



# REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br



## Artigo de revisão

# Hormônio anti-Mülleriano como preditor de reserva ovariana em pacientes lúpicas: uma revisão<sup>☆</sup>



Andrese Aline Gasparin<sup>a,\*</sup>, Rafael Mendonça da Silva Chakr<sup>a</sup>, Claiton Viegas Brenol<sup>b</sup>, Penélope Ester Palominos<sup>a</sup>, Ricardo Machado Xavier<sup>b</sup>, Lucian Souza<sup>c</sup>, João Carlos Tavares Brenol<sup>b</sup> e Odirlei André Monticielo<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Reumatologia, Hospital de Clínicas, Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>b</sup> Departamento de Reumatologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>c</sup> Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

### INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 29 de janeiro de 2014

Aceito em 2 de maio de 2014

On-line em 26 de novembro de 2014

Palavras-chave:

Hormônio anti-Mülleriano

Reserva ovariana

Lúpus eritematoso sistêmico

### R E S U M O

O hormônio anti-Mülleriano (HAM) é secretado a partir das células da granulosa dos folículos ovarianos em crescimento e parece ser o melhor marcador endócrino capaz de estimar a reserva ovariana. O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune que acomete predominantemente mulheres em idade reprodutiva e pode afetar negativamente sua fertilidade pela atividade da doença, bem como pelos tratamentos usados. Conhecer o real impacto do LES e de seu tratamento na fertilidade vem sendo o objetivo de estudos recentes, os quais têm usado o HAM para esse fim.

© 2014 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

### Anti-Müllerian hormone levels as a predictor of ovarian reserve in systemic lupus erythematosus patients: a review

### A B S T R A C T

The anti-Müllerian hormone (AMH) is secreted from granulosa cells of growing ovarian follicles and appears to be the best endocrine marker capable of estimating ovarian reserve. Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease that predominantly affects women of reproductive age and may negatively affect their fertility due to disease activity and the treatments used. Recently, several studies assessed AMH levels to understand the real impact of SLE and its treatment on fertility.

© 2014 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Keywords:

Anti-Müllerian hormone

Ovarian reserve

Systemic lupus erythematosus

<sup>☆</sup> Departamento de Reumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [andresegasparin@gmail.com](mailto:andresegasparin@gmail.com) (A.A. Gasparin).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2014.05.008>

0482-5004/© 2014 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

## Introdução

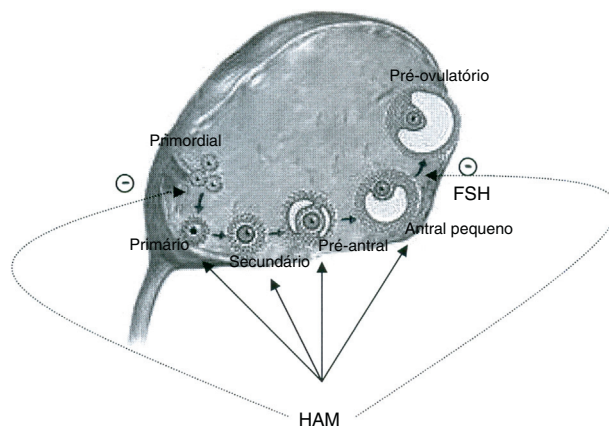
As melhores condições de tratamento e o manejo das infecções, além de contribuir para o aumento da sobrevivência das pacientes lúpicas, proporcionam melhor qualidade de vida. De modo que, hoje, grande parte dessas pacientes é capaz de desempenhar suas funções laborais normalmente. Com o aumento da participação das mulheres no mercado de trabalho, o momento em que elas decidem ter o primeiro filho vem sendo cada vez mais postergado. A fertilidade feminina começa a declinar no início da terceira década de vida e pode ainda ser prejudicada nas pacientes lúpicas pela atividade da doença e pelos medicamentos usados no seu tratamento. Isso faz com que os problemas referentes à fertilidade nessas pacientes ganhem cada vez mais importância e há necessidade de disporem de marcadores eficazes para prever a reserva ovariana.

