

Thaís Machado Pagliaro Rocha

**Papel do excesso de andrógenos no perfil metabólico e
inflamatório de mulheres com síndrome do ovário policístico**

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

Programa de Endocrinologia
Orientadora: Dra. Larissa Garcia Gomes

**São Paulo
2022**

Thaís Machado Pagliaro Rocha

**Papel do excesso de andrógenos no perfil metabólico e
inflamatório de mulheres com síndrome do ovário policístico**

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

Programa de Endocrinologia
Orientadora: Dra. Larissa Garcia Gomes

**São Paulo
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Rocha, Thais Machado Pagliaro
Papel do excesso de andrógenos no perfil
metabólico e inflamatório de mulheres com síndrome do
ovário policístico / Thais Machado Pagliaro Rocha. --
São Paulo, 2022.
Tese (doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Endocrinologia.
Orientadora: Larissa Garcia Gomes.

Descritores: 1.Síndrome do ovário policístico
2.Androgênios 3.Resistência à insulina 4.Inflamação
5.Síndrome metabólica 6.C19 11-oxigenados

USP/FM/DBD-343/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Ao meu companheiro de estrada da vida, Gabriele Cimmarusti.
Aos meus exemplos de coragem e resiliência, minhas avós Gerusa Pagliaro e
Alzira Rocha.

Agradecimentos

A minha orientadora Larissa Gomes, minha eterna gratidão pela parceria ímpar
nesta jornada.

Ao Gabriele, pela lealdade e apoio incondicional.

A Alexandre e Julia, obrigada pela parceria nesta e em tantas outras trajetórias.

Aos meus pais, que me deram as oportunidades e o suporte para que
chegasse até aqui.

As queridas funcionárias do HCFMUSP, Nilda (*in memoriam*), Roseli,
Rosangele, Gislene e Cida pela gentileza e por sempre atenderem aos meus
pedidos de ajuda.

As mulheres que se voluntariaram para este projeto, meu muito obrigada pela
sua contribuição e altruísmo.

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

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

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

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

Sumário

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 Epidemiologia, etiologia e diagnóstico da síndrome dos ovários policísticos	1
1.2 A SOP e disfunções metabólicas	2
1.3 Excesso de andrógenos, resistência insulínica e obesidade na SOP	3
1.4 SOP e resposta inflamatória	6
1.5 Excesso de andrógenos na SOP: os esteroides C19 clássicos	7
1.6 Excesso de andrógenos na SOP: os esteroides C19 11-oxigenados	10
1.7 Hipóteses	14
2. OBJETIVOS	15
3. MÉTODOS	17
3.1 Tipo de estudo	18
3.2 Considerações éticas	18
3.3 População do estudo	18
3.4 Critérios de inclusão	19
3.5 Critérios de exclusão	19
3.6 Avaliação clínica e antropométrica	19
3.6 Análises laboratoriais	20
3.6.1 Avaliação bioquímica	21
3.6.2 Dosagens séricas dos marcadores inflamatórios	21
3.6.3 Dosagens séricas do perfil hormonal	21
3.7 Análise estatística	22
4. RESULTADOS	24
4.1. Características da coorte estudada	25
4.2. Avaliação do perfil metabólico	26
4.3. Avaliação dos marcadores de inflamação	27
4.4. Avaliação do perfil hormonal	28
4.5 Avaliação dos perfis metabólico, inflamatório e hormonal estratificada pelo IMC em mulheres com SOP e controles	31
4.5.1 Subgrupo SOP e controles com IMC <25 Kg/m ²	31

4.5.2 Subgrupo SOP e controles com IMC >25 Kg/m ²	33
4.6 Correlações entre os parâmetros metabólicos, inflamatórios e hormonais	36
5. DISCUSSÃO	40
5.1 Caracterização da coorte estudada	41
5.3 Limitações	46
5.4 Perspectivas futuras	47
6. CONCLUSOES	49
7. ANEXOS	51
Anexo A - Estatística descritiva dos parâmetros antropométricos, metabólicos e inflamatórios estratificadas por IMC (<25 Kg/m ² e ≥25 Kg/m ²) incluindo mediana, intervalo interquartil (P25-P75) e nível descritivo (p-valor)	52
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Produção aumentada dos andrógenos clássicos androstenediona e testosterona nas células da teca ovarianas, estimulada por elevados níveis de LH e insulina na SOP. 4
- Figura 2 - Produção aumentada de testosterona no tecido adiposo, lipotoxicidade e hiperinsulinemia na SOP 5
- Figura 3 - Via clássica da biossíntese dos esteroides C19 clássicos na zona reticulada adrenal, sob estímulo do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) 8
- Figura 4 - Biossíntese dos esteroides C19 clássicos nas células da teca ovarianas, sob estímulo do LH..... 9
- Figura 5 - Biossíntese dos esteroides C19 11-oxigenados nas adrenais 12
- Figura 6 - Ativação dos precursores de andrógenos C19 clássicos e C19 11-oxigenados nos tecidos periféricos..... 13
- Figura 7 – Contribuição relativa (mediana; %) dos andrógenos clássicos (androstenediona e testosterona) e 11-oxigenados (11OHA4, 11OHT, 11KA4 e 11KT) no total de andrógenos circulantes nos grupos SOP e controle 30
- Figura 8 – Resistina em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente 32
- Figura 9 – PAI-1 em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente 32
- Figura 10 – Insulina de jejum em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente 33

Figura 11 – HOMA-IR em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente 34

Figura 12 - IL-8 em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente 34

Figura 13 – MCP-1 em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente 35

Figura 14 – Leptina em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente 35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Distribuição de variáveis antropométricas de acordo com os grupos incluindo média, desvio padrão (DP), mediana, intervalo interquartil (IIQ), valores mínimo e máximo e nível descritivo (p-valor)	25
Tabela 2 – Distribuição de disfunções metabólicas de acordo com os grupos incluindo (N), porcentagem (%), intervalo de confiança de 95% (IC95%) e nível descritivo (p-valor)	26
Tabela 3- Perfil metabólico de acordo com os grupos incluindo média, desvio padrão (DP), mediana, intervalo interquartil (IIQ), valores mínimo e máximo e nível descritivo (p-valor)	27
Tabela 4 – Marcadores de inflamação de acordo com os grupos incluindo média, desvio padrão (DP), mediana, intervalo interquartil (IIQ), valores mínimo e máximo e nível descritivo (p-valor)	28
Tabela 5- Perfil hormonal de acordo com os grupos incluindo média, desvio padrão (DP), mediana, intervalo interquartil (IIQ), valores mínimo e máximo e nível descritivo (p-valor)	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

11KA4	11-ceto androstenediona
11KDHT	11-ceto dihidrotestosterona
11KT	11-ceto testosterona
11OHA4	11-hidroxi androstenediona
11OHT	11-hidroxitestosterona
11 β HSD2	11 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 2
17OHPREG	17-hidroxi pregnenolona
17OHPROG	17-hidroxi progesterona
17 β HSD5	17 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 5
3 β HSD2	3 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 2
A4	Androstenediona
AKR1C3	Aldo-ceto-redutase tipo 3
CA	Circunferência abdominal
CQ	Circunferência quadril
DHEA	Deidroepiandrosterona
DHEA-S	Sulfato de deidroepiandrosterona
DHT	Dihidrotestosterona
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DP	Desvio padrão
ECLIA	<i>Electrochemiluminescence immunoassay</i>

FSH	Hormônio folículo-estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
HDL-c	HDL colesterol
HOMA-IR	<i>Homeostasis model assessment of insulin resistance</i>
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-1 β	Interleucina 1 β
IMC	Índice de massa corporal
IMSR	<i>Institute of Metabolism and Systems Research</i>
IQR	Interquartil
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas <i>in tandem</i>
LDL-c	LDL colesterol
LH	Hormônio luteinizante
m/z	Massa/carga
MCP-1	Proteína quimioatrativa de monócitos tipo 1
mFG	Escala de Ferriman-Galleway modificada
MOP	Morfologia padrão ovários policísticos
P450scc	<i>Cholesterol side-chain cleavage enzyme</i>
PAI-1	Proteína inibidora do ativador de plasminogênio tipo 1
PCR	Proteína C reativa
PDSE	Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior
PREG	Pregnenolona

PROG	Progesterona
SHBG	Proteína ligadora de hormônios sexuais
SOP	Síndrome dos ovários policísticos
StAR	<i>Steroidogenic acute regulatory protein</i>
SULT2A1	Sulfotransferase 2A tipo 1
T	Testosterona
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
TOTG	Teste oral de tolerância à glicose

Resumo

Rocha TMP. *Papel do excesso de andrógenos no perfil metabólico e inflamatório de mulheres com síndrome do ovário policístico* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

INTRODUCAO: Evidências da correlação entre o excesso de andrógenos, disfunções metabólicas, e marcadores de inflamação na síndrome dos ovários policísticos (SOP) são escassas e apresentam resultados conflitantes. Dados atuais sobre o papel dos marcadores inflamatórios como determinantes de fatores de risco cardiovascular na SOP são contraditórios. Ademais, a correlação entre os marcadores de inflamação e os andrógenos C19 11-oxigenados na SOP ainda não foi estudada. Nosso objetivo foi caracterizar os perfis metabólico, inflamatório e hormonal e avaliar as correlações entre esses parâmetros em uma amostra de mulheres brasileiras com SOP comparada a controles. **MÉTODOS:** Avaliamos o perfil antropométrico, metabólico, inflamatório e hormonal de mulheres brasileiras em idade reprodutiva com SOP (critérios de Rotterdam) e controles pareadas para idade. Os parâmetros antropométricos, metabólicos e hormonais incluíram índice de massa corporal (IMC), relação cintura/quadril (CA/CQ), níveis séricos de glicose e insulina em jejum, HOMA-IR (*Homeostasis model assessment of insulin resistance*), perfil lipídico, proteína ligadora de hormônios sexuais (SHBG) e dosagem sérica de androstenediona, testosterona, testosterona livre calculada, 11-hidroxiandrostenediona (11OHA4), 11-cetoandrostenediona (11KA4), 11-hidroxitestosterona (11OHT) e 11-cetotestosterona (11KT). Os marcadores inflamatórios incluíam interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), proteína quimioatrativa monócitos tipo 1 (MCP-1), interleucina 1 beta (IL-1 β), inibidor de ativador plasminogênio tipo 1 (PAI-1), leptina, resistina e adiponectina. **RESULTADOS:** Foram incluídas 68 mulheres com SOP e 24 controles. O grupo SOP apresentou maior IMC, razão CA/CQ, glicose e insulina em jejum, HOMA-IR, androstenediona, testosterona total e livre. Não houve diferença das concentrações dos andrógenos C19 11-oxigenados entre o grupo SOP e controle. Mulheres com SOP apresentaram maiores concentrações de IL-8, PAI-

1, leptina, e resistina e menor concentração de adiponectina do que o grupo controle. Não houve diferenças nas concentrações de IL-6, TNF- α , MCP-1 e IL-1 β entre os grupos SOP e controle. A análise estratificada por peso saudável (IMC <25 Kg/m²) e sobrepeso/obesidade (IMC \geq 25 Kg/m²) demonstrou que os andrógenos clássicos androstenediona, testosterona total, e testosterona livre calculada foram mais elevados nos subgrupos SOP que nos seus respectivos controles, em ambos os subgrupos SOP com peso saudável e sobrepeso/obesidade. Nenhuma diferença entre SOP e controles com peso saudável ou com sobrepeso/obesidade foi encontrada nos níveis séricos dos andrógenos C19 11-oxigenados. Não houve diferença dos marcadores metabólicos e inflamatórios entre SOP e controles de peso saudável, exceto para resistina e PAI-1, que estavam mais elevados no subgrupo SOP. O subgrupo SOP com sobrepeso/obesidade apresentou níveis mais elevados de insulina de jejum, HOMA-IR, IL-8, MCP-1, PAI-1 e leptina em comparação aos controles com sobrepeso/obesidade. Na análise multivariada, PAI-1 foi o único marcador inflamatório aumentado na SOP independente do IMC. **CONCLUSÃO:** Os andrógenos C19 clássicos parecem ser os principais andrógenos ativos em nossa casuística de mulheres com SOP e controles. Em nosso estudo, os C19 11-oxigenados parecem não desempenhar papel importante no excesso de andrógenos, disfunção metabólica e inflamação na SOP. Nossos achados suportam as evidências de que a SOP está associada a inflamação crônica e disfunção endotelial, porém lançam dúvidas sobre o papel dos marcadores inflamatórios como marcadores de risco cardiovascular em mulheres com SOP independente do IMC.

Descritores: Síndrome dos ovários policísticos; Androgênios; Resistência à insulina; Inflamação; Síndrome metabólica; C19 11-oxigenados.

