

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

DEMÉTRIO ANTONIO GONÇALVES DA SILVA GOMES

**Comprimento do telômero em mulheres com síndrome dos ovários policísticos
na perimenopausa**

RIBEIRÃO PRETO

2014

DEMÉTRIO ANTONIO GONÇALVES DA SILVA GOMES

**Comprimento do telômero em mulheres com síndrome dos ovários policísticos
na perimenopausa**

**Tese apresentada ao Departamento de
Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade
de Medicina de Ribeirão Preto como pré-
requisito para obtenção do Título de
Doutor em Ciências Médicas.**

Área de concentração: Ginecologia

**Orientadora: Prof. Dra. Rosana Maria dos
Reis**

**VERSÃO CORRIGIDA. A versão original se encontra disponível no Programa
de Pós-Graduação em Ginecologia e Obstetrícia.**

**RIBEIRÃO PRETO
2014**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que seja citada a fonte.

Gomes, Demétrio Antonio Gonçalves da Silva

Comprimento do Telômero em Mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos na Perimenopausa. Ribeirão Preto, 2014.

45 p.: il.; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Ginecologia.

Orientadora: Dos Reis, Rosana Maria.

1. Síndrome dos Ovários Policísticos. 2. Obesidade 3. Perimenopausa. 4. Telômeros

FOLHA DE APROVAÇÃO

GOMES, DAGS. **Comprimento do Telômero em Mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos na Perimenopausa.** Tese apresentada ao Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto como pré-requisito para obtenção do Título de Doutor em Ciências Médicas.

Aprovada em:

Banca examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento _____ Assinatura _____

DEDICATÓRIA

Aos cinco amores de minha vida, Meus Sobrinhos: Vítor, Pablo, Raíssa e Mariana e ao Meu Companheiro e Amigo Fiel de quatro patas: Juanito.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Jesus, nosso Irmão Maior. Fruto de amor e bondade. Exemplo a ser seguido.

Agradeço aos Meus Pais, Demeval e Ana, pelo exemplo de Amor, Honestidade, Retidão. Amor incondicional.

Agradeço o incentivo dos Meus Irmãos, Wellington, Bruno e Roberta e suas lindas famílias Amanda e Vítor, Giselle e Mariana, Nilvan, Pablo e Raíssa, respectivamente. Amo todos vocês.

Agradeço a Cica, pessoa mais que especial em minha vida. Minha segunda Mãe.

Agradeço a todos de minha família: Tios, Tias, Primos e Primas. Todos, sem exceção, são essenciais para mim e de uma maneira ou outra participam de minha vida.

Agradeço a Márcio Guerra pelo apoio e a paciência em escutar minhas inúmeras histórias sobre o Doutorado.

Agradecimento mais que especial à minha Orientadora. Muito mais que isso: minha Amiga: Profa. Dra. Rosana Maria dos Reis. Uma pessoa capaz de abdicar de seu tempo precioso para me orientar, mas acima de tudo me escutar, me tranquilizar nos momentos mais apreensivos nesse período. Muito Obrigado, Rosana!

Agradeço à Profa. Dra. Cristiana Libardi pelo apoio importantíssimo e imprescindível na análise do comprimento dos telômeros (qPCR), técnica que

domina e com uma paciência invejável me transmitiu de maneira simples. Muito Obrigado, Cris, inclusive pelas valiosas orientações!

Agradecimento especial à minha colega de Pós-Graduação Daiana Pedroso pelo acolhimento inicial e pela revisão final da tese.

Agradeço a todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Ginecologia e Obstetrícia da USP-Ribeirão Preto.

Agradecimento especial à Secretária do Programa de Pós-Graduação: Suelen. Sempre muito atenciosa, não mediu esforços para me atender. Exemplo de profissionalismo. Muito Obrigado!

Agradeço aos funcionários do Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da USP-Ribeirão Preto.

Agradeço aos funcionários do Laboratório do Hospital Regional de Samambaia pela ajuda na coleta de sangue, em especial ao Paulinho, exemplo de profissional.

Agradeço aos profissionais do Hospital Regional de Samambaia que me apoiaram, em especial, Ivoney, Helena e Araci.

Registro meu agradecimento a alguns Professores que foram essenciais em minha formação acadêmica e que são responsáveis pelo meu Amor pelos estudos, desde o Ensino Infantil até a Pós-Graduação e que ainda são presentes em minha vida de alguma forma:

- Ensino Infantil-Fundamental (Educandário Santa Maria-Garanhuns PE):

Ana Pessoa

- Ensino Fundamental-Médio (Colégio XV de Novembro- Garanhuns PE): Eva Medeiros (in memoriam)

- Ensino Superior (Universidade Federal de Alagoas): Guilherme Porciúncula

-Pós-Graduação Nível Residência Médica (Fundação Hospital do Distrito Federal): Lígia Gomes

- Pós-Graduação Nível Mestrado (Universidade Católica de Brasília): Adriano Tavares e Carmen Jansen

- Pós-Graduação Nível Doutorado (Universidade de São Paulo-USP-Ribeirão Preto): Rosana Maria dos Reis

Agradeço também aos colegas e amigos professores do Curso de Medicina, disciplina de Ginecologia, da Universidade Católica de Brasília pelo apoio e incentivo: Parizza Sampaio, Mima Danitza, Frederico Correa e Marta de Betânia Rabelo.

Agradeço a torcida e o carinho de meus amigos, em especial: Marco Aurélio Brasil, Claudimary Bezerra de Lima, Carla Margalho, Silvano Margalho, Mirca Melo, Patrícia Trajano Ramalho, Wellington Soares, Janyara Teixeira, Luciano Henrique Pereira dos Santos, Janaína Diegues, Daniela Martins, Elielma de Moraes, Francisco Nascimento e Juliana Catão.

EPÍGRAFE

“Assim como não se deve tentar curar os olhos separados da cabeça ou a cabeça separada do corpo também não se deve tentar curar o corpo separado da alma. É por isso que os médicos desconhecem a cura de muitas doenças. Porque eles não olham para o todo que também deve ser estudado, pois, a parte não poderá estar bem se o todo não o estiver”.

Sócrates (470–399 a.C.)

RESUMO

GOMES, DAGS. **Comprimento do Telômero em Mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos na Perimenopausa.** 2014, 45 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Introdução: Após longo período de exposição às alterações metabólicas da síndrome dos ovários policísticos, a mulher climatérica pode apresentar encurtamento do comprimento dos telômeros leucocitários. **Objetivos:** Analisar o comprimento dos telômeros no período da perimenopausa em mulheres com SOP; Correlacionar o IMC, a circunferência da cintura, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e o DM2 com o comprimento dos telômeros. **Desenho do estudo:** estudo transversal. **Métodos:** As pacientes foram divididas em dois grupos, um grupo de pacientes com SOP, composto por 197 mulheres e um grupo controle, constituído por 174 mulheres. Todas as pacientes foram avaliadas com uma história clínica e exame físico detalhado, identificando variáveis, como a idade, o Índice de Massa Corporal (IMC), as medidas da circunferência da cintura e circunferência do quadril, o cálculo do índice de Ferriman-Gallwey, a paridade, a presença de DM2 e de HAS. Foram realizadas dosagens hormonais e análise do comprimento dos telômeros, determinado pelo método quantitativo da reação em cadeia da polimerase. **Resultados:** Ao comparar os grupos SOP e controle em relação à idade, IMC, cintura, quadril, Relação cintura-quadril, gravidez, parto, aborto, 17-Hidroxi-Progesterona, testosterona, Hormônio Estimulante da Tireóide e insulina não foi encontrada diferença entre os grupos. As mulheres do grupo SOP apresentaram maior Índice de Ferriman-Gallwey comparado com o grupo controle ($p < 0,01$). A média do comprimento dos telômeros do grupo SOP foi de $0,7(\pm 0,21)$, e no grupo controle foi de $0,7(\pm 0,25)$. E quando realizada a comparação entre os dois grupos de estudo, não houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,62$). IMC foi a única característica que apresentou correlação negativa como comprimento dos telômeros ($p = 0,0051$). **Conclusões:** A presença de obesidade, como repercussão metabólica da SOP, encurtou os telômeros das mulheres climatéricas.

