7 dias. Definiu-se como irregulares as alterações deste intervalo ou duração. Amenorreia foi definida como interrupção da menstruação por um período correspondente a um total de quatro ciclos anteriores e amenorreia sustentada como aquela persistente por mais de 12 meses⁶.

Parâmetros Clínicos para LES e Tratamento

A atividade da doença foi definida de acordo com o “SLE Disease Activity Index 2000 (SLEDAI-2K)”²⁸. O dano cumulativo foi avaliado usando o

“SLE *International Collaborating Clinics/ACR Damage Index (SLICC/ACR-DI)*”³⁷. O índice de massa corporal (IMC) foi definido pelo peso em quilogramas/altura em metros² (kg/m²). Os dados relativos à dose cumulativa e atual de prednisona, metotrexato (MTX), azatioprina, CFE, ciclosporina e micofenolato de mofetil foram também determinados.

Análise Estatística

O tamanho da amostra forneceu poder de 80% para encontrar diferenças de pelo menos 21% dos hormônios em mulheres adultas com LESj e controles (Graphpad StatMate 1.01). Foi utilizado o “Statistical Package for the Social Sciences” versão 13.0. Os resultados para as variáveis contínuas foram apresentados por mediana (valor mínimo e máximo) ou média \pm desvio padrão (DP), e para variáveis categóricas foram apresentados como número (porcentagem). Os escores que apresentaram distribuição normal e anormal foram comparados pelo teste t de *Student* e teste de *Mann-Whitney*, respectivamente. Para variáveis categóricas em mulheres adultas com LESj e controles saudáveis, as diferenças foram avaliadas pelo teste do qui-quadrado de *Pearson* ou teste exato de *Fisher* usando a tabela contingente 2x2. Para variáveis categóricas em mulheres adultas com LESj com e sem prednisona atual e controles saudáveis, as diferenças foram avaliadas pelo teste do qui-quadrado de *Pearson* usando a tabela contingente 3x2. A análise de variância (ANOVA) unilateral de *Kruskal-Wallis* foi usada para comparar mulheres adultas com LESj com e sem uso atual de prednisona e controles saudáveis, seguida por uma análise post-hoc pelo teste de comparação múltipla de *Dunn* para avaliar onde ocorreu a diferença entre esses três grupos. O coeficiente de

correlação de *Spearman* foi usado para correlações entre os níveis de hormônios e atividade do LESj, dano cumulativo da doença, assim como doses cumulativa e atual de prednisona. O nível de significância foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

A Tabela 1 inclui dados demográficos, do ciclo menstrual e hormônios da esteroidogênese adrenal (mineralocorticoides, glicocorticoides e androgênicos) em mulheres adultas com LESj e controles saudáveis.

Tabela 1 - Dados demográficos, ciclo menstrual e esteroidogênese adrenal (hormônios mineralocorticoide, glicocorticoide e androgênico) em mulheres adultas com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj) adultos e controles saudáveis