Abstract

Rocha TMP. *Role of the androgen excess on the metabolic and inflammatory profile of women with polycystic ovary syndrome* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

INTRODUCTION: Reports on inflammatory markers and their correlations with androgen excess and metabolic dysfunctions in the polycystic ovary syndrome (PCOS) are few and not consensual, with studies showing conflicting results on inflammatory markers as cardiovascular risk factors determinants in PCOS. Moreover, correlations between inflammatory markers and the C19 11-oxygenated androgens are yet to be assessed. We aim to characterize the hormonal, metabolic, and inflammatory profile, and the correlations between these parameters in a cohort of Brazilian women with PCOS compared to age-matched controls. **METHODS:** We evaluated anthropometric, hormonal, metabolic and inflammatory profiles of reproductive-age Brazilian women with confirmed PCOS (Rotterdam criteria) vs age-matched controls. The anthropometric, metabolic, and hormonal parameters compared between groups included body mass index (BMI), waist-to-hip ratio (WHR), serum fasting glucose and insulin levels, homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR), lipid profile, sex-hormone binding globulin (SHBG), serum androstenedione, testosterone, calculated free testosterone, 11-hydroxyandrostenedione (11OHA4), 11-ketoandrostenedione (11KA4), 11-hydroxytestosterone (11OHT) e 11-ketotestosterone (11KT). Inflammatory markers comprised interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8), tumour necrosis factor-alpha (TNF- α), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), interleukin 1 β (IL-1 β), plasminogen activator inhibitor -1 (PAI-1), leptin, resistin, and adiponectin. **RESULTS:** We included 68 women with PCOS and 24 controls. PCOS group had higher BMI, WHR, fasting glucose and insulin levels, HOMA-IR, androstenedione, and total and free testosterone. No difference was found in the C19 11-oxygenated levels between PCOS and controls, except for a higher 11KT/11KA4 ratio in the PCOS group. Women with PCOS had increased IL-8 and PAI-1, leptin, and resistin levels and decreased adiponectin than controls. There were no differences in IL-6, TNF- α , MCP-1 and IL-1 β levels between women with PCOS and controls. Analysis

stratified by healthy-weight ($< 25 \text{ Kg/m}^2$) and overweight/obesity ($\text{BMI} \geq 25 \text{ mg/m}^2$) showed no difference in the metabolic and inflammatory markers between healthy-weight PCOS and controls, except for resistin and PAI-1, which were higher in the healthy-weight PCOS group. PCOS with overweight/obesity presented higher fasting insulin levels, HOMA-IR, leptin, IL-8, MCP-1 and PAI-1 compared to controls with overweight/obesity. The classic androgens androstenedione, total testosterone and free testosterone were elevated in both PCOS subgroups (healthy-weight and overweight/obesity) than respective controls. There was no difference in the C19 11-oxygenated levels between the BMI stratified PCOS and control subgroups. Except for the endothelial dysfunction marker PAI-1, multiple regression analysis adjusted for BMI did not identify correlations between inflammatory markers and metabolic and hormonal parameters. **CONCLUSION:** The classical C19 androgens seem to be the main active androgens in our cohort of women with PCOS and controls. In our study, the C19 11-oxygenated androgens seem not to play a major role in PCOS-related androgen excess, metabolic dysfunction, and inflammation. Our findings support the link between low-grade inflammation and endothelial dysfunction with PCOS but cast doubt upon the role of inflammatory markers in identifying women with high cardiovascular risk in PCOS independent of BMI.

Descriptors: Polycystic ovary syndrome; Androgens; Insulin resistance; Inflammation; Metabolic syndrome; C19 11-oxygenated.

[Type here]

1. INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia, etiologia e diagnóstico da síndrome dos ovários policísticos

A síndrome dos ovários policísticos (SOP) apresenta prevalência entre 5-18% e é a disfunção endócrina mais comum em mulheres na idade reprodutiva (3, 4). O nome “síndrome dos ovários policísticos”, no entanto, não reflete a complexidade desta condição. A SOP é uma disfunção endócrino-metabólica associada a um amplo espectro de manifestações clínicas e comorbidades que afetam múltiplos aspectos da saúde da mulher, desde a idade reprodutiva até a pós-menopausa (5-13).

Os sintomas da SOP, geralmente, se iniciam na adolescência com sinais de excesso de andrógenos e irregularidade menstrual e persistem até a pós-menopausa, período no qual predominam as disfunções metabólicas. A exata etiologia da SOP é complexa e ainda não amplamente esclarecida, mas especula-se que seja resultado da interação entre fatores genéticos, epigenéticos e ambientais.(2, 14-18) Os seus principais aspectos fisiopatológicos incluem aumento da produção de andrógenos por alterações da esteroidogênese ovariana e adrenal e anormalidades da secreção e ação da insulina, associadas a anormalidades na secreção ou ação das gonadotropinas, alterações da foliculogênese ovariana e alterações da função do tecido adiposo (19, 20).

O diagnóstico da SOP é definido pelos critérios de Rotterdam (21), após a exclusão das disfunções endócrinas que têm apresentação clínica semelhante à síndrome, como hiperplasia adrenal congênita forma não clássica, hiperprolactinemia, disfunções da tireoide, hipogonadismo hipogonadotrófico, falência ovariana prematura, síndrome de Cushing, síndromes de resistência insulínica grave e presença de tumores secretores de andrógenos, e a partir da presença de pelos menos dois dos três critérios a seguir (22):

1. Sinal clínico e/ou laboratorial de excesso de andrógenos;
2. Oligo ou anovulação;
3. Ovários com morfologia micropolicística ao ultrassom de pelve (um ou ambos os ovários com volume maior que 10 ml e/ou presença de 20 ou mais folículos com diâmetro entre 2-9mm);

1.2 A SOP e disfunções metabólicas

Aproximadamente 50-70% das mulheres com SOP tem sobrepeso ou obesidade (23, 24). Além do excesso de peso, a resistência insulínica e a hiperinsulinemia compensatória também são alterações metabólicas prevalentes na SOP, presentes em aproximadamente 75% a 95% dos casos (25-27). Comparadas a mulheres sem SOP, as mulheres com SOP apresentam maior risco de intolerância à glicose, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão arterial, dislipidemia, síndrome metabólica e doença gordurosa hepática não alcoólica, independente do IMC (5, 28-31). Mulheres com SOP também apresentam maior índice de adiposidade visceral em relação a controles. A adiposidade visceral na SOP se correlaciona positivamente com a relação circunferência abdominal/circunferência quadril (CA/CQ), HOMA-IR (*homeostatic model assessment of insulin resistance*) e níveis séricos de insulina e glucose (32). Consequentemente, deduz-se que as mulheres com SOP também apresentam um maior risco de doença cardiovascular (DCV), como doença arterial coronariana (DAC) e acidente vascular cerebral (AVC). Estudos mostram que a SOP se associa a maior risco de DAC e AVC, e que esse maior risco de eventos cardiovasculares parece não estar completamente associado ao IMC em mulheres com SOP. (33-35). No entanto, não há evidências de que a SOP se associa ao aumento do risco de morte por todas as causas (35).

Sabe-se que a associação entre obesidade e SOP não é universal e varia conforme diferenças étnicas e socioculturais (4), assim como as frequências das comorbidades metabólicas são variáveis dentro de uma mesma população (36).

Quando avaliada por região geográfica, por exemplo, a prevalência da síndrome metabólica foi maior nas mulheres com SOP provenientes das Américas em relação as mulheres provenientes da Ásia e da Europa (37). Apesar dos países em desenvolvimento como o Brasil não terem sido bem representados nesse estudo devido à escassez de dados disponíveis, esses resultados são compatíveis com o estudo de Spritzer et al. (30), em que a prevalência de síndrome metabólica em mulheres brasileiras com SOP foi de 25-43%, similar à prevalência nas mulheres com SOP nos EUA (35-43%), porém maior do que a prevalência nos países mediterrâneos (7-10%).(38)

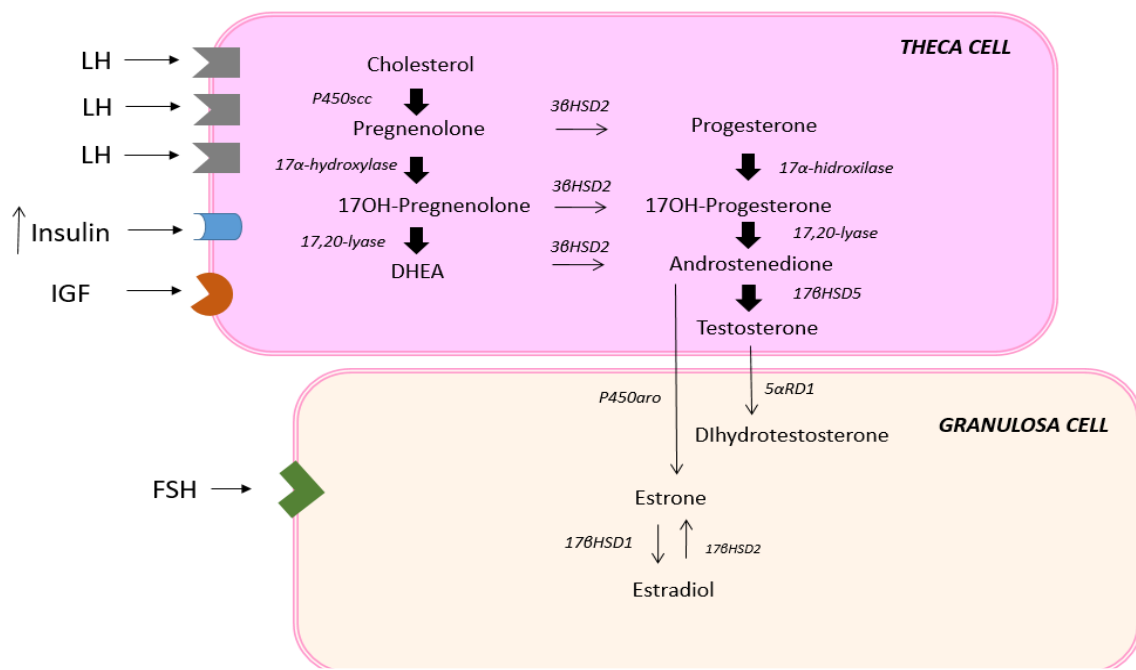
No caso da população brasileira, a meta-análise de Spritzer et al. (995 mulheres com SOP e 2275 controles) incluiu mulheres de diferentes regiões do Brasil e demonstrou prevalência de obesidade na SOP entre 32-57%, significativamente maior do que os 18% esperados para as mulheres brasileiras da mesma faixa etária (39). Observou-se também que, em mulheres brasileiras com SOP, a síndrome metabólica, glicemia de jejum alterada/intolerância à glicose, aumento de circunferência abdominal, resistência insulínica e dislipidemia foram mais frequentes do que na população geral de mulheres brasileiras para a mesma faixa etária (30). As mulheres brasileiras com SOP apresentaram prevalência de dislipidemia entre 53%-76%, 25-43% de síndrome metabólica e de pré-diabetes entre 7-11%. Além disso, esse estudo evidenciou a escassez de estudos que avaliaram outros parâmetros metabólicos em mulheres brasileiras com SOP.

1.3 Excesso de andrógenos, resistência insulínica e obesidade na SOP

Na SOP, a obesidade está associada tanto à piora do perfil metabólico quanto das disfunções do sistema reprodutivo. A obesidade, particularmente a gordura visceral, aumenta a resistência insulínica e induz a hiperinsulinemia compensatória. O excesso de insulina, então, altera a esteroidogênese ovariana ao agir de forma sinérgica com o LH e estimular a produção de andrógenos pelas células da teca ovariana (Figura 1). Adicionalmente, o excesso de andrógenos e

a hiperinsulinemia reduzem a produção hepática da proteína ligadora de hormônios sexuais (SHBG) e levam ao aumento da testosterona (T) livre circulante. No entanto, nem toda mulher com obesidade e resistência insulínica desenvolve SOP.

Figura 1 - Produção aumentada dos andrógenos clássicos androstenediona e testosterona nas células da teca ovarianas, estimulada por elevados níveis de LH e insulina na SOP.



Adaptado de Crespo et al., *An update of genetic basis of PCOS pathogenesis*, 2018 (2). Uso da figura autorizado pelos autores.

A maior prevalência de fatores de risco cardiovascular na SOP está associada não somente à resistência insulínica, mas também ao hiperandrogenismo, visto que em mulheres com SOP, o excesso de andrógenos se correlaciona com lipotoxicidade e resistência insulínica (40, 41).

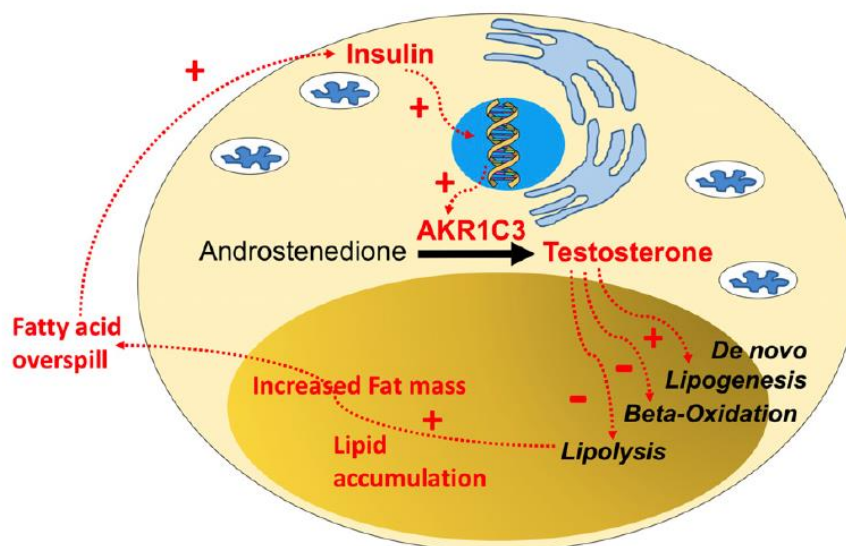
O'Reilly et al. compararam as concentrações de androstenediona (A4), testosterona total e dihidrotestosterona (DHT) do soro, líquido intersticial de tecido adiposo abdominal e culturas de células de tecido adiposo de mulheres com e sem SOP e observaram que o aumento da expressão da enzima aldo-ceto-redutase tipo 3 (AKR1C3) é o fator chave da associação entre resistência

insulínica e hiperandrogenismo na SOP (1). A AKR1C3 é a enzima responsável pela conversão do andrógeno A4 em T, e o aumento da sua expressão leva ao aumento da produção da T.