Palavras-chave: Síndrome dos Ovários Policísticos, Obesidade, Perimenopausa, Telômeros.

ABSTRACT

GOMES, DAGS. **Telomere length in women with Polycystic Ovary Syndrome in the perimenopausal.** 2014, 45f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Introduction: After a long period of exposure to metabolic changes of polycystic ovary syndrome, climacteric women may have shortened the length of leukocyte telomeres. **Objectives:** To analyze the length of telomeres in the perimenopausal period in women with PCOS; Correlate the BMI, waist circumference, hypertension (SAH) and DM2 with telomere length. **Study Design:** cross-sectional study. **Methods:** Patients were divided into two groups, one group of patients with PCOS, composed of 197 women and a control group consisting of 174 women. All patients were evaluated with a medical history and detailed physical examination, identifying variables such as age, body mass index (BMI) measurements of waist circumference and hip circumference, calculation of Ferriman-Gallwey index, parity, presence of DM-2 and hypertension. Hormone levels were performed and analysis of telomere length, determined by the quantitative method of polymerase chain reaction. **Results:** By comparing the PCOS and control groups in terms of age, BMI, waist, hip, waist-hip ratio, pregnancy, childbirth, abortion, 17-hydroxy-progesterone, testosterone, hormone thyroid stimulating and insulin was no difference between groups. The women of PCOS group had higher Ferriman-Gallwey index compared with the control group ($p < 0.01$). The average length of the telomeres PCOS group was $0.7 (\pm 0.21)$, and the control group was $0.7 (\pm 0.25)$. And when performed to compare the two groups, there was no statistically significant difference ($p = 0.62$). BMI was the only feature that was negatively correlated with telomere length ($p = 0.0051$). **Conclusions:** The presence of obesity, such as metabolic impact of PCOS, shortened telomeres of the menopausal women.

Keywords: Polycystic Ovary Syndrome, Obesity, Perimenopause, Telomeres.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:

Fluxograma da seleção das participantes do estudo 27

Figura 2:

Integridade do DNA em gel de Agarose 1,5% corado com gelred 30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Dados antropométricos e dosagens hormonais das mulheres do grupo SOP e Controle	28
Tabela 2:	Correlação das variáveis IMC, circunferência da cintura, HAS e DM2	31

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Comprimento dos telômeros nos grupos SOP e controle	30
--	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

17-OHP -	17-hidroxi-progesterona
AE-PCOS -	Sociedade de Excesso de Andrógenos
ASRM -	Sociedade Norte-America de Medicina Reprodutiva
CC -	Circunferência da Cintura
DCV -	Doença Cardiovascular
DM2 -	Diabetes mellitus tipo 2
DNA -	Ácido Desoxirribonucléico
ESHRE -	Associação Europeia de Reprodução Humana e Embriologia
HAS -	Hipertensão Arterial Sistêmica
IMC -	Índice de Massa Corporal
NIH -	National Institute of Health
PBS -	Tampão Fosfato Salino
q-PCR -	Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa em tempo real quantitativa
RCQ -	Razão Cintura/Quadril
RI -	Resistência à Insulina
RNA -	Ácido Ribonucléico
SOP -	Síndrome dos Ovários Policísticos
TERC -	<i>Telomerase RNA</i>
TERT -	<i>Human Telomerase Reverse Transcriptase</i>
TSH -	Hormônio Estimulante da Tireóide

SUMÁRIO

1-	INTRODUÇÃO	17
2-	OBJETIVOS	21
	2.1- Geral	21
	2.2- Específico	21
3-	CASUÍSTICA E MÉTODOS	22
	3.1- Casuística	22
	3.2- Métodos	23
	3.2.1- Dosagens Hormonais	23
	3.2.2- Análise do Comprimento do telômero dos leucócitos	24
	3.2.3- Análise Estatística	26
4-	RESULTADOS	27
5-	DISCUSSÃO	32
6-	CONCLUSÕES	35
	REFERÊNCIAS	36
	ANEXOS	41

1 – INTRODUÇÃO

A síndrome dos ovários policísticos (SOP) consiste em um distúrbio endócrino reprodutivo, cuja incidência varia de 6 a 14% das mulheres em idade reprodutiva (SANCHON *et al.*, 2012), sendo apontada como um importante problema de saúde pública (MARCH *et al.*, 2010). Em 1990 em um consenso do *National Institutes of Health* (NIH) definiu a SOP como anovulação crônica hiperandrogênica, seguindo os critérios: 1. Oligo e/ou amenorréia; 2. Hiperandrogenismo clínico e/ou laboratorial (ZAWADESKI; DUNAIF, 1992). Os critérios diagnósticos estabelecidos em 1990 foram submetidos a uma reavaliação no ano de 2003 em um novo encontro de especialistas fomentado pela *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) e *American Society of Reproductive Medicine* (ASRM), conhecido como Consenso de Rotterdam. A SOP foi então definida com a presença de pelo menos dois dos três critérios: 1. oligo e/ ou amenorréia; 2. hiperandrogenismo clínico e/ou laboratorial; 3. Presença de ovários policísticos à ultrassonografia (ROTTERDAM, 2004).

Posteriormente, *Androgen Excess and PCOS Society* (AE-PCOS Society) definiu que o hiperandrogenismo clínico e/ou laboratorial obrigatoriamente deveria estar presente como um critério para o diagnóstico da síndrome, ou seja, são necessários dois dos critérios seguintes: 1. Oligo e/ou amenorréia ou ovários policísticos à ultrassonografia; 2. Evidências clínicas ou laboratoriais de excesso androgênico (AZZIZ *et al.*, 2006; AZZIZ *et al.*, 2009).

Todos os consensos até o momento estabelecidos ressaltam a importância de exclusão de outras doenças hiperandrogênicas, como a

hiperprolactinemia, doença da tireóide, hiperplasia adrenal congênita de manifestação tardia e Síndrome de *Cushing* (ZAWADESKI; DUNAIF, 1992, ROTTERDAM, 2004, AZZIZ *et al.*, 2006).

Os distúrbios metabólicos frequentemente encontrados na SOP são resistência à insulina (RI), hiperinsulinemia, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e doença cardiovascular (DCV) (ROSENZWEIG *et al.*, 2008). Devido à inflamação em decorrência destes distúrbios, há evidências de que o estresse oxidativo também participa da fisiopatologia da SOP (MURRI *et al.*, 2013).

