



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEJAN RODRIGUES NONATO

**O uso de imunossupressores e alterações menstruais em pacientes
lúpicas**

Goiânia
2009

DEJAN RODRIGUES NONATO

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**O uso de imunossupressores e alterações menstruais em pacientes
lúpicas**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Universidade Federal de Goiás para
obtenção do Título de Mestre em Ciências da
Saúde.

ORIENTADOR: Professor Dr. Nilzio Antonio da Silva

**Goiânia
2009**

**BANCA EXAMINADORA DA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Dejan Rodrigues Nonato

Orientador: Professor Dr Nilzio Antonio da Silva

Membros:

1. Professor Dr. Nilzio Antonio da Silva

2. Professora Dra. Gilda Aparecida Ferreira

3. Professora Dr. Waldemar Naves do Amaral

4. Professora Dra. Renata Mazaro e Costa

5. Professor Dr. Juarez Antônio de Souza

**Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás**

Dedico este trabalho...

*Aos meus pais **João e Dercy**, fontes de minha vida, a origem humilde não os impediu de serem audaciosos, sonhando e trabalhando honestamente por um mundo melhor e por uma vida mais digna para a família.*

*A **toda minha família**, que em todos os momentos da vida, nas dificuldades ou nas vitórias mantiveram o espírito carinhoso, solidário e agregador.*

*A minha **esposa e filhos**, pessoas especiais. Pelo carinho, dedicação, compreensão, companheirismo e que sempre me motivam a assumir e cumprir responsabilidades.*

*A minha nova família, **de meu sogro, sogra e cunhados**, pela acolhida e pelos estímulos para a vida.*

*Às **pacientes** que responderam positivamente participando e até estimulando para que fizéssemos a pesquisa. Pacientes de risco para menopausa precoce, tema que me impressionou no início, como profissional. As poucas opções de ajuda a elas naquela época, me trazia grande desconforto. Principalmente por assistir em algumas o efeito devastador da restrição hormonal. Espero com este trabalho contribuir especialmente à saúde delas.*

Agradecimentos

À Faculdade de Medicina através de seu Diretor, Professor Dr. Heitor Rosa, que me deu a oportunidade de ser uma pessoa útil à sociedade exercendo uma magnífica e gratificante profissão.

Ao Hospital das Clínicas na pessoa de seu Diretor, Professor Dr. José Garcia, pela oportunidade de praticar meus conhecimentos e permitir que pudesse fazer o encontro com as pacientes que viabilizaram este projeto.

Ao Professor Dr. Nilzio Antonio da Silva, pelo grande aprendizado, e principalmente pela convivência que permitiu apreender os aspectos humanos do relacionamento e o compromisso social que devemos assumir e praticar como médico.

Ao Professor Dr. Paulo Cezar da Veiga Jardim, pelo seu atributo essencial de professor, acredita e estimula as pessoas a desenvolver seus potenciais.

Ao professor Dr. Celmo Celeno Porto, bravo guerreiro, que dedicadamente tem liderado a pós-graduação da Faculdade de Medicina, trazendo grandes benefícios ao ensino médico e a nossa comunidade.

Ao Professor Dr. Vardeli Alves de Moraes, vice-diretor da Faculdade de Medicina, meu professor de sempre, pela ajuda com ensinamentos em vários momentos de minha vida.

Ao Professor Dr. Rui Gilberto Ferreira, Chefe do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, pelo estímulo permanente para que os docentes desenvolvam ações de pesquisa e publicação.

Às Sras. Valdecina Quirino e Raquel Vargas, da secretaria da pós-graduação, que desenvolvem no trabalho um ambiente acolhedor necessário aos principiantes em pós-graduação.

Sumário

LISTA DE TABELAS	07
LISTA DE FIGURAS e QUADROS	09
SÍMBOLOS, SIGLAS e ABREVIATURAS	10
RESUMO	11
ABSTRACT	13
1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Les e os imunossupressores	15
1.2 Função ovariana, autoimunidade e imunossupressores	28
1.3 Relevância	32
2. OBJETIVOS	34
3. METODOLOGIA	35
3.1 Desenho do Estudo	35
3.2 Casuística	35
3.3 Métodos	35
3.4 Critérios de inclusão	37
3.5 Critérios de exclusão	37
3.6 Material, equipamento e técnica	38
3.7 Análise Estatística	38
4. RESULTADOS	39
5. DISCUSSÃO	61
6. CONCLUSÃO	71
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
8. ANEXOS	77

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Distribuição das pacientes segundo a faixa etária	39
Tabela 2 - Distribuição das pacientes segundo a idade da menarca	40
Tabela 3 - Distribuição das pacientes segundo a faixa etária em que foi realizado o diagnóstico	41
Tabela 4 - Distribuição das pacientes segundo as características da menstruação e os tipos de alterações	42
Tabela 5 - Distribuição das pacientes segundo as características da menstruação com sangramento aumentado (+) ou diminuído (-)	43
Tabela 6 - Distribuição do uso de medicamentos imunossupressores ao longo de todo o tratamento	44
Tabela 7 - Distribuição do uso de medicamentos imunossupressores ao longo de todo o tratamento quanto a ter ou não usado antimaláricos	45
Tabela 8 - Distribuição do uso de medicamentos imunossupressores na época da pesquisa	46
Tabela 9 - Distribuição segundo a característica menstrual e o tipo de imunossupressores em uso, divididos em dois grupos	47
Tabela 10 - Distribuição das pacientes segundo o tempo de uso da medicação imunossupressora, divididos em dois grupos	48
Tabela 11 - Média do tempo de uso de imunossupressores e tipo de menstruação	49
Tabela 12 - Distribuição das pacientes segundo alterações menstruais e uso de corticóide ou de outra modalidade de formulação de imunossupressor.....	49
Tabela 13: Distribuição das pacientes segundo tipos menstruais e uso de corticóide.....	50
Tabela 14: O uso de antimaláricos distribuídos no grupo de corticóides e no grupo de outros imunossupressores usados.....	50

Tabela 15 - Distribuição segundo a característica menstrual e o tipo de imunossupressores em uso.....	51
Tabela 16 - Avaliação de associação do uso de imunossupressores e alteração menstrual ou não.....	51
Tabela 17 - Distribuição das pacientes segundo o tempo de uso da medicação imunossupressora.....	52
Tabela 18 - Média do tempo de uso de imunossupressores e diferentes tipos de características das menstruações.....	54
Tabela 19 - Distribuição do uso de medicamentos imunossupressores na época da pesquisa.....	56
Tabela 20 - Distribuição segundo a característica menstrual e o tipo de imunossupressor.....	57
Tabela 21 - Distribuição segundo a característica menstrual e o tipo de imunossupressor.....	57
Tabela 22 - Distribuição das pacientes segundo o tempo de uso da medicação imunossupressora.....	58
Tabela 23 - Distribuição das pacientes segundo a faixa etária de uso da medicação imunossupressora.....	58
Tabela 24 - Distribuição das pacientes que tiveram falência ovariana prematura de acordo com a idade, tipo de medicamento em uso e tempo de uso.....	59
Tabela 25 - Distribuição das pacientes segundo o tempo de uso da medicação imunossupressora, divididos em dois grupos.....	60
Tabela 26 – Parâmetros (Média ± DP) anatômicos do útero e ovários pela ultrassonografia e das variáveis da função ovariana.....	60

Lista de Figuras e Quadros

Figura 1 – Ativação do sistema imune e mecanismo de ação dos imunossupressores.....	17
Figura 2 – Ação dos imunossupressores e as fases do ciclo celular.....	18
Figura 3 – Mecanismo de ação dos corticóides como anti-inflamatórios e como imunossupressores.....	19
Figura 4 - Ação genômica e não genômica caracterizadas de acordo com a dose de prednisona ou equivalente	21
Figura 5 - Fórmula planar da estrutura da ciclofosfamida, da guanina, e modelo de ação dos alquilantes na dupla fita do DNA.....	24
Figura 6 - Modelo de representação do metabolismo da azatioprina e localização de metabólitos ativos.....	26
Figura 7 - O ácido fólico e o metotrexato mostrados como poliglutamatos, e o bloqueio de ações enzimáticas.....	27
Figura 8 – Metotrexato e sua ação na via metabólica de suprimentos para a replicação do DNA.....	28
Figura 9 - Distribuição do uso de prednisona, alterações menstruais e o tempo de uso em tratamento.....	53
Figura 10 - Distribuição do uso de antiproliferativo, alterações menstruais e o tempo de uso em tratamento.....	53
Figura 11 - Distribuição do uso de prednisona + antiproliferativo, alterações menstruais e o tempo de uso em tratamento.....	54
Figura 12 - Mediana da idade de pacientes para medicamentos distribuídos em três diferentes grupos	55
Quadro 1 - Protocolo de utilização de imunossupressores do serviço de reumatologia da Faculdade de Medicina –UFG.....	37

Símbolo, Siglas e Abreviaturas

Cy = ciclofosfamida

HHA – hipótalamo-hipófise-adrenal

AZA = azatioprina

HHO - hipotálamo-hipófise-ovariano

MTX = metotrexato

KDa- kilo dalton

LES = lupus eritematoso sistêmico

IL-2 – interleucina 2

FOP = falência ovariana prematura

RTK – receptores tirosinoquinases

Pg = picograma

CD – cluster differentiation

mL = mililitros

PKC – proteína quinase C

NF – kB = fator de transcrição nuclear kappa beta

DNA = ácido desoxiribonucleico

DAG – diacil glicerol

GnRH – hormônio estimulante de gonadotrofinas

IP3 – trifosfato de inositol

FSH = hormônio folículo estimulante

NFATc – fator nuclear de ativação de células T

LH = hormônio luteinizante

HC = Hospital das Clínicas

UFG = Universidade Federal de Goiás

mIU = miliunidades internacional

IBGE = Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

Predn = prednisona

IS = imunossupressores

Resumo

INTRODUÇÃO: O lupus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune que incide mais em mulheres, sendo que a doença e seu tratamento podem afetar a função ovariana. **OBJETIVO:** O estudo pretendeu buscar associação entre o tratamento com imunossuppressores (IS) em pacientes com LES e alterações da função ovariana, medidas por meio das alterações no ciclo menstrual e da detecção de falência ovariana prematura (FOP). **MÉTODOS:** Corte transversal, incluindo 87 mulheres, com idades inferiores a 40 anos, submetidas ao tratamento com imunossuppressores: prednisona, azatioprina, ciclofosfamida, ou metotrexato, em formulação única ou em associação. A disfunção ovariana foi determinada pela presença de alterações menstruais do tipo hipermenorréia, polimenorréia, menorragia, oligomenorréia, hipomenorréia, amenorréia e a falência ovariana prematura. **RESULTADOS:** Os valores são expressos em anos, média e desvio padrão. A idade das pacientes variou de 14 e 38 anos com a média de $28,01 \pm 5,81$ anos. As pacientes tiveram menarca registrada entre 10 e 19 anos, com média de idade $13,12 \pm 1,77$ anos, o diagnóstico de LES estabelecido entre 10 e 35, e a média de idade de $21,40 \pm 5,75$ anos. Quanto aos medicamentos, 63,2% dessas mulheres usavam a prednisona no momento do estudo. A dosagem de estradiol em pacientes eumeno-reicas, com alterações menstruais e amenorreicas foi em média $90,90 \pm 120,78$; $91,90 \pm 64,77$ e $115,97 \pm 63,60$, respectivamente. A dosagem de FSH foi em média $25,73 \pm 34,46$; $39,44 \pm 59,82$ e $54,40 \pm 56,07$, respectivamente. As alterações menstruais foram observadas em 37,9% das mulheres examinadas, 11,5% tiveram amenorréia e 5,75% apresentaram falência ovariana prematura. As alterações do ciclo menstrual não tiveram associação significativa com o uso das diferentes formulações de imunossuppressores. **DISCUSSÃO:** Alterações menstruais e falência ovariana prematura foram encontradas em frequência superior à população geral, mas semelhante a outras pesquisas com lúpicas usando imunossuppressores. Os corticóides foram os medicamentos mais usados em número de pacientes e de tempo de uso, sendo que as que utilizaram esse imunossupressor apresentaram mais alterações menstruais, o que o diferencia da maioria das publicações. Pode-se aventar que além das múltiplas ações dos corticóides, destaca-se a retroinibição hipotalâmica e hipofisária com implicações para a

função ovariana. Em relação aos outros IS ficou evidente a pouca frequência de alterações com a ciclofosfamida. Dose cumulativa, idade e tempo de uso adequado podem explicar esta verificação. O uso de antimaláricos em mais da metade das pacientes também pode ter influído nos resultados. Também variáveis de efeitos farmacológicos, evolução da doença e múltiplas drogas podem explicar diferentes resultados em relação a outras pesquisas.

CONCLUSÃO: Os dados analisados não são suficientes para desconsiderarmos os fatores de risco associado com o desenvolvimento de alterações ovarianas em mulheres com lupus tratadas com IS quando comparadas com a população geral. É pertinente as pesquisas que orientem os processos terapêuticos ou a compreensão das relações entre o lupus eritematoso sistêmico e a função ovariana das mulheres afetadas com essa doença. Justifica-se, também, a busca de mecanismos que preservem a função ovariana.

Abstract

BACKGROUND: The Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is an autoimmune disease that affects mainly women, and studies have shown that the use of immunosuppressants (IS) during SLE treatment may affect ovarian function. **OBJECTIVES:** This study aimed at the determination of possible associations in various IS therapeutic schemes and disturb in the ovarian function, through evaluation of menstrual cycle disturb and detection of premature ovarian failure in women with SLE. **METHODS:** A cross sectional study was conducted in 87 women, aged less than 40 years old that use IS in therapeutic scheme, as follows: prednisone, azathioprine, cyclophosphamide or methotrexate, either alone or in a combination regime. The ovarian dysfunction was evaluated by the occurrence of menstrual disturbances such as hypermenorrhea, polymenorrhea, menorrhagia, oligomenorrhea, hypomenorrhea and amenorrhea and those diagnosed with premature ovarian failure. **RESULTS:** The values obtained by the study are expressed in years, mean and standard deviation. The age of the patients varied from 14 to 38 years old, with a mean age of 28.01 ± 5.81 years. The patients reached menarche between 10 and 19 years of age, with a mean age of 13.12 ± 1.77 years. The SLE diagnosis was established when the patients had between 10 and 35 years of age, with a mean age of 21.40 ± 5.75 years. When treatment is considered, 63.2% of the patients were being treated with of prednisone at the time of the study. The mean estradiol dosages used by eumenorrheic patients, patients that presented menstrual disturbances or in women with amenorrhea, was of 90.90 ± 120.78 ; 91.90 ± 64.77 and 115.97 ± 63.60 ; respectively, and the mean FSH dosages used by these same groups of patients was of 25.73 ± 34.46 ; 39.44 ± 59.82 and 54.40 ± 56.07 ; respectively. Menstrual disturbances were observed in 37.9% of the women evaluated, 11.5% of them had amenorrhea and 5.75% presented premature ovarian failure. There were no significant associations between the alterations in the menstrual cycle of the patients and the use of various dosages of IS and different therapeutic schemes. **DISCUSSION:** The data revealed that menstrual disturbances and premature ovarian failure were found in a higher frequency that found in the general population by other studies. However, they were similar to those found in previous studies conducted in women with SLE under IS therapy. The corticoids were the most administered drug and were used for the longest period of time, when

compared to the other IS. Interestingly, the patients that were in use of corticoids had the highest frequency of menstrual alterations, when compared to the other patients, finding that disagrees with most of the studies from the literature. Among the multiple effects of corticoids in the human organism, are the hypothalamic and pituitary retro inhibitions, which may interfere with the ovaries functions. When treatment with the other IS is considered, it became evident that the lowest frequency of menstrual disturbances occurred in those patients treated with cyclophosphamide. Cumulative dose, age and appropriate duration of treatment could explain this finding. The use of anti-malaria drugs in more than half of the patients could have influenced the results. Additionally, variables in the pharmacological effects of the various drugs, the progression of the disease and multiple drug use could also explain our findings. **CONCLUSION:** Our data analysis is not sufficient to disregard the possible of risk factors associated with the development of ovarian dysfunction in the SLE women treated with immunosuppressants, when compared with the general population. In our understanding, treatment for SLE should be reevaluated, and future studies with focus on the understanding of the relationships between the SLE and ovarian function in the affected women, as well as on novel mechanisms that will contribute to preserve the ovarian function in these patients are of great importance.

1. Introdução

1.1- LES e os imunossupressores

O lupus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, multissistêmica, de causa desconhecida e de natureza autoimune, caracterizada pela presença de diversos autoanticorpos. Evolui com manifestações clínicas polimórficas, com períodos de exacerbações e remissões. A patogenia está relacionada à produção de anticorpos para antígenos de localização celular e caracteriza-se pela presença de complexos formados por antígenos e anticorpos, que se depositam nos rins, pele, articulações e serosas, provocando alterações que lhes dão caráter sistêmico⁽¹⁾.

O fato dos antígenos serem provenientes de moléculas celulares não expostas como os antígenos localizados na matriz extracelular de outras doenças autoimunes, dão ao lupus aspecto peculiar em sua patogênese. Como os mecanismos de reconhecimento chegam até essas substâncias, muitas delas intranucleares, para em seguida falharem e não reconhecerem como próprias são explicadas por defeitos no mecanismo fisiológico da apoptose e depuração de resíduos. As moléculas contidas nos corpos e corpúsculos apoptóticos, são depuradas do organismo pelos fagócitos. Presume-se que falhas nesse mecanismo e nos de tolerância imunológica, permitam o reconhecimento e produção de anticorpos para substâncias do próprio organismo, nesse caso intracelulares. O melhor exemplo para essa situação é a explicação da patogênese da fotossensibilidade do LES e a apoptose de queratinócitos. A apoptose pode ser iniciada pelos raios ultravioleta, vírus, citocina, deficiência de fatores de crescimento, ou substâncias citotóxicas. Os pequenos corpúsculos apoptóticos concentram o antígeno Ro (proteínas pequenas ligadas ao ácido ribonucléico – RNA) e a calreticulina. Corpúsculos apoptóticos maiores contêm outro potencial autoantigênico incluindo o antígeno Ro de 60 kDa, antígeno La, nucleossomos e antígeno RNP (ribonucleoproteína de pequeno peso molecular) de 70 kDa. A apoptose também expõe a fosfatidilserina na superfície celular para o ligante C1q (complemento 1q)⁽²⁾.

O LES possui acentuada predominância no acometimento de pessoas do sexo feminino, e mais frequente no período reprodutivo, sendo assim reveste-se de importância especial a influência recíproca entre a doença e o aparelho reprodutor feminino^{(3),(4),(5)}. No

tratamento da LES são aconselhadas medidas gerais, assim como o uso de anti-inflamatórios não esteróides e de imunossupressores. Os imunossupressores em diversos estudos têm apresentado potencial toxicidade para o ovário, com destaque para a ciclofosfamida, que pode, inclusive, ocasionar falência ovariana prematura, transitória ou definitiva⁽⁶⁾.