## O hormônio anti-Mülleriano como marcador de reserva ovariana

O número de ovócitos atinge o máximo de seis a sete milhões por volta da 20ª semana de gestação e, por um processo contínuo de atresia/apoptose, apenas um a dois milhões de folículos alcançam o período neonatal.<sup>1</sup> Apenas as ovogônias que entram em meiose sobreviverão à atresia no ovário fetal antes do nascimento. Na menarca, cerca de 300 mil são viáveis. A mulher usará cerca de 500 folículos primordiais durante os anos reprodutivos. Na época da menopausa, o ovário será formado por estroma denso e raros ovócitos dispersos remanescentes.<sup>2</sup>

O crescimento folicular é iniciado no feto em um padrão contínuo e está relacionado com a massa total de folículos e com fatores liberados por folículos atresícos. Ciclos de crescimento folicular e subsequente atresia iniciam antes do nascimento e continuam através dos anos reprodutivos. A viabilidade do ovócito declina na mulher mais velha em idade reprodutiva antes que ela tenha qualquer decréscimo mensurável na concentração hormonal sérica ou intrafolicular.<sup>3</sup> A menopausa é associada com um marcado declínio no número de ovócitos que é atribuído à atresia progressiva do pool de ovócitos original. Contudo, a evidência da depleção absoluta de ovócitos atualmente é limitada.<sup>3</sup>

O hormônio anti-Mülleriano (HAM), também chamado de “substância anti-Mülleriana”, é um polipeptídeo membro da família do fator transformador do crescimento beta (TGFβ). Está envolvido na diferenciação sexual do embrião masculino e induz a regressão do ducto Mülleriano, precursor embriológico do trato reprodutivo feminino.<sup>4</sup> Em indivíduos do sexo feminino, começa a ser expresso no ovário fetal após a 36ª semana de gestação. É secretado apenas pelas células da granulosa dos folículos ovarianos em crescimento: primários, secundários, pré-antrais e antrais pequenos e produzido em maior nível pelos dois últimos.<sup>5</sup> Tem dois principais mecanismos de ação no ovário: inibe o recrutamento inicial dos folículos primários a partir dos folículos primordiais e, secundariamente, inibe a sensibilidade dos folículos antrais ao hormônio folículo-estimulante (FSH) durante o recrutamento



**Figura 1 – Hormônio anti-Mülleriano (HAM) e foliculogênese. O HAM é secretado pelos folículos em crescimento e sua secreção aumenta ao longo do desenvolvimento folicular. Os níveis mais altos são secretados pelos folículos pré-antrais e antrais pequenos. O HAM inibe o recrutamento inicial dos folículos primários a partir do pool de folículos primordiais e reduz a sensibilidade dos folículos antrais ao hormônio folículo-estimulante (FSH) durante o recrutamento.**

cíclico (fig. 1). O HAM previne a depleção prematura dos folículos.<sup>6</sup> Apesar do prefixo “anti”, o HAM não tem papel na produção de anticorpos.

O termo “reserva ovariana” descreve o número e a qualidade dos ovócitos remanescentes nos ovários. A quantidade de folículos primordiais remanescentes parece se correlacionar com o número de folículos que entram em crescimento. Como apenas os folículos em crescimento produzem HAM, seus níveis plasmáticos refletem a quantidade de folículos primordiais remanescentes.<sup>7</sup> Estudos em ratos<sup>8</sup> e em macacos<sup>9</sup> têm mostrado forte correlação entre níveis de HAM e o número de folículos primordiais.