Nesse mesmo estudo, a T induziu aumento da lipogênese de novo e supressão da lipólise e da beta-oxidação da gordura, com conseqüente acúmulo de tecido adiposo, aumento da resistência insulínica sistêmica e lipotoxicidade nas pacientes com SOP. A hiperinsulinemia secundária à resistência insulínica aumentou ainda mais a expressão da AKR1C3 e exacerbou a produção de T de forma a alimentar o círculo vicioso entre hiperandrogenismo e resistência insulínica (Figura 2).

Por fim, a inibição seletiva *in vitro* da AKR1C3 reduziu de forma significativa a lipogênese *de novo* induzida por andrógenos, o que sugere que a produção de T a partir da A4 pela enzima AKR1C3 no tecido adiposo subcutâneo abdominal é um importante mecanismo envolvido no acúmulo de lipídeos induzido por andrógenos em mulheres com SOP.

Figura 2 - Produção aumentada de testosterona no tecido adiposo, lipotoxicidade e hiperinsulinemia na SOP



Adaptado de O'Reilly et al, AKR1C3-Mediated Adipose Androgen Generation Drives Lipotoxicity in Women with Polycystic Ovary Syndrome, 2017 (1)

1.4 SOP e resposta inflamatória

A presença de inflamação parece contribuir para a fisiopatologia da SOP, bem como atuar como um fator de risco cardiovascular a longo prazo, independente da obesidade (42, 43). A inflamação na SOP envolve aumento de fatores pro-inflamatórios como a proteína C-reativa (PCR) e interleucina 6 (IL-6) e redução de fatores anti-inflamatórios, como a adiponectina (43). Evidências mostram que a obesidade parece não ser o único fator associado à inflamação na SOP, visto que nas mulheres com obesidade e SOP, a perda de peso se associa a uma menor queda dos marcadores inflamatórios quando comparadas com as mulheres com obesidade e sem SOP (44, 45).

O tecido adiposo é uma importante fonte de mediadores pro-inflamatórios e, conseqüentemente inflamação crônica, não apenas na SOP como também em outras condições associadas à resistência insulínica, como a obesidade.(46) Conforme descrito anteriormente, o excesso de testosterona na SOP promove o acúmulo de tecido adiposo visceral e resistência insulínica ao inibir a lipólise e promover a lipogênese (1). Níveis elevados de testosterona promovem a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos, principalmente na região abdominal, e o conseqüente acúmulo de obesidade visceral(47). Adipócitos hipertrofiados são mais susceptíveis à inflamação, fibrose, apoptose e liberação de ácidos graxos livres, pois provocam um fenômeno de compressão dos vasos sanguíneos que leva à hipoperfusão tecidual. A hipóxia do tecido adiposo ativa o NF- κ B, que induz a produção e liberação de múltiplos mediadores inflamatórios, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF α), interleucinas e proteína quimioatrativa de monócitos tipo 1 (MCP-1). O MCP-1 promove o recrutamento de macrófagos de forma a sustentar o estado inflamatório, induzir mais disfunção do adipócito e necrose celular (48).

Assim, a hipertrofia de adipócitos abdominais gera uma resposta inflamatória que se agrava com o excesso de andrógenos na SOP (49). A ativação de cascatas de inflamação nos adipócitos prejudica o acúmulo de triglicérides e provoca aumento da liberação de ácidos graxos livres, que podem induzir a resistência insulínica (50). Apesar dos marcadores inflamatórios

estarem positivamente associados ao IMC, alguns estudos demonstraram que eles se encontraram mais elevados nas mulheres com obesidade e SOP do que nas mulheres com obesidade e sem SOP, bem como do que nas mulheres com peso normal e portadoras de SOP (51, 52). No entanto, a natureza da associação entre excesso de andrógenos, resistência insulínica e inflamação crônica ainda é bastante especulativa e precisa ser mais bem elucidada.

A melhor caracterização da inflamação na SOP é importante não apenas para tentar esclarecer seu papel na patogênese da síndrome, mas também para investigar a utilização dos marcadores inflamatórios como determinantes do risco metabólico e cardiovascular nas mulheres com SOP. Uma recente meta-análise sobre o papel da inflamação na SOP observou grande heterogeneidade nos resultados sobre os marcadores de inflamação, bem como resultados conflitantes entre populações de diferentes países (43). Dessa forma, mais estudos são necessários em diferentes populações para esclarecer a correlação entre obesidade, resistência insulínica, inflamação crônica e hiperandrogenismo e identificar marcadores inflamatórios preditores de risco metabólico e cardiovascular na SOP.

1.5 Excesso de andrógenos na SOP: os esteroides C19 clássicos

A produção de andrógenos nas mulheres na menacme ocorre nos ovários, nas adrenais e nos tecidos periféricos (principalmente, tecido adiposo e pele). Os ovários e as glândulas adrenais respondem por, aproximadamente, 50% da produção de A4 e T, ao passo que o precursor sulfato de deidroepiandrosterona (DHEAS) é produzido majoritariamente pelas adrenais (53). Os tecidos periféricos não são capazes de produzir andrógenos *de novo* a partir do colesterol, entretanto, são responsáveis pela produção dos outros 50% da T circulante a partir da conversão da androstenediona.

A produção dos esteroides C19 clássicos deidroepiandrosterona (DHEA), DHEAS e A4 pela zona reticulada do córtex adrenal é bem conhecida, bem como seu papel como precursores da T (54). A biossíntese dos andrógenos C19 inicia-se pela ação da proteína StAR (*steroidogenic acute regulatory protein*), que

promove o transporte da molécula de colesterol da membrana mitocondrial externa para a membrana mitocondrial interna, onde o colesterol é clivado em pregnenolona (PREG) pela ação da enzima P450_{scc}. A PREG é, então, convertida em 17-hidroxipregnenolona (17OHPREG) pela ação da 17 α -hidroxilase e, subsequentemente, em DHEA pela ação da 17-20 liase. Parte da DHEA é sulfatada para sua forma inativa, DHEAS, pela ação da sulfotransferase SULT2A1, e parte é convertida em A4 por meio da enzima 3 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 2 (3 β HSD2). Ainda na glândula adrenal, parte da A4 formada é convertida em T pela ação da AKR1C3, também conhecida como 17 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 5 (17 β HSD5) (Figura 3) (55).

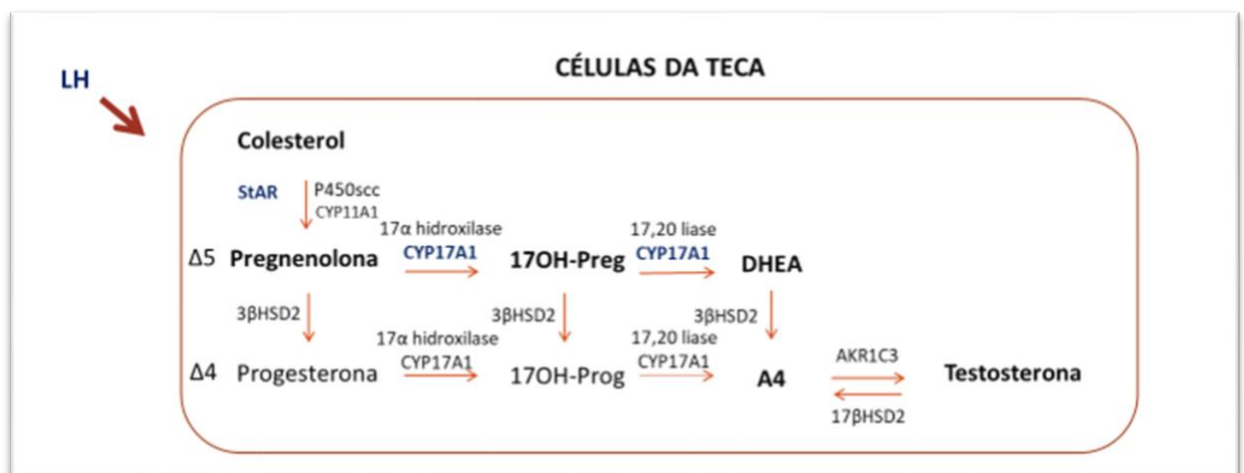
Figura 3 - Via clássica da biossíntese dos esteroides C19 clássicos na zona reticulada adrenal, sob estímulo do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH)



A produção de andrógenos nos ovários ocorre nas células da teca sob a ação do LH, de forma análoga à biossíntese clássica de andrógenos pelas adrenais. Nos ovários, a PREG pode ser metabolizada por 2 vias distintas: a via Δ 5, que é similar à via clássica adrenal, e a via Δ 4, em que a PREG é convertida em PROG pela ação da 3 β HSD2 e, esta, em 17OHPROG pela ação da 17 α -hidroxilase. Em humanos, a atividade da 17,20 liase sobre o precursor 17OHPROG nos ovários é muito pequena (Figura 4). Os andrógenos, então, se

difundem das células da teca para as células da granulosa, onde são substratos para formação de estrógenos pela ação do FSH.

Figura 4 - Biossíntese dos esteroides C19 clássicos nas células da teca ovarianas, sob estímulo do LH



Os padrões de secreção de andrógenos adrenais e ovarianos se diferem devido a diferenças na expressão das enzimas da esteroidogênese entre as duas glândulas. A biossíntese dos andrógenos adrenais se direciona predominantemente para a produção de DHEA e DHEAS devido a uma atividade mais baixa da 3 β HSD2 e uma atividade mais intensa da SULT2A1 na zona reticulada adrenal, em comparação às células da teca ovarianas.

Até recentemente, a T era considerada o marcador do hiperandrogenismo laboratorial na SOP (56). No entanto, O'Reilly et al. demonstraram que a A4 sérica dosada por LC-MS/MS é um indicador mais sensível para a detecção de hiperandrogenemia na SOP do que a dosagem isolada de T total (40). A sensibilidade e a especificidade da A4 para excesso de andrógenos foram de 88,3% e 97,7%, respectivamente, contra uma sensibilidade de 65,1% e especificidade de 88,3% da T total. Ainda nesse estudo, mais de dois terços das mulheres inicialmente caracterizadas como normoandrogênicas por níveis

séricos normais de T apresentaram excesso de andrógenos confirmado por níveis séricos elevados de A4.

Assim, a avaliação dos níveis séricos de T total e A4 dosados por LC-MS/MS é atualmente a metodologia mais acurada para detecção laboratorial do excesso de andrógenos na SOP.

1.6 Excesso de andrógenos na SOP: os esteroides C19 11-oxigenados

Estudos mostram que há a presença de disfunção da esteroidogênese adrenal na SOP. Níveis séricos elevados de DHEAS, um esteroide androgênico produzido quase que exclusivamente pelas adrenais, ocorre em aproximadamente 30% das pacientes com SOP (57). O'Reilly et al. avaliaram outros andrógenos de produção essencialmente adrenal, além do DHEAS, em paciente com SOP e observaram que, em relação ao grupo controle pareado para IMC, pacientes com SOP apresentaram níveis séricos mais elevados desses andrógenos adrenais, denominados C19 11-oxigenados (58). No entanto, o papel desses esteroides adrenais na SOP ainda não foi elucidado.

Em meados da década de 50, o esteroide C19 11-oxigenado 11 β -hidroxiandrostenediona (11OHA4), produzido pelas adrenais, foi detectado em elevadas concentrações séricas em humanos (59, 60). Estudos subsequentes, porém, concluíram que esse esteroide apresentava fraco potencial androgênico e a 11OHA4 foi negligenciada por achar-se que era resultado final da via de inativação dos andrógenos adrenais (61).

Estudos em peixes *teleost*, no entanto, mudaram esse paradigma ao demonstrar que o produto da metabolização da 11OHA4, denominado 11-cetotestosterona (11KT), era o andrógeno mais potente nestes organismos. A 11KT está envolvida na diferenciação sexual, no desenvolvimento dos caracteres sexuais masculinos, na espermatogênese e no comportamento reprodutivo masculino desses peixes (62, 63).

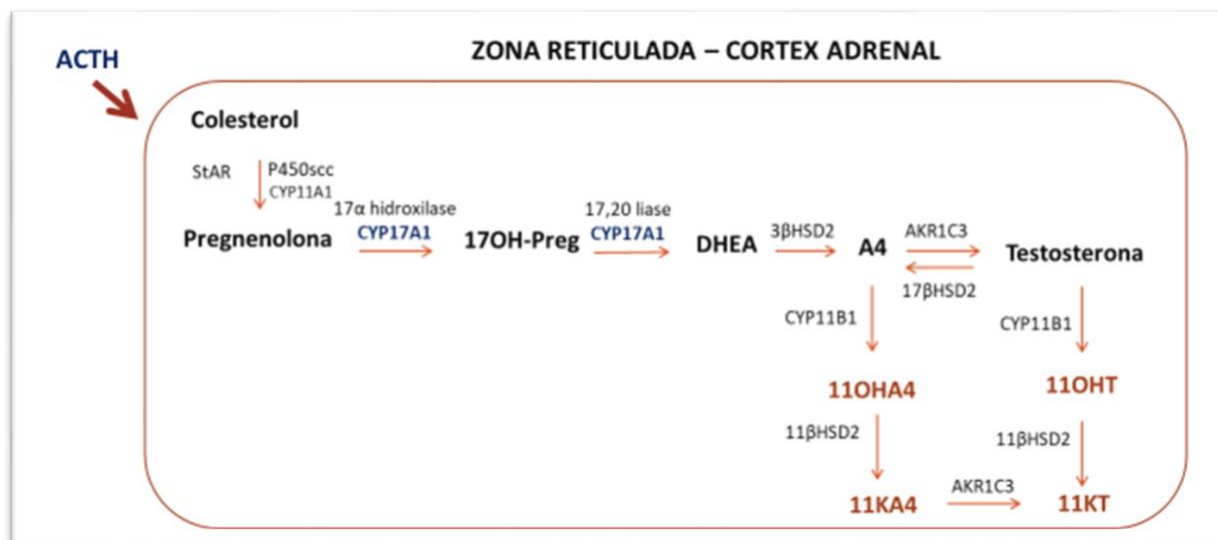
Em humanos, os primeiros trabalhos que investigaram o papel dos esteroides C19 11-oxigenados na fisiopatologia de doenças foram realizados em células de tumores de próstata resistentes à castração. Desfechos positivos do

tratamento desses tumores com o antagonista do receptor androgênico, enzalutamide, e com o inibidor do CYP17A1, abiraterone, sugeriram que as células tumorais estavam sendo ativadas por andrógenos, apesar da terapia de castração (64, 65). Para investigar a hipótese de que os esteroides C19 11-oxigenados seriam agonistas do receptor de andrógeno e teriam papel na resistência desses tumores à castração, foi avaliado, então, o grau de atividade dos esteroides 11KT e 11-cetodihidrotestosterona (11KDHT) sobre o receptor de andrógeno. Observou-se que 11KT e 11KDHT ligaram-se ao receptor androgênico com afinidade semelhante à da T e da DHT, respectivamente, e foram capazes de induzir a expressão gênica andrógeno-dependente e o crescimento celular com potência e eficácia comparáveis à T e DHT (66, 67).