O conhecimento da ativação do sistema imunológico é fundamental para se entender o mecanismo de ação dos imunossupressores e a repercussão de seus efeitos adversos, em especial nos ovários. A ativação se faz em uma fase inicial por meio dos linfócitos com o reconhecimento da substância como antigênica não própria, ou própria em defeitos da tolerância. Assim como pela proliferação de clones de linfócitos, por influência de citocinas com a produção de anticorpos⁽⁷⁾.

Para a ativação são descritos três vias principais de transdução de sinais no citoplasma dos linfócitos, que produzem fatores de transcrição para genes da IL-2, como se vê na figura 1. Todas elas iniciam a partir dos receptores tirosinoquinases (RTK) do complexo de receptores formados por receptores de células T (TCR), CD3 (*cluster differentiation 3*) e CD4. Uma via por meio das proteínas Raf e cFos libera as proteínas Jun e Fos, respectivamente, que dimerizadas adquirem a capacidade de atuar como fator de transcrição denominado proteína associada 1 (AP1), capazes de transcreverem o gene da IL2. A segunda via a partir da RTK, com ativação da enzima fosfolipase C gama 1, do diacilglicerol (DAG) e da proteinoquinase C (PKC) respectivamente, produz um dímero com proteínas de 50 e 65 kDa (p65p50) conhecida como fator nuclear kappa B (NFkB). Essa proteína citoplasmática uma vez liberada de seu inibidor Ikb é capaz de translocar-se para o núcleo celular e atuar na transcrição gênica. A terceira via partindo também da fosfolipase C, por meio do trifosfato de inositol (IP3), interfere na concentração de cálcio pelo sistema cálcio, calmodulina, resultando na fosforilação do componente citoplasmático do fator nuclear de ativação de células T (NFATc). Uma vez fosforilado o NFAT é capaz de adentrar o núcleo para atuar como fator de transcrição⁽⁷⁾.

Os fatores de transcrição resultado da ativação anteriormente descrita promovem a produção de citocinas que são capazes de estimular a proliferação de clone de linfócitos imunoreativos⁽⁷⁾.

A imunossupressão é um processo de inibição de um ou mais componentes do sistema imunológico inato ou adaptativo, como resultado de uma doença subjacente ou intencionalmente induzida por medicamentos. Tem como objetivo prevenir ou tratar a rejeição do enxerto ou uma doença autoimune⁽⁸⁾. Os fármacos imunossupressores serão analisados tendo como base o processo de ativação do sistema imunológico, atuação no sistema de transdução de sinais ou no estímulo à proliferação de linfócitos.

Os fármacos imunossupressores, que são objeto do presente estudo, são utilizados em algumas fases clínicas do LES e aqui serão agrupados de acordo com suas características farmacodinâmicas: corticóides como imunossupressores por bloquear a ativação linfocitária e os antiproliferativos/antimetabólitos que interferem no ciclo celular.

O bloqueio da ativação dos linfócitos se faz de dois modos. Um, inibindo o estímulo antigênico no reconhecimento do antígeno pelo linfócito T, e outro no bloqueio da indução do linfócito B na produção de anticorpos. São ações que ocorrem no citoplasma dos linfócitos, deixando os fatores de transcrição inativos. O corticóide tem ação imunossupressora por ação genômica produzindo uma proteína inibidora, o I κ B, do fator de transcrição citoplasmático NF- κ B⁽⁷⁾.

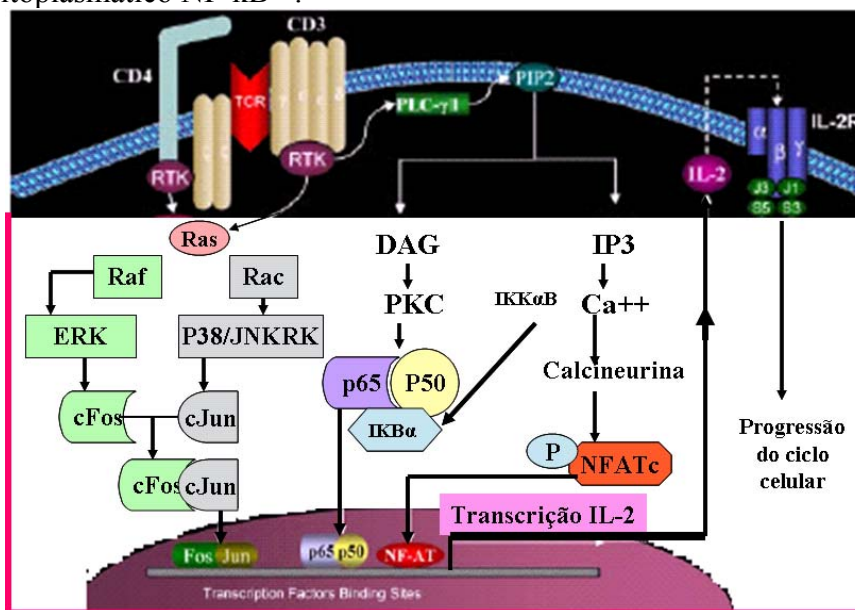


Figura 1 – Mecanismos de imunossupressão. O local de ação é no citoplasma onde ocorre o processo de transdução de sinais. Os corticóides causam a supressão da ativação das células T ao inibirem a ativação do NF- κ B e da proteína 1 ativadora. Os imunossupressores antiproliferativos atuam impedindo a progressão do ciclo celular. AP-1(Proteína-1 ativadora); IL (interleucina); NF- κ B (fator nuclear kappa B); NFATc (componente

citoplasmático do fator nuclear de ativação de células T); P (fosfato); Cy (ciclofosfamida); AZA (azatioprina); MTX (metotrexato)⁽⁷⁾.

Os outros imunossupressores usados neste estudo são agrupados como antiproliferativos/antimetabólitos que possuem como mecanismo de ação o bloqueio do ciclo celular, é visto na figura 2. Agem, diretamente lesando o ácido desoxi-ribonucleico (DNA), ou indiretamente interferindo no metabolismo das bases nitrogenadas, inibindo a produção de suprimento para a formação de fitas de DNA. Assim são explicadas as ações da ciclofosfamida, do metotrexato e da azatioprina⁽⁸⁾.

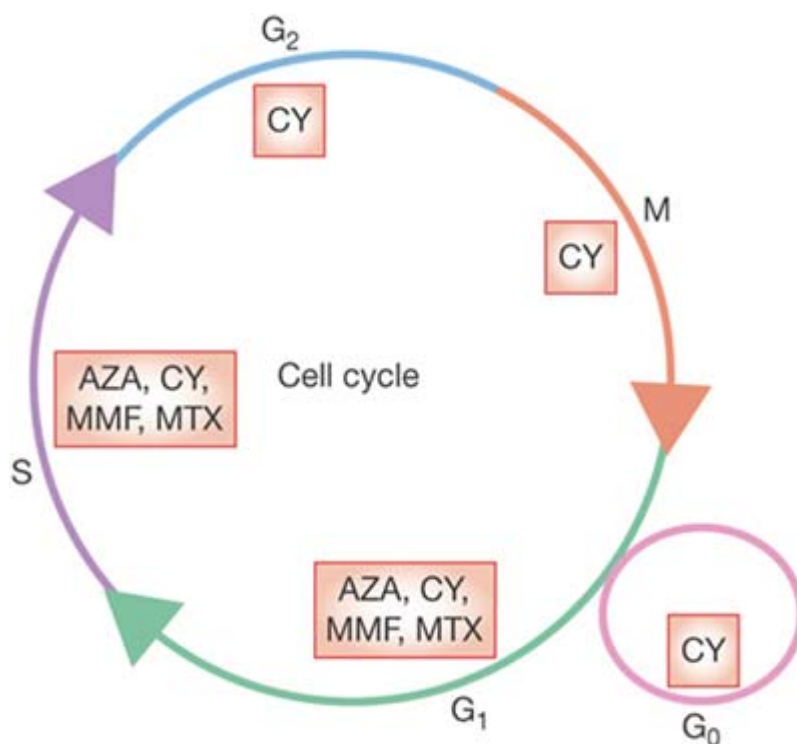


Figura 2 – A ciclofosfamida (CY) é um inibidor não específico do ciclo celular e afeta todas as fases. Azatioprina (AZA), metotrexato (MTX) e o micofenolato mofetil (MMF) são relativamente específicos da inibição do ciclo celular, afetando principalmente o início do ciclo e a fase de síntese do DNA. G₀(fase quiescente); G₁(fase inicial); G₂(fase pré-mitótica) M(fase mitótica); S(síntese de DNA)⁽⁹⁾.

Os imunossupressores passaram a fazer parte do protocolo de rotina do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás no ano de 1987, no tratamento do LES, apresentando bons resultados na remissão da doença e modificando radicalmente a evolução de casos considerados graves. A manutenção de seu uso por tempo prolongado, às vezes é indicada para que a doença permaneça na forma inativa. Os corticóides (prednisona) e os antiproliferativos/antimetabólitos ciclofosfamida, azatioprina

e metotrexato são os mais frequentemente indicados. Eles compõem o grupo para o presente estudo.

Os corticóides foram utilizados como imunossupressores a partir dos anos 50 e desempenharam papel fundamental na viabilidade de transplantes de órgãos. Posteriormente, passaram a ser utilizados em doenças autoimunes sistêmicas, dentre as quais, o lupus. A utilização de doses altas endovenosas de corticóides em situações específicas, que recebe a denominação de pulsoterapia, é a orientação mais recente. Além da pulsoterapia, são utilizadas doses imunossupressivas por tempo prolongado, com bons resultados na remissão da doença e estabilização da saúde das pacientes⁽⁸⁾.

O efeito imunossupressor do corticóide se manifesta, por meio dos receptores linfocitários de transcrição de gene da proteína I κ B, visto na figura 3. A inibição do fator nuclear κ B (NF- κ B) impede a transcrição e produção de IL-2, condição que impossibilita a proliferação de células pré-B. Doses altas de corticóides aumentam a produção de I κ B e assim exercem o seu efeito imunossupressor⁽¹⁰⁾.

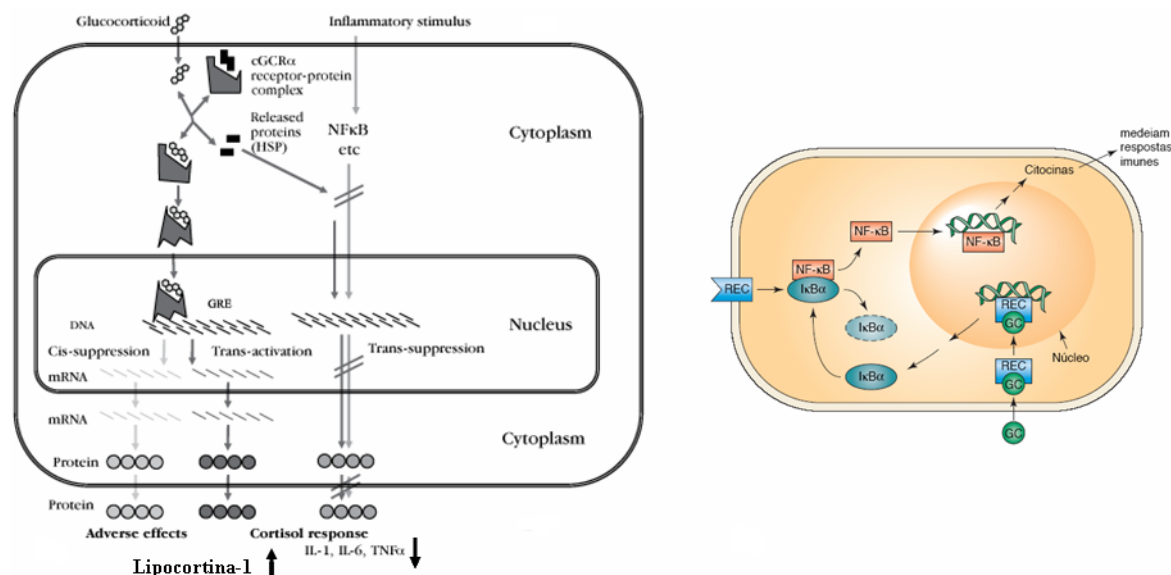


Figura 3 - Mecanismo de ação dos corticóides na supressão das respostas imune e inflamatória. À esquerda - ações genômicas: 1- anti-inflamatória por transativação com a produção de lipocortina-1 com efeito na via metabólica do ácido aracdônico, e, 2- imunossupressora por transsupressão com a produção de fator de inibição para o NF- κ B. cGCR α (receptor alfa citoplasmático de corticóide); HSP (proteína de choque térmico); NF κ B (fator nuclear kappa B); GRE (elemento de resposta ao corticóide); DNA (ácido desoxirribonucléico); mRNA (ácido ribonucléico mensageiro); IL (interleucina); TNF- α (fator de necrose tumoral alfa); seta para cima (elevação), seta para baixo (redução)⁽¹⁰⁾. Na figura à direita, em destaque, com mais clareza observa-se a ação do corticóide na

transcrição do I κ B, sua migração do núcleo celular para o citoplasma, onde ocorre a dimerização com o NF- κ B. REC (receptor); GC (corticóide)⁽¹¹⁾.

Para a prática terapêutica utilizando corticóide, é importante o reconhecimento dos três mecanismos de ação, que trazem benefícios às pacientes. São descritos uma ação genômica e duas ações não genômicas; uma específica e outra inespecífica. Na ação genômica os corticóides atravessam a membrana celular e ligam-se ao seu receptor citoplasmático. Ligado ao receptor penetram no núcleo celular concluindo sua ação com a transcrição de genes. Seus efeitos não são imediatos, dependentes do processamento ribonucléico e produção de proteínas, só ocorrem mais de 30 minutos após a ligação com o receptor^{(10),(12)}.

As ações não genômicas, específicas e inespecíficas, conseguidas com doses mais elevadas, são mediadas por membranas celulares (citoplasmática e de organelas), sendo o tempo de resposta rápido em segundos ou minutos. Os efeitos das ações não genômicas específicas ocorrem em poucos minutos e são mediadas pelos receptores de membrana celular seletivos dos corticóides. As ações não genômicas inespecíficas apresentam seus efeitos em segundos, conseguidos com altas doses, resultam de interações com membranas biológicas e modificações no metabolismo energético celular^{(10),(12)}.

Os medicamentos corticóides em suas diferentes formulações apresentam resultados variáveis em suas ações, na dependência da droga, da dose, da via de administração e do modo de administração (horário, frequência, duração do uso e dose cumulativa).

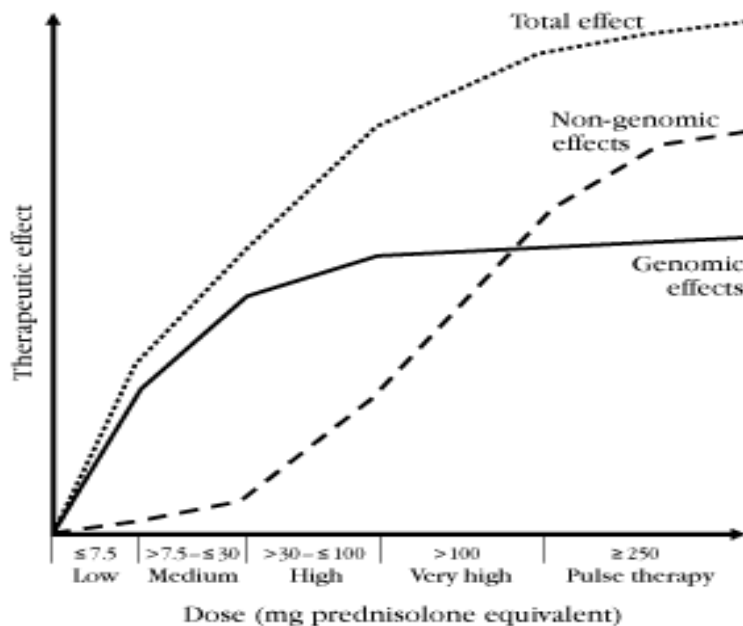


Figura 4. Ação genômica e não genômica caracterizadas de acordo com a dose de prednisona ou equivalente. As ações genômicas com doses de 7,5 a 100 mg. Doses mais elevadas são necessárias para os efeitos não genômicos, com mecanismo de ação em receptores de membrana celular. A pulsoterapia com altíssimas doses, acima de 250 mg de prednisona.⁽¹²⁾

A dose tem importância especial na saturação dos receptores citoplasmáticos dos corticóides. Quanto maior a dose mais receptores são ocupados. Estudos mostram que a prednisona pode ter seus efeitos conhecidos para aplicação clínica, considerando-se as doses em cortes de 7,5 mg, 30 mg, 100 mg e 250 mg de prednisona ou equivalente (figura 4). Com menos de 7,5 mg ao dia, é considerada como dose baixa, menos de 50% dos receptores são ocupados. Essa dose é utilizada como manutenção em algumas situações clínicas e produz poucos efeitos adversos⁽¹²⁾.

Acima de 7,5 mg e menos de 30 mg ao dia de prednisona considera-se como dose média em que a ocupação de receptores citoplasmáticos está acima de 50% e abaixo de 100%. São doses usadas em diversas situações clínicas de doenças reumáticas. Seus efeitos adversos são consideráveis e dose-dependente, com atenção especial ao aspecto cumulativo se usado por tempo prolongado⁽¹²⁾.

As doses altas, com o uso de mais de 30 mg e menos de 100 mg ao dia, apresentam quase completa saturação dos receptores, sendo maior a saturação quanto mais próxima de 100 mg ao dia, em que seus efeitos genômicos são mais efetivamente observados. São doses usadas em situações graves e agudas e não devem ter uso por tempo prolongado pela ocorrência de graves efeitos adversos⁽¹²⁾.

Doses muito elevadas, acima de 100 mg ao dia, há completa saturação dos receptores ocupados. Com essas doses pode haver melhora dos efeitos por alterações na farmacodinâmica como ocupação e reocupação de receptores, assim como aumento de síntese e expressão de receptor. Mas os benefícios adicionais são provenientes dos efeitos não genômicos. São doses usadas com sucesso em piora de quadro clínico de doenças reumáticas acometidas por vasculites. Essa dose não pode ser usado por tempo prolongado sob pena de surgimento de efeitos adversos dramáticos⁽¹²⁾.

A dose para pulsoterapia é elevadíssima, acima de 250 mg ao dia de prednisona ou equivalente, por um ou poucos dias e suspensas abruptamente. A terapia é usada atualmente em situações com condições clínicas agudas e graves de LES, vasculite, polimiosite e artrite reumatóide. Esse modo de uso tem conseguido a regressão de piora ou de formas severas de doenças reumáticas em uma grande proporção de casos e relativamente com baixos efeitos colaterais^{(10),(12),(13)}.

As doses de prednisona usadas no presente estudo são doses consideradas como imunossupressivas pelos seus efeitos genômicos. Essa é a razão da prednisona em certos momentos ser citada como imunossupressor, embora nas publicações tem a classificação própria de corticóide antiinflamatórios.