Variáveis	LESj (n=51)	Controles saudáveis (n=23)	P
Dados demográficos			
Idade atual, anos	29,11 (19-39,8)	30,8 (19,6-42,1)	0,502
Idade menarca, anos	13,0 (10-17)	13,0 (11-21)	0,409
IMC, Kg/m ²	23,9 (17,2-37,9)	25 (19,3-35,8)	0,944
Ciclo menstrual			
Amenorreia	2 (4)	0 (0)	1,000
Duração do fluxo, dias	5 (0-15)	5 (2-10)	0,947
Duração do ciclo, dias	30 (25-75)	30 (15-40)	0,652
Mineralocorticoides adrenais			
Progesterona, ng/mL	0,3 (0-1)	0,4 (0-2)	0,003
> 1,5 ng/mL	0 (0)	1 /22 (4)	0,301
Desoxicorticosterona, pg/mL	107,9 (0-2005,9)	86,72 (0-3552,3)	0,612
Aldosterona, pg/mL	37,5 (3,2-630)	48,4 (2,5-206,2)	0,483
< 25 pg/mL	17 (33)	8 (35)	0,903
Glicocorticoides adrenais			
17-OH progesterona, ng/mL	0,18 (0-2,9)	0,33 (0,1-0,8)	<0,001
< 0,1 ng/mL	1 (2)	0 (0)	1,000
11-Desoxicortisol, ng/mL	1,02 (0,3-4,2)	1,32 (0,3-2,7)	0,036
> 7,2 ng/mL	0 (0)	0 (0)	1,000
Cortisol, µg/dL	11,2 (1,4-44,8)	11,13 (0,8-23,1)	0,958
< 3,95 µg/dL	7 (14)	1 (4)	0,422
Esteroidogênese androgênica			
Sulfato de dehidroepiandrosterona, µg/mL	0,24 (0-1,6)	1,11 (0,1-2,6)	<0,001
< 0,4 µg/mL	30 (59)	2 (9)	0,0001
Androstenediona, ng/mL	1,02 (0,2-4,5)	2,33 (0,3-3,8)	0,001
< 0,75 ng/mL	20 (39)	2 (9)	0,008
Testosterona total, ng/dL	12,0 (12-167)	16,5 (0-50)	0,005
< 8,4 ng/dL	0 (0)	1/18 (6)	0,261
Dihidrotestosterona, pg/mL	118,19 (11,8-842,1)	188,3 (71,3-543,9)	<0,001
< 24 pg/mL	3/50 (6)	0 (0)	0,547

Valores expressos em n (%), mediana (variação) ou média ± desvio padrão, IMC - índice de massa corpórea.

A mediana da idade atual [29,11 (19,1-39,8) vs. 30,8 (19,6-42,1) anos, $p=0,502$] foi semelhante em mulheres adultas com LESj e controles. Para o precursor comum das três vias de esteroidogênese adrenal, a mediana de progesterona foi significativamente menor em mulheres adultas com LESj em comparação com os controles [0,30 (0-1) vs. 0,40 (0-2) ng/mL $p=0,003$].

Na via específica mineralocorticoide, os níveis de desoxicorticosterona e aldosterona foram semelhantes em ambos os grupos ($p>0,05$).

Na hormoniogênese dos glicocorticoides adrenais, as medianas do precursor 17-OH progesterona [0,180 (0-2,9) vs. 0,33 (0,1-0,8) ng/mL, $p<0,001$] foram significativamente diminuídas em pacientes adultos com LESj em comparação com os controles. A dosagem de 11-desoxicortisol [1,02 (0,3-4,2) vs. 1,32 (0,3-2,7) ng/mL, $p=0,036$] também foi significativamente diminuída em pacientes adultas com LESj em comparação com os controles. Não foram evidenciadas diferenças nos níveis de cortisol em ambos os grupos ($p>0,05$).

Os hormônios da esteroidogênese androgênica foram significativamente suprimidos em mulheres adultas com LESj em relação ao grupo controle: SDHEA [0,24 (0-1,6) vs. 1,11 (0,1-2,6) mg/mL, $p<0,001$], androstenediona [1,02 (0,2-4,5) vs. 2,33 (0,3-3,8) ng/mL, $p=0,001$], testosterona total [12,0 (12-167) vs. 16,5 (0-50) ng/dL, $p=0,005$] e dihidrotestosterona [118,19 (11,8-842,1) vs. 188,3 (71,3-543,9) pg/ml, $p<0,001$]. As frequências de SDHEA baixa (59% vs. 9%, $p=0,0001$) e androstenediona baixa (39% vs. 9%, $p=0,008$) foram significativamente maiores nos pacientes com LESj.

A mediana do escore SLEDAI-2K foi 0 (0-13) e o escore SLICC/ACR-DI foi 1 (0-4) em mulheres adultas com LESj. Não foram encontradas correlações

entre atividade ou dano decorrente da doença e comprometimento da produção hormonal e reserva ovariana.