As vias de metabolização da 11OHA4 e de outros esteroides C19 11-oxigenados nos seres humanos começaram a ser elucidadas recentemente (68). A glândula adrenal humana produz quantidades significativas de 11OHA4, formada a partir da 11 β -hidroxilação da A4 e catalisada pelo citocromo CYP11B1 (9). A produção de 11OHA4 é maior do que a produção da A4 nas adrenais, tanto em condições normais quanto sob o estímulo com ACTH (69). A 11OHA4 é substrato para ação da 11 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 2 (11 β HSD2), que leva à síntese da 11KA4. A 11KA4, por sua vez, sofre ação da AKR1C3 e é convertida em 11KT. A 11KT também é produzida a partir da T, por intermédio da 11OHT. A 11OHT pode ser produzida a partir da 11 β -hidroxilação da T catalisada pelo CYP11B1, e é o substrato da 11 β HSD2 para formação da 11KT (6) (Figura 5).

A dosagem de 11OHT e 11KT mostrou-se similar entre homens e mulheres, o que sugere que a adrenal é a principal fonte de produção da 11OHT, e que a T de origem gonadal tem pouca importância como precursora desses esteroides (55). As diferenças nas concentrações dos esteroides C19 11-oxigenados na veia adrenal e na veia cava inferior sugerem que 11OHA4 e 11OHT são sintetizadas, preferencialmente, nas adrenais, e que a 11KA4 e a 11KT são produzidas, principalmente, nos tecidos periféricos (55, 69).

Figura 5 - Biossíntese dos esteroides C19 11-oxygenados nas adrenais



Em mulheres, a maioria dos andrógenos C19 produzidos pelas adrenais e pelos ovários são, na verdade, precursores de andrógenos, cuja ação androgênica é fraca, e que podem ser convertidos em andrógenos ativos nos tecidos alvos.

Mais especificamente, a DHEA pode ser convertida em A4 pela ação da 3βHSD1 e a A4 pode ser substrato para a produção de T pela ação da AKR1C3 nos tecidos periféricos (70). A 5α-redução da T no andrógeno mais potente, DHT, ocorre pela ação da enzima 5α-redutase tipo 2 (SRD5A) (71) (Figura 8). Também nos tecidos periféricos, a 11OHA4 é convertida em 11KA4 pela ação da 11βHSD2 e esta é convertida em 11KT pela ação da AKR1C3. A 11KT também é produto da 11-beta hidroxilação da 11OHT pela 11βHSD2. A conversão da 11KT no andrógeno mais potente, 11KDHT, também ocorre pela ação da enzima SRD5A1 (72) (Figura 6).

No contexto das doenças endocrinológicas associadas ao excesso de andrógenos, Turcu et al. avaliaram pacientes portadores de forma clássica da deficiência da 21-hidroxilase e demonstraram níveis elevados dos C19 11-oxygenados 11OHA4, 11KA4, 11OHT e 11KT em homens e mulheres acometidos, quando comparados ao grupo controle (73).

Figura 6 - Ativação dos precursores de andrógenos C19 clássicos e C19 11-oxigenados nos tecidos periféricos



O'Reilly et al estudaram os esteroides C19 11-oxigenados 11OHA4, 11KA4, 11OHT e 11KT em mulheres com SOP e controles, e apontaram um papel relevante dos C19 11-oxigenados no hiperandrogenismo associado à síndrome (58). Foi observado que, do total de andrógenos circulantes, os C19 11-oxigenados correspondiam à maioria (53%) dos andrógenos não conjugados circulantes nas pacientes com SOP, diferentemente do que se observou no grupo controle, em que os andrógenos clássicos corresponderam à maioria dos andrógenos séricos circulantes. Evidenciaram, também, que a elevação dos níveis séricos dos C19 11-oxigenados nas pacientes com SOP foi independente do IMC e que a 11OHA4 e a 11KA4 se correlacionaram positivamente com IMC, níveis séricos de insulina e HOMA-IR nas pacientes com SOP. Um dado curioso também observado nesse estudo foi a concentração sérica da 11KT, que foi significativamente mais elevada do que a T tanto nas pacientes com SOP como no grupo controle, o que sugere que a 11KT é o andrógeno potente mais abundante no sexo feminino. Assim, como a 11KT apresenta afinidade e potencial de ativação do receptor de andrógeno semelhante à T, abre-se um precedente para a investigação do papel da 11KT no excesso de andrógenos, obesidade, resistência insulínica e inflamação crônica na SOP.

Mais recentemente, Nanba et al. incluíram os andrógenos C19 11-oxigenados na avaliação do perfil de andrógenos circulantes em mulheres pré e pós menopausa.(74) Diferentemente das concentrações dos andrógenos

clássicos DHEA, DHEAS, A4 e T, os 11-oxigenados não apresentaram declínio após a menopausa. A preservação dos esteroides C19 11-oxigenados como os andrógenos dominantes na pós-menopausa sugere que esses esteroides possam ter um papel na fisiologia durante esse período da vida da mulher. Devido às limitações do desenho do estudo, não foi encontrada associação entre os 11-oxigenados e IMC, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, hiperglicemia nem densidade mineral óssea nas mulheres na pós-menopausa.

1.7 Hipóteses

Sabe-se que as mulheres com SOP têm maior risco de desenvolver doenças metabólicas, e que existe uma associação entre o aumento dos andrógenos C19 clássicos e aumento dos fatores de risco metabólicos como obesidade e resistência insulínica. Porém, ainda não se sabe qual a contribuição dos andrógenos C19 11-oxigenados e dos marcadores inflamatórios para o maior risco de perfil metabólico adverso na SOP.

Assim, a nossa hipótese é que os andrógenos C19 11-oxigenados apresentam níveis mais elevados nas mulheres com SOP em relação a controles, e que juntamente com os andrógenos C19 clássicos, estão associados a piores desfechos de disfunção metabólica, resistência insulínica e inflamação nas mulheres com SOP.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são:

1. Analisar o perfil clínico, metabólico, inflamatório e hormonal de uma amostra de mulheres brasileiras com SOP comparadas a um grupo controle.

2. Avaliar a correlação entre as concentrações séricas dos esteroides androgênicos clássicos e 11-oxigenados com parâmetros metabólicos e inflamatórios em uma amostra de mulheres brasileiras com SOP comparadas a um grupo controle.

3. MÉTODOS

3.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo observacional transversal.

3.2 Considerações éticas

O estudo foi conduzido de acordo com a Resolução do Conselho Nacional de Saúde 466/2012(44). O projeto foi aprovado pelo comitê de ética local (CAPPesq) via Plataforma Brasil, Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) nº 70613317.5.0000.0068.

Após terem aceitado participar do estudo, todas as participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

3.3 População do estudo

O recrutamento foi realizado através de mídias sociais para selecionar mulheres não tratadas com e sem SOP de agosto de 2016 a dezembro de 2019.

Todas as mulheres tinham idade entre 18-40 anos e não estavam em uso de substâncias que pudessem afetar o metabolismo ou o perfil hormonal.

O diagnóstico de SOP foi confirmado de acordo com os critérios de Rotterdam e pela exclusão de diagnósticos diferenciais da SOP como deficiência não clássica da 21-hidroxilase, disfunções da tireoide não compensadas, hiperprolactinemia e tumores produtores de andrógenos.

O grupo controle incluiu mulheres com ciclos menstruais regulares (duração > 21 dias e < 35 dias), sem sinais ou sintomas de hiperandrogenismo (hirsutismo, acne e/ou alopecia androgênica), e sem histórico de infertilidade.

3.4 Critérios de inclusão

Participantes de nenhum dos dois grupos estava em uso de método contraceptivo hormonal, medicamentos sensibilizadores de insulina, medicamentos com ação sobre o receptor de andrógeno, ou esteroides. Caso tenha havido o uso prévio de algumas das medicações anteriores, foram incluídas apenas mulheres que tinham descontinuado o contraceptivo hormonal oral/medicamentos sensibilizadores de insulina/medicamentos com ação sobre o receptor de andrógeno pelo menos três meses antes da coleta das amostras de soro para este estudo. No caso do uso prévio da contracepção hormonal injetável, do implante e do uso de esteroides, considerou-se um período mínimo de seis meses da descontinuação para inclusão neste estudo.

3.5 Critérios de exclusão

Foram excluídas mulheres com disfunção renal e hepática, gestantes e lactantes.

3.6 Avaliação clínica e antropométrica

As manifestações clínicas de hiperandrogenismo foram avaliadas pela presença de hirsutismo, acne e alopecia feminina padrão androgênico. O hiperandrogenismo clínico foi definido pela presença de hirsutismo – pontuação pela escala de Ferriman-Galleway modificada (mFG) maior ou igual a seis – e/ou acne e/ou alopecia feminina padrão androgênico. O hiperandrogenismo laboratorial foi definido pela concentração sérica de DHEAS e/ou A4 e/ou T total e/ou T livre igual ou acima o limite superior do método.

A oligo/anovulação foi definida pela presença de oligomenorreia (menos de 8 ciclos menstruais em 12 meses e/ou ciclos menstruais com intervalo <21 ou ≥35 dias) ou níveis séricos de progesterona na fase lútea <5 ng/ml, em dois ciclos menstruais consecutivos.(22)

A definição de morfologia de ovário policísticos (MOP) ao ultrassom foi definida pela presença de 20 ou mais folículos com distribuição periférica e tamanho entre 2-9 mm e/ou a presença de ovários com volume $\geq 10\text{cm}^3$, uni ou bilateralmente avaliados por ultrassonografia pélvica transvaginal (22). Os exames foram realizados no Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP).

A avaliação do perfil metabólico incluiu o cálculo do IMC, a medida da circunferência abdominal (CA) e da circunferência do quadril (CQ), o cálculo da relação CA/CQ e média da pressão arterial (média de 2 aferições no mesmo membro, com intervalo de 3 minutos).

As avaliações clínicas foram realizadas pela mesma equipe de endocrinologistas do Ambulatório de Doenças Hiperandrogênicas, Unidade de Desenvolvimento, Disciplina de Endocrinologia do HCFMUSP.

3.6 Análises laboratoriais

Todas as amostras de soro foram coletadas entre 8:00h e 9:00h da manhã. Todas as participantes estavam na fase folicular do ciclo menstrual – entre o 3º e 5º dia do ciclo – e em jejum de 8-10 horas. Mulheres em amenorreia tiveram as amostras coletadas de forma aleatória. Todas as mulheres do grupo SOP foram submetidas ao teste oral de tolerância à glicose (TOTG) com a dosagem sérica de glicemia e insulina nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos após ingestão de 75g de glicose anidra.

As amostras de sangue destinadas à dosagem dos andrógenos C19 11-oxigendos e marcadores inflamatórios foram centrifugadas em até 1h após a coleta e o soro congelado a -80°C . Amostras destinadas à dosagem dos C19 clássicos e análises bioquímicas foram encaminhadas ao Laboratório Central do HCFMUSP imediatamente após a coleta.

3.6.1 Avaliação bioquímica

Dosagens séricas da glicemia (hexoquinase), insulina (ECLIA, Cobas e602, Roche Diagnostics, Indianapolis, IN), hemoglobina glicada (HPLC), colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicérides foram realizadas no Laboratório Central do HCFMUSP. A resistência insulínica foi avaliada pelo HOMA-IR (*homeostasis model assessment of insulin resistance*), calculado pela fórmula [glicemia jejum (mg/dL) x insulina jejum (μ IU/mL/ 405)].

3.6.2 Dosagens séricas dos marcadores inflamatórios

Interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), interleucina 1 beta (IL-1 β), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), proteína quimioatrativa de monócitos tipo 1 (MCP-1), inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1), leptina, resistina e adiponectina foram dosados pelo kit comercial MILLIPEX[®] MAP Human (Merck, Burlington, Massachusetts, EUA). Os ensaios foram realizados de acordo com as instruções do fabricante. As amostras foram analisadas pelo sistema Luminex MAGPIX e coletados pelo software Luminex xPONEN (Luminex, Austin, Texas, EUA).

3.6.3 Dosagens séricas do perfil hormonal

LH, FSH, progesterona, DHEAS, Testosterona total e SHBG foram dosados por eletroquimioluminescência (ECLIA) (Cobas e602 Roche Diagnostics, Indianapolis, USA) no Laboratório Central do HCFMUSP. A 17OHP e a A4 foram dosadas por LC-MS/MS no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM 42, conforme descrito por Alves et al (75).