As ações dos corticóides na função ovariana são mais difundidas em trabalhos científicos pelas interferências sobre o eixo hipotálamo-hipofisário. É relevante a repercussão clínica do uso de corticóide no eixo hipotálamo-hipofise-ovariano (HHO). São conhecidas as características funcionais e interrelações dos eixos hipotálamo-hipofise-adrenal (HHA) e gonadal, no caso o ovário. A parte hipotalâmica do eixo HHA localiza-se no núcleo paraventricular e do eixo HHO em células dispersas na área médio basal e pre-óptica⁽¹⁴⁾. No entanto estudos em animais têm demonstrado sinapse neuronal entre essas áreas hipotalâmicas e evidência da possível interferência de corticotrofina e corticóide no eixo gonadal. Algumas situações clínicas em mulheres como exercícios extenuantes, baixo peso e estresses, têm evidenciado os efeitos do cortisol inibindo o eixo HHO.^{(15),(16)}

O corticóide endógeno tem ritmo de produção pulsátil e circadiano, com repetição do modo de produção a cada 24 horas. Se considerado o ritmo normal de vigília (dia) e sono (noturno), às 8 horas da manhã é o horário em que a concentração de cortisol é mais elevada, reduzindo com a evolução do dia. Por volta das 16 horas a concentração de

cortisol é reduzida em 50% e a concentração mais baixa é observada a meia-noite. Após esse período, volta a se elevar e atinge de novo o pico máximo às 8 horas. Já a produção das gonadotrofinas, de estrogênio e progesterona, embora pulsáteis tem seu modo de produção repetido a cada ciclo menstrual em média em um mês, ou seja ciclo ultradiano. O ritmo pulsátil do hormônio luteinizante (LH), de alta frequência na fase folicular em relação a segunda fase do ciclo, é fundamental para a normalidade do ciclo ovulatório.^{(15),(16)}

Estudo clínico em mulheres eumenorreicas submetidas a dose fracionada de 10 e 20mg de hidrocortisona injetável apresentaram resultados consistentes com supressão do eixo HHO. Pacientes de 19 a 38 anos no referido estudo foram monitoradas pela dosagem do LH, do hormônio folículo estimulante (FSH), do 17-beta estradiol e progesterona no sangue. Os resultados sugeriram que o cortisol tem ação inibitória no hipotálamo e na hipófise. Houve a ocorrência de redução da frequência de pulso do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) hipotalâmica, e da secreção hipofisária de LH e FSH. Foi observado que o cortisol reduz a frequência de pulsos do LH, prolongando o intervalo de pulso sem alterar a amplitude⁽¹⁷⁾.

A ciclofosfamida, outro dos IS pesquisados, mostrada nas figuras 1, 2 e 5, já era conhecida desde a Primeira Guerra Mundial, quando já se sabiam os efeitos tóxicos, do gás mostarda de enxofre. Em 1942, estudos clínicos da equipe de Gilman, utilizando várias mostardas em pacientes com linfoma, inauguraram a era moderna da quimioterapia anticâncer⁽⁸⁾. Classificada como alquilante, a ciclofosfamida tem se mostrado eficaz no tratamento da nefrite lúpica grave e são utilizadas de rotina em situações específicas no ambulatório de reumatologia da Faculdade de Medicina⁽¹⁾.

A denominação de alquilantes para a ciclofosfamida é motivada pela capacidade de formar ligações covalentes por alquilação (inserir um grupo alquil) de vários componentes nucleofílicos, como grupos fosfato, amino, sulfidril, hidroxila, carboxila e imidazol. Os efeitos imunossupressores estão, diretamente, relacionados com a alquilação do DNA (figura 3). Na dependência das doses de ciclofosfamida e das lesões dos ácidos nucleicos pode ocorrer elevada quantidade de apoptose o que pode impedir a proliferação celular, e nos casos de células T, a resposta imunológica⁽⁸⁾.

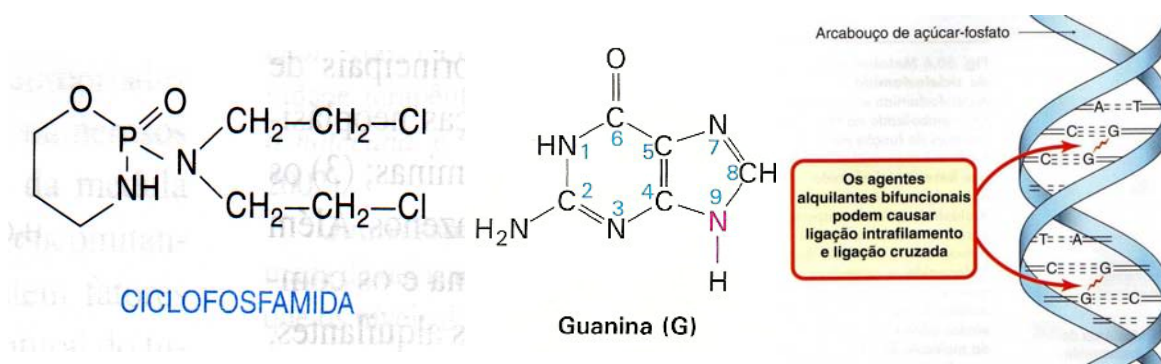


Figura 5 – Fórmula planar da estrutura da ciclofosfamida, à esquerda e da guanina no centro. À direita, filamento de DNA dupla fita, mostrando a ação do agente alquilante⁽¹¹⁾.

A ciclofosfamida se destaca, hoje, por sua eficácia no tratamento de nefrite lúpica grave, mostrando resultados melhores em relação ao corticóide na prevenção da exacerbação da nefrite lúpica⁽¹⁸⁾.

Por outro lado, a ciclofosfamida tem sido associada à ocorrência de alterações menstruais nas pacientes em tratamento de lupus eritematoso sistêmico. A amenorréia é citada em 11,7 - 37,3% ^{(19),(20),(21)} e a falência ovariana prematura em 11,3 – 14,9% das pacientes^{(20),(21)}. A dose cumulativa foi de 28 g no grupo com falência ovariana prematura e de 15 g no grupo sem ocorrência de falência ovariana prematura⁽²²⁾. A incidência da mesma aumenta, significativamente, com o avanço da idade das pacientes em uso da ciclofosfamida, que é importante a partir de 30 anos⁽¹⁸⁾.

Estudos, inclusive randomizados, têm considerado como superior o pulso de ciclofosfamida em relação ao pulso de corticosteróide, quando comparados e utilizados de forma isolada na prevenção da exacerbação da nefrite lúpica. É uma forma que utiliza doses elevadas de imunossuppressores, que se prolongada no tempo, combinam dois fatores de risco para toxicidade ovariana⁽²³⁾.

O mecanismo da toxicidade ovariana pela ciclofosfamida, tem sido bem demonstrado por meio de estudo animal. A injeção intraperitoneal de 100 mg/Kg de ciclofosfamida reduz os folículos ovarianos em ratas, aproximadamente 63%, com a consequente redução da produção de estrogênios. Por meio do mecanismo de *feedback*, há elevação das concentrações de FSH, com desenvolvimento acelerado de novos folículos ovarianos primordiais mais sensíveis aos efeitos tóxicos da ciclofosfamida. A manutenção

desse ciclo vicioso intensifica a diminuição de folículos ovarianos. O conhecimento desse mecanismo patogênico orienta os estudos de métodos de proteção ovariana à toxicidade da ciclofosfamida⁽²⁴⁾. Esses conhecimentos são importantes, uma vez que grande parte das mulheres acometidas pelo LES, ainda aguardam com anseio a maternidade.

A azatioprina, outro medicamento usado e que faz parte da avaliação do atual estudo, pertence ao grupo de análogos das purinas. Foi identificada por Hitchings e Elion, em 1942, com propriedades antileucêmicas e imunossupressoras, justificando o seu uso como medicamento imunossupressor. O efeito clínico se faz após complexa via metabólica, sendo a 6-tioguanina (6-TGN) a principal substância ativa que é incorporada ao DNA das células (figura 6). A 6-TGN com estrutura análoga às bases púricas, atuam como antagonista, inibindo a síntese de DNA, RNA e de proteínas tendo como resultado a ação imunossupressora e, também, citotóxica. Oitenta e oito por cento da azatioprina é convertida em 6 mercaptopurina (6MP) pela enzima glutathione S transferase (GSTs) que por ação enzimática produz três metabólitos importantes. O ácido 6 tiúrico (6-TU) pela ação da xantina oxidase (XO), o 6 metilmercaptopurina (6 MMP) pela tiopurina metil transferase (TPMT) e a 6 tioguanina (6TGN) e seus nucleotídeos ativos. O 6TGN e seus nucleotídeos 6-tioguanina monofosfato (6-TGMP), 6-tioguanina difosfato (6-TGDP) e 6-tioguanina trifosfato (6-TGTP) são os principais responsáveis pela ação mielossupressora⁽²⁵⁾.

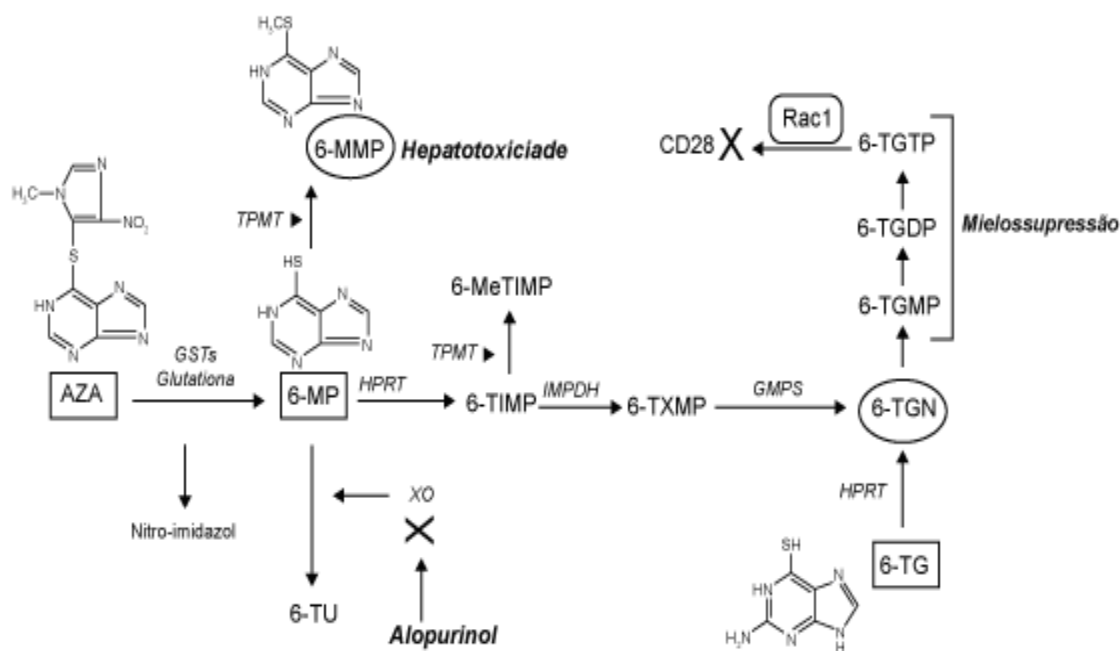


Figura 6 – Modelo de representação do metabolismo da azatioprina e localização de metabolitos ativos. Azatioprina (AZA), Glutathione S-transferase (GSTs), 6-Mercaptopurina (6-MP), Tiopurina metiltransferase (TPMT), 6-Metimercaptapurina (6-MMP), Ácido 6-tiourico (6-TU), Xantino oxidase (XO), Hipoxantino-fosforibosil transferase (HPRT), 6-Tioinosina monofosfato (6-TIMP), 6-Metilinosina monofosfato (6-MeTIMP), Inosino 5-monofosfato desidrogenase (IMPDH), 6-Tioxantosina monofosfato (6-TXMP), Guanidina 5-monofosfato sintetase (GMPS), 6-Tioguanina (6-TGN), 6-Tioguanina monofosfato (6-TGMP), 6-Tioguanina difosfato (6-TGDP), 6-Tioguanina trifosfato (6-TGTP)⁽²⁵⁾.

Estudos da função ovariana e o uso de azatioprina foram feitos em pacientes após submeterem-se ao transplante renal. Não foi observada associação entre o uso de azatioprina e alterações da função ovariana, por meio de parâmetros clínicos e dosagens hormonais. As dosagens de estradiol, LH, FSH e prolactina forma normais. Verificou-se o aumento da concentração sanguínea de testosterona e, também, aumento da pilificação. Considerou-se como causa desses efeitos o uso combinado de corticóide⁽²⁶⁾.

O metotrexato é um imunossupressor, também objeto de estudo, classificado como antimetabólito e como análogo do ácido fólico (figuras 7 e 8). O mecanismo básico de ação é a inibição da enzima diidrofolato redutase. O metotrexato, ao se ligar à diidrofolato redutase, inibe sua ação na biossíntese do nucleotídeo.

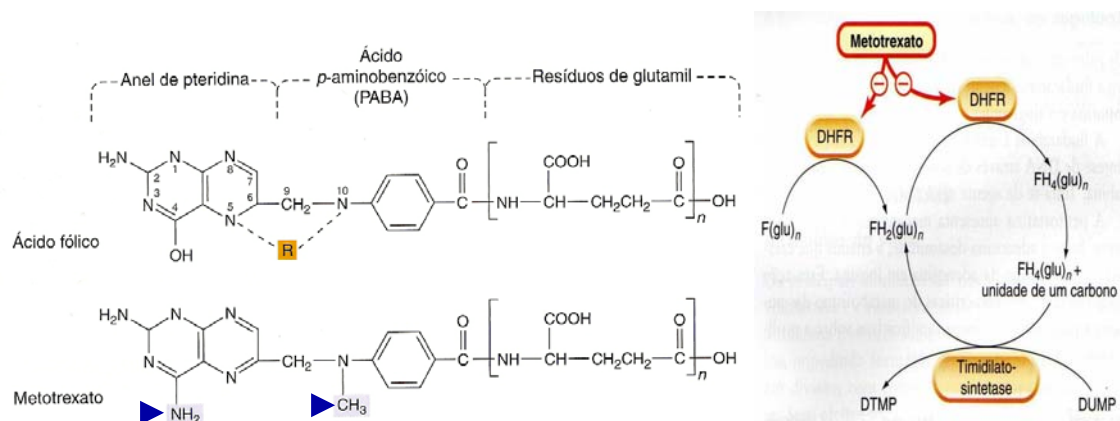
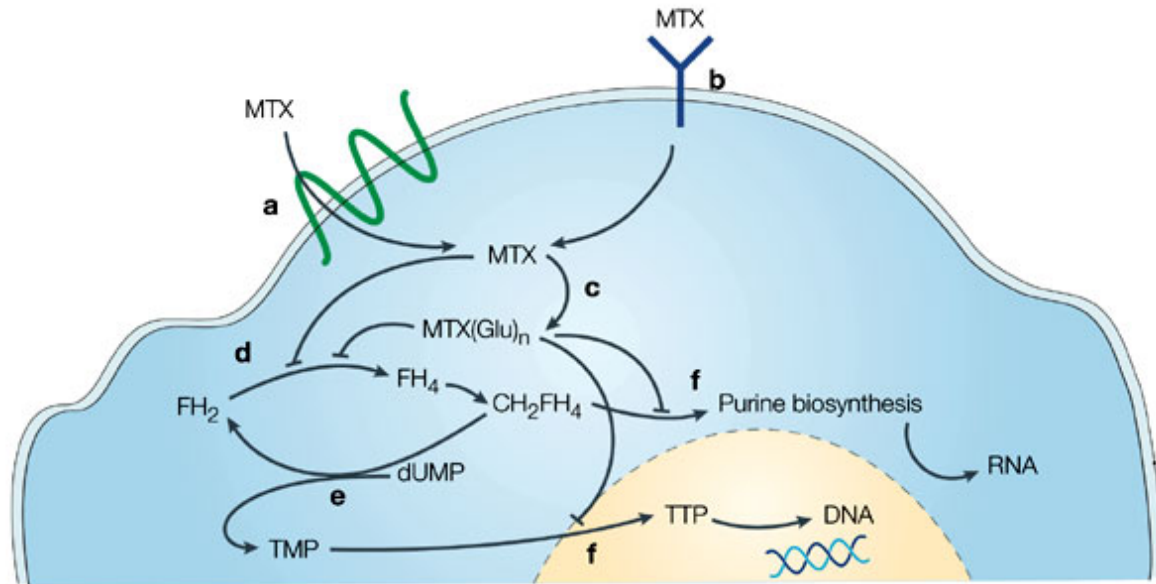


Figura 7 - O ácido fólico e o metotrexato mostrados como poliglutamatos, à esquerda. À direita verifica-se a ação do metotrexato. F(glu)_n (poliglutamato; FH₂(glu)_n (dihidrofolato); FH₄(glu)_n (tetrahydro- folato); DUMP (2'-desoxiuridilato); DTMP (2'-desoxitimidilato)⁽¹¹⁾.

A inibição da síntese de ácidos nucleicos bloqueia a proliferação celular com a proteína p53, também atuando na fase S. A proteína p53, é uma proteína nuclear fosforilada de 53 kDa, razão de seu nome. Codificada pelo cromossomo 17 tem como função principal manter a integridade do código genético. Para cumprir essa função pode atuar como fator de transcrição de outras proteínas importantes para a apoptose. Com o uso de metotrexato a célula não pode ficar, indefinidamente, em uma fase aguardando substratos, é orientada para a apoptose por ação da proteína p53⁽⁸⁾.



Nature Reviews | Cancer

Figura 8: Em destaque a ação do metotrexato. A ação na via metabólica de suprimentos para a replicação do DNA⁽²⁷⁾.

A avaliação do uso de metotrexato e dano ovariano, também, tem sido objeto de estudo e publicações em oncologia. Publicação nesta área classifica o metotrexato como de baixo risco para dano ovariano, semelhante ao 5-fluoracil, a vincristina e a bleomicina. Esta classificação especifica mais dois níveis de risco, o intermediário e o alto. A ciclofosfamida é considerada de alto risco para a falência ovariana⁽²⁸⁾, e o metotrexato como de baixo risco.

1.2 - Função ovariana, autoimunidade e imunossupressores

Vários achados sugerem a participação de hormônios sexuais no distúrbio imunológico do lupus eritematoso sistêmico, ressaltando o fato da maior incidência do problema em mulheres em idade fértil⁽¹⁾. A prevalência de LES tem grande aumento após a puberdade feminina e ocorrência inversa com a menopausa. A doença varia, também, em gravidade na dependência de menstruações e de gravidez.

Os estrogênios estimulam as doenças dependentes de processo imunológico derivado de células CD4 T helper 2 (CD4Th2) e de células B. Já os androgênios interferem

com aumento da atividade celular em doenças com elevação de CD4 T helper 1 (CD4Th1) e CD8+. As doenças mediadas pela atividade linfocitária dominante por Th2 são condições mais frequentes nas mulheres do que as com atividade predominante Th1. Dentre as doenças autoimunes Th2 o LES é a quinta mais freqüente, precedida pela tireoidite de Hashimoto, síndrome de Sjogren, Doença de Addison e esclerodermia, com 89% de ocorrência no sexo feminino⁽⁴⁾.

As mulheres tem títulos de imunoglobulinas em níveis basais mais elevados e produzem mais quantidade de imunoglobulina em resposta à infecção ou imunização. Esses valores maiores são diferentes do sexo masculino, e aparecem inicialmente com a puberdade persistindo somente no período reprodutivo. Estudos experimentais em hamsters a produção de anticorpos em animais sadios demonstra que apenas os do sexo feminino apresentam concentrações detectáveis de anticardiolipina e de anticorpo anti-DNA de dupla fita (dsDNA) (ds=double stranded). Outro fato é que o 17-beta estradiol induz uma expressão sustentada de anticorpo anti-dsDNA⁽⁴⁾.