Com o avançar da idade, entre a terceira e a quinta década de vida, as mulheres com SOP apresentam níveis de testosterona mais baixos, assim como os ciclos menstruais passam a ser mais irregulares. Essas modificações predispõem a uma melhora na função reprodutiva no período pré-menopausa. No entanto, tem-se especulado que essas mulheres após a menopausa apresentam maiores taxas de obesidade, DM2 e DCV, mas dados existentes até o momento sugerem que a taxa de mortalidade é semelhante a população geral da mesma faixa etária (DAVISON *et al.*, 2005; ALSAMARAI *et al.*, 2009; HUDECOVA *et al.*, 2009; TEHRANI *et al.*, 2010).

Estudos têm demonstrado uma correlação direta entre a idade e o encurtamento dos telômeros (SANDERS; NEWMAN, 2013). Em contrapartida, os hormônios sexuais, estrógenos e andrógenos podem diminuir a erosão dos telômeros através do aumento da expressão e/ou atividade da telomerase (VASA *et al.*, 2000; AVIV, 2002; CALADO *et al.*, 2009; NOURBAKHSI *et al.*, 2010).

Os telômeros estão localizados nas extremidades dos cromossomos e são compostos por centenas de milhares de sequências de DNA repetidas em

tandem (5'-TTAGGG-3') (BLACKBURN *et al.*, 2001). A replicação dos telômeros envolve a atividade de uma transcriptase reversa, a telomerase, conhecida como um complexo enzimático composto de duas unidades funcionais: TERC, componente que fornece o molde de RNA para a síntese dos telômeros e TERT, componente de proteína que catalisa a adição de repetições teloméricas (CALADO; CHEN, 2006).

Os telômeros encurtam progressivamente a cada divisão celular, repercutindo na senescência e/ou morte celular (ARMANIOS; BLACKBURN, 2012). O encurtamento dos telômeros pode levar à instabilidade cromossômica, aumentando as taxas de mutações genéticas e anormalidades cromossômicas (MATHON; LLOYD, 2001). Um dos mecanismos genéticos que determinam o tempo de vida proliferativa de uma célula é a manutenção do telômero (BAIRD; KIPLING, 2004).

Até o momento somente dois estudos correlacionaram o comprimento do telômero com a SOP. Um estudo na população chinesa com mulheres na idade reprodutiva observou um encurtamento do comprimento do telômero em mulheres com SOP em comparação com mulheres controle. Uma correlação negativa entre o comprimento dos telômeros e o nível de sulfato de deidroepiandrosterona também foi encontrada nas mulheres controle (LI *et al.*, 2014). Em contrapartida, um estudo do nosso grupo investigou o comprimento do telômero em mulheres com SOP em comparação com mulheres controle também na idade reprodutiva e não foi encontrado um encurtamento do comprimento do telômero nestas mulheres, mas uma correlação negativa dos biomarcadores inflamatórios, proteína c-reativa e homocisteína, no comprimento do telômero em mulheres com SOP (PEDROSO *et al.*, 2014).

A menopausa pode alterar a trajetória de desgaste dos telômeros (AVIV *et al.*, 2006). Estudos sugerem que a terapia de reposição hormonal com progesterona e estrógeno em mulheres na pós-menopausa pode reduzir a taxa de erosão dos telômeros (LEE *et al.*, 2005).

Nenhum estudo até o momento relacionou o comprimento do telômeros nas mulheres que tiveram SOP no período da pré-menopausa. As mulheres com SOP possuem um histórico de hiperandrogenismo durante a sua fase reprodutiva e embora estas mulheres estejam no período de pré-menopausa, estes andrógenos podem ter contribuído para uma proteção do comprimento dos telômeros nestas mulheres ao longo da vida. Nesse sentido, após longo período de exposição às alterações metabólicas da SOP, a mulher climatérica pode apresentar encurtamento do comprimento dos telômeros leucocitários, tornando-se motivo de muitos estudos e de grande preocupação em relação ao seu envolvimento no desencadeamento de DCV.

2 – OBJETIVOS

2.1- Geral

Analisar o comprimento do telômero no período de perimenopausa em mulheres com SOP.

2.2- Específico

- Correlacionar o índice de massa corporal (IMC), a circunferência da cintura, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e o DM2 com o comprimento dos telômeros.

3–CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 – Casuística

Trata-se de um estudo transversal, realizado com mulheres no período de pré-menopausa, recrutadas consecutivamente no Ambulatório de Climatério do Hospital Regional de Samambaia, Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, Brasília - Distrito Federal, no período de agosto de 2010 a agosto de 2011.

As mulheres foram selecionadas independentemente de etnia, posição sociocultural ou paridade e foram divididas em dois grupos, sendo um grupo de 200 mulheres com SOP e um grupo de 200 mulheres com ciclos menstruais regulares, perfazendo um total de 400 pacientes.

Como critérios de inclusão foram determinados que somente participassem da pesquisa mulheres com faixa etária compreendida entre os 40 e 50 anos de idade que apresentassem ciclos menstruais e que concordassem em participar do estudo após leitura e assinatura do termo de consentimento livre e informado (ANEXO I).

O diagnóstico de SOP foi realizado segundo os critérios do *National Institutes of Health* (NIH) (ZAWADZKI & DUNAIF, 1992), com presença de anovulação crônica e hiperandrogenismo clínico e/ou bioquímico após a exclusão de outras etiologias conhecidas para essas condições, tais como hiperplasia adrenal congênita, síndrome de Cushing, tumores adrenais e ovarianos secretores de androgênios, disfunções tireoideanas e hiperprolactinemia. Para isto, as mulheres responderam a um questionário

(ANEXO II) com dados de anamnese e exame físico na busca das características do ciclo menstrual, como intervalo intermenstrual e presença de sinais de hiperandrogenismo, como acne, oleosidade da pele e cabelos, queda de cabelos e hirsutismo.

Foram excluídas mulheres com hábitos tabagistas, usuárias de qualquer tipo de medicação hormonal ou que apresentassem qualquer tipo de alteração endócrina que interferisse no eixo hipotálamo-hipófise como hiperplasia adrenal congênita de manifestação tardia e Síndrome de *Cushing*, e mulheres na menopausa.

3.2 - Métodos

Todas as pacientes foram avaliadas através de uma anamnese completa, exame físico detalhado, com identificação de algumas variáveis, como idade, IMC, circunferência de cintura e quadril, índice de Ferriman-Gallwey, gestação com paridade, presença de DM2 e de HAS (ANEXO II).

3.2.1 - Dosagens sanguíneas

Com as pacientes em jejum de 12 horas, foram colhidos 20 ml de sangue total. O sangue foi centrifugado e o soro foi armazenado a -20°C até a realização das dosagens hormonais. Foram realizadas dosagens de Hormônio Estimulante da Tireóide (TSH), Insulina, testosterona total e 17-hidroxi-progesterona (17- OHP). O TSH e insulina foram dosados pelo método de quimiluminescência através do aparelho DPC 2000 Immulite® (Diagnostic Products Corporation Los Angeles, CA, USA®). A testosterona total e a 17-OHP foram dosadas pelo método de radioimunoensaio através do cintilador Tri-Carb

2100TR (Packard® Instrument Company, IL, USA).