Na avaliação da reserva ovariana de mulheres com LESj em comparação ao grupo controle, houve diferença significativa nos níveis de AMH Gen II ELISA [0,70 (0-6) vs. 2,70 (0-7), $p=0,003$], AMH/MIS AnshLabs ELISA [0,80 (0-9) vs. 2,30 (0-7), $p=0,047$], valor do CFA [6 (0-27) vs. 16 (5-36), $p<0,001$]. Os níveis de FSH, LH e estradiol foram similares em ambos os grupos ($p>0,05$), assim como não foram observadas diferenças nos tamanhos ovarianos nos dois grupos [4,72 (2,2-25,7) vs. 5,2 (2,4-17,3), $p=0,744$].

No início do estudo, 34/51 (67%) das pacientes com LES estavam em uso de prednisona com uma mediana da dose de 15 mg/dia (2,5-40), e as frequências de utilização de agentes imunossupressores foram: micofenolato mofetil $n=14/51$ (27%), azatioprina $n=14/51$ (27%). Nenhuma paciente estava em uso atual de CFE ou ciclosporina. Nenhuma correlação foi observada entre os hormônios (progesterona, desoxicorticosterona, aldosterona, 17-OH progesterona, cortisol, 11-desoxicortisol, DHEAS, androstenediona, diidrotestosterona, FSH, estradiol, HAM), escore SLEDAI-2K, escore SLICC/ACR-DI e doses cumulativa ou atual de prednisona ($p>0,05$).

Outras comparações foram realizadas em três grupos distintos: mulheres adultas com LESj em uso atual de prednisona *versus* mulheres adultas com LESj que não utilizaram prednisona e *versus* os controles saudáveis, cujos principais resultados encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Dados demográficos, ciclo menstrual e esteroidogênese adrenal (hormônios mineralocorticoide, glicocorticoide e androgênico) em mulheres adultas com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj) com ou sem terapia atual com prednisona (PD) e controles saudáveis

Variáveis	Com PD (n=34)	Sem PD (n=17)	Controles saudáveis (n=23)	P
Dados demográficos				
Idade ao diagnóstico, anos	16,3 (9,56-17,9)	16,4 (9,37-17,9)	-	0,459
Duração da doença, anos	13,3 (2,1-25,4)	14,0 (6,7-25,4)	-	0,342
Idade da menarca, anos	13,0 (10-17)	13,0 (10-15)	13,0 (11-21)	0,164
Idade atual, anos	28,5 (19-39,8)	29,1 (21,5-37,8)	30,8 (19,6-42,1)	0,786
IMC, Kg/m ²	23,8 (17,2-37,9)	23,9 (20,3-37,7)	25,0 (19,3-35,8)	0,946
Ciclo menstrual				
Amenorreia	1 (3)	1 (6)	0 (0)	0,710
Duração do fluxo, dias	5 (0-15)	5 (0-12)	5 (2-10)	0,902
Duração do ciclo, dias	30 (25-45)	30 (25-75)	30 (15-40)	0,902
Mineralocorticoides				
Progesterona, ng/mL	0,3 (0-1) ²	0,3 (0-1)	0,4 (0-2)	0,011
>1,5 ng/mL	0 (0)	0 (0)	1/22 (4)	0,534
Desoxicorticosterona, pg/mL	107,95 (0-2005,9)	98,14 (4,7-592,7)	86,72 (0-3552,3)	0,772
Aldosterona, pg/mL, n=50	34,44 (3,4-108)	40 (3,2-630)	48,4 (2,5-206,2)	0,737
<25 pg/mL	12 (35)	5 (29)	8 (35)	0,950
Glicocorticoides adrenais				
17-OH progesterona, ng/mL n=50	0,17 (0-0,5) ^{1,2}	0,27 (0,1-2,9)	0,33 (0,1-0,8)	<0,001
<0,1 ng/mL	1 (3)	0 (0)	0 (0)	0,999
11-Desoxicortisol, ng/mL	1,02 (0,3-1,9)	1,02 (0,4-4,2)	1,32 (0,3-2,7)	0,104
>7,2 ng/mL	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000
Cortisol, µg/dL	10,67 (1,4-22,5)	12,58 (2,3-44,8)	11,13 (0,8-23,1)	0,720
<3,95 µg/dL	6 (18)	1 (6)	1 (4)	0,302
Esteroidogênese androgênica				
Sulfato de dehidroepiandrosterona, µg/mL	0,155 (0-0,6) ^{1,2}	0,49 (0,1-1,6) ³	1,11 (0,1-2,6)	<0,001
<0,4 µg/dL	23 (68)	7 (41)	2 (9)	<0,001
Androstenedione, ng/mL	0,56 (0,2-4,4) ^{1,2}	1,7 (0,5-4,5)	2,33 (0,3-3,8)	<0,001
<0,75 ng/mL	18 (53)	2 (12)	2 (9)	0,0002
Total testosterone, ng/dL	12,0 (12-167) ^{1,2}	16,0 (12-28)	16,5 (0-50)	0,002
<8,4 ng/dL	0 (0)	0 (0)	1/18 (6)	0,507
Dihydrotestosterone, pg/mL	32,68 (11,8-198,5) ^{1,2}	160,62 (37,9-842,1)	188,3 (71,3-543,9)	<0,001
<24 pg/ml	3 (9)	0 (0)	0 (0)	0,318