Os estrogênios interferem no processo de apoptose. Pacientes com LES têm alterações na apoptose celular e na depuração de partes celulares apoptóticas. Os estrogênios aumentam a expressão do Fas ligante dos monócitos e sua atividade apoptótica. Em estudo controlado, fagócitos de pacientes com LES têm menor capacidade de depuração de células apoptóticas que pacientes sadias. Por outro lado, o estrogênio potencializa a sobrevivência de clones de células T autorreativas. As células T de pacientes com LES têm níveis de Bcl-2 mais elevados que as dos pacientes controle. Os estrogênios, atuam aumentando a expressão de proteínas antiapoptóticas Bcl-2. O estrogênio por meio da proteína Bcl-2 impede, a indução de tolerância imunológica⁽⁴⁾.

Não apenas o lupus, mas as doenças autoimunes em geral tem sido relacionadas a graves alterações ovarianas e relacionadas como causas de falência ovariana prematura (FOP). As doenças autoimunes (DAI) são responsabilizadas por cerca de 20% das FOP. Em pacientes com FOP são encontrados anticorpos antiovarianos em 67-74% delas, e se houver uma DAI associada, esta frequência eleva-se para 75-84%⁽²⁹⁾.

Além dos anticorpos antiovarianos, os receptores gonadotróficos, também, são alvos de defeitos de autoimunidade. Estas alterações podem produzir anticorpos que bloqueiam diretamente o FSH ou a síntese protéica desses hormônios pelo DNA na

produção de FSH. Outros anticorpos são direcionados para a zona pelúcida, matriz extracelular que envolve o ovócito. Essa alteração está presente em 5,6% das mulheres com infertilidade e 9% daquelas com FOP. Um quarto grupo denominado anticorpo para células produtoras de esteróides são estudados, eles podem ser citotóxicos para as células ovarianas: da teca, hilares, da granulosa e do corpo lúteo. Eles são reativos, principalmente, com a 17 beta-hidroxiesteróide e também contra uma proteína de 51 kDa das células da granulosa⁽³⁾.

As lesões ovarianas por autoimunidade são confirmadas pela presença de ooforite autoimune linfocitária. No estudo histológico, a quantidade de folículos se encontrados vai depender da extensão da lesão dos ovários. O estudo imunohistoquímico com imuno peroxidase é utilizado para caracterizar a natureza linfocitária da infiltração. A infiltração consiste de células T, células plasmáticas e agregados difusos de células B⁽²⁹⁾.

Na maturidade sexual, o ciclo menstrual coincide com uma dinâmica ovariana de crescimento folicular numa primeira fase, e após a ovulação a formação do corpo lúteo. A primeira fase é caracterizada pela proliferação celular e a segunda pela regressão do corpo lúteo. Esta regressão se faz de forma programada, pois o corpo lúteo atua como glândula autolimitada a 14 dias caso não haja gravidez, utilizando-se do mecanismo de apoptose. Os ovários, por esses motivos, ficam suscetíveis a ação de antiproliferativos na primeira fase, e na segunda a possíveis consequências de uma apoptose defeituosa.

Os folículos ovarianos apresentam diferentes sensibilidades a toxinas, razão pela qual é usada a classificação em primordiais, em crescimento e pré-ovulatórias para análise de resultados. Como a resposta é diferente para diversos folículos em tamanho e quantidade de células foliculares, tamanho e fase do ovócito e características das células tecais, isso tem importância para os quadros clínicos de infertilidade e falência ovariana prematura⁽³⁰⁾.

As pesquisas realizadas em humanos e em outros animais têm verificado diferentes sensibilidades dos ovários para substâncias tóxicas. Em roedores a utilização de agentes alquilantes, hidrocarbonetos aromáticos cíclicos ou radiações ionizantes destroem, principalmente, folículos primordiais. Em mulheres e outros primatas do sexo feminino, agentes alquilantes e radiação ionizante tem maior efeito em folículos maiores e pré-ovulatórios⁽³⁰⁾.

O mecanismo, pelo qual as substâncias citotóxicas ovarianas quimioterápicas e imunossupressoras, atuam não é completamente conhecido. O exame histológico dos ovários após a ação desses medicamentos apresenta diminuição acentuada de folículos primordiais, diminuição do número de oócitos, áreas de atrofia e fibrose. Os agentes alquilantes atuam nas células ovarianas das mulheres de duas maneiras: pela lesão celular irreversível e pela parada de progressão do ciclo celular. Ao nível subcelular macromoléculas como DNA, enzimas e outras proteínas são danificadas por alquilação. O alvo primário no dano ovariano são as células da granulosa e os folículos primordiais e a alteração celular básica é a apoptose como mecanismo responsável pela redução de folículos. Lesões de vasos sanguíneos e fibrose focal na cortical ovariana são padrões adicionais encontrados como lesão ovariana⁽³¹⁾.

Nas pacientes lúpicas são comuns as irregularidades menstruais com aumento, redução ou ausência de menstruação, o que, repetido por mais de três meses, configura o quadro de amenorréia. O ciclo menstrual normal, na idade fértil, apresenta intervalos de 29 dias (mais ou menos cinco dias), durante três a oito dias e com volume diário de 30 a 80 ml. A normalidade do ciclo menstrual é garantida pela anatomia ginecológica, pela produção adequada de hormônios, pelos folículos ovarianos e pela perfeita interação do eixo HHO^{(32),(33)}.

As pacientes com LES podem apresentar hemorragia uterina, devido a trombocitopenia ou em situações pertinentes ao tratamento de complicações como a trombose. Podem, ainda, apresentar hemorragia uterina disfuncional, devido a doença ou não e ao tratamento. Estudos de alterações menstruais demonstrando a maior incidência em pacientes lúpicas jovens tratadas com ciclofosfamida variam de acordo com o método de administração. Pela via endovenosa as pacientes apresentaram oligomenorréia em 20% e amenorréia em 31% dos casos, quando por via oral, ocorreu oligomenorréia em 33% e amenorréia em 17%⁽³⁴⁾.

A alteração menstrual, com aumento ou redução do sangramento, pode provocar anemia e dificultar a anticoncepção baseada na presunção do dia da ovulação, respectivamente. Alteração menstrual pode ser um sintoma prévio de insuficiência relativa ou absoluta dos hormônios femininos. A insuficiência absoluta devido à diminuição de folículos pode redundar em perda da fertilidade⁽²⁹⁾.

Amenorréia pode ser a expressão clínica de alterações ovarianas mais graves devido à intensa redução da quantidade de folículos ovarianos. A baixa produção de hormônios ovarianos antes dos 40 anos pode levar à falência ovariana prematura, caracterizada pela perda temporária ou definitiva da função gonadal⁽²⁹⁾.

A menopausa precoce, a forma da falência ovariana prematura definitiva, incide em 1% das mulheres e entre 4 e 18% dos casos correspondem à causa de amenorréia^{(35),(36)}. A função do ovário na vida da mulher, entre a puberdade e a menopausa, é bastante definida e sua ciclicidade mensal é o resultado de uma estrutura endócrina evolutiva, com proliferação celular periódica do parênquima, além do desenvolvimento do ovócito. Esta funcionalidade é suscetível a alterações em doenças sistêmicas, ou à ação de medicamentos usados em tratamentos, o que parece acontecer no LES⁽³⁷⁾. Assim como a menopausa, a falência ovariana prematura pode trazer consequências danosas à saúde das pacientes. São conhecidas as alterações de perfil lipídico com risco para corionariopatia, a perda de massa óssea e o desenvolvimento de osteoporose. A qualidade de vida, também, fica comprometida pela hipotrofia genital, pela perda acelerada da elasticidade da pele e pelo aspecto de envelhecimento precoce⁽³⁶⁾.

1.-3 Relevância

A utilização dos imunossupressores no lupus eritematoso sistêmico merece o registro dentre os avanços consideráveis no tratamento moderno dessa doença. O efeito imunossupressor é importante para inibir a reação autoimune indesejável no lupus. Entretanto, este efeito pode ser acompanhado de toxicidade celular indistinta. A citotoxicidade é importante em relação ao ovário porque, sendo tóxico para as células da granulosa, promove atresias e redução do número de folículos, e pode ser responsabilizada pela falência ovariana prematura⁽²⁹⁾.

A citotoxicidade ovariana em função do uso de imunossupressores tem orientado a pesquisa para a produção de medicamento capaz de proteger os ovários da toxicidade do ciclofosfamida⁽³⁸⁾. Pesquisadores utilizam a administração de análogos de GnRH em animais o que suprime a atividade metabólica das células da granulosa. A supressão é verificada pela redução da incorporação de timidina marcada pelo tecido ovariano. A

redução da atividade e a consequente redução da proliferação celular protegem os ovários de animais da toxicidade, quando tratados com ciclofosfamida⁽³⁹⁾.

Os distúrbios da menstruação, a redução da fertilidade e a antecipação da menopausa constituem um conjunto de possíveis alterações que dão magnitude à importância do estudo deste tema.

As ações médicas têm diminuído o índice de mortalidade por LES. A mortalidade que era de 50% em três anos na década de 1950 foi reduzida para 7% em 5 anos em 1976. Das complicações tardias do LES, atualmente, a falência ovariana ocupa o quinto lugar precedido pela osteoporose, insuficiência renal, doença arterial coronariana e osteonecrose. Com a redução da mortalidade ganham realce as condições mórbidas, devido às complicações de longo prazo da doença, ou pelos efeitos adversos dos tratamentos utilizados. Em benefício destas pacientes, faz-se necessário um esforço maior para a redução da morbidade. E, também, o redirecionamento para estudos multidisciplinares que orientem os cuidados especiais exigidos pela presença de LES⁽⁴⁰⁾.

Em nossa região são poucas as pesquisas sobre este tema, e não encontramos publicações semelhantes em avaliação de pacientes lúpicas. O lupus não é uma doença de prevalência alta, mas a procura ao Serviço de Reumatologia é alta, por ser um serviço de referência para todo Estado de Goiás.

As graves complicações e a complexidade das condutas exigem estudo e aperfeiçoamento contínuo. Desejamos verificar diversos aspectos da realidade das pacientes de nossa região e do serviço que oferecemos. Assim é importante criar conhecimentos para oferecer informações úteis às pacientes e aos profissionais para melhor conduzi-las com suas doenças. O conjunto foi motivador da justificativa e da relevância desse estudo.

2.Objetivos

O presente estudo tem a finalidade de verificar os possíveis efeitos do tratamento imunossupressor sobre a função ovariana em pacientes com diagnóstico de lupus eritematoso sistêmico. Definem-se como objetivos específicos:

- Identificar as alterações da função ovariana por meio das alterações do ciclo menstrual;
- Correlacionar o tipo de imunossupressor, o tempo de uso e a alteração da função ovariana;

3. Metodologia

3.1 - Desenho do Estudo

Este é um estudo descritivo, feito em corte transversal sobre uma população de pacientes com diagnóstico de lupus eritematoso sistêmico em seguimento no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás.

3.2 – Casuística

A população de estudo foi composta por 87 mulheres portadoras de LES, com idades entre 14 e 39 anos, em tratamento no Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás.

O Ambulatório de Reumatologia é utilizado como estrutura de atendimento público de saúde e funciona como local de ensino para o Curso de Medicina e para o Serviço de Residência Médica em Clínica Médica. Está localizado na cidade de Goiânia, que possui 1.225.410 habitantes (IBGE, 2000) e é a capital do Estado de Goiás, situada na região Centro-Oeste do Brasil. O ambulatório é referência para todo o Estado e regiões circunvizinhas.

A amostra ficou constituída por pacientes atendidas de janeiro de 2007 a novembro de 2008, selecionadas segundo critérios de inclusão e exclusão pré-definidos.

3.3 - Métodos

O protocolo de avaliação incluiu exame médico clínico, ginecológico e dados obstétricos. As pacientes que apresentaram irregularidade menstrual foram submetidas ao exame de ultrassonografia para avaliação da anatomia do útero e dos ovários. As

irregularidades menstruais foram classificadas tendo como referência a *normalidade* (eumenorréia) caracterizada por sangramento entre 21 e 35 dias, e quantidade entre 20 e 80 ml, por dois a sete dias. Agrupou-se as alterações segundo se manifestem por excesso ou diminuição no fluxo, espaçamento ou duração do sangramento sendo *hipermenorréia*, quando há sangramento menstrual por mais de sete dias; *menorragia*, quando o volume de sangramento é maior que 80 ml no período; *polimenorréia*, em caso de sangramento com intervalo menor que 24 dias; *hipomenorréia*, se apresentar menos de três dias de menstruação; *oligomenorréia*, quando ocorrer intervalo maior que 34 dias entre as menstruações e *amenorréia secundária*, se houver intervalo de mais de 90 dias entre os sangramentos após a ocorrência da menarca⁽³²⁾.

A anatomia uterina e ovariana foi avaliada pela ultrassonografia. Considerou-se como volume uterino normal aquele contido entre valores de 30 a 120 cm³, utilizando-se como método de mensuração o produto dos diâmetros longitudinais, anteroposterior e lateral pela constante 0,5233 (cálculo de volume como o de uma estrutura elipsóide). Aceitaram-se as medidas de 3 a 9cm³ como volume ovariano normal, utilizando-se como método de mensuração o produto dos diâmetros longitudinal, ântero-posterior e lateral pela constante 0,4233 (fórmula de cálculo de volume para estrutura elíptica).

Aquelas mulheres que apresentaram alterações na função ovariana, expressa por amenorréia secundária, foram submetidas às dosagens de hormônios ovarianos estradiol e progesterona, e a dosagem de gonadotrofinas hipofisárias, FSH e LH, como instrumento de pesquisa da falência ovariana. Para o diagnóstico da falência ovariana prematura foi tomado como referência o estradiol em concentração inferior a 40 picograma/mL e gonadotrofina FSH com valores superiores a 40 mUI/mL, se confirmados com dosagem repetida após 30 dias.

Os resultados foram agrupados usando-se como referência o imunossupressor utilizado e os dados da função ovariana normal ou alterada. Para a análise estatística foi utilizado o teste do qui quadrado, aceitando-se 5% como nível de significância ($p < 0,05$).

A rotina do Serviço de Reumatologia do HC/UFG utiliza os seguintes esquemas, para situações específicas, como se descreve no Quadro 1.

Quadro 1: Protocolo de utilização de imunossupressores Serviço de Reumatologia da Faculdade de Medicina –UFG.

Medicamento	Doses	Via	Período
Ciclofosfamida	0,75g/m ² até 1g	Endovenosa	Única mensal
Hidrocortisona	15 - 240 mg	Endovenosa	Dia
Prednisona - dose inicial	1 mg/Kg/dia	Oral	2-3x dia
Prednisona - manutenção	5-10 mg/dia	Oral	2-3x ao dia
Metotrexato	10 -25 mg/m ²	Oral – IM ou EV	Semanal
Azatioprina	2 - 3 mg/Kg*	Oral	Dia

*ou 120 mg/m²/dia

3.4.- Critérios de inclusão

Assumiram-se como critérios para inclusão no grupo amostral estar a mulher inscrita no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFG; haver apostado seu consentimento para participação na pesquisa conforme exigências legais e éticas; estar na faixa etária contida entre a menarca e os 40 anos e apresentar diagnóstico comprovado de lupus eritematoso baseado nos critérios de classificação estabelecidos pelo Colégio Americano de Reumatologia em 1982 e modificados em 1997 ^{(41),(42)}.

3.5.- Critérios de exclusão

Consideraram-se como critérios para exclusão do grupo amostral: o uso de anticoncepcional hormonal; ser a mulher hysterectomizada ou apresentar recusa na participação, em qualquer momento da pesquisa.

3.6- Material, equipamento e técnica

Os exames de ultrassonografia foram realizados em aparelho de ultrassom da marca Toshiba ECCOCEE, fabricado pela empresa Toshiba. Foi utilizado transdutor endovaginal de 6MHz, modelo PVF 64155, para exames pela via vaginal e transdutor convexo de 3,75 MHz, modelo PVF 375A, para exame através do abdome (com a bexiga cheia), em pacientes que se consideraram virgens ou que preferiram essa técnica.

Nos exames bioquímicos foram utilizados os métodos da quimioluminescência, com os resultados emitidos nas seguintes unidades: estradiol sérico em picograma/mL, progesterona sérica em ng/mL, FSH sérico em mIU/mL, LH sérico em mIU/mL. Utilizou-se a estrutura do Laboratório do Hospital das Clínicas e a coleta de sangue foi feita por meio da veno punção braquial.

Foi utilizado formulário padronizado para a coleta de dados categóricos, dados para análise clínica e laboratorial e dados de atividade da doença, utilizando-se o modelo SLEDAI^{(41) (42)}.

O projeto de trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (Protocolo CEPMHA/HC/UFG/142/06 de 30/11/2006 (anexo) e conduzido segundo a Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que gere a realização de pesquisa envolvendo seres humanos.

3.7- Análise Estatística

Para o estudo estatístico foram consideradas as variáveis nominais: a cor da pele, tipo de IS usado, alteração menstrual e o uso de antimalárico. A idade no período do estudo e na época da menarca, o tempo de uso de IS, as medidas da dosagem plasmática de estradiol, progesterona, FSH e LH, o volume uterino e ovariano medidos pela ultrassonografia foram as variáveis numéricas pesquisadas.

Como ferramentas inferenciais utilizaram-se estimativas pontuais e testes de hipóteses. Para estimativas pontuais foram calculados valores de médias, desvio padrão, frequência absoluta e percentagem. Foram usados os testes de hipóteses para estudo

comparativo e procurou-se verificar a existência ou não de diferenças significativas entre as variáveis. A confirmação de significância estatística foi definida pelo limite de 5% ($p < 0,05$).

Foi realizado o estudo comparativo das características menstruais com o tempo de uso de IS, e daqueles com os diferentes grupos de medicamentos usados. Com a presença dessas variáveis contínuas e nominais, por se tratar de amostras com distribuições normais foram submetidas análise de variância (a nova).

Em outro estudo, para testar diferenças entre variáveis nominais, de alteração ou não da menstruação com uso de IS em três grupos, verificando-se tratar de amostras que não apresentaram distribuição normal, foi submetida ao teste não paramétrico do qui quadrado. Com as mesmas características, o estudo da alteração ou não da menstruação com o uso de IS em dois grupos, mas com frequência esperada menor que 5, foi realizado o teste de Fisher.

Os dados foram armazenados em planilha Excell, do pacote office 2003, e os testes realizados com o programa SPSS 10.0.

4. Resultados

A amostra do estudo foi constituída de 87 mulheres portadoras de LES, conforme definição da metodologia. Essa amostra foi distribuída em faixas etárias presentes na Tabela 1, mostrando que 9,2% de mulheres são adolescentes e média de idade $28,01 \pm 5,81$ anos.