DHEA, A4, T, DHT, 11OHA4, 11OHT, 11KA4, 11KT foram dosados por LC-MS/MS – ACQUITY UPLC system (*Waters, Milford, USA*) Xevo TQ-S triplo quadrupolo (*Waters, Milford, USA*) (Anexos 7.1, 7.2 e 7.3), no *Institute of Metabolism and Systems Research (IMSR)*, na Universidade de Birmingham, Reino Unido, conforme descrito por Schiffer et al. (76).

A testosterona livre foi calculada a partir das concentrações séricas de testosterona total e SHBG através da fórmula de Vermeulen (77).

A testosterona total dosada por ECLIA (*Cobas e602 Roche Diagnostics, Indianapolis, USA*) e a A4 dosada por LC-MS/MS no LIM 42 HCFMUSP foram consideradas para o diagnóstico de hiperandrogenismo laboratorial. A A4 e testosterona total dosadas no IMSR no Reino Unido foram consideradas para as análises comparativas entre andrógenos clássicos e 11-oxigenados e para a investigação das correlações entre parâmetros metabólicos, inflamatórios e hormonais.

3.7 Análise estatística

Todos os testes estatísticos realizados levaram em consideração um α bidirecional (p-valor) de 0,05 e intervalo de confiança (IC) de 95%, realizados com apoio computacional dos softwares R1 ou IBM SPSS *Statistics* para Windows, versão 25 (*IBM Corp., Armonk, NY, USA*).

Os dados foram descritos com frequência e intervalo de confiança para as variáveis qualitativas e com medidas de tendência central (média e mediana) e medidas de dispersão (desvio padrão, intervalo interquartil, mínimo e máximo) para as variáveis quantitativas.

A existência de associação entre as variáveis qualitativas foi avaliada com teste de qui-quadrado ou teste exato de Fischer. A associação entre variáveis quantitativas e qualitativas foi avaliada com teste de Mann-Whitney.

Foram criados modelos de regressão linear univariada e multivariada para verificar a interação entre as variáveis de disfunção metabólica, variáveis do perfil hormonal e os marcadores de inflamação entre os grupos SOP e controle,

com ajuste por IMC. Para a análise multivariada, foram criados modelos de regressão linear para reduzir a probabilidade de erro tipo 1. As variáveis dependentes incluíram glicose jejum, insulina jejum, razão CA/CQ, HOMA-IR, pré-diabetes, diabetes tipo 2, dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica, razão LH/FSH, DHEA-S, razão T/A4, T livre, SHBG, 11OHA4, 11OHT e razão 11KT/11KA.

4. RESULTADOS

4.1. Características da coorte estudada

Foram incluídas um total de 92 mulheres neste estudo, 68 (73,9%) no grupo SOP e 24 (26,1%) no grupo controle. Os grupos foram pareados para idade, com média e \pm desvio padrão (DP) de 28,9 ($\pm 5,6$) anos no grupo SOP e 31,0 ($\pm 6,3$) anos no grupo controle (p-valor 0,216).

No grupo SOP, a frequência de hirsutismo foi de 62,1%, acne 26,5%, alopecia 13,2%, irregularidade menstrual 100%, MOP 88,9%, e hiperandrogenismo laboratorial 61,8%.

A média do IMC foi maior no grupo SOP ($32,3 \pm 6,9$ Kg/m²) em relação aos controles ($26,1 \pm 6,4$ Kg/m²) (p-valor 0,010) (Tabela 1). Sobrepeso e obesidade, definidos por um IMC ≥ 25 mg/m², foram observados em 83,8% (57/68) do grupo SOP e 45,8% (11/24) do grupo controle. A circunferência abdominal, a circunferência de quadril e a razão CA/CQ mostraram-se significativamente mais elevados no grupo SOP (Tabela 1).

Tabela 1- Distribuição de variáveis antropométricas de acordo com os grupos incluindo média, desvio padrão (DP), mediana, intervalo interquartil (IIQ), valores mínimo e máximo e nível descritivo (p-valor)

VARIÁVEL	GRUPO	MÉDIA (\pm DP)	MEDIANA (IIQ)	MIN-MAX	p-valor
IMC (Kg/m ²)	SOP	32,3 ($\pm 6,9$)	31,7 (27-37,2)	20,1-50,6	0,001
	Controle	26,1 ($\pm 6,4$)	25,6 (21,4-31,6)	15,1-40,4	
CA (cm)	SOP	100,9 ($\pm 16,6$)	101,5 (90-113)	70-142	0,007
	Controle	88,7 ($\pm 17,6$)	84 (76-101)	65-124	
CQ (cm)	SOP	111 ($\pm 12,8$)	110 (102-119)	73-150	0,042
	Controle	104,6 (± 12)	105 (96-114)	80-131	
Razão CA/CQ	SOP	0,9 ($\pm 0,1$)	0,9 (0,8-1)	0,7-1,2	0,006
	Controle	0,8 ($\pm 0,1$)	0,8 (0,8-0,9)	0,7-1	

p-valor baseado no teste de Mann-Whitney; **IMC**, índice de massa corporal; **CA**, circunferência abdominal; **CQ**, circunferência quadril

4.2. Avaliação do perfil metabólico

Conforme Tabela 2, 93,1% do total de casos de pré-diabetes ocorreu no grupo SOP, com prevalência de pré-diabetes de 39,7% (27/68) no grupo SOP e 9% (2/24) no grupo controle, ($p=0,004$). Também foi observado que 85% do total de casos de dislipidemia ocorreu no grupo SOP. Houve uma maior prevalência de dislipidemia no grupo SOP 77,3% (51/66) do que no grupo controle 37,5% (9/24), ($p<0,001$). Diabetes e hipertensão arterial ocorreram apenas nas mulheres com SOP. Embora, as frequências de pacientes com diabetes mellitus tipo 2 – 9,5% (6/63) – e hipertensão arterial – 12,1% (8/66) – tenham sido também maior no grupo SOP, não se observaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos avaliados (Tabela 2).

Tabela 2 – Distribuição de disfunções metabólicas de acordo com os grupos incluindo (N), porcentagem (%), intervalo de confiança de 95% (IC95%) e nível descritivo (p-valor)

VARIÁVEL	GRUPO				TOTAL	p-valor
	SOP		CONTROLE			
	N	% (IC95%)	N	% (IC95%)	N	
Pré-diabetes						
Não	41	65,1 (52,8-76)	22	34,9 (24-47,2)	63	0,004
Sim	27	93,1 (79,7-98,5)	2	6,9 (1,5-20,3)	29	
Total	68	73,9 (64,3-82)	24	26,1 (18-35,7)	92	
Diabetes tipo 2						
Não	57	70,4 (59,8-79,5)	24	29,6 (20,5-40,2)	81	0,117
Sim	6	100 (100-100)	0	0 (0-0)	6	
Total	63	72,4 (62,4-81)	24	27,6 (19-37,6)	87	
Dislipidemia						
Não	15	50 (32,8-67,2)	15	50 (32,8-67,2)	30	<0,001
Sim	51	85 (74,4-92,3)	9	15 (7,7-25,6)	60	
Total	66	73,3 (63,6-81,6)	24	26,7 (18,4-36,4)	90	
Hipertensão arterial sistêmica						
Não	58	70,7 (60,3-79,7)	24	29,3 (20,3-39,7)	82	0,074
Sim	8	100 (100-100)	0	0 (0-0)	8	
Total	66	73,3 (63,6-81,6)	24	26,7 (18,4-36,4)	90	

p-valor baseado no teste de qui-quadrado ou teste exato de Fischer

Glicose jejum, insulina jejum, HOMA-IR, hemoglobina glicada, triglicérides e HDL-colesterol mostraram-se significativamente diferentes entre os grupos. Maiores concentrações de glicemia jejum, insulina jejum, HOMA-IR, hemoglobina glicada e triglicérides e menores níveis de HDL-colesterol foram encontrados no grupo SOP. Não foram observadas diferenças significantes entre os grupos para o LDL-colesterol. (Tabela 3)

Tabela 3- Perfil metabólico de acordo com os grupos incluindo média, desvio padrão (DP), mediana, intervalo interquartil (IIQ), valores mínimo e máximo e nível descritivo (p-valor)

VARIÁVEL	GRUPO	MÉDIA (\pm DP)	MEDIANA (IIQ)	MIN-MAX	p-valor
Glicose jejum (mg/dl)	SOP	91,5 (\pm 25,5)	88,0 (82,5-93,5)	74-290	0,045
	Controle	85,0 (\pm 9,2)	81,5 (77,0-94,5)	71-102	
Insulina jejum (μ U/ml)	SOP	25,8 (\pm 20,6)	21,4 (14,0-33,5)	5,1-130	<0,001
	Controle	10,0 (\pm 5,5)	8,8 (7,0-10,6)	4,6-29,5	
HOMA-IR	SOP	6,0 (\pm 5,4)	4,5 (3,2-6,9)	1,1-30,2	<0,001
	Controle	2,1 (\pm 1,1)	2,0 (1,4-2,2)	0,9-5,2	
HbA1c (%)	SOP	5,5 (\pm 0,9)	5,4 (5,2-5,6)	4-11,9	0,039
	Controle	5,2 (\pm 0,3)	5,2 (5,0-5,4)	4,7-5,9	
LDL-c (mg/dl)	SOP	109,4 (\pm 33,3)	104,0 (88,0-131,0)	36-205	0,284
	Controle	98,7 (\pm 22,9)	97,5 (84,0-111,5)	42-143	
Triglicerídeos (mg/dl)	SOP	143,2 (\pm 93,7)	111,5 (80,0-179,0)	46-529	<0,001
	Controle	80,5 (\pm 30,7)	72,0 (58,5-93,0)	41-160	
HDL-c (mg/dl)	SOP	45,7 (\pm 15,0)	44,5 (36,0-49,0)	22-121	<0,001
	Controle	58,4 (\pm 15,1)	57,5 (46,5-69,0)	32-88	

*p-valor baseado no teste de Mann-Whitney; **HOMA-IR**, homeostatic model assessment of insulin resistance; **HbA1c**, hemoglobina glicada; **LDL-c**, LDL-colesterol; **HDL-c**, HDL-colesterol*

4.3. Avaliação dos marcadores de inflamação

Entre os marcadores de inflamação, observou-se que a leptina, resistina, IL-8 e PAI-1 estavam significativamente mais elevados no grupo SOP e que a adiponectina estava significativamente mais elevada no grupo controle (Tabela 4).

Tabela 4 – Marcadores de inflamação de acordo com os grupos incluindo média, desvio padrão (DP), mediana, intervalo interquartil (IIQ), valores mínimo e máximo e nível descritivo (p-valor)

VARIÁVEL	GRUPO	MÉDIA (\pm DP)	MEDIANA (IIQ)	MIN-MAX	p-valor
IL-6 (pg/mL)	SOP	5,7 (\pm 13,3)	2,9 (0,8-5,1)	0,2-104,5	0,973
	Controle	7 (\pm 10,3)	1,7 (0,9-8,7)	0,3-32,5	
Leptina (pg/mL)	SOP	11354,4 (\pm 9133,3)	8759 (4809-15386)	1026-47169	0,002
	Controle	4598,1 (\pm 2545,3)	4480 (2684-6345,5)	177,8-8479	
IL-8 (pg/mL)	SOP	4,1 (\pm 6)	2 (0,7-4,4)	0-30,8	0,002
	Controle	0,7 (\pm 1)	0,1 (0,1-1,3)	0-3,4	
Adiponectina (pg/mL)	SOP	36,2 (\pm 51,8)	18,4 (14,7-30,4)	6,1-304,8	0,048
	Controle	105,3 (\pm 129,7)	29,7 (19,8-212,9)	19,4-320,2	
MCP-1 (pg/mL)	SOP	211,7 (\pm 111,7)	179,4 (119,3-275,2)	34,1-522,5	0,074
	Controle	150,2 (\pm 83,4)	155,4 (87,6-173)	32,1-320	
TNF- α (pg/mL)	SOP	2,1 (\pm 1,1)	2,1 (1,3-2,6)	0,3-5,6	0,062
	Controle	1,5 (\pm 0,8)	1,1 (0,9-2,2)	0,5-3,2	
Resistina (pg/mL)	SOP	11709,7 (\pm 1986,1)	12095 (10666-13375)	6290-14790	0,023
	Controle	9976,8 (\pm 2893)	10146 (7701-12110,5)	5981-15553	
IL-1 β (pg/mL)	SOP	0,6 (\pm 0,4)	0,4 (0,3-0,6)	0,2-2,7	0,407
	Controle	0,8 (\pm 0,9)	0,4 (0,3-0,7)	0,2-3,3	
PAI-1 total (pg/mL)	SOP	13759,6 (\pm 4392,4)	14787 (10727-17469)	4385-20671	0,008
	Controle	9462,3 (\pm 5134,1)	7927,5 (5703-13485)	3147-20017	

p-valor baseado no teste de Mann-Whitney

4.4. Avaliação do perfil hormonal

LH, razão LH/FSH, androstenediona, testosterona total, testosterona livre, razão T/A4 e razão 11KT/11KA4 mostraram-se significativamente aumentadas no grupo SOP (Tabela 5). A SHBG e o FSH mostraram-se significativamente mais elevados no grupo controle (Tabela 5). Não houve diferenças entre os grupos nas concentrações de DHEAS, DHT, 11OHA4, 11OHT, 11KA4 e 11KT (Tabela 5).