Valores expressos em n (%), mediana (variação) ou média ± desvio padrão, IMC – índice de massa corpórea, NA – não aplicável, 1análise post-hoc pelo teste de comparação múltipla de Dunn mostrou diferença significativa entre pacientes SLEj com PD em comparação com LESj sem PD (P<0,05), 2análise post-hoc pelo teste de comparação múltipla de Dunn mostrou diferença significativa entre LESj com PD e controles saudáveis (P<0,05), a análise 3post-hoc pelo teste de comparação múltipla de Dunn mostrou diferença significativa entre LESj sem PD e controles saudáveis (P<0,05).

Estas comparações evidenciaram que a mediana de progesterona [0,3 (0-1) vs. 0,3 (0-1) vs. 0,4 (0-2) ng/mL, $p=0,011$] e os níveis de 17-OH progesterona [0,17 (0-0,5) vs. 0,27 (0,1-2,9) vs. 0,33 (0,1-0,8) ng/mL, $p < 0,001$] foram significativamente menores nas mulheres adultas com LESj em uso atual de prednisona. Todos os hormônios da esteroidogênese androgênica foram reduzidos nas mulheres adultas com LESj em uso de prednisona: DHEAS [0,155 (0-0,6) vs. 0,49 (0,1-1,6) vs. 1,11 (0,1-2,6) mg/mL, $p < 0,001$], androstenediona [0,56 (0,2-4,4) vs. 1,7 (0,5-4,5) vs. 2,33 (0,3-3,8) ng/mL, $p < 0,001$], testosterona total [12,0 (12,0-167) vs. 16,0 (12,0-28) vs. (16,5 (0-50) ng/dL $p=0,002$] e dihidrotestosterona [92,68 (11,8-198,5) vs. 160,62 (37,9-842,1) vs. 188,3 (71,3-543,9) pg/ml, $p < 0,001$].

Na avaliação da influência do uso atual de prednisona nos parâmetros de reserva ovariana, a média dos volumes ovarianos foi significativamente menor em mulheres adultas com LESj em uso atual de prednisona em relação aos outros dois grupos [4,14 (2-12) vs. 7,13 (2-25,7) vs. 5,18 (2,4-17,3) cm^3 , $p=0,028$). Por sua vez, não houve diferenças nas frequências de uso de CFE (32% vs. 47%, $p=0,365$) e doses cumulativas de CFE [12,0 (5,8-26,4) vs. 14,5 (1-21,6) gramas, $p=0,934$] nas mulheres adultas com LESj em uso atual de prednisona *versus* nas mulheres adultas com LESj que não utilizaram prednisona *versus* os controles saudáveis (Tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetros de reserva ovariana e níveis de prolactina em mulheres adultas com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj) com e sem uso atual de prednisona (PD) e controles saudáveis