Outros testes atuais para estimar a reserva ovariana incluem marcadores hormonais (FSH, estradiol, inibina B) e marcadores ultrassonográficos (contagem de folículos antrais e medida do volume ovariano). Esses testes refletem direta ou indiretamente a quantidade de folículos antrais remanescentes. A contagem de folículos antrais é uma medida ultrassonográfica direta. Na fase folicular inicial, os níveis de inibina B e de estradiol são considerados dependentes do número de folículos antrais. Os níveis de FSH são regulados por *feedback* negativo desses dois produtos da célula granulosa. Por isso, refletem mais indiretamente o pool de folículos antrais. O declínio associado à idade no número de ovócitos leva à redução dos níveis de estradiol e inibina B e, conseqüentemente, ao aumento do FSH.<sup>10</sup> Comparados com esses marcadores hormonais, os níveis plasmáticos do HAM parecem associar-se melhor com o declínio longitudinal dos ovócitos/folículos ao longo do tempo, mesmo antes da ocorrência de ciclos irregulares.<sup>11</sup> Em contraste com as flutuações cíclicas características do FSH, estradiol e inibina B, o HAM mostra flutuação intracíclica pequena ou ausente. Por isso, o HAM reflete o contínuo crescimento dos pequenos folículos. Consistentemente, os níveis do HAM são afetados

relativamente pouco por condições que suprimem os estímulos tardios do desenvolvimento folicular dependente de FSH, como a gestação,<sup>12</sup> o uso de contraceptivos hormonais<sup>13</sup> e o tratamento com agonistas do GnRH. Além disso, o HAM não parece ser afetado pelo índice de massa corporal (IMC) e pelo tabagismo.<sup>14</sup> O valor preditivo do HAM para estimar a reserva ovariana ainda é incerto. Diversos estudos prospectivos longitudinais que envolvem mais de 11 anos de seguimento de mulheres normo-ovulatórias têm mostrado que o HAM é o melhor marcador endócrino na avaliação do envelhecimento ovariano e que os níveis plasmáticos do HAM, com acurácia razoável, podem prever o início da menopausa.<sup>15</sup>

O HAM parece ser um indicador precoce, confiável e direto do declínio da função ovariana. Contudo, não há consenso no que diz respeito aos valores limiares apropriados. Dados da literatura mostraram grande dispersão das concentrações séricas do HAM em populações comparáveis obtidas por meio dos dois diferentes imunoenaios ultrassensíveis disponíveis no mercado – AMH Beckman Coulter Elisa e AMH Diagnostic System Laboratories (DSL) Elisa. Estudo prévio encontrou níveis de HAM 4,6 vezes menores com o kit DSL que mostravam que o ponto de corte varia de acordo com o ensaio usado.<sup>16</sup> Em estudos que avaliaram taxa de sucesso com fertilização *in vitro*, níveis séricos de HAM menores do que 0,5 ng/mL sugeriram fortemente depleção folicular, enquanto níveis séricos  $\geq 1,26$  ng/mL foram consistentes com uma boa reserva ovariana.<sup>15,17</sup>

### Como o lúpus eritematoso sistêmico pode prejudicar a fertilidade?

Infertilidade é definida como a falha em conceber após 12 meses de intercurso sexual regular desprotegido. A autoimunidade pode interferir em diversos aspectos associados à fertilidade e causar, por exemplo, alterações da função tubária, falência ovariana, falha de implantação embrionária e perda gestacional.

Um estudo de caso controle feito em 2009 na Finlândia avaliou a história reprodutiva de mulheres lúpicas comparadas com controles saudáveis. Os autores não encontraram diferença na média de idade por ocasião da menarca e frequência de infertilidade, porém a menopausa ocorreu mais precocemente entre as pacientes lúpicas.<sup>18</sup>

Cerca de 10%-30% das mulheres com falência ovariana prematura (FOP) têm uma doença autoimune concomitante.<sup>19</sup> Reações autoimunes contra os ovários podem ser gerais ou parciais e levar a um curso flutuante de FOP. A evidência de base autoimune para FOP é dada pela presença de autoanticorpos contra células produtoras de esteroides em cerca de 80% das pacientes e ooforite com infiltrado de linfócitos T CD4+ e CD8+.<sup>20</sup>