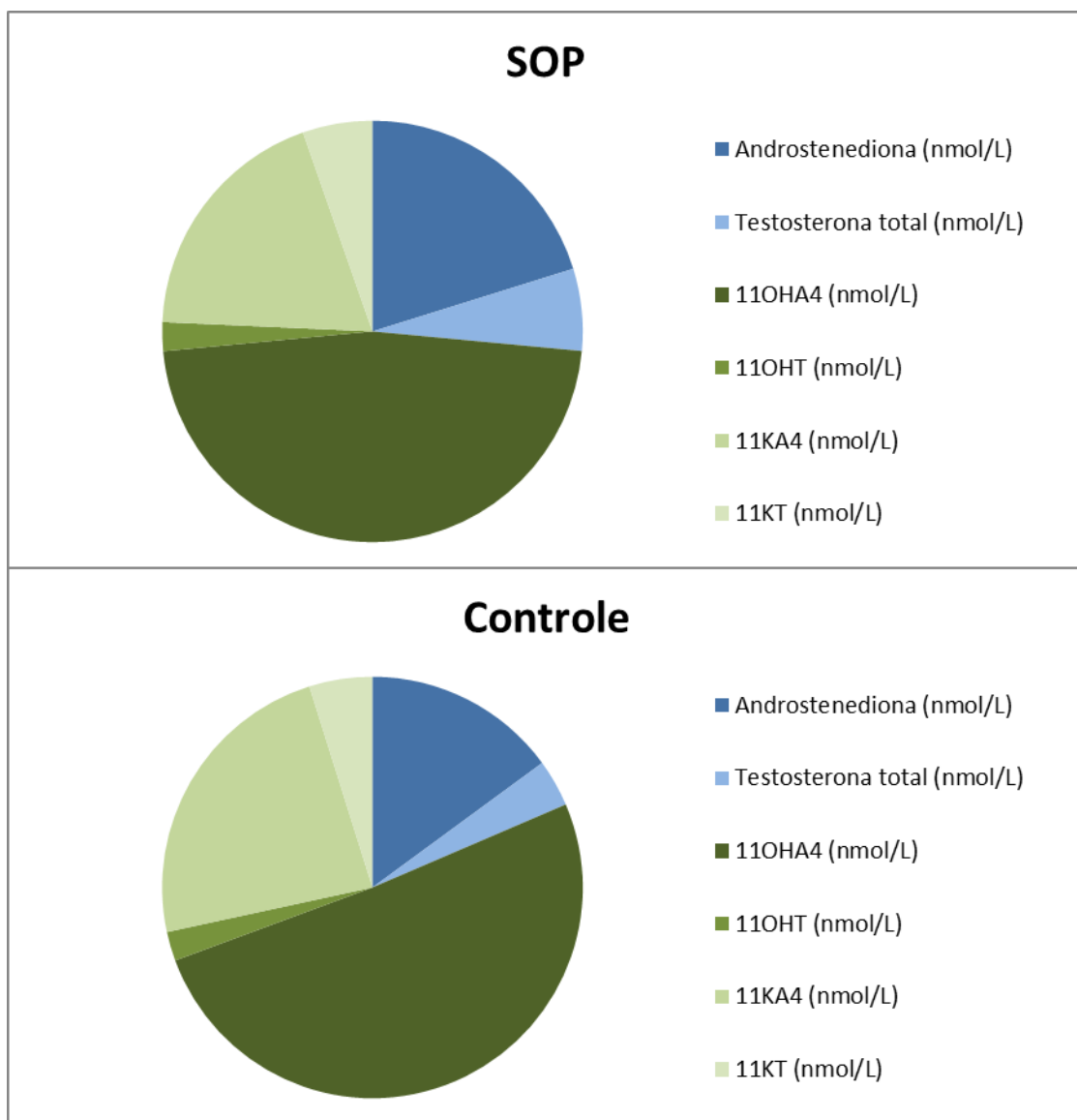
Tabela 5- Perfil hormonal de acordo com os grupos incluindo média, desvio padrão (DP), mediana, intervalo interquartil (IIQ), valores mínimo e máximo e nível descritivo (p-valor)

VARIÁVEL	GRUPO	MÉDIA (\pm DP)	MEDIANA (IIQ)	MIN-MAX	p-valor
LH (UI/L)	SOP	10,6 (\pm 6,4)	8,9 (6,6-12,5)	1,3-34,7	0,001
	Controle	6,8 (\pm 4,8)	6,1 (4,4-7)	1,9-25,8	
FSH (UI/L)	SOP	5,8 (\pm 4,6)	5,5 (4,5-6,3)	1,2-41	0,005
	Controle	6,7 (\pm 1,8)	6,2 (5,6-7,9)	3,9-11,6	
LH/FSH	SOP	2 (\pm 1)	1,8 (1,2-2,7)	0,3-5,2	<0,001
	Controle	1,1 (\pm 1)	0,9 (0,7-1,2)	0,3-5,7	
DHEA-S (ng/mL)	SOP	2235,6 (\pm 1489,5)	1863 (1168-2838)	480-9533	0,989
	Controle	2083,8 (\pm 1040,5)	2205 (1181-2646)	682-5309	
Androstenediona (nmol/L)	SOP	6,4 (\pm 3,3)	5,9 (4-8,4)	1,5-20,4	0,001
	Controle	4 (\pm 1,9)	3,7 (2,7-5,1)	1,4-9	
Testosterona total (ng/dL)	SOP	57,5 (\pm 39)	53 (36,5-70,5)	12-306	<0,001
	Controle	27,9 (\pm 14,6)	26 (13-41)	12-56	
Testosterona total (nmol/L)	SOP	2 (\pm 1,4)	1,5 (1,3-2,4)	0,4-10,6	<0,001
	Controle	1 (\pm 0,5)	0,9 (0,5-1,4)	0,4-1,9	
SHBG (nmol/L)	SOP	43,7 (\pm 24)	36,4 (25,6-58,9)	15,7-133,1	<0,001
	Controle	80,6 (\pm 48,4)	69,4 (47-100)	23,6-199,5	
Testosterona livre (pmol/L)	SOP	33,4 (\pm 27)	28 (16-46)	4-196	<0,001
	Controle	11,8 (\pm 8,1)	9,5 (5-18)	2-34	
DHT (nmol/L)	SOP	0,4 (\pm 0,3)	0,4 (0,2-0,6)	0-1,3	1,000
	Controle	0,4 (\pm 0,3)	0,3 (0,2-0,6)	0-1,3	
11OHA4 (nmol/L)	SOP	14,9 (\pm 9,9)	12,7 (8,8-15,9)	1,3-48,8	0,936
	Controle	13,6 (\pm 7,1)	11,9 (8,9-16,1)	4,7-34	
11OHT (nmol/L)	SOP	0,7 (\pm 0,5)	0,6 (0,4-1)	0,1-2,6	0,353
	Controle	0,6 (\pm 0,2)	0,6 (0,3-0,8)	0,3-1	
11KA4 (nmol/L)	SOP	6 (\pm 4)	4,4 (3,2-8)	0,4-17,2	0,274
	Controle	6,3 (\pm 3)	5,6 (4,1-8,4)	2,5-13,3	
11KT (nmol/L)	SOP	1,7 (\pm 1,1)	1,4 (0,9-2,4)	0,2-5,7	0,111
	Controle	1,3 (\pm 0,6)	1,1 (0,8-1,8)	0,5-2,5	
Razão T/A4	SOP	1,1 (\pm 1,1)	0,8 (0,3-1,4)	0-5,3	<0,001
	Controle	0,3 (\pm 0,1)	0,3 (0,2-0,3)	0,1-0,5	
Razão 11KT/11KA4	SOP	0,4 (\pm 0,4)	0,3 (0,1-0,5)	0-2,3	0,047
	Controle	0,2 (\pm 0,1)	0,2 (0,1-0,3)	0,1-0,5	

p-valor baseado no teste de Mann-Whitney

Do total de andrógenos circulantes nas mulheres com SOP, os andrógenos clássicos androstenediona e testosterona corresponderam a 27% e os 11-oxigenados, a 73% (Figura 7). Em controles, a proporção dos andrógenos clássicos foi de 19% e a dos 11-oxigenados, 81% em relação ao total de andrógenos circulantes (Figura 7).

Figura 7 – Contribuição relativa (mediana; %) dos andrógenos clássicos (androstenediona e testosterona) e 11-oxigenados (11OHA4, 11OHT, 11KA4 e 11KT) no total de andrógenos circulantes nos grupos SOP e controle



SOP: Androstenediona + Testosterona = 27%; C19 11-oxigenados = 73%.

Controle: Androstenediona + Testosterona = 19%; C19 11-oxigenados = 81%.

4.5 Avaliação dos perfis metabólico, inflamatório e hormonal estratificada pelo IMC em mulheres com SOP e controles

Os grupos SOP e controle foram divididos em dois subgrupos, de acordo com o IMC: peso saudável (IMC <25 Kg/m²) e sobrepeso/obesidade (IMC ≥ 25 Kg/m²). As estatísticas descritivas completas dos parâmetros antropométricos, metabólicos e inflamatórios estratificadas por IMC <25 Kg/m² e IMC ≥ 25 Kg/m² incluindo mediana, intervalo interquartil (P25-P75) e nível descritivo (p-valor) constam no Anexo A.

4.5.1 Subgrupo SOP e controles com IMC <25 Kg/m²

O grupo SOP com peso saudável apresentou uma relação LH/FSH mais alta, assim como maiores concentrações de androstenediona, testosterona total e livre, e menores concentrações de SHBG, comparado ao grupo controle (Anexo A). Nenhuma diferença nas concentrações dos andrógenos 11-oxigenados foi encontrada entre SOP e controles no subgrupo de peso saudável. Também não houve diferença nos marcadores metabólicos e inflamatórios entre o grupo SOP vs. controle, exceto para os níveis de resistina e PAI-1, que foram mais altos no grupo SOP do que controle ($p=0,026$ e $p=0,036$, respectivamente) (Figuras 8 e 9).

Figura 8 – Resistina em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente

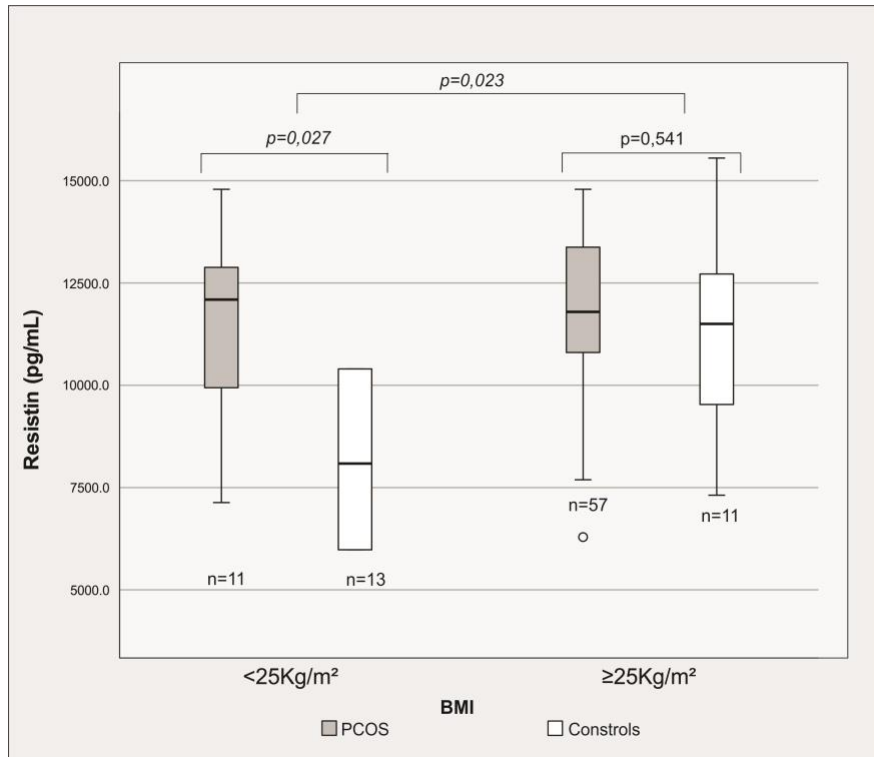
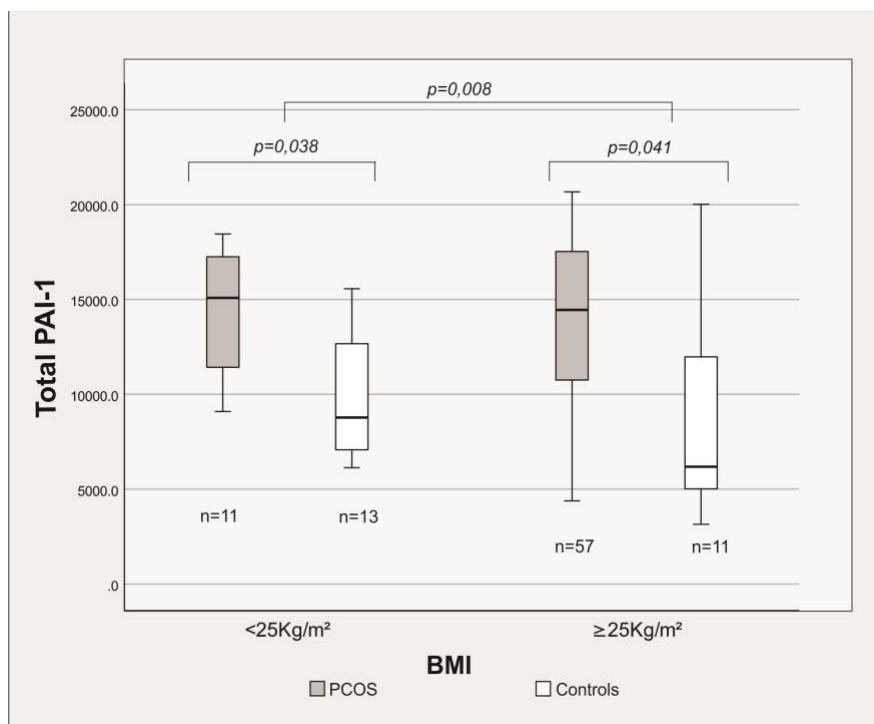


Figura 9 – PAI-1 em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente



4.5.2 Subgrupo SOP e controles com IMC ≥ 25 Kg/m²

No subgrupo sobrepeso/obesidade, o grupo SOP apresentou níveis mais elevados da razão LH/FSH, androstenediona, testosterona total e livre, e níveis mais baixos de SHBG (Anexo D). O grupo SOP também apresentou níveis aumentados de insulina de jejum (Figura 9) e HOMA-IR (Figura 10) e maiores concentrações séricas de IL-8 (Figura 11), MCP-1 (Figura 12), PAI-1 (Figura 8), leptina (Figura 13) e resistina (Figura 7), em comparação com o grupo controle.