Variáveis	Com PD (n=34)	Sem PD (n=17)	Controles saudáveis (n=23)	P
Parâmetros de reserva ovariana				
FSH, IU/L	6,55 (4-24)	6,8 (2-81)	6,0 (2-14)	0,519
>12,5 IU/L	5 (15)	5 (29)	1 (4)	0,095
LH, IU/L	6,2 (4-15)	7,7 (2-48)	5,1 (2-11)	0,145
>12,6 IU/L	3 (9)	2 (12)	0 (0)	0,237
Estradiol, pg/mL	45,5 (18-133)	43,0 (14-104)	34,0 (24-128)	0,553
>166 pg/mL	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000
AMH Gen II, ng/mL	0,75 (0-6) ²	1,10 (0-6) ³	2,7 (0-7)	0,011
<1,0 ng/mL	19 (56)	8 (47)	5 (22)	0,033
AMH AnshLabs, ng/mL, n=23/46	0,80 (0-5)	1,25 (0-9)	2,3 (0-7)	0,116
<1,0 ng/mL*	16/30 (53)	7/16 (44)	5 (22)	0,071
Média do volume ovariano, cm ³	4,14 (2-12) ¹	7,13 (2-25,7)	5,18 (2,4-17,3)	0,028
CFA n=43	6 (1-23) ²	5 (0-27) ³	16 (5-37)	<0,001
CFA (≤10 folículos)	22/28 (78)	9/15 (60)	5/22 (29)	<0,001
CFA (≤5 folículos)	13/28 (46)	9/15 (60)	1/22 (6)	<0,001
Tratamento				
Prednisona atual, mg/dia	15 (2,5-40)	-	-	-
Dose cumulativa(g)	44,68 (9,5-161)	50 (4-134,9)	-	0,920
Uso prévio CFE	11 (32)	8 (47)	-	0,365
Dose cumulativa (g)	12 (5,8-26,4)	14,5 (1-21,6)	-	0,934
Uso prévio de MTX	17 (50)	7 (41)	-	0,767
Dose cumulativa (g)	1,3 (0,26-4,67)	1,12 (0,33-14,77)	-	0,901

Valores expressos em n (%), mediana (intervalo) ou média ± desvio padrão, CFE - ciclofosfamida intravenosa, MTX - metotrexato, FSH - hormônio folículo estimulante, LH - hormônio luteinizante, AMH - hormônio anti-Mülleriano e CFA - contagem de folículos antrais, 1 análise post-hoc pelo teste de comparação múltipla de Dunn mostrou diferença significativa entre pacientes LESj com PD em comparação com LESj sem PD (P<0,05), 2 análise post-hoc pelo teste de comparação múltipla de Dunn mostrou diferença significativa entre LESj com PD e controles saudáveis (P<0,05), 3 a análise post-hoc pelo teste de comparação múltipla de Dunn mostrou diferença significativa entre LESj sem PD e controles saudáveis (P<0,05).

5. DISCUSSÃO

Este foi o primeiro estudo que analisou e demonstrou concomitância do comprometimento da via androgênica adrenal com diminuição da reserva ovariana com dose baixa a moderada de prednisona em mulheres adultas com LESj.

Os resultados do presente estudo corroboram pesquisas anteriores que identificaram níveis baixos de andrógenos adrenais ocorridos em pacientes com LES do sexo feminino^{11,14,18} e do sexo masculino³⁸, além dos precursores importantes para a produção de andrógenos (17 OH progesterona, progesterona e androstenediona)^{11,14}. Algumas teorias consideradas para a diminuição desses hormônios são a atividade inflamatória basal das doenças crônicas inflamatórias como LES e artrite reumatoide, uma diminuição da conversão de DHEA em DHEAS, ou a perda renal excessiva de DHEAS nos períodos de maior inflamação da doença¹¹.

É importante ressaltar que a dose de prednisona baixa a moderada foi o fator mais importante para a supressão androgênica. De fato, a administração de prednisona pode induzir a inibição do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, mesmo em mulheres com LESj que recebem baixa dose de prednisona (5mg/dia)³⁹. O presente estudo também demonstrou níveis reduzidos de progesterona, um precursor comum da esteroidogênese adrenal em mulheres adultas com LESj sob uso de prednisona. Os níveis de aldosterona estavam normais, contrastando com relatos anteriores de supressão modesta após o uso de prednisona³⁹.