Tabela 1 - Distribuição das pacientes com LES e usando IS segundo a faixa etária, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Faixa etária (anos)	Número de casos	
	n	%
14 — 20	08	9,2
20 — 25	20	23,0
25 — 30	27	31,0
30 — 35	23	26,4
35 — 40	9	10,4
Total	87	100,0

n=número de pacientes; IS=imunossuppressores; HC=Hospital das Clínicas; FM=Faculdade de Medicina; UFG=Universidade Federal de Goiás.

Quanto à distribuição das pacientes pela cor da pele mais da metade (55,2%) foram identificadas como mulheres brancas; 20,7% como parda; 10,3% foram identificadas como negras. Das 87 pacientes em estudo 13,8% não foram identificados a raça em relação a cor da pele.

A distribuição da idade de ocorrência da menarca é mostrada na tabela 2, variando entre os extremos de 10 e 19 anos, com a média de $13,12 \pm 1,77$ anos.

Tabela 2 - Distribuição das pacientes com LES usando imunossupressores, segundo a idade da menarca, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Idade	Número de casos	
	n	%
10 anos	2	2,4
11 anos	11	13,4
12 anos	20	24,4
13 anos	23	28,0
14 anos	9	11,0
15 anos	8	9,8
16 anos	6	7,3
17 anos	1	1,2
18 anos	1	1,2
19 anos	1	1,2
Total	82	100,0

n = número de pacientes; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

Na Tabela 3 pode-se observar a distribuição das mulheres segundo a idade em que foi feito o diagnóstico de lúpus, mostrando maior incidência (29,6%) na faixa etária compreendida entre os 16 e 20 anos e média de idade $21,40 \pm 5,75$ anos.

Tabela 3 - Distribuição das pacientes com LES e usando IS, segundo a faixa etária que foi realizado o diagnóstico, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Faixa Etária (anos)	Número de casos	
	n	%
> 10 anos	1	1,1
10 — 16	14	16,1
16 — 21	26	29,9
21 — 26	20	23,0
26 — 31	22	25,3
31 — 36	4	4,6
Total	87	100,0

n = número de pacientes; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

A tabela 4 mostra a distribuição de características menstruais que as pacientes apresentaram na pesquisa, sendo anormal em 37,9% dos casos e dentre as alterações a frequência maior foi de amenorréia em 11,5%.

Tabela 4 - Distribuição das pacientes, com LES e usando IS, segundo as características da menstruação e os tipos de alterações, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Tipo	Número de casos	
	n	%
Eumenorréia	54	62,1
Amenorréia	10	11,5
Polimenorréia	8	9,2
Oligomenorréia	5	5,7
Hipermenorréia	4	4,6
Menorragia	4	4,6
Hipomenorréia	2	2,3
Total	87	100,0

n = número de pacientes; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

Na Tabela 5, os mesmos dados da Tabela 4 são reagrupados de forma sintetizada, ainda de acordo com os tipos de irregularidades. Sendo que sangramento (+) corresponde a aumento de sangramento e sangramento (-) quando a alteração menstrual foi de menor quantidade de sangramento.

Tabela 5 - Distribuição das pacientes, com LES e usando IS, segundo as características da menstruação, com sangramento aumentado (+) ou diminuído (-), atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Característica Menstrual	Número de casos	
	n	%
Eumenorréia	54	62,1
Sangramento (+)	16	18,4
Sangramento (-)	7	8,0
Amenorréia	10	11,5
Total	87	100,0

n = número de pacientes; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

As Tabelas 6 e 8 mostram a utilização dos diferentes medicamentos imunossupressores. A Tabela 6 relaciona os medicamentos usados ao longo de todo do tratamento e a Tabela 8 os medicamentos que estavam sendo usados pelas pacientes no momento da pesquisa.

Tabela 6: Distribuição do uso de medicamentos imunossupressores ao longo de todo o tratamento, em pacientes com LES atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

IS USADOS	Número de casos	
	n	%
Prednisona	36	41,4
AZA	1	1,1
Cy	4	4,6
Prednisona+AZA	14	16,1
Prednisoma+Cy	19	21,8
Prednisona+MTX	6	6,9
Prednisona+Cy +AZA	6	6,9
Prednisona+Cy+MTX	1	1,1
Total	87	100,0

n = número de pacientes; IS = imunossupressores; AZA = Azatioprina; Cy = Ciclofosfamida; MTX = Metotrexato; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

Os antimaláricos são importantes coadjuvantes usados no tratamento do LES em pacientes com imunossupressores e a tabela 7 mostra a distribuição de uso no grupo de estudo.

Tabela 7: Distribuição do uso de medicamentos imunossupressores ao longo de todo o tratamento, e se associado ou não a antimaláricos, por pacientes com LES, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

IS usados	Uso de antimaláricos					
	Sim		Não		Total	
	n	%	n.	%	n	%
Prednisona	26	52,0	10	27,0	36	41,4
AZA	1	2,0	-	0,0	1	1,1
Cy	-	0,0	4	10,8	4	4,6
Prednisona+AZA	8	16,0	6	16,2	14	16,1
Prednisona+Cy	9	18,0	10	27,0	19	21,8
Prednisona+MTX	4	8,0	2	5,4	6	6,9
Prednisona+Cy +AZA	2	4,0	4	10,8	6	6,9
Prednisona+Cy+MTX	-	0,0	1	2,7	1	1,1
Total	50	100,0	37	100,0	87	100,0

IS = imunossupressores; AZA = Azatioprina; Cy = Ciclofosfamida; MTX=metotrexato; n = número de pacientes; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

O uso de medicamentos imunossupressores no momento da pesquisa, que foi objeto de estudo transversal, apresentaram resultados que são mostrados na tabela 8.

Tabela 8 - Distribuição do uso de medicamentos imunossupressores na época da pesquisa, pelas pacientes com LES atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

IS em uso	Número de casos	
	n	%
Prednisona	55	63,2
AZA	3	3,4
Cy	6	6,9
MTX	1	1,1
Prednisona+AZA	12	13,8
Prednisona+Cy	6	6,9
Prednisona+MTX	3	3,4
Prednisona+Cy +AZA	1	1,1
Total	87	100,0

IS = imunossupressores; AZA = Azatioprina; Cy = Ciclofosfamida; MTX= metotrexato; n = número de pacientes. HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

Para o estudo estatístico foram utilizados três modelos de agrupamentos de pacientes de acordo com o uso de imunossupressores. No primeiro modelo foi feita a distribuição em dois grupos, um grupo de pacientes que fizeram uso de prednisona, e outro composto pelas pacientes que usaram os outros medicamentos, ciclofosfamida, azatioprina ou metotrexato. Estes outros imunossupressores usados de forma individual ou em associação formou o grupo denominado outros imunossupressores (outros IS). Este modelo foi utilizado para se fazer o estudo descritivo e comparativo no intuito de testar a existência ou não de relação entre as variáveis descritas nas tabelas.

O segundo modelo de agrupamento distribuiu os IS em três grupos. Um formado pela prednisona (corticóide), outro pelos IS usados individualmente e denominado antiproliferativo, e outro formado pela associação de prednisona com outros IS e denominado de corticóide + antiproliferativo.

O terceiro modelo distribuiu os IS em quatro grupos. Um formado pela prednisona usada individualmente e outro pela azatioprina, ou ciclofosfamida, ou metotrexato, usados individualmente ou associados à prednisona.

Na tabela 9, observa-se os resultados descritivos das características menstruais em relação as pacientes com uso de corticóide individual (Corticóide) e as pacientes com uso de outros imunossupressores (Outros IS).

Tabela 9 - Distribuição segundo a característica menstrual, das pacientes com LES, e o tipo de imunossupressor em uso, divididas em dois grupos, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Característica Menstrual	Corticóide		Outros IS		Total	
	n	%	n	%	n	%
Eumenorréia	32	36,8	22	25,3	54	62,1
Sangramento (+)	13	14,9	3	3,4	16	18,4
Hipermenorréia	3	3,4	1	1,1	4	4,6
Polimenorréia	6	6,9	2	2,3	8	9,2
Menorragia	4	4,6	-	0,0	4	4,6
Sangramento (-)	10	11,5	7	8,0	17	19,5
Oligomenorréia	3	3,4	2	2,3	5	5,7
Hipomenorréia	1	1,1	1	1,1	2	2,3
Amenorréia	6	6,9	4	4,6	10	11,5

IS = imunossupressores; n = número de pacientes; (+) = aumentado; (-) diminuído; LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

A tabela 10 mostra a distribuição das pacientes quanto ao uso de corticóide individual (Corticóide) e o uso de outros imunossupressores (Outros IS) em relação ao tempo de uso (anos) dos mesmos. Através do teste de análise de variância observa-se que não houve diferença significativa ($p=0,905$) quanto a média de tempo de uso da prednisona ($6,11 \pm 5,14$ anos) e a média do tempo de uso de outros imunossupressores ($5,60 \pm 3,59$ anos).

Tabela 10 - Distribuição das pacientes com LES segundo o tempo de uso da medicação imunossupressora, divididos em dois grupos, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Tempo de uso (anos)	Número de casos	
	Corticóide	Outros IS
< 1	07	04
1 e 2	07	05
3 e 4	16	07
5 e 6	08	03
7 e 8	04	07
9 e 10	04	03
11 e 12	04	01
13 e 14	01	02
≥ 15	04	-
Total	55	32

IS = imunossupressores; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

Na tabela 11, pode-se verificar a média do tempo de uso de corticóide individual (Corticóide) e o uso de outros imunossupressores (Outros IS) em relação ao tipo de menstruação apresentada pelas pacientes. A média de tempo de uso de corticóide foi de $6,11 \pm 5,14$ anos e do uso de outros imunossupressores foi de $5,60 \pm 3,59$ anos.

Tabela 11- Média do tempo em anos de uso de imunossupressores e tipo de menstruação, das pacientes com LES atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Variável	Grupo de medicamento (Média ± DP)	
	Corticóide	Outros IS
Eumenorréia	5,29 ± 3,94	5,27 ± 3,83
Alteração menstrual	6,34 ± 5,09	4,35 ± 3,91
Amenorréia	5,75 ± 6,09	8,25 ± 4,42

LES = lúpus eritematoso sistêmico; DP = desvio padrão; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

Tabela 12: Distribuição das pacientes com LES, segundo alterações menstruais e uso de corticóide ou de outra modalidade de formulação de imunossupressor, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Características Menstruais	Corticóide		Outros IS		Total	
	n	%	n	%	n	%
Eumenorréia	47	63,2	7	70,0	54	62,1
Sangramento+	16	19,7	1	10,0	17	19,5
Sangramento-	14	17,1	2	20,0	16	18,4
Total	77	100,0	10	100,0	87	100,0

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; IS = imunossupressores; n = número de pacientes; (+) = aumentado; (-) = diminuído.

A tabela 13 mostra que não existe diferença significativa ($p=0,115$) quando se faz a associação entre as pacientes que apresentaram ou não alterações menstruais e o uso de corticóide individual (Corticóide) com o uso de outros imunossupressores (Outros IS).

Tabela 13: Distribuição das pacientes com LES, segundo tipos menstruais e uso de corticóide e outros imunossupressores (IS), atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Características Menstruais	Corticóide		Outros IS		Total	
	n	%	n	%	n	%
Eumenorreia	32	58,2	22	68,8	54	62,1
Alteração Menstrual	23	41,8	10	31,3	33	37,9
Total	55	100,0	32	100,0	87	100,0

LES = lúpus eritematoso sistêmico; IS = imunossupressores; HC = Hospital das Clínicas; M = Faculdade de Medicina; UFG=Universidade Federal de Goiás; n=número de pacientes.

p = 0,115

A tabela 14 apresenta um estudo descritivo das pacientes que fizeram uso ou não de antimaláricos de acordo com o uso de corticóide individual (Corticóide) e com o uso de outros imunossupressores (Outros IS).

Tabela 14: Pacientes com LES que usaram antimaláricos, distribuídas segundo o uso de corticóide ou de outros imunossupressores, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Antimaláricos	Corticóide		Outros IS		Total	
	n	%	n	%	n	%
Sim	37	67,3	13	40,6	50	57,5
Não	18	32,7	19	59,4	37	42,5
Total	55	100,0	32	100,0	87	100,0

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; n = número de pacientes; IS = imunossupressores.

O segundo modelo de distribuição das 87 pacientes que fizeram parte do estudo, foi feito usando-se três diferentes agrupamentos pelo uso de imunossupressores no momento da realização da pesquisa. Desses grupos, o primeiro é o de uso de corticóide em que as pacientes estavam usando prednisona no momento da pesquisa. O segundo grupo é formado pelas pacientes em uso de antiproliferativos, sendo ou ciclofosfamida, ou azatioprina ou metotrexato, de forma individual. E o terceiro grupo formado pelas pacientes que estavam usando um dos seguintes medicamentos: prednisona, e/ou ciclofosfamida, ou azatioprina, ou metotrexato em associação.

Tabela 15 – Pacientes com LES, agrupados segundo a característica menstrual e distribuídos pelos três diferentes tipos de IS em uso, atendidas no HC-FM-UFG.

Característica Menstrual	Corticóide		Antiproliferativos		Corticóide + Antiproliferativos		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Eumenorréia	32	36,8	7	8,0	15	17,2	54	62,1
Sangramento (+)	13	14,9	2	2,3	1	1,1	16	18,4
Hipermenorréia	3	3,4	-	0,0	1	1,1	4	4,6
Polimenorréia	6	6,9	2	2,3	-	0,0	8	9,2
Menorragia	4	4,6	-	0,0	-	0,0	4	4,6
Sangramento (-)	10	11,5	1	1,1	6	6,9	17	19,5
Oligomenorréia	3	3,4	-	0,0	2	2,3	5	5,7
Hipomenorréia	1	1,1	-	0,0	1	1,1	2	2,3
Amenorréia	6	6,9	1	1,1	3	3,4	10	11,5

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; n = número de pacientes; IS = imunossupressores; Sangramento(+) = sangramento aumentado; Sangramento(-) = sangramento diminuído.

O estudo procurou verificar se o uso de medicamentos imunossupressores, em seus três grupos, apresentava associação com as alterações menstruais. Não se verificou a correlação de imunossupressores de uso individual ou em associação com as alterações menstruais, como observado na tabela 16 ($p > 0,05$).

Tabela 16 - Avaliação de associação do uso de imunossupressores e alteração menstrual ou não, por pacientes com LES atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Característica Menstrual	Corticóide	Antiproliferativos	Corticóide + Antiproliferativos	P
Eumenorréia	32 (36,8)	7 (8,0)	15 (17,2)	0,616
Alteração menstrual	17 (19,5)	2 (2,3)	4 (4,6)	0,461
Amenorréia	6 (6,9)	1 (1,1)	3 (3,4)	0,933

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

A Tabela 17 mostra a distribuição do tempo de tratamento, agrupado segundo o esquema terapêutico apresentado na tabela anterior.

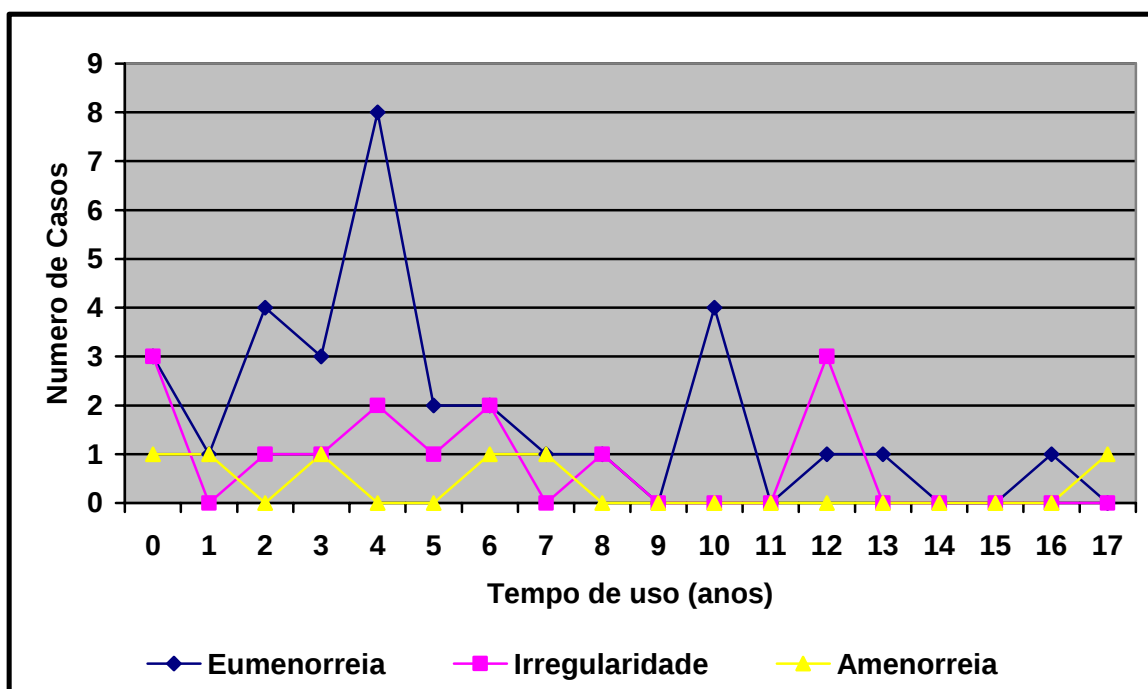
TABELA 17: Distribuição das pacientes com LES, segundo o tempo de uso dos três tipos diferentes de imunossupressores, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Tempo de uso (anos)	Número de casos		
	Corticóide	Antiproliferativos	Corticóide + Antiproliferativos
< 1	07	02	02
1 e 2	07	03	02
3 e 4	16	01	06
5 e 6	08	02	01
7 e 8	04	02	05
9 e 10	04	-	03
11 e 12	04	-	01
13 e 14	01	-	02
≥ 15	04	-	-
Total	55	10	22

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; IS = imunossupressores.

A média do tempo de uso da prednisona foi de $6,11 \pm 5,14$ anos e a do uso de antiproliferativos foi de $3,36 \pm 3,01$ anos. Já a média do tempo de uso da prednisona associada a um antiproliferativo foi $5,98 \pm 3,67$ anos.