Sugere-se que a fertilidade possa estar reduzida em algumas pacientes por causa de irregularidades menstruais e ciclos anovulatórios durante atividade da doença e a administração de elevadas doses de corticoide.<sup>21</sup> Algum grau de irregularidade menstrual está presente em até 53% das pacientes lúpicas abaixo de 40 anos e pacientes com maior atividade de doença apresentam maior frequência de alterações menstruais.<sup>22</sup> A função ovariana pode ser reduzida pela

ooforite autoimune no LES e levar à FOP, enquanto que a redução da reserva ovariana está associada a reduzidos níveis de HAM.<sup>23</sup> Nefrite lúpica pode resultar em doença renal terminal e amenorreia juntamente com hiperprolactinemia.<sup>24</sup> Cerca de um terço das mulheres com LES apresenta anticorpos antifosfolipídios, o que pode explicar a associação entre LES e perdas gestacionais.<sup>25</sup>

Os tratamentos medicamentosos usados no LES podem prejudicar a fertilidade, como é o caso dos esteroides em doses altas, Aines e ciclofosfamida, que, em particular, têm influência na função ovariana, principalmente em idades mais avançadas. Um trabalho publicado em 2006 encontrou 39% de prevalência de falência ovariana em pacientes tratadas com ciclofosfamida com idade inferior a 30 anos e 59% em pacientes de 30 a 40 anos.<sup>26</sup> Um estudo de coorte feito entre setembro de 2010 e julho de 2011 nos Estados Unidos, que comparou a história reprodutiva de mulheres jovens portadoras de doença reumatológica com ou sem exposição prévia à ciclofosfamida, concluiu que mais mulheres com exposição prévia à ciclofosfamida tiveram amenorreia, nuliparidade e infertilidade.<sup>27</sup>

### Avaliação da reserva ovariana em pacientes lúpicas pré-menopáusicas por meio do hormônio anti-Mülleriano – estado da arte

Poucos estudos que usaram o HAM na avaliação de reserva ovariana em pacientes lúpicas foram feitos até o momento. Um estudo de caso-controle feito na Alemanha, entre fevereiro de 2009 e maio de 2010, analisou a influência do LES na reserva ovariana e levou em consideração atividade de doença e tempo de duração. A reserva ovariana foi determinada por meio da dosagem do HAM em 33 pacientes lúpicas pré-menopáusicas, sem exposição prévia à ciclofosfamida, e em 33 pacientes controles pareadas pela idade. Os níveis de HAM nas pacientes lúpicas foram significativamente mais baixos do que nos controles saudáveis. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos em relação ao número de filhos e abortos e não houve correlação entre o nível de HAM e o tempo de duração da doença ou o Sledai como indicador de atividade de doença. Apesar de apresentar leve atividade de doença, as pacientes lúpicas mostraram reserva ovariana significativamente menor do que os controles saudáveis pareados por idade.<sup>28</sup>

Uma coorte de 216 pacientes lúpicas chinesas, acompanhada entre junho de 2009 e outubro de 2009, estudou o nível de HAM e sua relação com a idade e a exposição prévia à ciclofosfamida. Encontrou-se que o nível médio de HAM foi significativamente mais baixo em pacientes previamente expostas à ciclofosfamida, ajustadas para a idade. Porém, não houve diferença significativa nessa média quando comparadas usuárias ou não de outros imunossuppressores, como micofenolato de mofetila, azatioprina e inibidores do calcineurina.<sup>29</sup>

Um estudo de caso controle feito em 2012, na França, encontrou níveis baixos de HAM em pacientes lúpicas, com decréscimo significativo associado à idade e ao uso prévio de ciclofosfamida. Apesar disso, o risco de insucesso gestacional foi baixo (15,8%). O uso prévio de ciclofosfamida foi fator preditor, mas os níveis de HAM não.<sup>30</sup>