A terapia com corticosteroides parece impactar a população de folículos ovarianos, a função reprodutiva e o tamanho dos ovários. Isso pode ser explicado pelo hipoandrogenismo observado nas pacientes com LESj do

presente estudo, reduzindo o número de folículos antrais. Estudos *in vitro* sugerem que o uso de corticoterapia leva a ligeira apoptose em células granulosas do ovário, uma vez existem receptores de glicocorticoides nas células ovarianas da granulosa, além disto podem induzir uma redução do volume do ovário e do número de folículos ovarianos^{40,41}. As doses cumulativas de CFE, MTX e PD não parecem explicar essa diferença, uma vez que eram semelhantes nas mulheres com LESj com e sem uso atual de glicocorticoide.

A atividade da doença também não parece ter influenciado a reserva ovariana e os hormônios da glândula adrenal nas pacientes adultas com LESj.

Por sua vez em relação as outras doenças reumatológicas, a atividade da doença foi o fator contribuinte mais importante para a redução dos parâmetros de reserva ovariana na doença de Behçet⁴² e para a diminuição da produção de androgênio adrenal na artrite reumatoide⁴³.

O ponto forte deste estudo foi a avaliação completa dos hormônios adrenais e gonadais na fase folicular inicial do ciclo menstrual, que é relevante para estimar a população folicular ovariana evitando as variações dos hormonais sexuais durante o ciclo intermenstrual^{2,44-47}. Outra vantagem deste estudo foi a utilização de critérios de exclusão rigorosos, como gravidez, contracepção hormonal e cirurgia ginecológica, que podem influenciar os parâmetros de função adrenal e ovariana^{48,49}.

As principais limitações do estudo foram ausência de avaliações da função hipotalâmica e hipofisária, como dosagens do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e do ACTH⁵⁰.

O presente estudo reforçou que mulheres adultas com LESj tiveram uma supressão da esteroidogênese adrenal, fundamentalmente os precursores

dos hormônios mineralocorticoides, glicocorticoides e androgênicos e dos andrógenos finais. Além disso, o uso atual de prednisona em dose baixa a moderada parece ser responsável por esse efeito, assim como o comprometimento dos parâmetros da reserva ovariana, independentemente do uso de outros imunossupressores.

6. CONCLUSÕES

1. Mulheres adultas com LESj tiveram um comprometimento da esteroidogênese adrenal em relação ao grupo controle;
2. O uso atual de prednisona em doses baixa a moderada nas mulheres adultas com LESj interferiu na produção dos hormônios da suprarrenal, assim como nos parâmetros da reserva ovariana.

7. REFERÊNCIAS

1. Silva CA, Yamakami LY, Aikawa NE, et al. (2014) Autoimmune primary ovarian insufficiency. *Autoimmun Rev* 13:427-430.
2. Setoue DN, Pitta AC, Fiorot FJ, et al. (2018) Symptomatic polyautoimmunity at diagnosis of 1463 childhood-onset lupus: A Brazilian multicenter study. *Autoimmun Rev* 17:836-839.
3. Silva CA, Bonfa E, Østensen M. (2010) Maintenance of fertility in patients with rheumatic diseases needing antiinflammatory and immunosuppressive drugs. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 62:1682-1690.
4. Silva CA, Brunner HI. (2007) Gonadal functioning and preservation of reproductive fitness with juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus* 16:593-599.
5. Grygiel-Górniak B, Puszczewicz MJ. (2014) The influence of endogenous and exogenous sex hormones on systemic lupus erythematosus in pre- and postmenopausal women. *Prz Menopauzalny* 13:262-266.
6. Silva CA, Hilário MO, Febrônio MV, et al. (2007) Risk factors for amenorrhea in juvenile systemic lupus erythematosus (JSLE): a Brazilian multicentre cohort study. *Lupus* 16:531-536.
7. Medeiros PB, Febrônio MV, Bonfá E, et al. (2009) Menstrual and hormonal alterations in juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus* 18:38-43.
8. Silva CA, Deen ME, Febrônio MV, et al. (2011) Hormone profile in juvenile systemic lupus erythematosus with previous or current amenorrhea. *Rheumatol Int* 31:1037-1043.
9. Aikawa NE, Sallum AM, Pereira RM, et al. (2012) Subclinical impairment of ovarian reserve in juvenile systemic lupus erythematosus after cyclophosphamide therapy. *Clin Exp Rheumatol* 30:445-449.
10. de Araujo DB, Yamakami LY, Aikawa NE, et al. (2014) Ovarian reserve in adult patients with childhood-onset lupus: a possible deleterious effect of methotrexate? *Scand J Rheumatol* 43:503-511.