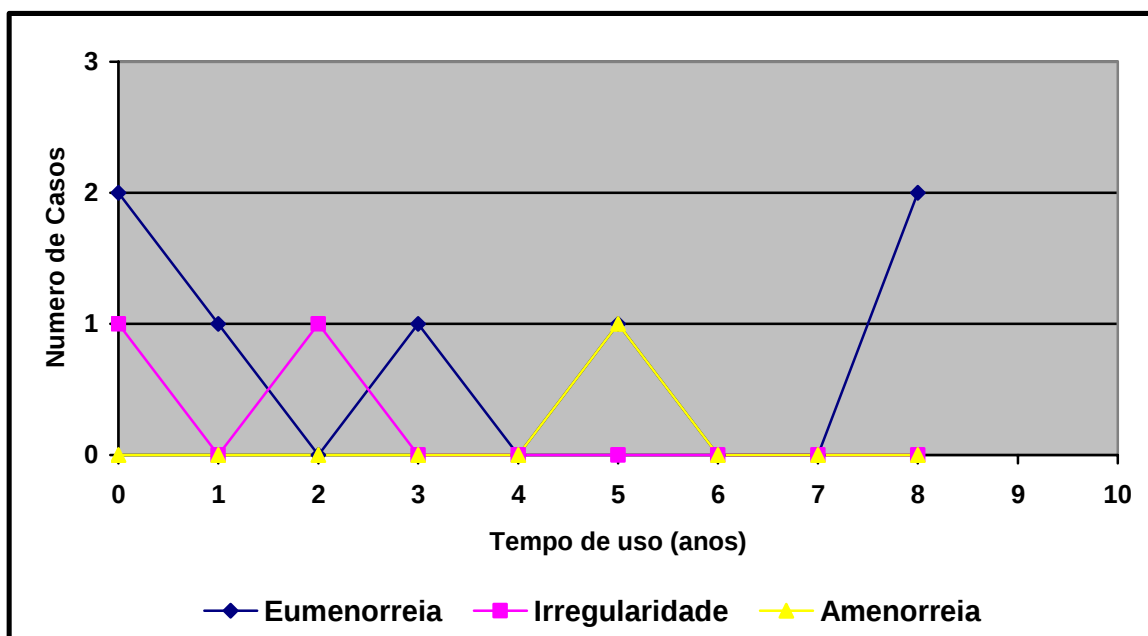
Não se comprovou associação de uso de medicamentos imunossupressores prednisona ($p=0,681$) na figura 8, antiproliferativo ($p=0,555$) na figura 9, ou do uso de prednisona + antiproliferativo ($p=0,415$) com alterações do ciclo menstrual em relação ao tempo de uso, observado na figuras 10.



$p = 0,681$

Figura 9 - Distribuição do uso de prednisona, alterações menstruais e o tempo de uso em tratamento, de pacientes com LES atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

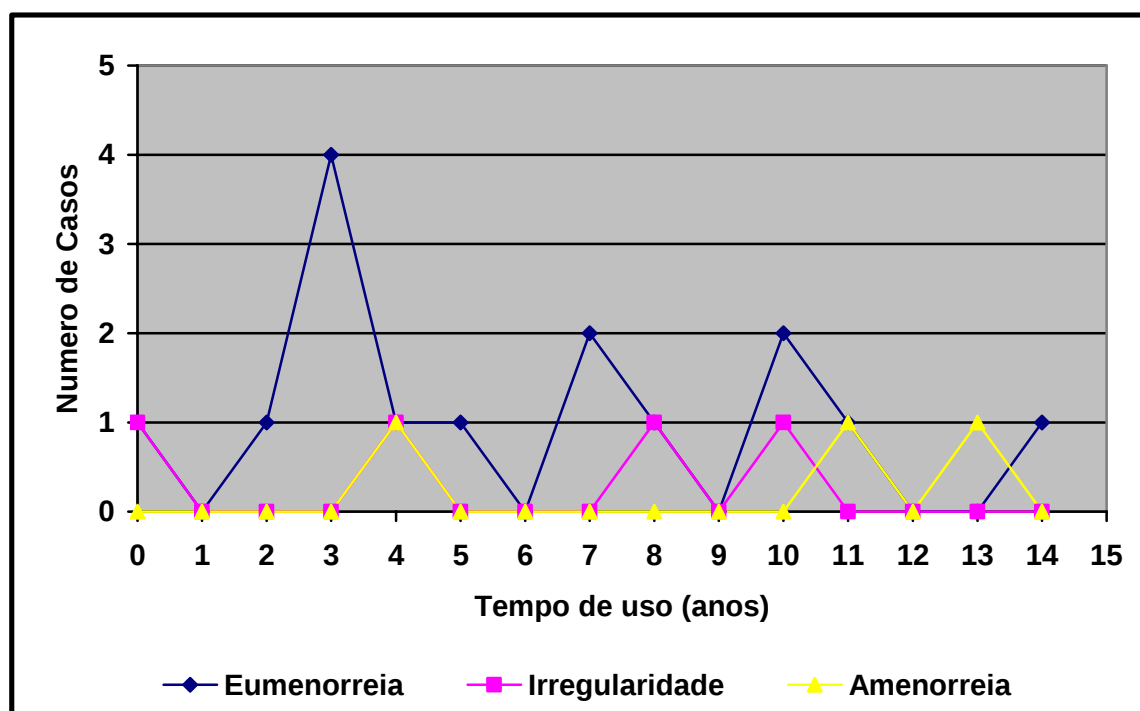
LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; IS = imunossuppressores.



$p = 0,555$

Figura 10 - Distribuição do uso de IS antiproliferativo, alterações menstruais e o tempo de uso em tratamento por pacientes com LES atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; IS = imunossuppressores



$p = 0,415$

Figura 11 - Distribuição do uso de prednisona + antiproliferativo, alterações menstruais e o tempo de uso em tratamento por pacientes com LES atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; IS = imunossuppressores.

A média dos tempos de uso dos imunossuppressores estudados para os grupos que alteraram a menstruação ou não pode ser visualizada na Tabela 18.

Tabela 18 – Média do tempo em anos de uso dos três tipos diferentes de imunossuppressores de acordo com características das menstruações, das pacientes com LES atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Variável	Grupo de medicamento (Média ± DP)		
	Corticóide	Antiproliferativos	Corticóide + Antiproliferativos
Eumenorréia	5,29 ± 3,94	3,76 ± 3,33	5,98 ± 3,95
Alteração menstrual	6,34 ± 5,09	1,67 ± 1,89	5,69 ± 4,13
Amenorréia	5,75 ± 6,09	5,00 ± 0,00	9,33 ± 4,73

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

Na comparação entre mulheres com e sem alterações menstruais não se registra associação estatisticamente significativa entre o tempo de uso de medicação e as alterações menstruais caracterizadas por menor sangramento (amenorréia, oligomenorréia e hipomenorréia).

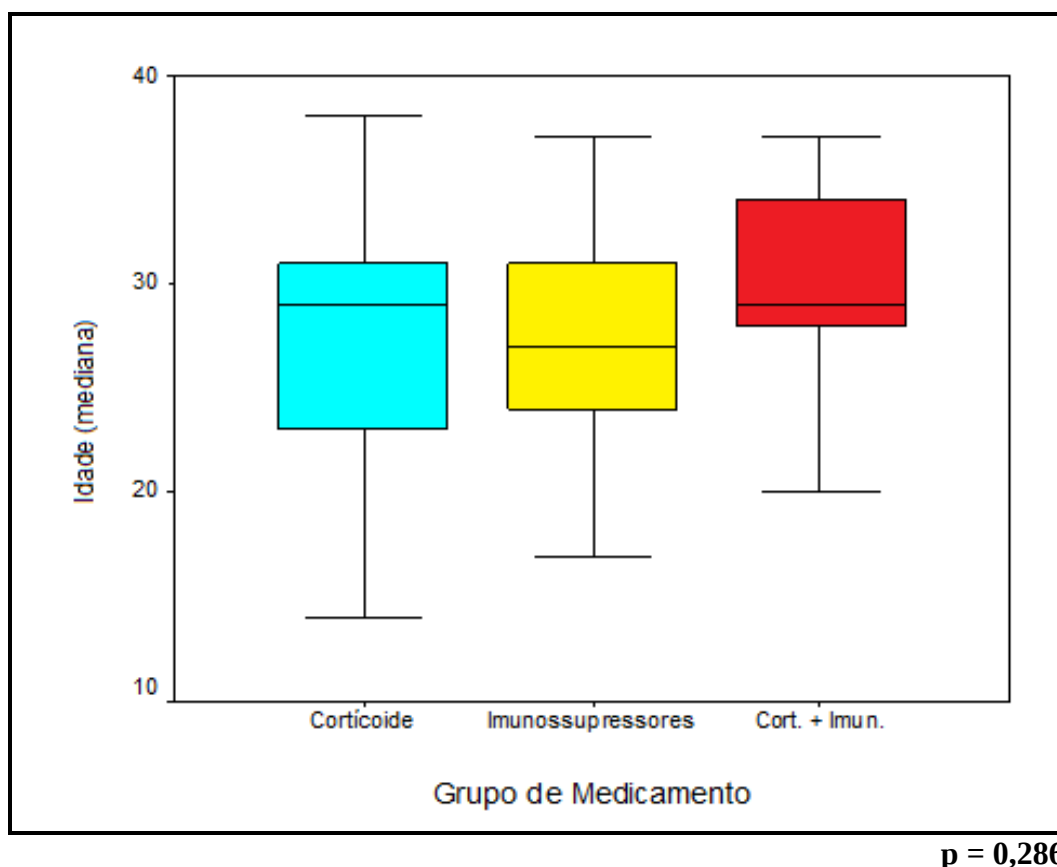


Figura 12: Mediana da idade de pacientes para medicamentos distribuídos em três diferentes grupos, de pacientes com LES atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; IS = imunossupressores.

Foi verificado que não existe diferença estatística ($p=0,286$) entre a média de idade das pacientes distribuídas de acordo com os diferentes grupos de medicamentos. Pode-se notar que a média de idade das pacientes que estavam usando como imunossupressor o corticóide prednisona de forma individual foi de $27,43 \pm 5,93$ anos. As que usaram imunossupressores antiproliferativos de forma individual $27,60 \pm 5,99$ anos. Das que usaram a associação de imunossupressores antiproliferativos e corticóide a idade média foi de $29,76 \pm 5,27$ anos. A idade média geral das 87 pacientes foi de $28,01 \pm 5,81$ anos.

O terceiro modelo para estudo estatístico distribuiu as pacientes em quatro grupos. Um grupo formado pelas pacientes que usaram exclusivamente prednisona como imunossupressor. Os outros grupos formados pelos medicamentos imunossupressores azatioprina ou ciclofosfamida ou metotrexato. Cada um deles usado de forma individual ou em associação com a prednisona.

Tabela 19 - Pacientes com LES, distribuídas de acordo com o uso de imunossupressores na época de realizações da pesquisa, atendidas no HC-FM-UG, 2007-2008.

IS em uso	Número de casos	
	n	%
Prednisona	55	63,2
Azatioprina	15	17,2
Ciclofosfamida	13	14,9
Metotrexato	4	4,7
Total	87	100,0

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; n = número de pacientes; IS = imunossupressores.

Tabela 20 – Distribuição das pacientes com LES segundo a característica menstrual e os quatro tipos de imunossupressores em uso, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Característica Menstrual	Prednisona		Azatioprina		Ciclofosfamida		Metotrexato		TOTAL	
	n	%	Abs	%	n	%	n	%	n	%
Eumenorréia	32	36,8	9	10,3	10	11,5	3	3,4	54	62,1
Sangramento (+)	13	14,9	1	1,1	1	1,1	1	1,1	16	18,4
Hipermenorréia	3	3,4	-	0,0	1	1,1	-	0,0	4	4,6
Polimenorréia	6	6,9	1	1,1	-	0,0	1	1,1	8	9,2
Menorragia	4	4,6	-	0,0	-	0,0	-	0,0	4	4,6
Sangramento (-)	10	11,5	3	3,4	4	4,6	-	0,0	17	19,5
Oligomenorréia	3	3,4	-	0,0	2	2,3	-	0,0	5	5,7
Hipomenorréia	1	1,1	-	0,0	1	1,1	-	0,0	2	2,3
Amenorréia	6	6,9	3	3,4	1	1,1	-	0,0	10	11,5

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; n = número de pacientes; (+) = aumentado; (-) = diminuído.

Tabela 21 – Distribuição das pacientes com LES de acordo com três modalidades das características menstruais e os quatro tipos de imunossupressores, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Característica Menstrual	Prednisona		Azatioprina		Cy		Metotrexato		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Eumenorréia	32	36,8	9	10,3	10	11,5	3	3,4	54	62,1
Alteração Menstruação	17	19,5	1	1,1	4	4,6	1	1,1	23	26,4
Amenorréia	6	6,9	3	3,4	1	1,1	-	0,0	10	11,5

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; n = número de pacientes; Cy = ciclofosfamida; n = número de pacientes.

Tabela 22 - Distribuição das pacientes com LES, segundo o tempo de uso da medicação imunossupressora em quatro grupos, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Tempo de uso (anos)	Número de casos				
	Prednisona	Azatioprina	Cy	Metotrexato	TOTAL
< 1	7	4	1	-	12
1 e 2	7	2	1	1	11
3 e 4	16	4	3	-	23
5 e 6	8	1	1	1	11
7 e 8	4	-	6	-	10
9 e 10	4	1	1	1	7
11 e 12	4	-	2	-	6
13 e 14	1	1	-	1	3
≥ 15	4	-	-	-	4
Total	55	13	15	4	87

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; Cy = ciclofosfamida.

Tabela 23 - Distribuição das pacientes com LES segundo a faixa etária de uso da medicação imunossupressora atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Faixa etária (anos)	Número de casos				
	Prednisona	Azatioprina	Cy	Metotrexato	TOTAL
14 — 20	7	1	-	-	8
20 — 25	11	4	2	1	18
25 — 30	14	5	4	2	25
30 — 35	16	2	3	1	22
35 — 40	7	1	6	-	14
Total	55	13	15	4	87

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás.

Na Tabela 24 estão descritos os cinco casos de falência ovariana prematura, segundo a idade e o tipo de medicação utilizada, embora em tempo e esquema terapêutico diversificados.

TABELA 24 - Distribuição das pacientes com LES, que tiveram falência ovariana prematura de acordo com a idade, tipo de medicamento em uso e tempo de uso atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Idade	Casos de FOP(*)	Meses
36 anos	Prednisona	9 meses
35 anos	Prednisona	3 anos
31 anos	Prednisona+Cy	13 anos
28 anos	Prednisona+Cy+AZA	4 anos
23 anos	Prednisona	8 anos

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; (*)FOP = falência ovariana prematura; Cy = ciclofosfamida; AZA = azatioprina.

Tabela 25 - Distribuição das pacientes com LES segundo o tempo de uso da medicação imunossupressora, divididas em dois grupos, atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Média de tempo de uso (meses) por classe		Número de casos	
		Corticóide	Outros IS
< 1	6 meses	42 meses	24 meses
1 e 2	24 meses	168 meses	120 meses
3 e 4	24 meses	384 meses	168 meses
5 e 6	24 meses	192 meses	72 meses
7 e 8	24 meses	96 meses	168 meses
9 e 10	24 meses	96 meses	72 meses
11 e 12	24 meses	96 meses	24 meses
13 e 14	24 meses	24 meses	48 meses
≥ 15	24 meses	96 meses	- meses
Total	190 meses	1194 meses	696 meses

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; IS = imunossupressores; Corticóide = 99 pacientes/ano; Outros IS = 58 pacientes/ano.

Tabela 26 – Dosagens laboratoriais da avaliação da função ovariana e parâmetros anatômicos do útero e ovários pela ultrassonografia, ambas com média e desvio padrão de suas unidades, de pacientes com LES atendidas no HC-FM-UFG, 2007-2008.

Variáveis	Eumenorréia	Alterações	Amenorréia	FOP
E2	90,90 ± 120,78	91,90 ± 64,77	115,97 ± 63,60	25,81 ± 4,74
P2	3,60 ± 4,40	2,08 ± 3,58	5,30 ± 1,41	0,24 ± 0,28
FSH	25,73 ± 34,46	39,44 ± 59,82	54,40 ± 56,07	100,97 ± 3810
LH	22,20 ± 22,49	19,83 ± 27,10	61,52 ± 81,71	51,96 ± 26,98
UT(v)	58,53 ± 43,58	59,47 ± 20,03	51,70 ± 3,25	70,72 ± 71,43
OD(v)	7,12 ± 3,62	7,21 ± 4,17	8,20 ± 2,12	4,00 ± 2,17
OE(v)	7,00 ± 6,56	7,23 ± 2,89	9,60 ± 0,14	3,27 ± 2,13

LES = lúpus eritematoso sistêmico; HC = Hospital das Clínicas; FM = Faculdade de Medicina; UFG = Universidade Federal de Goiás; n = número de pacientes; IS = imunossupressores. Alterações (pacientes com alterações menstruais); E2 (estradiol em pg/mL); FSH (em mIU/mL); P (progesterona em ng/mL); UT(v) (volume uterino em cm³); OD(v) (volume do ovário direito em cm³); OE(v) (volume do ovário esquerdo em cm³).

5. Discussão

Este estudo em pacientes portadoras de lupus eritematoso sistêmico, doença autoimune com maior prevalência na mulher em idade fértil, se fundamentou na premissa de que a doença em seu curso natural e o uso prolongado de imunossupressores no tratamento poderia prejudicar a função ovariana.

Dos grupos de medicamentos estudados o mais utilizado foi o da prednisona, seguidos pela azatioprina, a ciclofosfamida e o menos utilizado o metotrexato. A maior utilização da prednisona pode ser explicada pela maior frequência de indicações clínicas em pacientes de atendimento ambulatorial. Também, pode ser aventada a maior segurança no manuseio do medicamento, porque se espera menor quantidade ou gravidade de efeitos adversos em relação aos outros imunossupressores.

As pacientes deste estudo apresentam idade média de $28,01 \pm 5,81$ anos e o diagnóstico de LES com idade média de $21,40 \pm 5,75$ anos. Nessas pacientes sob uso de imunossupressores, foram verificados 37,9% de alterações do ciclo menstrual. A alteração menstrual é uma condição clínica esperada, pela possibilidade da própria doença desenvolver anticorpos antiovarianos com alteração da função ovariana. E, também, porque alguns imunossupressores, como é o caso da ciclofosfamida, são citotóxicos ovarianos⁽⁴³⁾.

Das três variáveis analisadas, as alterações menstruais podem ser consideradas as mais sensíveis na detecção de alteração da função ovariana. Estudos recentes verificaram alterações menstruais em 54% de pacientes portadoras de LES sem tratamento. Essas pacientes participaram como grupo controle de pacientes lúpicas em tratamento com ciclofosfamida e apresentaram idade média de $29,2 \pm 7$ anos⁽⁴⁴⁾. Outra publicação que usamos como referência, verificou alterações menstruais de 23⁽³⁴⁾ a 48%⁽⁴⁵⁾, em pacientes mais jovens que a deste estudo. Foram avaliadas alterações menstruais em jovens menores de 16 anos com LES tratadas com ciclofosfamida⁽⁴⁵⁾.

Essas diferenças de frequências são justificáveis, pois ocorrem na dependente do tipo imunossupressor utilizado, do método de administração, da dose acumulada, da idade da pacientes e da atividade ou inatividade da doença⁽³⁰⁾.

As publicações são mais concentradas em estudos de pacientes que usam a ciclofosfamida. Em nosso estudo analisamos a repercussão do uso de corticóide e de outro grupo de imunossupressores. Os dados de publicação sobre a ação de corticóide e alteração da função ovariana são poucos e contraditórios. Tem sido considerado até uma atuação protetora ovariana, quando as pacientes estão sob uso de imunossupressores citotóxicos.

A orientação clínica é que o uso concomitante de corticóide, por produzir benefício da ação protetora pode exigir menor dose do outro imunossupressor, quando associados. Para a análise das consequências do uso do corticóide, deve-se levar em conta a interferência deles na fisiologia do eixo hipotálamo-hipófise-ovariano. Os estudos demonstram que os corticóides reduzem a frequência de pulso do LH, por interferir na secreção do fator liberador de gonadotrofinas hipotalâmicas, e com este mecanismo alterar a função ovariana. Estas alterações interferem na função ovariana com diminuição de recrutamento de folículos, de proliferação das células foliculares e desenvolvimento dos ovócitos. As baixas doses de corticóides, por tempo prolongado; ou altas doses em tempo curto, alteram o ciclo menstrual e explicam casos de amenorréias em algumas situações clínicas⁽¹⁷⁾.