3.2.2–Análise do comprimento do telômero dos leucócitos

Para a extração de DNA dos leucócitos foram colhidos 5 ml de sangue total. Após lavagem com tampão de lise de hemácias (45 ml de cloreto de amônio e 5 ml de bicarbonato de amônio com água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC), autoclavado e centrifugado a 4°C, 10 minutos por 3000 rpm, o pellet de leucócitos foi ressuscitado em Tampão Fosfato Salina (PBS) 1x e separados e armazenados em alíquotas de 100µl a -80°C até a extração do DNA. A extração do DNA foi realizada com o KIT "QIAamp® Micro" (QIAGEN), segundo especificações do fabricante.

A verificação da qualidade e quantidade de DNA extraído de cada amostra foi verificada pelo Nanodrop 2000c (ThermoScientific, USA). Posteriormente, 31 amostras foram selecionadas aleatoriamente, contendo diferentes concentrações de DNA, para confirmação da integridade do material, a qual foi verificada em gel de Agarose 1,5%, corado com *Gel Red* (Figura 2). Foi utilizado o foto documentador de gel *Mini Bis Pro 25 mm* (Bio-Imaging Systems).

O comprimento do telômero foi determinado pelo método Reação em Cadeia de Polimerase quantitativa em tempo real (qPCR), como descrito previamente (CAWTHON, 2009; SCHEINBERG *et al.*, 2010; CALADO *et al.*, 2011). O método foi feito em duas reações, uma para o comprimento do telômero, usando os seguintes *primes*: *forward* 5'CGGTTTGGTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTT3' e *reverse* 5'GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT3'; e outra para o

single gene, utilizando os seguintes *primers*: *forward* 5'CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC3' e *reverse* 5'CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA3'. Para cada reação (telômero e *single gene*), as amostras foram analisadas em triplicata e cada reação possuía 1,6 ng de DNA genômico, 7,2 pg de cada *primer* (exceto para o *primer reverse* do *single gene*, que continha 12 pg e 16 µL de *Rotor-Gene SYBR Green PCR Master Mix* (Qiagen)).

O comprimento do telômero de cada amostra (x) foi baseado na razão entre o telômero e o *single gene* (razão T/S) e baseado no cálculo do ΔCt [$Ct(\text{telômero})/Ct(\text{single gene})$]. O comprimento do telômero foi expresso em razão relativa T/S, normalizada para a média da razão T/S da amostra de referência [$2^{-(\Delta Ct_x - \Delta Ct_r)} = 2^{-\Delta \Delta Ct}$], amostra esta também usada como curva padrão, amostra de referência e amostra de validação. Para se poder comparar resultados de diferentes discos, os resultados de cada corrida apenas foram aprovados se a razão T/S da amostra de validação estivesse dentro 3% do coeficiente de variação esperado.

A reação de telômeros foi realizada utilizando 25 ciclos, por 47 minutos, no instrumento Rotor-Gene Q em tempo real com o "Rotor-Gene SYBR Green Kit", em um volume de reação de 20 µL. As condições de PCR utilizados para o ensaio foram: 95°C 5 minutos, 98°C 7 s, 60°C 10 s (25 ciclos). Os discos de 100 poços foram manipulados utilizando o instrumento de manipulação de líquidos QIAgility. A reação do *single gene* foi realizada em 35 ciclos, por 61 minutos e as condições de PCR foram: 95°C 5 minutos; 98°C 7 s, 58°C 10 s (35 ciclos).

3.3- Análise estatística

Inicialmente foram realizados análise descritiva e teste estatístico denominado Teste de Mann-Whitney para as seguintes variáveis: Idade, IMC, Cintura, Quadril, razão cintura/quadril (RCQ), testosterona e Insulina. Para as análises descritivas da amostra foram utilizadas médias, desvios-padrão, valores mínimos e máximos e medianas. Foi realizado também o teste estatístico Qui-Quadrado para as variáveis: Diabetes, HAS e Índice de Ferriman.

Foi utilizada Análise de Covariância (ANCOVA) para comparação do comprimento dos telômeros entre os grupos estudados, a qual permite o ajuste de covariáveis que possam estar interferindo nessas análises, tais como HAS, IMC, circunferência da cintura, DM2.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SAS (9.0 software (SAS Institute Inc., North Carolina University, NC, USA), com 5% de nível de significância ($p \leq 0,05$).

4 - RESULTADOS

De um total de 400 mulheres recrutadas, 200 foram do grupo SOP e 200 do grupo controle. Foram excluídas da amostra inicial, 3 mulheres do grupo SOP e 26 do grupo controle, por não apresentarem integridade do DNA. Portanto, no final da seleção amostral, totalizaram 197 mulheres do grupo SOP e 174 do grupo controle, segundo o fluxograma abaixo (Figura 1).

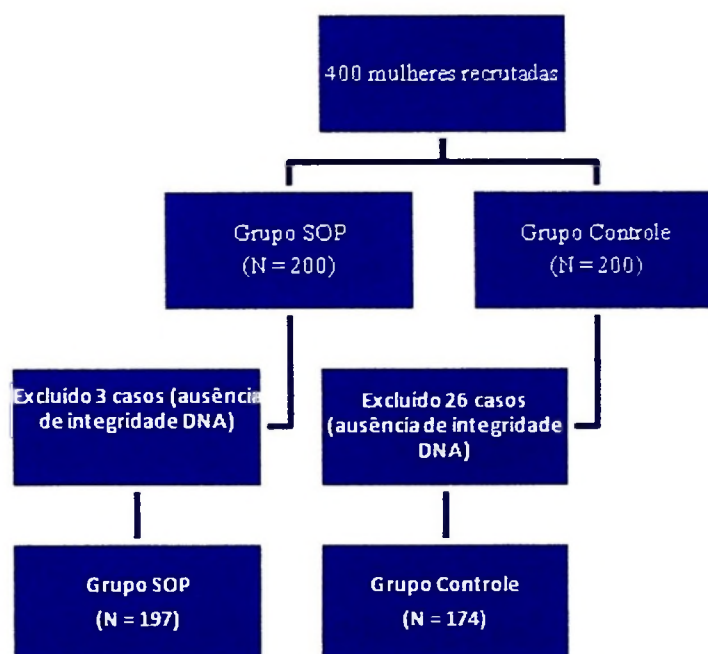


Figura 1 - Fluxograma da seleção das participantes do estudo

SOP; Síndrome dos Ovários Policísticos, DNA; ácido desoxirribonucléico.

Foi realizada uma comparação (média e desvio padrão) das variáveis descritivas (idade, IMC, medida da cintura, quadril, RCQ e insulina jejum) entre os grupos SOP e controle, porém não houve diferença em nenhuma das variáveis entre os grupos estudados (Tabela 1).

Tabela 1: Dados antropométricos e dosagens hormonais das mulheres do grupo SOP e Controle.