11. Vogl D, Falk W, Dorner M, et al. (2003) Serum levels of pregnenolone and 17-hydroxypregnenolone in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: relation to other adrenal hormones. *J Rheumatol*; 30:269-275.
12. Cutolo M, Sulli A, Capellino S, et al. (2004) Sex hormones influence on the immune system: basic and clinical aspects in autoimmunity. *Lupus* 13:635-638.
13. Martocchia A, Stefanelli M, Cola S, et al (2011). Sex steroids in autoimmune diseases. *Curr Top Med Chem* 11: 1668-1683.
14. Lahita RG, Bradlow HL, Ginzler E, et al. (1987) Low plasma androgens in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1987;30:241-248.
15. Folomeev M, Dougados M, Beaune J, et al. (1992) Plasma sex hormones and aromatase activity in tissues of patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1:191-195.
16. Härle P, Pongratz G, Weidler C, et al. (2004) Possible role of leptin in hypoandrogenicity in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 63:809-816.
17. Fehér KG, Bencze G, Ujfalussy J, et al (1987) Serum steroid hormone levels in systemic lupus erythematosus (SLE). *Acta Med Hung* 44: 321-327.
18. Van der goes MC, Bossema ER, Hartkamp A, et al. (2011) Cortisol during the day in patients with systemic lupus erythematosus or primary Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 38:285-288.
19. Robeva R, Tanev D, Andonova S, et al. (2013) Androgen receptor (CAG)_n polymorphism and androgen levels in women with systemic lupus erythematosus and healthy controls. *Rheumatol Int* 33:2031-2038.
20. Treadwell EL, Wiley K, Word B, et al. (2015) Prolactin and Dehydroepiandrosterone Levels in Women with Systemic Lupus

- Erythematosus: The Role of the Extrapituitary Prolactin Promoter Polymorphism at -1149G/T. *J Immunol Res* 2015:435658.
21. Robert W McMurray, Warren May, et al (2003) Sex hormones and systemic lupus erythematosus: review and meta-analysis. *Review Arthritis Rheum.* 48:2100-10.
22. Jamil Z, Fatima SS, Ahmed K, Malik R. (2016) Anti-Müllerian Hormone: above and beyond conventional ovarian reserve markers. *Dis Markers.*; 5246217
23. Barbieri RL. (2014). The endocrinology of the menstrual cycle. *Methods Mol Biol*;1154:145-69.
24. Walter L Miller, Richard J Auchus. (2011) The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Review Endocr Ver.*32:81-151.
25. Andrew Midzak, Vassilios Papadopoulos. (2016). Adrenal Mitochondria and Steroidogenesis: From Individual Proteins to Functional Protein Assemblies *Review Front Endocrinol (Lausanne).* 29;7:106.
26. SCHOENWOLF, G. C.; BLEYL, S. B.; BRAUER, P. R. et al.(2010) *Larsen Embriologia Humana.* 4^a ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier.
27. Jiali Zhang, Xuemin Qiu, Yuyan Gui, et al (2015) Dehydroepiandrosterone improves the ovarian reserve of women with diminished ovarian reserve and is a potential regulator of the immune response in the ovaries. *Review Biosci Trends* 6:350-9.
28. M D Ozcil. (2020) Dehydroepiandrosterone supplementation improves ovarian reserve and pregnancy rates in poor responders. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 17:9104-9111.
29. Mazen R Fouany, Fady I Sharara (2013) Is there a role for DHEA supplementation in women with diminished ovarian reserve? *Meta-Analysis. J Assist Reprod Genet.* 9:1239-44.