Quase dois terços das pacientes deste estudo, estavam usando prednisona em formulação única, e o maior contingente de pacientes com alterações menstruais (26,4%) estava neste grupo. Embora não tenha havido associação entre alterações menstruais e o uso de prednisona, deve-se levar em consideração todos os possíveis efeitos dos corticóides na função ovariana, sem desconsiderar que ao longo do tratamento ocorreu a utilização de outras drogas. Essa observação é importante porque ao analisarmos, individualmente, no grupo de uso de corticóide, houve (23/55) 41,8% de alteração menstrual e (6/55) 11,1% de amenorréia. A maioria das pacientes (41/55) 74,5% fez uso de prednisona por mais de dois anos, e algumas por até mais de 15 anos. Além deste detalhe e do uso de múltiplas drogas, também devem ser considerados as variáveis farmacológicas, os diferentes aspectos evolutivos da doença e pode ser que haja características regionais das pacientes estudadas.

A amenorréia, outra variável de estudo, foi identificada em 11,5% das pacientes desta pesquisa, como um todo.

Na literatura médica, estudo controlado e randomizado ao se analisar o uso de metilprednisolona e ciclofosfamida em uso individual ou associado em pacientes com

nefrite lúpica, verificou-se que o grupo de uso de ciclofosfamida apresentou 41% de amenorréia. Nos casos de uso associado de ciclofosfamida e metilprednisolona, a amenorréia foi de 43% e no grupo com apenas metilprednisolona, de 7,4%. Percebe-se que a ciclofosfamida contribuiu com maior causa de amenorréia, e a metilprednisolona com menor incidência. Em comparação com este estudo as pacientes estão distribuídas em grupos diferentes, no estudo randomizado as pacientes apresentando nefrite lúpica estão, provavelmente, em situação de gravidade maior, e este estudo transversal não fez este tipo de segregação⁽⁴⁶⁾.

A amenorréia, como resultado de complicação de tratamento com ciclofosfamida, apresenta em diversas publicações, ampla faixa de frequência, variando de 11,7%⁽¹⁸⁾ a 37,3%⁽²¹⁾. Em pesquisa de 298 pacientes lúpicas jovens foram encontrados 11,7% de amenorréia, mesmo sendo pacientes com características diferentes das deste estudo, por serem lúpicas jovens. Quando aquele autor segregou as pacientes que fizeram uso de ciclofosfamida, 16/133 (12,03%) evoluíram com amenorréia⁽¹⁸⁾. Estas variações ocorrem em parte pela diversidade dados demográficos dos grupos estudados e, também, pelas diferentes doses de medicamentos, de outras condições clínicas e ainda medicamentos utilizados em associação.

Em nosso estudo a participação do grupo que usou ciclofosfamida contribuiu com 5,7% de alterações menstruais e 1,1% de amenorréia. Estes valores são inferiores aos observados na literatura. Sabe-se que a dose acumulada de ciclofosfamida para produzir amenorréia permanente considerada como falência ovariana é de 20,4 g em pacientes de 20 a 29 anos e a dose de 9,3 g em pacientes com a idade de 30 a 39 anos⁽³⁰⁾. Com os resultados podemos afirmar que não foram evidenciados dados indicando efeitos citotóxicos ovarianos nas pacientes. Conjecturamos que pela experiência, e pelo uso do protocolo do serviço, os profissionais da reumatologia respeitam essas faixas de risco de citotoxicidade ovariana. Também, pode ter contribuído o uso de antimaláricos, que são considerados como protetores ovarianos nas pacientes sob uso de imunossupressores. Eles foram usados em mais da metade das pacientes tratadas e que fizeram parte da pesquisa⁽⁴⁷⁾.

As diversas ações dos medicamentos antimaláricos são conhecidas, dentre elas a ação nos mecanismos imunológicos, bloqueando o processamento de antígenos, modificando pH intracitoplasmático com redução de sítios de receptores celulares e

consequente diminuição de produção de citocina especialmente interleucina 1 e 6 (IL1, IL-6), e fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa); inibição da atividade de células natural killer (NK), e ativação de receptor Toll. O bloqueio da formação de imunocomplexos e auxílio na dissolução dos formados. Outro mecanismo pela ação antiinflamatória que ocorre por inibição da fosfolipase A2 e C, pela contraposição a ação hormonal com redução da produção de estrogênios, pela atividade antiproliferativa. E por inserção direta na fita de DNA e por inibição da DNA e RNA polimerase⁽⁴⁸⁾.

Recentes estudos têm verificado a influência de antimaláricos na sobrevivência de células com deficiência de nutrientes; em especial, células cancerosas sob a influência de indução de transcrição de genes pela Myc. As células, com ciclo celular, prejudicados por hipóxia ou falta de nutrientes estimulam a atuação de Myc que induz a transcrição de genes relacionados ao metabolismo energético. Essas células adquirem resistência a apoptose por mecanismo de metabolismo alternativo. Os antimaláricos inibem essa resistência induzindo a apoptose. Essa ação pode contribuir para os melhores resultados com alquilantes em câncer e por inferência na imunossupressão⁽⁴⁸⁾.

Neste estudo a falência ovariana, situação considerada de maior gravidade foi verificada em cinco pacientes das catalogadas e correspondeu a 5,75% do total das pacientes estudadas, bem acima da ocorrência de 1% na população geral⁽¹⁾. Medeiros et al, 2001, em análise de fatores de risco para a falência ovariana em lupus, encontrou amenorréia em 26,9% e destas 11,3% de falência ovariana prematura, após ajuste de conceitos de amenorréia e falência ovariana prematura com nosso estudo. O grupo de amenorréia apresentou idade média de 37,2 anos versus 28,9 anos, $p < 0,001$ e maior tempo de diagnóstico de lupus eritematoso sistêmico em relação ao grupo sem alteração da função ovariana.

A azatioprina que age bloqueando a replicação do ADN, por interferência no metabolismo, não tem sido implicada como citotóxico ovariano. O grupo deste estudo que usou azatioprina foi constituído por 13 pacientes. Apresentou-se 3 casos de amenorréia, correspondendo a 3,4% do grupo e alterações menstruais em 4,5%. Resultados diferentes já publicados, ao analisar a falência ovariana com pulso de ciclofosfamida tendo como grupo controle pacientes com lupus em tratamento com azatioprina, o grupo controle contou com a participação de 20 pacientes com a idade média de 36 anos, utilizando de 125 a 250 mg

de azatioprina. Desses, apenas uma paciente teve falência ovariana prematura. Do grupo que usou ciclofosfamida 19 dos 35 apresentaram falência ovariana prematura, e apresentaram idade média de 36,1 anos⁽⁴⁹⁾.

Ressalta a diferença com o nosso estudo em que as pacientes têm média de idade abaixo do estudo comparado. Naquele estudo elas são portadoras de forma mais grave, com nefrite. E neste predomina o tratamento de situações de menor gravidade com acompanhamento ambulatorial⁽⁴⁹⁾.

O metotrexato foi o imunossupressor menos usado pelas pacientes que participaram da pesquisa. Dentre elas apenas uma apresentou alteração menstrual e nenhuma apresentou amenorréia. O metotrexato é um medicamento muito utilizado em pacientes com doença reumática, mas estudo publicado o apresenta como quinta opção na indicação para o tratamento de lupus. Ele é mais utilizado em artrite reumatóide, artrite psoriática, artrite juvenil crônica e polimiosite. A suspensão do uso clínico ocorre por complicações por distúrbios hematológicos, gastrintestinal, pulmonar e dermatológica. Não há publicações que, claramente, implicam o metotrexato como citotóxico ovariano⁽⁵⁰⁾

A falência ovariana prematura, neste estudo, apresentou-se em pacientes com ampla faixa de idade de 23 a 36 anos, mas concentrada em pacientes sob uso de corticóide. O medicamento em uso foi a prednisona com formulação única em duas delas, e associada a outros imunossupressores nas outras duas. O tempo de uso dos medicamentos foi de 9 meses (prednisona), 3 anos (prednisona), 4 anos (prednisona, ciclofosfamida e azatioprina) e 13 anos (prednisona e ciclofosfamida). As pacientes com amenorréia apresentaram média de idade de $27,40 \pm 7,07$ anos e as pacientes com falência ovariana prematura a média de idade foi de $30,60 \pm 5,32$ anos. Estes dados coincidem com resultados de outras publicações que considera quanto mais avançada a idade da paciente no menacme, maiores são os riscos de citotoxicidade ovariana.

A avaliação da função ovariana neste estudo procurou identificar a hipofunção com a ocorrência possível de redução na dosagem de estradiol e progesterona, e de forma indireta pelo aumento das gonadotrofinas hipofisárias FSH e LH.

Estudo da função ovariana e atividade da doença em pacientes lúpicas, com média de idade de $29,2 \pm 7$ anos, foi realizado em um grupo de 94 pacientes com dois usos distintos de medicamentos. Um usando corticóide (>30 mg ao dia) correspondendo a 40%

delas e outra modalidade de medicamento foi usado corticóide associado a ciclofosfamida em 68% das pacientes. O conjunto apresentou alteração do ciclo menstrual em 54% delas, sendo predominante do tipo oligomenorréia. A dosagem hormonal verificou diminuição da progesterona em 52% das pacientes e redução na concentração estradiol em 25%, aumento das concentrações de LH, FSH e prolactina em 13%, 9% , 10% respectivamente. Quinze pacientes lúpicas sem uso de medicamentos foram também submetidas a avaliação da função ovariana e apresentam idênticas alterações menstruais e hormonais ao grupo que se submeteu a tratamento. Foi utilizado como grupo controle 40 pacientes saudáveis. Com esse estudo conclui o autor que a atividade da doença é o principal fator associado a alterações menstruais em lupus mesmo antes do tratamento com alquilantes ou com altas doses de corticóides. Considera que as mulheres lúpicas devem ser consideradas como grupo de risco para alterações de função ovariana⁽⁴⁴⁾.

Em outro estudo de alterações menstruais e hormonais, realizado em 30 pacientes mais jovens, com médias de idade de $17,4 \pm 3,2$ e $17,06 \pm 2,08$, verificou alteração menstrual em 63% das pacientes com lupus eritematoso sistêmico juvenil (LESJ) e 23% nas do grupo controle. Na dosagem hormonal foi verificada média maior de FSH nas pacientes de estudo com LESJ (4,6 IU/L) do que nas do grupo controle (3,4 IU/L); a média da dosagem de progesterona menor, 32,5 e 70ng/mL respectivamente. Por outro lado a média de LH foi menor nas pacientes com LESJ com alterações menstruais em relação às que apresentaram ciclos normais, sendo 2,9 e 5,5 respectivamente. Os autores emitem a conclusão de que os distúrbios menstruais em lúpicas são freqüentes e deve estar associado com disfunção pituitária e diminuição na produção de progesterona. A falência ovariana prematura nas pacientes com LESJ é um evento raro devido a reserva folicular ser mais resistente ao tratamento com ciclofosfamida intravenoso⁽⁵¹⁾.

Neste presente estudo a dosagem de estradiol nas pacientes eumenorreicas e nas com alterações menstruais apresentou-se dentro da faixa de normalidade. Quando comparadas aos valores encontrados nas pacientes com amenorréia houve aumento de 21,63%, e nos casos de FOP houve redução para 71,61% dos valores das pacientes eumenorreicas. Nas pacientes com FOP a dosagem apresentou média de $25,81 \pm 4,74$ picograma/mL, valor abaixo de 40 picograma/mL como se espera nessa situação clínica. A

ocorrência desse valor ao coincidir com a elevação de gonadotrofina, em especial do FSH confirma o diagnóstico de FOP.

Na dosagem de progesterona foi verificado valores maiores nas eumenorreicas em relação as pacientes com alterações menstruais, mas dentro de faixa considerada como normais. A dosagem da progesterona nas pacientes com amenorréia apresentou elevação de 67,9% em relação as eumenorreicas. Nas pacientes com FOP os valores foram baixos com média de $0,24 \pm 0,28$ ng/mL. A progesterona reflete a capacidade ovulatória com o corpo lúteo funcionante. As pacientes que evoluem para falência ovariana primeiramente apresentam ciclos anovulatórios e o primeiro sinal de hipofunção é a redução de progesterona. Já a elevação dos valores nas pacientes do estudo, amenorreicas com média de $5,30 \pm 1,41$, pode ser explicado pela ampla faixa de normalidade nas dosagens de progesterona que varia de indetectável na fase folicular e nas pós menopausa, aos valores elevados de 24 ng/mL na fase lútea.

A dosagem de FSH e LH avalia diretamente a função do eixo hipotálamo-hipofisário, e indiretamente a função ovariana que com seus hormônios influenciam na secreção de gonadotrofinas por mecanismo de *feed back*. A dosagem de FSH apresentou elevação na sequência dos grupos de pacientes eumenorreicas, com alterações menstruais, com amenorréia e nas com FOP, em 53,28%, 111,4% e 341,9%. Nas eumenorreicas e nas com alterações menstruais os valores foram normais, e nas com FOP os valores mostraram níveis elevados, como se espera nessas situações. A dosagem de LH apresentou valores próximos nas eumenorreicas e nas com alterações menstruais, dentro da faixa de normalidade. Mas apresentou aumentado nas pacientes com amenorréia e FOP, 177% e 134% respectivamente em relação as pacientes eumenorreicas.

As situações clínicas em que ocorrem hipercortisolemia como nos tratamentos com corticóide, a retroinibição hipotalâmica, é também avaliada pela modificação que promove nas frequências de pulsos de gonadotrofinas. O intervalo entre os pulsos, em média 95 minutos é significativamente prolongado de acordo com resultados de pesquisas publicadas. Já a amplitude do pulso é pouco modificada. Os exames bioquímicos realizados neste estudo avaliam oscilações de pulso, e por isso não é suficiente para conclusão sobre o efeito do corticóide, usado como medicamento nessas pacientes, sobre o eixo H-H-O.

A avaliação anatômica do útero e ovários foi feita com a ultrassonografia. O volume do útero foi semelhante nas pacientes eumenorreicas, com alterações menstruais e com amenorréia, mantendo-se dentro dos limites de 30 a 90 cm³. Nas pacientes com FOP o volume médio uterino apresentou-se 20,8% acima da média do volume dos úteros das pacientes eumenorreicas. A anatomia uterina mostra regressão quando avaliado em dimensões e volume nas pacientes após a menopausa, sendo esperado valores abaixo de 30 cm³. As pacientes deste estudo com FOP, mostraram resultados discrepante ao que se poderia esperar para pacientes com hipofunção ovariana. Pode-se conjecturar que o número da amostra permitiu este desvio ou que o tempo de hipoestrogenismo não foi suficiente para a atrofia do órgão. Os volumes médios dos ovários por sua vez mostraram valores próximos entre as pacientes eumenorreicas, com alterações menstruais e com amenorréia, sendo nesta última ligeiramente superior as outras duas. Essa observação vale para ambos os ovários. E tanto o ovário direito quanto o esquerdo nas pacientes com FOP apresentaram menores volumes médios quando comparados com os das outras pacientes. Nelas os ovários quando comparado ao das pacientes eumenorreica, foi 43,82% menor no direito e 53,28% menor no esquerdo.

A avaliação da função ovariana por meios bioquímicos e pela sonoanatomia foi importante porque confirmou dados de normalidade e FOP, mas não foi suficiente para esclarecer o impacto de ações medicamentosas. Não foi suficiente para diferenciar nos casos de amenorréia aquelas de origem ovariana ou aquelas cuja disfunção fosse causado pelos corticóides no eixo hipotalâmico hipofisário.

Os dados analisados não nos levam a concluir que as mulheres do grupo estudado estão mais expostas a problemas na função ovariana do que a população em geral, mas não o suficiente para desconsiderarmos os fatores de risco associados com o desenvolvimento de alterações ovarianas em mulheres lúpicas tratadas com IS. Para maior fornecimento de elementos de conclusão, este estudo deveria merecer um tratamento prospectivo num tempo de abrangência mais extenso, e incluir maior número de participantes.

As alterações da função ovariana pelos imunossupressores que levam a alterações menstruais têm potencial de redução da fertilidade destas mulheres, e possibilidade de provocar a ocorrência de falência ovariana prematura. Para se evitar a infertilidade, várias

técnicas têm sido desenvolvidas. No entanto, a preservação dos ovários e; em especial, dos ovócitos não apresenta tão bons resultados como no caso de espermatozóides⁽⁵²⁾.

Já é conhecido a diferença de sensibilidade dos ovários em relação a espécie estudada, como ratos, camundongos e primatas humanos ou não. Tanto em relação à citotoxicidade ou à citoproteção medicamentosa. Estudos de revisão sistemática com agonista de GnRH têm concluído com melhores resultados de seu uso em mulheres, segundo publicações mais recentes. Procurando analisar o efeito protetor dos ovários pelo agonista GnRH em mulheres sob quimioterapia desenvolveu-se estudos com 579 pacientes usando quimioterapia e apresentando resultado promissor. Entre as 345 mulheres que receberam GnRH associado a quimioterapia houve preservação da função ovariana em 91% delas e 9% tiveram falência ovariana prematura. No grupo controle de 234 pacientes em tratamento quimioterápico sem utilizar o agonista GnRH, em 41% houve preservação da função ovariana e em 59% houve falência ovariana. O estudo não é conclusivo, mas orienta de forma promissora para estudos mais abrangentes controlados e randomizados⁽⁴⁵⁾.

Outra orientação para a preservação ovariana da citotoxicidade dos imunossupressores e quimioterápicos e que se destaca é a criopreservação. No entanto, para a preservação dos ovários e, em especial, dos ovócitos, as técnicas existentes não apresentam tão bons resultados como no caso da preservação dos espermatozóides. Estudo experimental controlados, em ovários de coelhas brancas da linhagem Nova Zelândia, apresentou resultados ainda não definitivos para que se transfira para a prática clínica. O grupo controle formado por tecido preservado, mas não congelado, apresentou nos cortes histológicos todos os tipos de folículos. Já nos cortes criopreservados, com o descongelamento, após o mesmo lapso de tempo, encontraram-se apenas folículos primordiais. Entre as alterações celulares, a mais freqüentes no tecido criopreservado foram: vacuolização citoplasmática, distribuição irregular da cromatina e oócito com contorno irregular⁽⁵³⁾.

Alguns relatos clínicos modificando detalhes técnicos têm obtido taxa de gravidez de até 25% de óvulos congelados. Relatos de trabalhos clínicos informam o nascimento de 16 crianças saudáveis provenientes de 324 óvulos congelados de 33 pacientes. Não houve aumento na incidência de anomalias cromossômicas em nenhum dos trabalhos científicos, ate hoje, apresentados com óvulos congelados. Estudos importantes têm procurado

contornar dificuldades técnicas que ainda não foram resolvidas. A Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM) considera o congelamento de óvulos como uma técnica em fase experimental. Contraditórios são os resultados com o uso de análogos de GnRH nas pacientes em tratamento de lupus para a preservação da função ovariana⁽⁵²⁾.