Variável	Grupos	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	Valor p
Idade (anos)	SOP	197	45,53	3,36	40	46	50	0,12
	Controle	174	44,97	3,45	40	45	50	
IMC (Kg/m ²)	SOP	197	27,94	4,21	19,08	27,92	38,95	0,82
	Controle	174	27,8	4	19,67	27,64	37,21	
Circunferência da Cintura (cm)	SOP	197	91,75	10,69	64	91	117	0,86
	Controle	174	91,56	10,14	64	91	117	
Quadril (cm)	SOP	197	103,59	10,54	78	102	131	0,56
	Controle	174	103,13	10,28	78	102	131	
RCQ (cm)	SOP	197	0,88	0,06	0,67	0,89	1,04	0,56
	Controle	174	0,88	0,05	0,74	0,9	1,04	
Testosterona (ng/dL)	SOP	197	65,72	40,15	18	54	244	0,67
	Controle	174	65,99	64,54	13	48	656	
Insulina (µIU/mL)	SOP	197	7,78	11,01	2	4,52	102	0,53
	Controle	174	7,14	6,64	2	4,28	31,5	

SOP; síndrome dos ovários policísticos; IMC, Índice de Massa Corporal; RCQ, Razão Cintura e Quadril

No grupo SOP foi observado que 45,7% das pacientes apresentaram índice de Ferriman-Gallwey positivo, sendo que quando comparados com o grupo controle, o grupo SOP apresentou-se mais elevado que o grupo controle ($p < 0,01$). Não foi encontrada diferença no DM-2 e na HAS entre os grupos SOP e controle ($p = 0,48$ e $p = 0,70$, respectivamente).

Na análise do comprimento do telômero, a integridade do DNA foi verificada previamente em gel de agarose como condição para a quantificação do comprimento do telômero por q-PCR. A ilustração da qualidade do DNA esta representada na Figura 2, onde as amostras apresentaram boa qualidade, sem a presença de rastros que sugeriram degradação.

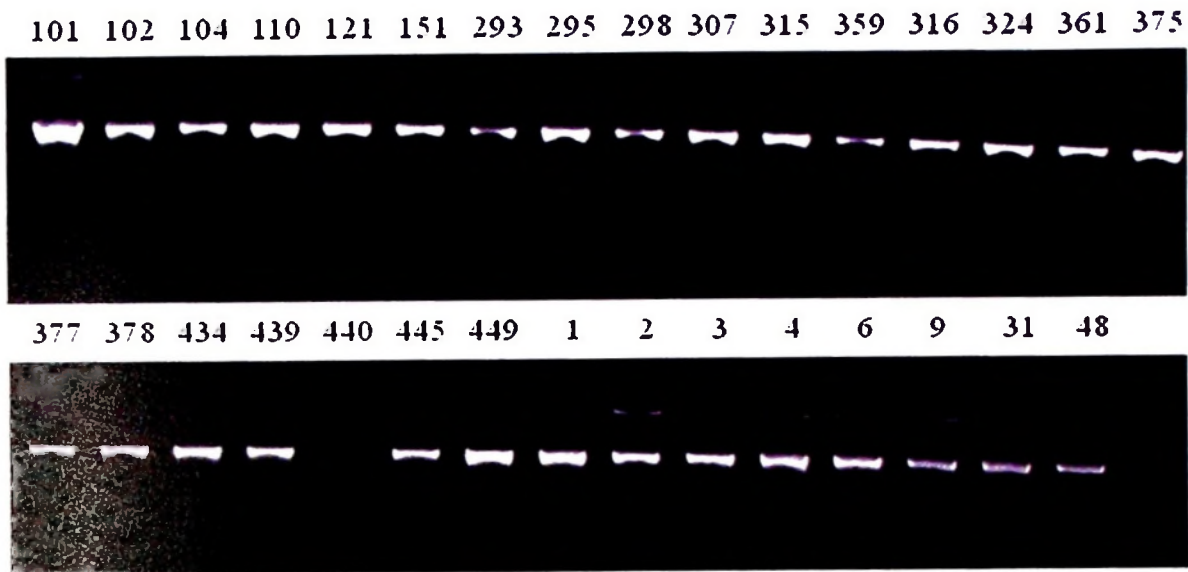


Figura 2- Integridade do DNA em gel de Agarose 1,5% corado com gelred.

O valor médio do comprimento do telômero no grupo SOP foi de 0,7 ($\pm 0,21$) e do grupo controle de 0,7 ($\pm 0,25$). E quando realizadas as comparações entre os dois grupos de estudo, não houve diferença ($p=0,62$), conforme observado no gráfico 1.

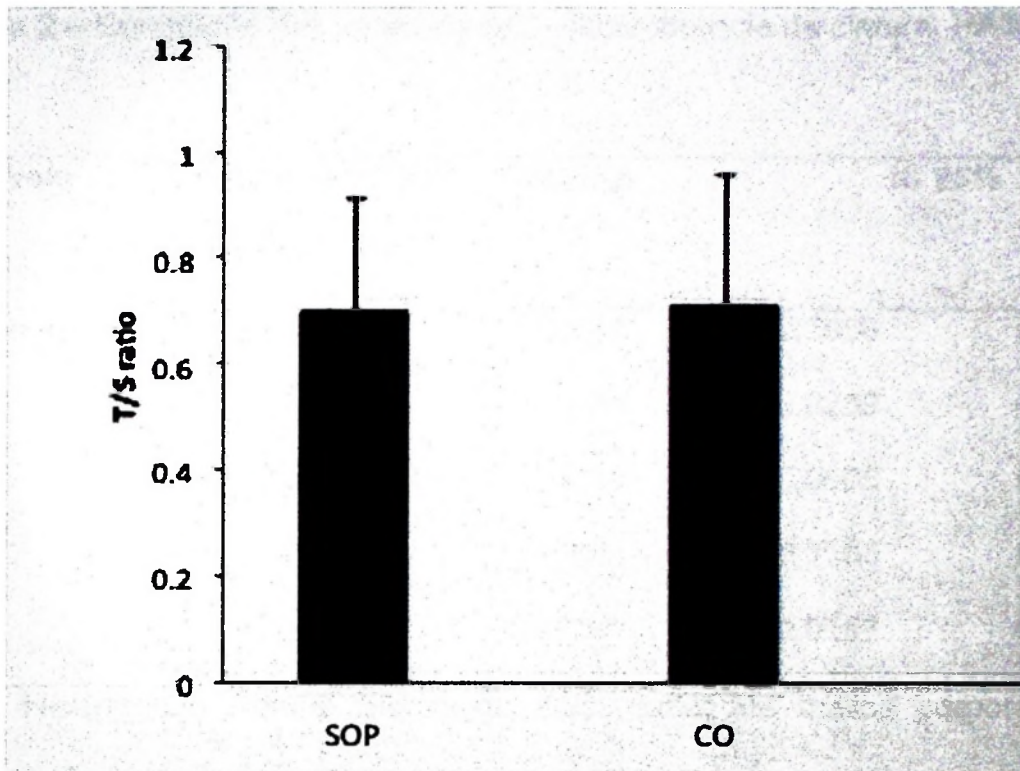


Gráfico 1 - Comprimento dos telômeros nos grupos SOP e controle ($p=0,65$).

SOP: Síndrome dos Ovários Policísticos; CO: Controle.

Foi verificada se a presença de comorbidades como HAS e DM-2 ou características da composição corporal como IMC e circunferência da cintura apresentavam relação com o comprimento do telômero. Observou-se que o IMC foi a única variável que apresentou correlação negativa com o comprimento do telômero ($p = 0,0051$), conforme pode ser visto na tabela 2.