-
30. Dehydroepiandrosterone and multiple measures of functional immunity in young adults. Prall SP, Muehlenbein MP. *Am J Hum Biol.* 2015 Nov-Dec;27(6):877-80.
 31. Friel PN, Alexander T, Wright JV. (2006) Suppression of adrenal function by low-dose prednisone: assessment with 24-hour urinary steroid hormone profiles--a review of five cases. *Altern Med Rev* 11:40-46.
 32. Gasparin AA, Chakr R, Brenol CV, et al. (2015) Anti-Müllerian hormone levels as a predictor of ovarian reserve in systemic lupus erythematosus patients: a review *Rev Bras Reumatol* 55:363-367.
 33. Silva CA, Avcin T, Brunner HI. (2012) Taxonomy for systemic lupus erythematosus with onset before adulthood. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 64:1787-1793.
 34. Zietz B, Reber T, Oertel M, et al. (2000) Altered function of the hypothalamic stress axes in patients with moderately active systemic lupus erythematosus. Dissociation between androstenedione, cortisol, or dehydroepiandrosterone and interleukin 6 or tumor necrosis factor. *J Rheumatol.* 4:911-8.
 35. Hochberg MC. (1997) Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 40:1725.
 36. Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. (2002) Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol* 29:288-291.
 37. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, et al. (1996) The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 39:363-369.
 38. JP Albert, A Schirmer, F Hartmann (1980) Extended ACTH rapid test for differentiation of primary and secondary adrenal insufficiency. *Med Klin* 19:693-6

-
39. Arnaud L, Nordin A, Lundholm H, et al. (2017) Effect of Corticosteroids and Cyclophosphamide on Sex Hormone Profiles in Male Patients With Systemic Lupus Erythematosus or Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheumatol* 69:1272-1279.
 40. Yuan XH, Yang BQ, Hu Y, et al. (2008) Dexamethasone altered steroidogenesis and changed redox status of granulosa cells. *Endocrine* 47:639-647.
 41. Ristić N, Nestorović N, Manojlović-Stojanoski M, et al. (2008) Maternal dexamethasone treatment reduces ovarian follicle number in neonatal rat offspring. *J Microsc* 232:549-557.
 42. Mont'Alverne AR, Yamakami LY, Gonçalves CR, et al. (2015) Diminished ovarian reserve in Behçet's disease patients. *Clin Rheumatol* 34:179-183.
 43. Imrich R, Vlcek M, Kerlik J, et al. (2014) Determinants of adrenal androgen hypofunction in premenopausal females with rheumatoid arthritis. *Physiol Res* 63:32132-32139.
 44. Crosbie D, Black C, McIntyre L, et al. (2007) Dehydroepiandrosterone for systemic lupus erythematosus. *Cochrane Database Syst Rev* 4:CD005114.
 45. Yamakami LY, Serafini PC, de Araujo DB, et al. (2014) Ovarian reserve in women with primary antiphospholipid syndrome. *Lupus* 23:862-867.
 46. de Souza FH, Shinjo SK, Yamakami LY, et al. (2015) Reduction of ovarian reserve in adult patients with dermatomyositis. *Clin Exp Rheumatol*;33:44-49
 47. Mont'Alverne AR, Pereira RM, Yamakami LY, et al. (2014) Reduced ovarian reserve in patients with Takayasu arteritis. *J Rheumatol* 41:2055-2059.
 48. Ostensen M. (1999) Sex hormones and pregnancy in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci* 876:131-143.

49. Köller MD, Templ E, Riedl M, et al. (2004) Pituitary function in patients with newly diagnosed untreated systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 63:1677-1680.
50. Gutiérrez MA, Garcia ME, Rodriguez JA. (1998) Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and prolactin secretion in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 7:404-408.