**Tabela 1 – Resumo de artigos publicados**

Estudo	Delineamento	Seguimento	Resultados principais
Lawrenz B et al. <sup>28</sup>	Caso-controle (33 pacientes em cada grupo)	Fevereiro de 2009 a maio 2010, Alemanha	Os níveis de HAM nas pacientes lúpicas foram significativamente mais baixos do que nos controles saudáveis.
Mok CC et al. <sup>29</sup>	Coorte, 216 pacientes lúpicas	Junho de 2009 a outubro de 2009, China	O nível médio de HAM foi significativamente mais baixo em pacientes previamente expostas à ciclofosfamida.
Morel N et al. <sup>30</sup>	Caso-controle (56 pacientes em cada grupo)	2012, França	Níveis baixos de HAM em pacientes lúpicas, com decréscimo significativo associado à idade e ao uso prévio de ciclofosfamida.
Malheiro OB et al. <sup>31</sup>	Caso-controle (27 pacientes em cada grupo)	Brasil	Valores médios de reserva ovariana semelhantes nos dois grupos. As pacientes lúpicas apresentaram mais ampla distribuição de valores do HAM.

Outro estudo de caso-controle, esse com número reduzido de pacientes (27 em cada grupo), feito no Brasil encontrou valores médios de reserva ovariana semelhantes nos dois grupos, porém as pacientes lúpicas apresentaram mais ampla distribuição de valores do HAM. A função ovariana foi mais comprometida em pacientes com maior dose cumulativa de ciclofosfamida e com maiores escores de dano da doença.<sup>31</sup> O resumo dos principais artigos publicados até o momento pode ser visto na [tabela 1](#).

## Conclusão

O HAM vem ganhando espaço como marcador fidedigno da reserva ovariana. Está bem estabelecido o papel da ciclofosfamida como causadora de infertilidade, evidenciado pelas dosagens mais baixas de HAM nas pacientes previamente expostas pareadas pela idade. Contudo, são necessários mais estudos, com número maior de pacientes, para verificar se há diferenças na reserva ovariana de pacientes lúpicas quando comparadas com controles, bem como as implicações da atividade da doença na fertilidade dessas pacientes. Medicamentos com menor toxicidade ovariana poderão ser oferecidos às pacientes com HAM reduzido e que desejarem gerar.

## Financiamento

Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (Fipe/HCPA).

## Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## REFERÊNCIAS

- Peters H, Byskov AG, Grinsted J. Follicular growth in fetal and prepubertal ovaries in humans and other primates. *J Clin Endocrinol Metab.* 1978;7:469-85.
- Freitas, Menke, Rivoir & Passos. Rotinas em ginecologia. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2011.
- Richardson SJ, Senikas V, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987;65:1231-7.
- Lee MM, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions. *Endocr Rev.* 1993;14:152-64.
- La Marca A, Stabile G, Arsenio AC, Volpe A. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod.* 2006;21:3103-7.
- Visser JA, De Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction.* 2006;131:1-9.
- Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod.* 1992;7:1342-6.
- Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P, Van de Lang-Born BM, De Jong FH, Groome NP, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology.* 2006;147:3228-34.
- Appt SE, Clarkson TB, Chen H, Adams MR, Christian PJ, Hoyer PB, et al. Serum anti-Müllerian hormone predicts ovarian reserve in a monkey model. *Menopause.* 2009;16:597-601.
- Burger HG, Cahir N, Robertson DM. Serum inhibins A and B fall differentially as FSH rises in perimenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998;48:809-13.
- De Vet A, Laven JS, De Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Anti-Müllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril.* 2002;77:357-62.
- La Marca A, Giulini S, Orvieto R, De Leo V, Volpe A. Anti-Müllerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy. *Hum Reprod.* 2005;20:1569-72.
- Li HW, Wong CY, Yeung WS, Ho PC, Ng EH. Serum anti-Müllerian hormone level is not altered in women using hormonal contraceptives. *Contraception.* 2011;83:582-5.
- Shaw CM, Stanczyk FZ, Eggleston BL, Kahle LL, Spittle SC, Godwin AK, et al. Serum anti-Müllerian hormone in healthy premenopausal women. *Fertil Steril.* 2011;95:2718-21.
- Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod.* 2006;12:685-718.
- Fréour T, Mirallié S, Bach-Ngohou K, Denis M, Barrière P, Masson D. Measurement of serum anti-Müllerian hormone by Beckman Coulter Elisa and DSL Elisa: comparison and relevance in assisted reproduction technology (ART). *Clin Chim Acta.* 2007;375:162-4.
- Gnoth C, Schuring AN, Friol K, Tigges J, Mallmann P, Godehardt E. Relevance of anti-Müllerian hormone measurement in a routine IVF program. *Human Reproduction.* 2008;23:1359-65.
- Ekblom-Kullberg S, Kautiainen H, Alha P, Helve T, Leirisalo-Repo M, Julkunen H. Reproductive health in women with systemic lupus erythematosus compared to population controls. *Scand J Rheumatol.* 2009;38:375-80.