Tabela 2 – Correlação das variáveis IMC, circunferência da cintura, HAS e DM2

Variáveis	Estimativa do coeficiente	Valor <i>p</i>	IC 95%	
Intercepto	-0,2822	0,0509	-0,5656	0,0011
IMC	-0,0158	0,0051	-0,0269	-0,0048
CC	0,0037	0,0815	-0,0005	0,0078
HAS	-0,0639	0,0824	-0,1360	0,0082
DM2	0,0530	0,1301	-0,0157	0,1216

HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica; IMC: Índice de massa corporal; CC: Circunferência da cintura; DM2: Diabetes mellitus tipo 2.

5 – DISCUSSÃO

No presente estudo não foi observada diferença no comprimento do telômero entre os grupos SOP e controle no período da pré menopausa. Dentre as características que podem interferir no comprimento do telômero foi observado que somente o IMC apresentou correlação negativa com o comprimento do telômero independente do grupo. Ainda, o índice de Ferriman foi mais elevado no grupo SOP quando comparado com o grupo controle.

Observou-se que o IMC foi a única variável representativa de obesidade que apresentou correlação negativa com o comprimento do telômero. Embora a obesidade em si não seja considerada o evento estimulante no desenvolvimento da SOP, o excesso de adiposidade pode exacerbar perturbações reprodutivas e metabólicas associadas (EHERMANN, 2005; OJANIEMI *et al.*, 2010;).

Estudos apontam para o fato de que muitas mulheres com SOP, entre 38% e 88%, estão com sobrepeso ou são obesas e é importante destacar que, mesmo uma modesta perda de 5% do peso corporal há resultados que atestam significativas melhorias nos sintomas de hiperandrogenismo e função ovulatória em mulheres com SOP. Não há dúvida, entretanto que a adiposidade desempenha um papel crucial no desenvolvimento e manutenção da SOP e influencia fortemente a gravidade dos seus aspectos clínicos e endócrinos em muitas mulheres com a doença. A obesidade, por si só, provavelmente, também contribui para as características de hiperandrogenismo, mesmo em mulheres com ovários normais (BARBER *et al.*, 2006). É bem sabido que a obesidade influencia a expressão fenotípica da SOP e pode desempenhar um

papel importante na fisiopatologia do hiperandrogenismo e anovulação crônica. Finalmente, é preponderante salientar que a perda de peso, mesmo que modesta, através de intervenções dietéticas e aumento da atividade física tem efeitos favoráveis sobre os perfis metabólico, endócrino e reprodutivo observados na SOP e conseqüentemente na dinâmica dos telômeros (AZZIZ *et al.*, 2004; PASQUALI *et al.*, 2006; TOIT *et al.*, 2009; YILDIZ *et al.*, 2008).

Em relação ao índice de Ferriman-Gallwey para avaliação de hirsutismo, encontrou-se mais elevado no grupo SOP quando comparado com o grupo controle. Sabe-se que o hirsutismo é uma das manifestações cutâneas prevalentes da SOP juntamente com acne, alopecia e *acantose nigricans* (MARTIN *et al.*, 2008; LEGRO *et al.*, 2013). Em um estudo com 950 pacientes apresentando hiperandrogenismo, entre eles o hirsutismo, 72,1% tiveram o diagnóstico de SOP (CARMINA *et al.*, 2006).

Em concordância com prévios estudos em nosso laboratório em mulheres com SOP no período reprodutivo (PEDROSO *et al.*, 2014), neste estudo também não encontramos diferenças no comprimento do telômero entre os grupos SOP e controle. Este resultado sugere, a eminência da menopausa pode interferir no comprimento dos telômeros, mas parece agir de forma igualitária, independente das manifestações clínicas da SOP na idade reprodutiva. Fatores como idade, obesidade, hábitos tabagistas, estresses oriundos de várias fontes, dentre outros fatores podem acelerar a diminuição telomérica. De outro modo, terapias estrogênicas ajudam na anulação do nível de perda telomérica e pesquisas apontam que mulheres submetidas a terapias de reposição hormonal apresentam telômeros mais alongados do que mulheres

com déficit hormonal (CALADO; YOUNG, 2009; McGRATH *et al.*, 2007; CALADO *et al.*, 2009).

É sabido que mulheres no climatério têm uma redução considerável dos hormônios esteróides, sobretudo o estrogênio. Este hormônio pode estar diretamente associado à dinâmica telomérica dos leucócitos por intermédio de suas características antiinflamatórias e antioxidantes e à sua disposição para o estímulo da telomerase (AVIV *et al.*, 2006).

O comprimento dos telômeros leucocitários é um registro da sua história replicativa e da carga cumulativa de inflamação e estresse oxidativo ao longo da vida do indivíduo. A menopausa pode alterar a trajetória de desgaste dos telômeros e, assim, compensar as relações entre o comprimento dos telômeros e índices de RI e da inflamação observada durante o período pré-menopausa. Esse princípio pode ser explorado através de estudos longitudinais da dinâmica dos telômeros de leucócitos, que podem enriquecer a compreensão do papel da menopausa na biologia do envelhecimento humano, observando que estudos também sugerem uma necessidade de futuras análises do comprimento do telômero em mulheres em diferentes faixas etárias, após longo período de exposição às alterações metabólicas da SOP, como no climatério, um período de transição da fase reprodutiva, quando os ovários apresentam reduzida população folicular com repercussão na sua produção hormonal e no período da menopausa, onde já não existe a ação do estrogênio.

6 – CONCLUSÕES

Não foram observadas diferenças no comprimento do telômero em mulheres na SOP durante a pré-menopausa quando comparadas ao grupo controle.

O IMC apresentou correlação negativa com o comprimento do telômero independente do grupo estudado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALSAMARAI S, ADAMS JM, MURPHY MK, POST MD, HAYDEN DL, HALL JE, WELT CK. Criteria for polycystic ovarian morphology in polycystic ovary syndrome as a function of age. **J Clin Endocrinol Metab** 2009;94:4961-70.

ARMANIOS M, BLACKBURN EH. The telomere syndromes. **Nat Rev Genet.** 2012;13:693–704.

AVIV A. Telomeres, sex, reactive oxygen species, and human cardiovascular aging. **J Mol Med (Berl)** 2002;80:689-95.

AVIV A, *et al.* Menopause modifies the association of leukocyte telomere length with insulin resistance and inflammation. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 2006;91(2):635-40.

AZZIZ R, *et al.* Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. **J Clin Endocrinol Metab** 2006;91(11):4237-45.

AZZIZ R, *et al.* The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. **Fertil Steril** 2009;91(2):456-88.

AZZIZ R, *et al.* The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 2004;89(6):2745-9.

BAIRD DM, KIPLING D. The extent and significance of telomere loss with age. **Annals of the New York Academy of Sciences** 2004;1019:265-8.

BARBER TM, *et al.* Obesity and polycystic ovary syndrome. **Clinical Endocrinology** 2006;65:137-145.

BLACKBURN EH. Switching and signaling at the telomere. **Cell** 2001;106:661–73.

CALADO RT, CHEN J. Telomerase: not just for the elongation of telomeres. **Bioessays** 2006;28(2): 109-12.

CALADO RT, YEWDELL WT, WILKERSON KL, REGAL JA, KAJIGAYA S, STRATAKIS CA, *et al.* Sex hormones, acting on the TERT gene, increase telomerase activity in human primary hematopoietic cells. **Blood** 2009; 114:2236-43.