IL-6, IL-1 β , TNF- α e adiponectina não foram significativamente diferentes entre os grupos SOP e controle, em nenhum dos subgrupos de IMC.

Figura 10 – Insulina de jejum em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC < 25 Kg/m² e IMC ≥ 25 Kg/m², respectivamente

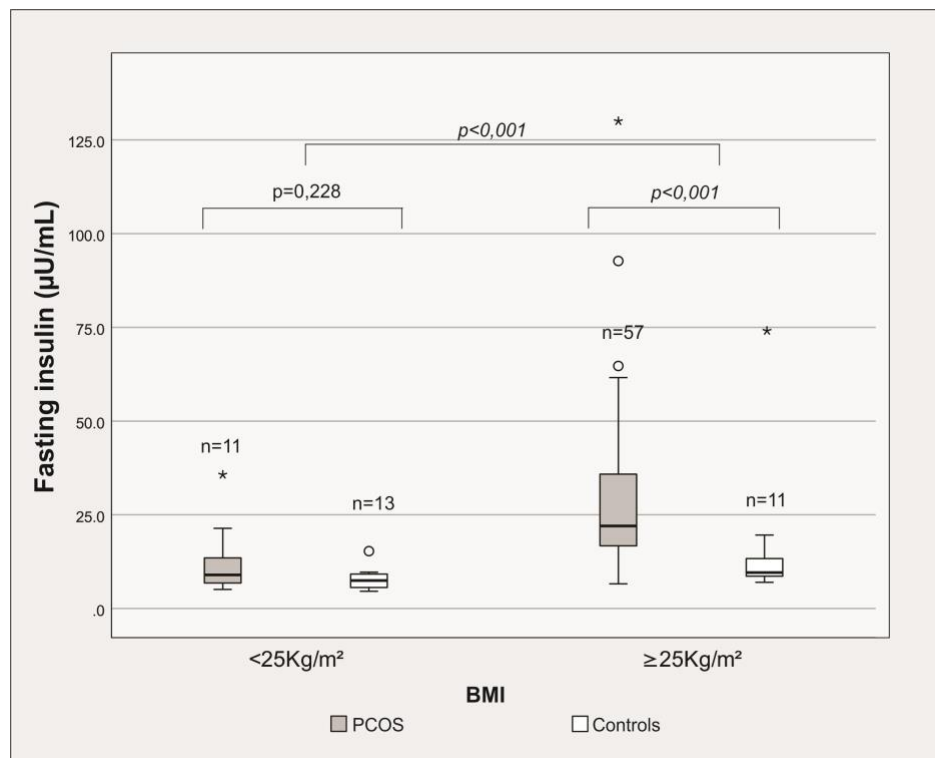


Figura 11 – HOMA-IR em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente

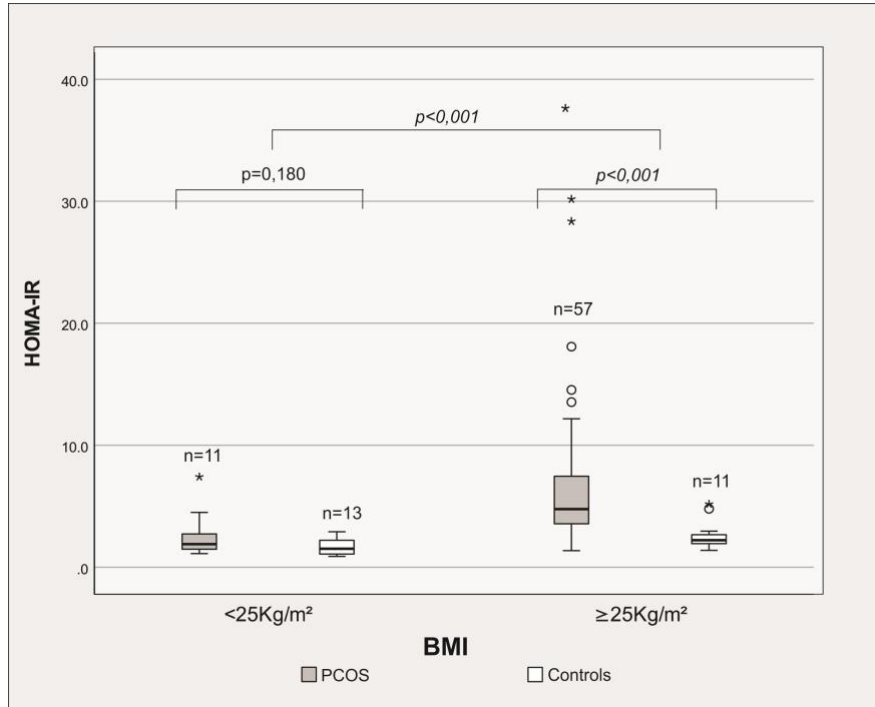


Figura 12 - IL-8 em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente

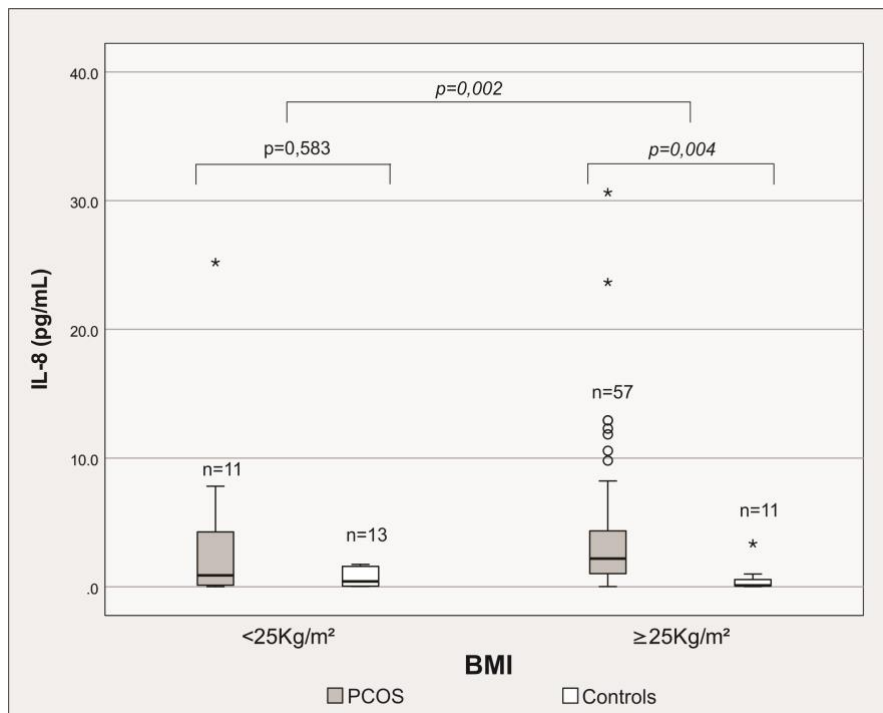


Figura 13 – MCP-1 em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente

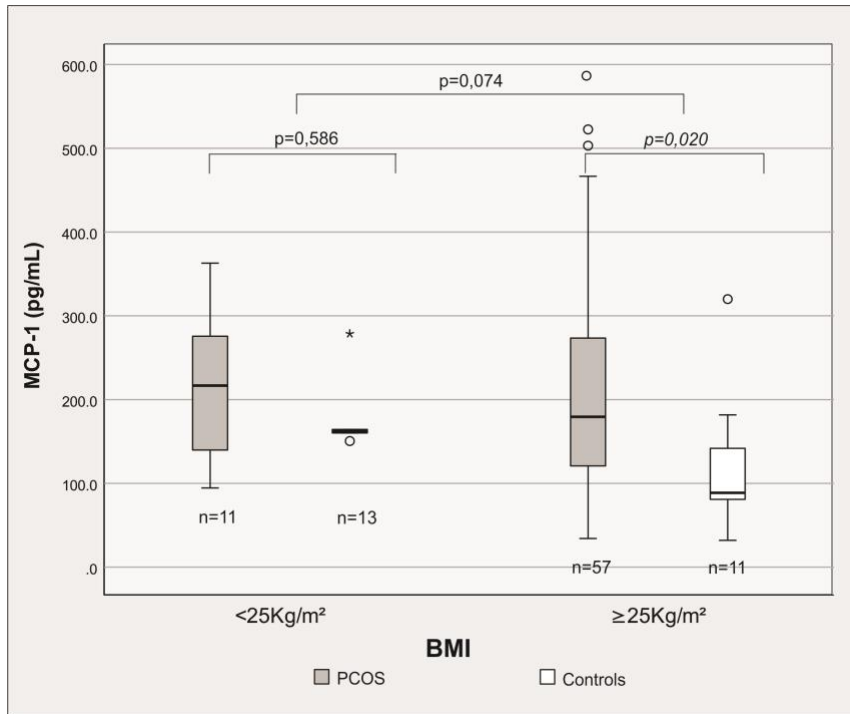
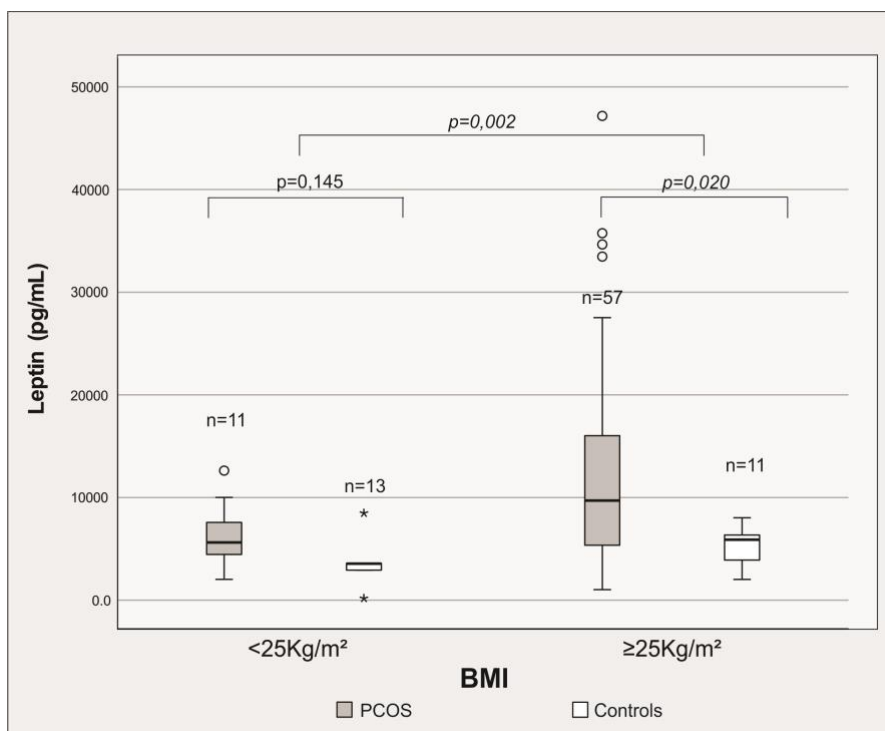


Figura 14 – Leptina em análise estratificada por IMC nos subgrupos SOP e controle IMC <25 Kg/m² e IMC ≥25 Kg/m², respectivamente



4.6 Correlações entre os parâmetros metabólicos, inflamatórios e hormonais

Na Tabela 6, apresentamos cinco modelos de regressão linear multivariada criados para avaliar a influência de fatores hormonais ou inflamatórios sobre os parâmetros metabólicos, sempre considerando a relevância do IMC e da presença da SOP. Em todos os modelos, o IMC foi fator associado ao desfecho, com relação direta para HOMA-IR, insulina, triglicérides e LDL-colesterol e relação inversa para HDL-colesterol. Em contrapartida, a presença de SOP *per se* não esteve associada a nenhum dos desfechos metabólicos estudados. No modelo 1, a razão T/A4 ($p=0,048$) e a razão 11KT/11KA4 ($p=0,032$) foram positivamente associadas à variação do HOMA-IR. O modelo 2 se assemelhou ao modelo 1, contudo com maior influência da razão T/A4 sob a insulina de jejum. Ambos os modelos reafirmam a associação entre o excesso de andrógenos e a resistência insulínica/hiperinsulinemia na SOP.

No modelo 3, assim como no modelo 5, a leptina foi um fator associado ao HDL-colesterol e ao LDL-colesterol. Contudo, no primeiro caso, associada à maiores valores ($\beta=0,01$ e $p=0,008$); no segundo caso, a leptina foi inversamente associada ao LDL-colesterol ($\beta=-0,01$ e $p=0,014$). No modelo 4, além da leptina com influência negativa ($\beta=-0,01$ e $p=0,001$), o PAI-1 mostrou-se associado a maiores valores de triglicérides ($\beta=-0,01$ e $p=0,001$). Todas as análises consideraram ajuste para grupo e IMC. Logo, os valores hormonais não se associaram a mudança do perfil lipídico. No entanto, houve correlação entre valores de lipídeos e marcadores inflamatórios como leptina e PAI-1.