19. Nelson LM. Clinical practice, primary ovarian insufficiency. *N England J Med.* 2009;360:606-14.
20. Hoek A, Schoemaker J, Drexhage HA. Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity. *Endocr Ver.* 1997;18:107-34.
21. Gayed M, Gordon C. Pregnancy and rheumatic diseases. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46:1634-40.
22. Shabanova SS, Ananieva LP, Alekberova ZS, Guzov II. Ovarian function and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26:436-41.
23. Carp HJA, Selmi C, Shoenfeld Y. The autoimmune bases of infertility and pregnancy loss. *Journal of Autoimmunity.* 2012;38. J266 e J274.
24. Gomez F, De la Cueva R, Wauters JP, Lemarchand-Beraud T. Endocrine abnormalities in patients undergoing long-term hemodialysis. The role of prolactin. *Am J Med.* 1980;68, 522 e 30.
25. Bizarro N, Tonutti E, Villalta D, Tampoia M, Tozzoli R. Prevalence and clinical correlation of anti-phospholipid-binding protein antibodies in anticardiolipin-negative patients with systemic lupus erythematosus and women with unexplained recurrent miscarriages. *Arch Pathol Lab Med.* 2005;129:61-8.
26. Manger K, Wildt L, Kalden JR, Manger B. Prevention of gonadal toxicity and preservation of gonadal function and fertility in Young women with systemic lupus erythematosus treated by cyclophosphamide: the Prego study. *Autoimmun Rev.* 2006;5:269-72.
27. Harward LE, Mitchell K, Pieper C, Copland S, Criscione-Schreiber LG, Clowse MEB. The impact of cyclophosphamide on menstruation and pregnancy in women with rheumatologic disease. *Lupus.* 2013;22:81-6.
28. Lawrenz JC, Henes M, Henes E, Neunhoeffer M, Schmalzing T, Fehm, et al. Impact of systemic lupus erythematosus on ovarian reserve in premenopausal women: Evaluation by using anti-Müllerian hormone. *Lupus.* 2011;20:1193-7.
29. Mok CC, Chan PT, To CH. Anti-Müllerian hormone and ovarian reserve in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2013;65:206-10.
30. Morel N, Bachelot A, Ghillani-Dalbin P, Amoura Z, Galicier L. Study of anti-Müllerian hormone and the relationship with subsequent probability of pregnancy in 112 systemic lupus erythematosus patients exposed or not to cyclophosphamide. *Lupus.* 2013;22:16. The 10th International Congress on SLE, April 18-21 2013, Buenos Aires, Argentina.
31. Malheiro OB, Rezende CP, Ferreira GA, Reis FM. Federal University of Minas Gerais, Brazil. Ovarian reserve markers in reproductive age women with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2013;22:162. The 10th International Congress on SLE, April 18-21 2013, Buenos Aires, Argentina.