CALADO RT, BRUDNO J, MEHTA P, KOVACS JJ, WU C, ZAGO MA, *et al.* Constitutional telomerase mutations are genetic risk factors for cirrhosis. **Hepatology** 2001;53:1600-7.

CALADO RT, YOUNG NS. Telomere diseases. **N Engl J Med**, 2009;361(24):2353-65.

CARMINA E, ROSATO F, *et al.* Extensive clinical experience: relative prevalence of different androgen excess disorders in 950 women referred because of clinical hyperandrogenism. **J Clin Endocrinol Metab** 2006; 91:2-6.

CAWTHON RM. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. **Nucleic Acids Res.** 2009;37:e21.

DAVISON SL, BELL R, DONATH S, MONTALTO JG, DAVIS SR. Androgen levels in adult females: changes with age, menopause, and oophorectomy. **J Clin Endocrinol Metab** 2005;90:3847–53.

EHRMANN DA. Polycystic ovary syndrome. **N Engl J Med** 2005;352:1223-36.

HUDECOVA M, HOLTE J, OLOVSSON M, SUNDSTROM PI. Long-term follow-up of patients with polycystic ovary syndrome: reproductive outcome and ovarian reserve. **Hum Reprod** 2009;24:1176–83.

LEE DC, IM JA, KIM JH, LEE HR, SHIM JY. Effect of long-term hormone therapy on telomere length in postmenopausal women. **Yonsei Med J** 2005;46:471-9.

LEGRO RS, *et al.* Diagnosis and Treatment of Polycystic Ovary Syndrome: na Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **J Clin Endocrinol Metab** 2013;98(12):4565-92.

LI Q, DU J, FENG R, XU Y, WANG H, SANG Q, *et al.* A possible new mechanism in the pathophysiology of polycystic ovary syndrome (PCOS): the discovery that leukocyte telomere length is strongly associated with PCOS. **J Clin Endocrinol Metab** 2014;99: 234–40.

McGRATH M, *et al.* Telomere length, cigarette smoking, and bladder cancer risk in men and women. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2007;16(4):815-19.

MARCH WA, *et al.* The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria **Human. Reproduction** 2010;25(2):544-51.

MARTIN KA, CHANG RJ, EHRMANN DA, *et al.* Evaluation and treatment of Hirsutism in premenopausal women: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Met** 2008;93:1105-20.

MATHON NF, LLOYD AC. Cell senescence and cancer. **Nat Rev Cancer** 2001; 1:203–13.

MURRI M, LUQUE-RAMÍREZ M, INSENSERM, OJEDA-OJEDA M, ESCOBAR-MORREALE HF. Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. **Hum Reprod Update** 2013;19:268–88.

NOURBAKHS M, GOLESTANI A, ZAHRAI M, MODARRESSI MH, MALEKPOUR Z, KARAMI-TEHRANI F. Androgens stimulate telomerase expression, activity and phosphorylation in ovarian adenocarcinoma cells. **Mol Cell Endocrinol** 2010;330:10-6.

OJANIEMI M, *et al.* Management of polycystic ovary syndrome in childhood and adolescence. **Horm Res Paediatr** 2010;74: 372-5.

PASQUALLI R, *et al.* The impact of obesity on reproduction in women with polycystic ovary syndrome. **BJOG** 2003;113:1148-59.

PEDROSO DCC, MIRANDA-FURTADO CL, KOGURE GS, MEOLA J, *et al.*, Inflammatory biomarkers and telomere length in women with polycystic ovary syndrome. **Fertil Steril** 2014. In press.

ROSENZWEIG JL *et al.* Primary prevention of cardiovascular disease and type 2 diabetes in patients at metabolic risk: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab** 2008;93:3671-89.

ROTTERDAM *et al.* Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. **Fertil Steril** 2004;81(1):19-25.

SANDERS JL, NEWMAN AB. Telomere Length in Epidemiology: A Biomarker of Aging, Age-Related Disease, Both, or Neither? **Epidemiol Rev** 2013; 35:112-31.

SCHEINBERG P, COOPER JN, SLOAND EM, WU CO, CALADO RT, YOUNG NS. Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia. **JAMA** 2010;304:1358-64.

TEHRANI FR, SOLAYMANI-DODARAN M, HEDAYATI M, AZIZI F. Is polycystic ovary syndrome an exception for reproductive aging? **Hum Reprod** 2010;25:1775–81.

TOIT MM, *et al.* Polycystic ovary syndrome (PCOS) – the long-term implications. **SAJOG** 2009;15(2):48-53.

VASA M, BREITSCHOPF K, ZEIHNER AM, DIMMELER S. Nitric oxide activates telomerase and delays endothelial cell senescence. **Circ Res** 2000;87:540-2.

YILDIZ BO, *et al.* Impact of obesity on the risk for polycystic ovary syndrome. **J Clin Endocrinol Metab** 2008;93(1):162-8.

ZAWADESKI JK, DUNAIF A. Diagnostic criteria for PCOS: towards a more rational approach. **Blackwell Scientific** 1992;377-84.

ANEXOS

ANEXO I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de consentimento livre e esclarecido **Mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos**

Vamos realizar um estudo em mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos que se chama **“COMPRIMENTO DO TELÔMERO EM MULHERES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS NA PERIMENOPAUSA”**. Essa doença consiste em irregularidade da menstruação, sinais de atividade de hormônios masculinos (espinha, queda de cabelo ou pêlos grossos em locais não femininos como queixo e buço, por exemplo). Não se sabe ainda o que causa essa doença, por isso não existe uma medicação que cure definitivamente seu problema, mas existem medicações que servem para melhorar os sintomas que incomodam como a irregularidade menstrual. Quem possui essa doença tem mais chance de ter diabetes e problemas do coração no futuro, assim é importante prevenir essas complicações o mais cedo possível.

Neste estudo vamos medir a porção terminal do seu DNA no sangue, chamada Telômero. O DNA é a central de informações de uma célula. É como se fosse uma torre de controle, de onde são distribuídas as informações para que cada célula execute sua tarefa. É o material genético da célula, onde todas as características que herdamos de nossos pais estão armazenadas. O tamanho do Telômero tem sido associado à proteção do DNA em relação a muitas doenças.

Gostaríamos de avaliar se esses problemas que a Síndrome dos Ovários Policísticos causa, descritas acima, poderiam alterar esta proteção do DNA.

Para realizarmos esta pesquisa teremos que colher uma amostra de 20 ml de sangue logo pela manhã, após um período de jejum de 12 horas. Para a colheita de sangue será realizado apenas uma punção na veia. Neste sangue iremos além de medir o tamanho do Telômero, analisar os níveis de glicose, os hormônios que podem se alterar nesta doença, e alguns marcadores de boa função do coração. Iremos também realizar um exame de ultrassom para avaliar os ovários, no mesmo dia da coleta de sangue.

A possibilidade de problemas pela coleta de sangue por punção venosa é mínima e de pouca gravidade (dor ou manchas roxas no local). No entanto, se a senhora sentir qualquer tipo de desconforto, antes ou depois do procedimento, o Médico estará a sua inteira disposição para solucionar o problema ou tirar as dúvidas.