Na experiência de campo nesta pesquisa multidisciplinar, ficou evidente que os profissionais do Serviço de Reumatologia têm conhecimento e preocupação com as consequências danosas às pacientes, pela citotoxicidade ovariana no tratamento do lupus. São sensíveis as repercussões da falência ovariana prematura, das condições mórbidas e da maior incidência e mortalidade em menopausadas, precocemente. No entanto, as condições para o uso de imunossupressores no lupus impõem condução diferente dos casos de câncer. As condições clínicas no lupus que indica o uso de imunossupressores em doses elevadas, são situações emergenciais e graves com risco de morte para as pacientes. A emergência restringe a possibilidade de tomada de medidas preventivas para a proteção ovariana. O profundo conhecimento dos mecanismos de ação das drogas, o uso de coadjuvantes que permitem melhor resultado com doses menores e busca de alternativas é o que verificamos como medidas de cuidados dos profissionais para protegerem as pacientes desses efeitos adversos.

Este estudo, portanto, foi justificado em sua relevância pelos diversos motivos já elencados. Com destaque para os bons resultados nas pacientes que usam o protocolo do serviço. E mostra argumentos que justificam a continuidade de pesquisas para garantir melhor qualidade de vida a elas.

6. Conclusão

Trata-se de um estudo descritivo, feito em corte transversal sobre uma população de pacientes com lupus eritematoso sistêmico, em que se verificou:

- 1.-Falência ovariana prematura foi identificada em 5,75 % das pacientes pesquisadas.
- 2.- As alterações do ciclo menstrual não tiveram associação significativa com o uso das diferentes formulações de imunossupressores
- 3.- A frequência de alterações do ciclo menstrual foi de 37,9%.
- 4.- A frequência de amenorréia foi de 11,5%.

7. Referências Bibliográficas

- 1.- BORBA, E.F. et al. Consenso de lupus eritematoso sistêmico. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v.48, n.4, p.196-207, 2008.
- 2.- DUTZ, J.P.; SONTHEIMER, R.D.; WERTH, V.P. Pathomechanisms of cutaneous lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J.; HAHN, B.H. **Dubois lupus erythematosus**. 7ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2007.
- 3.- HOEK, A.; SHOEMAKER, H.A.; DREXHAGE, H.A. Premature Ovarian Failure and Ovarian Autoimmunity. **Endocrine Reviews**, v.18, n.1, p.107-34, 1997.
- 4.- ACKERMAN, L.S. Sex hormones and the Genesis of Autoimmunity. **Archives of Dermatology**, v.142, p.371-376, 2006.
- 5.- TANRIVERDI, F. et al. The hypothalamic-pituitary-gonadal axis: immune function and autoimmunity. **Journal of Endocrinology**, London, v.176, p.293-304, 2003.
- 6.- BRITO, O.M.; GUIMARÃES, M.F.B.; LANNA, C.C.D. Ciclofosfamida e função ovariana. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v.48, n.1, p.39-45, 2008.
- 7.- ALMAWI W.Y.; MELEMEDJIAN, O.K. Molecular mechanisms of glucocorticoid antiproliferative effects: antagonism of transcription factor activity by glucocorticoid receptor. **Journal of Leukocyte Biology**, v.71, p.9-15, 2002.
- 8.- KRENSKY, MA; VICENTINI, F; BENNETT, ME. Imunossupressores, Tolerógenos e Imunoestimulantes. In: BRUNTON, L.L; LAZO, S.J.; PARKER, L.K. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 11ª ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2006. p.1265-89.
- 9.- SATHASIVAN, S. Steroids em immunosupressants drugs im myasthenias gravis. **Nature Clinical Practice Neurology**, v. 4, p.317-327, 2008.
- 10.- BUTTGERETI, F. et al. Standardised nomenclature for glucocorticoid dosages and glucocorticoid treatment regimens: current questions and tentative answers in rheumatology. **Anales Rherimatic Diseases**, v.61, p.718-722, 2002.
- 11.- RANG, H. P. et al. Quimioterapia do câncer. In: **Farmacologia**. 5ª ed. Rio de Janeiro, Editora Elsevier, 2003, p.789-809.
- 12.- BUTTGERETI, F. Mechanisms and clinical relevance of nongenomic glucocorticoid actions. **Z Rheumatol**, Berlin, v.59, Suppl.2, 2000.
- 13.- STELLATO, C. Post-transcriptional and nongenomic effects of glucocorticoids. **American Thoracic Society**, Baltimore, v.1, p.255-263, 2004.

- 14.- GUILLEMIN R. Hypothalamic hormones A. K. A. hypothalamic releasing factors. **Journal of Endocrinology**, v.184, p.11-28, 2005.
- 15.- OAKLEY, A.E. et al. Cortisol reduces gonadotropin-releasing hormone pulse frequency in follicular phase ewes: influence of ovarian steroids. **Endocrinology**, v.150, p.341-349, 2009.
16. DAMIANI D. et al. Corticoterapia e suas repercussões: a relação custo-benefício. **Pediatria**, São Paulo, v.23(1), p.71-82, 2001.
- 17.- SAKETOS, M.; SHARMA, N.; SANTORO, N.F. Suppression of the hypothalamic-pituitary axis in normal women by glucocorticoids. **Biology of Reproduction**, v.49, p.1270-1276, 1993.
- 18.- BOUMPAS, D.T. et al. Risk for sustained amenorrhea in patients with systemic lupus erythematosus receiving intermittent pulse cyclophosphamide therapy. **Annals of Internal Medicine**, Bethesda, v.119, n.5, p.366-369, 1993.
- 19.- SILVA, C.A.A. et al. Risk factors for amenorrhea in juvenil systemic lupus erythematosus (JSLE): a Brazilian multicentre cohort study. **Lupus**, v.16, n.7, p.531-536, 2007.
- 20.- MEDEIROS, M.M.C. et al. Risk factors for ovarian failure in patients with systemic lupus erythematosus. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v.4, p.1561-1568, 2001.
- 21.- PARK, M.C. et al. Risk of ovarian failure and pregnancy outcome in patients with lupus nephritis treated with intravenous cyclophosphamide pulse therapy. **Lupus**, v.13, p. 569-574, 2004.
- 22.- MOK, C.C.; LAU, C.S.; WONG, R.W.S. Risk factors for ovarian failure in patients with systemic lupus erithematosus receiving cyclophosphamide therapy. **Arthritis and Rheumatism**, v.41, p.831-837, 1998.
- 23.- WALLACE, D.J. Principles of therapy and local measures. In: WALLACE, D.J.; HAHN, B.H. **Dubois lupus erythematosus**. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Willians & Wilkins, 2007, p.1132-44.
- 24.- MATTISON, D.R. et al. The effects of cyclophosphamide, azathioprine, and 6-mercaptopurine on oocyte and follicle number in C57BL/6N mice. **Lupus**, v.16, n.7, p.531-536, 2007.
- 25- PACHECO NETO, M. et al. Monitoração terapêutica da azatioprina: uma revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, São Paulo, v.44, n.3, p.161-167, 2008.

- 26.- HANDELSMAN, D.J.; McDOWELL, I.F.W.; CATERSON, I.D. Ovarian function after renal transplantation: comparison of cyclosporine A with azathioprine and prednisone combination regimes. **An International Journal of Obstetrics & Gynecology**, v.91, n.8, p.802-807, 2005.
- 27.- CHABNER, B.A.; ROBERTS JR, T.H. Chemotherapy and the war on câncer. **Nature Reviews Câncer**. v.5, p. 65-72, 2005.
- 28.- SONMEZER M.; OKTAY K. Fertility preservation in young women undergoing breast câncer therapy. **The Oncologist**, v.11, p.422-434, 2006.
- 29.- PARDINI, D.P., SILVA; R.C.; CLAPAUCH, R. (Org.) Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Associação Médica Brasileira, Conselho Federal de Medicina. Falência Ovariana Precoce. **Projeto Diretrizes**, Dez 2006.
- 30.- MATTINSON, D.R.; NIGHTINGALE, M.S.; SHIROMIZU, K. Effects of toxic substances on female reproduction. **Environmental Health Perspectives**, Bethesda, v.48, p.43-52, 1983.
- 31.- BECK-FRUCHTER, R. WEISS, A. SHALEV, E. GnRH agonist therapy as ovarian protectants in female patients undergoing chemotherapy: a review of the clinical data. **Human Reproduction Update**, v.14, n.6 p553-561, 2008.
- 32.- MACHADO, L.V. Sangramento uterino disfuncional. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 45, p.375-382, 2001.
- 33.- NALBANDIAN, G.; KOVATS, S. Estrogen, Immunity & Autoimmune Disease. **Curr Med Chem – Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry**, n.5 p.85-91, 2005.
- 34.- GONZALEZ-CRESPO, M.R. et al. Menstrual disorders in girls with systemic lupus erythematosus treated with cyclophosphamide. **British Journal Rheumatology**, London, v.34, n.8, p.737-41, 1995.
- 35.- GOSWAMI, D.J.; CONWAY, G.S. Premature ovarian failure. **Human Reproduction Update**, London, v.11, n.4, p.391-410, 2005.
- 36.- LUBORSKY, J.L. et al. Premature menopause in a multi-ethnic population study of the menopause transition. **Human Reproduction**, v.18, n.1, p.199-206, 2003.
- 37.- MCGEE, E.A.; HSUEH, A.J.W. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. **Endocrine Reviews**, Stanford, v.21, n.2, p.200-214, 2000.
- 38.- BLUMENFELD, Z.; ECKMAN, A. Preservation of fertility and ovarian function and minimization of chemotherapy-induced gonadotoxicity in young women by GnRH. **Journal of the National Cancer Institute**, v.34, p.40-43, 2005.

- 39.- MEIROW, D. et al. The GnRh antagonist cetrorelix reduces cyclophosphamide-induced ovarian follicular destruction in mice. **Human Reproduction**, v.19, n.6, p.1294-1299, 2004.
- 40.- MUKHERJEE, S. Long term complications in systemic lupus erythematosus. **Journal of association of Physicians of India**, Calcutá, vol.54, 2006.
- 41.- TAN, E.M. et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatism**, v. 25, p. 1271-7, 1982.
- 42.- HOCHBERG, M.C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatism**, v.40, n.9, p. 1725, 1997.
- 43.- GONZALEZ, L.A. et al. Predictors of premature gonadal failure in patients with systemic lupus erythematosus. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v.67, p.1170-1173, 2008.
- 44.- SHABANOVA, S.S. et al. Ovarian function and disease activity in patients with SLE. **Clinical & Experimental Rheumatology**, v.26(3), p.436-441, 2008.
- 45.- MEDEIROS, P.B. et al. Menstrual and hormonal alterations in juvenile systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v.18(1), p.38-43, 2009.
- 46.- GOURLEY, M.F. et al. Methylprednisolone and Cyclophosphamide, alone or in combination, in patients with lupus nephritis. **Annals of the Internal Medicine**, v.125, n.7, p.549-557, 1996.
- 47.- WALLACE, D.J. Antimalarial therapies. In: WALLACE, D.J.; HAHN, B.H. (Ed.) **Dubois lupus erythematosus** 7^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. p.1152-74.
- 48.- DANG CV. Antimalarial therapy prevents Myc-induced limphoma. **Journal of Clinical Investigation**, v.118. n. 1, p.15-17, 2007.
- 49.- McDERMOTT, E. M.; POWEL, R. J. Incidence of ovarian failure in systemic lupus erythematosus after treatment with pulse cyclophosphamide. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v.55(4) p.224–229, 1996.
- 50.- KINDER, A. J. et al. The treatment of inflammatory arthritis with methotrexate in clinical practice: treatment duration and incidence of adverse drug reactions. **Rheumatology**, London, v.44, p.61-66, 2005.
- 51.- BECK-FRUCHTER B.; WEISS, A.; SHALEV, E. GnRH agonist therapy as ovarian protectantes in female patients undergoig chemotherapy: a review of the clinical data. **Human Reproduction Update**, vol.14, n.6, p.553-561, 2008.

52.- CAMBIAGHI, A.S.; CASTELLOTTI, D.S. Congelamento de óvulos. **Femina**, São Paulo, v.35, n.1, p.11-14, 2007.

53.- THOMAZ, B.A.C. et al. Aspectos histológicos do ovário de coelhas após criopreservação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, São Paulo, v.27, n.11, p.642-649, 2005.

8. Anexos



MINISTERIO DA SAÚDE – Conselho Nacional de Saúde – Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

(versão outubro/99) Para preencher o documento, use as indicações na página 2.

1. Projeto de Pesquisa: O impacto do uso de imunossuppressores na função ovariana das pacientes lúpidas			
2. Área do Conhecimento (Ver relação no verso) Medicina		3. Código: III	4. Nível (Só áreas do conhecimento 4) Terapêutico
5. Área(s) Temática(s) Especial(s) (Ver Fluxograma no verso) Não se Aplica		6. Código(s): Não se Aplica	7. Fase (Só área Temática 3) I () II () III () IV () Não se Aplica
8. Unitermos (3 opções)			
SUJEITOS DA PESQUISA			
9. Número de sujeitos No Centro: Total: 100	10. Grupos Especiais: <18 anos () Portador de Deficiência Mental () Embrião / Feto () Relação De Dependência (Estudantes, Militares, Presidiários, etc.) () Outros () Não se aplica (X).		
PESQUISADOR RESPONSÁVEL			
11. Nome: Dejan Rodrigues Nonato			
12. Identidade: 232979	13. CPF: 066946081-87	19. Endereço (Rua, nº.): Av 5.a Radial 131 Setor Pedro Ludovico.	
14. Nacionalidade: Brasileiro	15. Profissão: Médico	20. CEP: 74823030	21. Cidade: Goiânia
16. Maior Titulação: Pós-graduação Especialização	17. Cargo: Professor Substituto	23. Fone: 32455316	24. Fax:
18. Instituição a que pertence: Faculdade de Medicina – Universidade Federal de Goiás			25. E-mail: drdejan@realizenet.com.br
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condição científica do projeto acima. Data: 14 / 08 / 2006			
Dr. Dejan Rodrigues Nonato Ginecologista CRM-GO 33333 Assinatura			
INSTITUIÇÃO ONDE SERÁ REALIZADO			
26. Nome: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás		29. Endereço (Rua, nº.): 1.a Avenida s/n Setor Universitário	
27. Unidade/Órgão: Serviço de Reumatologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade Medicina UFG		30. CEP:	31. Cidade: Goiânia
			32. U.F. Goiás
28. Participação Estrangeira: SIM () NÃO (X)		33. Fone: 3269 8200	34. Fax:
35. Projeto Multicêntrico: SIM () NÃO (X) NACIONAL () INTERNACIONAL () (Anexar à lista de todos os Centros Participantes no Brasil)			
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS. 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução. Nome: _____ Cargo: _____ Data: 14 / 8 / 2006 Assinatura: _____			
PATROCINADOR			
36. Nome: _____			
37. Responsável:		39. Endereço:	
38. Cargo/Função:		40. CEP:	41. Cidade:
		43. Fone:	42. UF:
		44. Fax:	
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP			
45. Data de Entrada:	46. Registro no CEP:	47. Conclusão: Aprovado ().	48. Não Aprovado ().
____/____/____	____/____/____	Data: ____/____/____	Data: ____/____/____
49. Relatório (s) do pesquisador responsável previsto(s) para: Data: ____/____/____			
Encaminho a COONEP:		53. Coordenador/ Nome	
50. Os dados acima para registro () 51. O projeto para apreciação ()		Anexar o parecer consubstanciado	
52. ____/____/____		Assinatura	
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA - CONEP			
54. Nº. Expediente:	56. Data Recebimento:	57. Registro na CONEP:	
55. Processo:			
58. Observações:			

PROTOCOLO CEPMHA/HC/UFG Nº 142/06

Goiânia, 30/11/2006

INVESTIGADOR (A) RESPONSÁVEL (IES): Dr. Dejan Rodrigues Nonato

TÍTULO: O Impacto do Uso de Imunossupressores na Função Ovariana das Pacientes Lúpicas

Área Temática: Grupo III

Local de Realização: Hospital das Clínicas/UFG - Clínica Médica

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal, após a análise, aprovou sem restrições o projeto de Pesquisa acima referido, e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

- Não há necessidade de aguardar o parecer da CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para iniciar a pesquisa.
- O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEPMHA/HC/UFG, relatórios trimestrais do andamento da pesquisa, encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões).


Farm. José Mário Coelho Moraes
Coordenador do CEPMHA/HC/UFG



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE MEDICINA
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia

CERTIDÃO DE ATA

Certificamos para os devidos fins que, em reunião de Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, realizada no dia 6 de setembro de 2006 foi aprovado o Projeto de Pesquisa: "O IMPACTO DO USO DE IMUNOSSUPRESSORES NA FUNÇÃO OVARIANA DAS PACIENTES LÚPICAS", a ser realizado no Hospital das Clínicas, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Goiás, sob a orientação do Prof. Dr. Nilzio Antônio da Silva, e coordenação do Prof. Dejan Rodrigues Nonato.

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás aos 6 dias do mês de setembro de 2006.

Prof. Rui Gilberto Ferreira

Chefe do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia



Serviço Público Federal
Ministério da Educação e do Desporto
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE MEDICINA
Departamento De Clínica Médica

CERTIDÃO DE ATA

Certifico que na Reunião Administrativa do Departamento de Clínica Médica, realizada em 30/08/06, foi aprovado por unanimidade dos presentes o projeto de mestrado sob o tema: “O impacto do uso de imunossupressores na função ovariana das pacientes lúpicas”, sob a coordenação do Prof. Dejan Rodrigues Nonato e orientação do Prof.Dr. Nílzio Antônio da Silva.

Secretaria do Departamento de Clínica Médica, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás, aos 30 dias do mês de agosto de 2006.

Prof. Dr. Salvador Rassi

Chefe do Departamento de Clínica Médica

FM/UFG



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DIRETORIA TÉCNICA



Memorando n.º 420/06 – DT/HC – UFG

Goiânia, 06 de Setembro de 2006

Da: Diretoria Técnica HC/UFG

Para: Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do HC/UFG

Senhor Coordenador,

Estamos autorizando o pesquisador *Dejan Rodrigues Nonato* a manusear prontuários para a pesquisa **“O IMPACTO DO USO DE IMUNOSSUPRESSORES NA FUNÇÃO OVARIANA DA PACIENTE LÚPICA”**.

Vale ressaltar ao Pesquisador responsável o compromisso de utilizar os dados coletados apenas para esta pesquisa, bem como a garantia do sigilo dos nomes dos pacientes.

Na oportunidade, reiteramos nossos protestos de respeito.

Atenciosamente,

Prof. Luiz Arantes Resende
Diretor Técnico do HC/UFG

PRIMEIRA AVENIDA S/N – SETOR LESTE UNIVERSITÁRIO
CEP. 74 605 050 - FONE – (062) 202. 18. 00
GOIÂNIA – GOIÁS

Missão do HC

“Promover assistência humanizada e de excelência à saúde do cidadão integrando-se às políticas públicas de saúde, servindo de campo moderno e dinâmico para ensino, pesquisa e extensão.”

Visão Estratégica

“Ser reconhecido como Hospital de referência no Atendimento Integral à Saúde com Excelência Tecnológica e Humana.”

36/06/06

213E2241