Iremos pagar as despesas de transporte para sua locomoção até o Hospital no dia da realização do exame. No final do estudo, todos os resultados dos exames realizados nesta pesquisa serão entregues aos participantes da pesquisa.

Se você sofrer qualquer dano, efeito colateral, ou problema de saúde durante a pesquisa, entre imediatamente em contato com o pesquisador, no telefone (61) 8184-0857, a qualquer hora do dia ou da noite, para falar de seus problemas de saúde.

Sua participação nessa pesquisa é voluntária, podendo se recusar a participar da mesma ou interromper sua participação quando quiser, sem penalidades ou perda dos benefícios na sua assistência nesse hospital.

Eu

portadora do RG _____, abaixo assinada, tendo recebido as informações acima, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar.

1. A garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa e o exame a que será submetida;
2. A liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isso traga prejuízo à continuação do seu cuidado e tratamento;
3. A segurança de que não será identificada e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com a sua privacidade;
4. O compromisso de proporcionarmos informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar sua vontade de continuar participando;
5. A disponibilidade de tratamento médico por parte da Instituição de Saúde, em caso de danos diretamente causados pela pesquisa.

Tenho ciência do Exposto acima e desejo participar do estudo

Ribeirão Preto/ Brasília, _____ de _____ de _____

Assinatura da Paciente ou Responsável
Pesquisador

Assinatura do

Termo de consentimento livre e esclarecido **Mulheres sem Síndrome dos Ovários Policísticos**

Vamos realizar um estudo em mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos que se chama “**COMPRIMENTO DO TELÔMERO EM MULHERES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS NA PERIMENOPAUSA**”. Essa doença consiste em irregularidade da menstruação, sinais de atividade de hormônios masculinos (espinha, queda de cabelo ou pêlos grossos em locais não femininos como queixo e buço, por exemplo). Não se sabe ainda o que causa essa doença, por isso não existe uma medicação que cure definitivamente seu problema, mas existem medicações que servem para melhorar os sintomas que incomodam como a irregularidade menstrual. Quem possui essa doença tem mais chance de ter diabetes e problemas do coração no futuro, assim é importante prevenir essas complicações o mais cedo possível.

Neste estudo vamos medir a porção terminal do seu DNA no sangue, chamada Telômero. O DNA é a central de informações de uma célula. É como se fosse uma torre de controle, de onde são distribuídas as informações para que cada célula execute sua tarefa. É o material genético da célula, onde todas as características que herdamos de nossos pais estão armazenadas. O tamanho do Telômero tem sido associado à proteção do DNA em relação a muitas doenças.

Gostaríamos de avaliar se esses problemas que a Síndrome dos Ovários Policísticos causa, descritas acima, poderiam alterar esta proteção do DNA.

Sua colaboração neste estudo como voluntária, visto que não apresenta esta doença, seria como participante de um grupo controle sem a doença, para podermos comparar os resultados que serão encontrados.

Para realizarmos esta pesquisa teremos que colher uma amostra de sangue logo pela manhã, após um período de jejum de 12 horas. Para a colheita de sangue será realizado apenas uma punção na veia. Neste sangue iremos além de medir o tamanho do Telômero, analisar os níveis de glicose, os hormônios que podem se alterar nesta doença, e alguns marcadores de boa função do coração. Iremos também realizar um exame de ultrassom para avaliar os ovários, no mesmo dia da coleta de sangue.

A possibilidade de problemas pela coleta de sangue por punção venosa, é mínima e de pouca gravidade (dor ou manchas roxas no local). No entanto, se a senhora sentir qualquer tipo de desconforto, antes ou depois do procedimento, o Médico estará a sua inteira disposição para solucionar o problema ou tirar as dúvidas.

Iremos pagar as despesas de transporte para sua locomoção até o Hospital no dia da realização do exame. No final do estudo, todos os resultados dos exames realizados nesta pesquisa serão entregues aos participantes da pesquisa.

Se você sofrer qualquer dano, efeito colateral, ou problema de saúde durante a pesquisa, entre imediatamente em contato com o pesquisador, no telefone (61) 8184-0857, a qualquer hora do dia ou da noite, para falar de seus problemas de saúde.

Sua participação nessa pesquisa é voluntária, podendo se recusar a participar da mesma ou interromper sua participação quando quiser, sem penalidades ou perda dos benefícios na sua assistência nesse hospital.

Eu _____, portadora do RG _____, abaixo assinada, tendo recebido as informações acima, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar.

1. A garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa e o exame a que será submetida;
2. A liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isso traga prejuízo à continuação do seu cuidado e tratamento;
3. A segurança de que não será identificada e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com a sua privacidade;
4. O compromisso de proporcionarmos informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar sua vontade de continuar participando;
5. A disponibilidade de tratamento médico por parte da Instituição de Saúde, em caso de danos diretamente causados pela pesquisa.

Tenho ciência do Exposto acima e desejo participar do estudo.

Ribeirão Preto/ Brasília _____ de _____ de _____

Assinatura da Paciente ou Responsável
Pesquisador

Assinatura _____ do

ANEXO II - QUESTIONÁRIO

IDENTIFICAÇÃO:

Nome: _____ Raça: _____
 Data de nascimento: _____ Idade: _____ Profissão: _____
 Local de Nascimento: _____ Estado civil: _____
 Endereço: _____
 Telefone: _____

DADOS CLÍNICOS:

Peso ao Nascimento: _____ Idade da Pubarca: _____ Idade da Menarca: _____

Ciclos Menstruais antes dos 40 anos: Regulares _____ Irregulares _____

Tipo de Irregularidade menstrual: Oligomenorréia _____ Amenorréia _____
 Polimenorréia _____ Outro tipo _____

Ciclos Menstruais após os 40 anos: Regulares _____ Irregulares _____

Tipo de Irregularidade menstrual:

Data da última menstruação: _____

Sinais e sintomas de hiperandrogenismo: Acne _____ pele oleosa _____

Índice de Ferriman _____ Acantose nigricans _____ queda de cabelos _____

Sintomas de hipoestrogenismo: Pele seca _____ Queda de cabelos _____

Perda de Urina _____ Vagina sem lubrificação _____ Diminuição da libido _____

Hábitos de vida: Atividade física: Não _____ Sim _____ Tipo: _____

Frequência semanal: _____

Tabagista: _____ Tabagista prévio: _____ Nunca fumou: _____

Ganho de peso: Não _____ Sim _____ Quantos kilos: _____ Evolução do ganho de peso _____

Antecedentes Obstétricos:

Paridade _____ Tipo _____ Anticoncepção prévia: _____

Tipo e anticoncepção atual: _____

Dificuldade para engravidar _____ Tratamento para Infertilidade _____

Antecedentes cirúrgicos:

Cirurgia nos ovários _____ Outras cirurgias _____

Doenças prévias:

DM _____ Intolerância à glicose _____ HAS _____ Doença hematológica _____ câncer _____ Tipo: _____

Outras _____

DADOS DO EXAME FÍSICO:

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____ Medida da Cintura: _____

PA: _____ Índice de Ferriman: _____ Acne: _____

Pele oleosa: _____ cabelos oleosos: _____ Pele seca: _____

Queda de cabelos: _____ *Acantose nigricans*: _____

INCLUSÃO NA PESQUISA

GRUPO SOP _____ GRUPO CONTROLE _____

DATA _____