Tabela 6 – Modelo de regressão linear múltipla para avaliar a influência do grupo, IMC e outros fatores independentes nos parâmetros metabólicos

	B	ERRO PADRÃO	IC95%		p-valor
			INFERIOR	SUPERIOR	
Modelo 1: HOMA-IR					
Grupo SOP	1,42	1,67	-1,91	4,75	0,398
IMC (Kg/m ²)	0,28	0,08	0,11	0,46	0,002
Razão T/A4	1,13	0,56	0,01	2,26	0,048
Razão 11KT/11KA4	3,55	1,62	0,30	6,80	0,032
Modelo 2: Insulina Jejum (μ U/mL)					
Grupo SOP	5,28	6,22	-7,13	17,70	0,399
IMC (Kg/m ²)	1,19	0,32	0,54	1,84	<0,001
Razão T/A4	5,94	2,10	1,74	10,13	0,006
Razão 11KT/11KA4	12,90	6,06	0,80	25,01	0,037
Modelo 3: HDL-c (mg/dL)					
Grupo SOP	-9,03	4,88	-18,77	0,70	0,069
IMC (Kg/m ²)	-1,18	0,26	-1,72	-0,65	<0,001
Razão T/A4	-3,05	1,73	-6,50	0,39	0,082
Razão 11KT/11KA4	-5,90	4,75	-15,39	3,59	0,219
Leptina (pg/mL)	0,01	0,00	0,00	0,00	0,008
Modelo 4: Triglicerídeos (mg/dL)					
Grupo SOP	30,26	30,20	-30,01	90,542	0,320
IMC (Kg/m ²)	3,85	1,65	0,56	7,150	0,022
Razão T/A4	5,45	10,70	-15,91	26,816	0,612
Razão 11KT/11KA4	41,23	29,43	-17,49	99,970	0,166
Leptina (pg/mL)	-0,01	0,01	-0,01	-0,002	0,001
PAI-1 (pg/mL)	0,05	0,02	0,000	0,009	0,042
Modelo 5: LDL-c (mg/dL)					
Grupo SOP	3,04	11,14	-25,29	19,20	0,780
IMC (Kg/m ²)	1,97	0,60	0,76	3,19	0,002
Razão T/A4	2,09	3,95	-5,79	9,97	0,599
Razão 11KT/11KA4	0,36	10,86	-21,31	22,03	0,974
Leptina (pg/mL)	-0,01	0,00	-0,01	0,00	0,014

Na Tabela 7, encontramos outros três modelos que avaliaram o impacto dos fatores hormonais sobre os marcadores de inflamação, sempre considerando as variáveis IMC e presença de SOP. No modelo 1, a razão 11KT/11KA4 foi positivamente associada à IL-8 ($p=0,005$), independente do IMC; no modelo 2, a razão T/A4 apresentou efeito semelhante na variação da resistina ($p=0,013$); e finalmente, no modelo 3, a A4 apresentou associação positiva ($p=0,021$) sobre as concentrações de PAI-1. Há que se considerar, ainda, que o grupo SOP permaneceu como um fator contribuinte estatisticamente significativa para explicar valores de PAI-1 total mais elevados ($p=0,026$).

Tabela 7 – Modelo de regressão linear para avaliar a influência do grupo, IMC e outros fatores independentes no perfil inflamatório

	B	ERRO PADRÃO	IC95%		p-valor
			INFERIOR	SUPERIOR	
Modelo 1: IL-8 (pg/mL)					
Grupo SOP	1,71	1,81	-5,31	1,89	0,348
IMC (Kg/m ²)	0,04	0,08	-0,13	0,21	0,619
Razão T total/A4	0,83	0,62	-0,40	2,07	0,182
Razão 11KT/11KA4	5,29	1,83	1,63	8,95	0,005
Modelo 2: Resistina (pg/mL)					
Grupo SOP	-667,90	696,70	-2,00	720,60	0,341
IMC (Kg/m ²)	46,80	33,60	-20,20	113,90	0,168
Razão T/A4	613,60	239,60	136,10	1.091,0	0,013
Razão 11KT/11KA4	245,30	706,40	-1.162,50	1.653,0	0,729
Modelo 3: PAI-1 (pg/mL)					
Grupo SOP	3.546,60	1.558,20	433,60	6.659,50	0,026
HDL-c (mg/dL)	54,90	38,50	-22,00	131,90	0,159
IMC (Kg/m ²)	-48,50	88,00	-224,30	127,20	0,583
HOMA-IR	164,00	113,70	-63,10	391,30	0,154
A4 (nmol/L)	437,60	184,30	69,30	805,90	0,021
T livre (pmol/L)	-4,20	23,00	-50,30	41,80	0,853
Razão 11KT/11KA4	1.298,40	1.596,30	-1.890,60	4.487,50	0,419

Além dos modelos apresentados nas Tabelas 6 e 7, foram explorados mais de 50 modelos para avaliar a influência dos fatores hormonais e inflamatórios sobre as variáveis razão CA/CQ glicose jejum, glicose 120 min, insulina 120 min, hemoglobina glicada, 11OHA4, 11OHT, 11KA4 e 11KT. No entanto, nenhuma relevância estatística ou clínica foi observada nos modelos avaliados.

5. DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da coorte estudada

Este é o primeiro estudo na literatura a caracterizar uma coorte de mulheres com SOP *versus* controle de acordo com os perfis metabólico, inflamatório e hormonal, e a avaliar a correlação entre disfunções metabólicas, múltiplos marcadores de inflação e níveis séricos dos andrógenos clássicos e 11-oxigenados na SOP. Nosso estudo encontrou um aumento da prevalência de obesidade, pré-diabetes e dislipidemia no grupo SOP, o que está de acordo com dados anteriores de mulheres brasileiras com SOP (30). Dentro desse perfil metabólico adverso, o grupo SOP também apresentou maior adiposidade visceral marcada pela maior razão CA/CQ, além da presença de inflamação evidenciada pelas concentrações aumentadas dos marcadores pro-inflamatórios IL-8, PAI-1, leptina e resistina, e níveis reduzidos de fatores anti-inflamatórios como a adiponectina.

Como esperado, o grupo SOP apresentou maiores níveis dos andrógenos clássicos androstenediona, testosterona total e testosterona livre, níveis mais baixos de SHBG e maior razão T/A4 em relação ao grupo controle pareado para idade. Não encontramos diferença significativa dos andrógenos 11-oxigenados entre os grupos SOP e controle, exceto para um discreto aumento na razão 11KT/11KA4 no grupo SOP. Assim como uma maior razão T/A4, uma maior relação 11KT/KA4 sugere elevada atividade da enzima AKR1C3 em mulheres com SOP. Há muitos poucos estudos sobre os C19 11-oxigenados na SOP e seus resultados são heterogêneos (58, 78). O'Reilly et al. demonstraram que 11OHA4, 11KA4, 11OHT e 11KT estão significativamente aumentados em mulheres com SOP (n=114) em relação a controles (n=49). Yoshida et al. por outro lado, observaram aumento apenas dos 11-oxigenados 11OHT e 11KT em mulheres com SOP (n=28) comparado a controles (n=31) (78).

Os 11-oxigenados contribuíram significativamente para o total de andrógenos circulantes tanto nas mulheres com SOP como em controles. Mulheres com SOP tiveram maiores proporções de andrógenos clássicos e menores proporções de andrógenos 11-oxigenados do que os controles, o que sugere que uma maior atividade da via de metabolização dos andrógenos clássicos em detrimento dos 11-oxigenados. Diferentemente dos nossos resultados, O'Reilly et al. observaram maiores proporções dos andrógenos 11-oxigenados e menores proporções dos andrógenos clássicos em mulheres com SOP em comparação aos controles, o que indica maior atividade da via de metabolização dos andrógenos 11-oxigenados nessa população (58). Dessa forma, podemos inferir que o excesso de andrógenos na SOP envolve disfunções da esteroidogênese adrenal e ovariana e que a hiperativação das vias de metabolização dos andrógenos adrenais parece variar de acordo com a população estudada.

Não encontramos diferença nos níveis de glicose e insulina em jejum, HOMA-IR, e perfil lipídico entre SOP e controles no subgrupo de peso saudável. No subgrupo com sobrepeso/obesidade, os níveis de insulina em jejum e HOMA-IR foram mais altos no grupo SOP do que nos controles. O efeito causal da SOP sobre as anormalidades da glicose e diabetes tipo 2 ainda é motivo de controvérsias. Alguns estudos sugerem um impacto da SOP *per se* sobre a frequência do diabetes tipo 2 (79) e outros indicam que ela é secundária à obesidade (80). Um estudo prospectivo populacional finlandês demonstrou que a SOP *per se* aumentou o risco de diabetes tipo 2 em mulheres com sobrepeso/obesidade; entretanto, não levou ao aumento do risco de pré-diabetes e diabetes em mulheres com SOP e peso normal, concluindo que o risco de diabetes tipo 2 em mulheres com SOP é atribuível ao sobrepeso e à obesidade (80). Por outro lado, um estudo longitudinal australiano encontrou um maior risco de diabetes tipo 2 nas mulheres com SOP, independentemente da idade e do IMC (79). Embora a incidência de diabetes tipo 2 aumente substancialmente com a obesidade, a SOP conferiu risco adicional em todas as classificações do IMC, e foi mais robusto no subgrupo com peso saudável (79).

No subgrupo SOP com peso saudável, os níveis aumentados de resistina e PAI-1 e a ausência de diferenças entre os níveis de insulina e HOMA-IR entre SOP e controle evidenciaram a presença de inflamação precoce em mulheres com SOP que parece não se associar aos marcadores de resistência à insulina, mas que coexiste com o aumento dos andrógenos clássicos androstenediona e testosterona. Já no subgrupo SOP com sobrepeso/obesidade, níveis mais elevados de insulina, HOMA-IR, leptina, resistina, IL-8 e PAI-1 evidenciaram a coexistência de resistência insulina, inflamação e excesso de andrógenos.

Em consonância com esses achados, identificamos a presença de SOP e níveis de androstenediona como fatores associados aos níveis de PAI-1. Em nosso estudo, o PAI-1 foi o único marcador inflamatório significativamente elevado em mulheres com SOP independente do IMC. O PAI-1 é um marcador de disfunção endotelial e um regulador chave da fibrinólise. Ele inibe a ativação de plasminogênio em plasmina, pela inibição do ativador de plasminogênio tecidual (tPA). Conseqüentemente, suspeita-se que o aumento dos níveis de PAI-1 expõe as mulheres com SOP a um maior risco de tromboembolismo venoso. De acordo com nossos achados, Mannerås-Holm et al. encontraram níveis aumentados de PAI-1 e fibrinogênio em mulheres com SOP (81). Nesse mesmo estudo, baixos níveis de SHBG e altos níveis de insulina foram preditores de PAI-1 e explicaram parcialmente as diferenças nos níveis de PAI-1 entre mulheres com SOP e controles. Aziz et al. demonstraram níveis elevados de PAI-1 em mulheres com SOP e resistência à insulina, independentemente do IMC, e observou que a obesidade e a resistência à insulina eram preditores de PAI-1 (31). Dessa forma, evidências apontam que a SOP está associada à presença de disfunção endotelial e, possivelmente, a um estado pro-trombótico, o que abre precedentes para a investigação do maior risco de eventos trombóticos na SOP, em especial em mulheres com peso saudável e em uso de anticoncepcional hormonal combinada.

A resistina é uma adipocina produzida pelo tecido adiposo, monócitos e macrófagos. A resistina é também considerada um marcador de risco cardiovascular, pois desempenha um papel essencial na patogênese da obesidade e do diabetes tipo 2 (33). Em nosso estudo, encontramos um aumento

nos níveis de resistina no subgrupo SOP com peso saudável em relação aos controles. Entretanto, as diferenças entre SOP e controles não persistiram no subgrupo com sobrepeso/obesidade, o que sugere que a resistina não é um marcador de risco cardiovascular apropriado na SOP. Encontramos também níveis mais elevados de resistina no total de indivíduos com sobrepeso/obesidade em relação ao total de indivíduos com peso saudável (Figura 7), correlacionando a resistina com a obesidade. Nossos achados diferem de Panidis et al., que encontraram níveis elevados de resistina apenas em mulheres com SOP e sobrepeso/obesidade. Contrários ainda aos nossos achados, Panidis et al. encontraram diferenças nos marcadores de resistência insulínica, porém ausência de diferença nos níveis de resistina entre mulheres com SOP e controles com peso saudável. (34).

A IL-8 é uma citocina pró-inflamatória que atua como ativador de neutrófilos e proteínas quimiotáticas, e seu papel no desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares é bem conhecido (82, 83). Entretanto, a IL-8 parece ter um papel adicional na regulação dos ovários, com ação na maturação ovariana, ovulação e a foliculogênese (37). Dessa forma, alterações nas concentrações de IL-8 nas mulheres com SOP poderiam ter consequências sistêmicas e locais nos ovários, porém esse impacto ainda precisa ser elucidado. Um ensaio clínico sobre o impacto da metformina sozinha versus metformina e pioglitazona demonstrou que a terapia combinada foi mais eficaz para melhorar os níveis de HOMA-IR, andrógenos, IL-6 e IL-8 do que o tratamento com metformina sozinha (38), o que sugere a associação entre resistência insulínica e inflamação na SOP. Embora tenhamos encontrado a coexistência de maior resistência insulínica e níveis mais elevados de IL-8 nas mulheres com SOP e sobrepeso/obesidade em relação aos controles, os níveis de IL-8 não se correlacionaram com os parâmetros metabólicos nem hormonais em nosso estudo.

A leptina é uma adipocina com propriedades pró-inflamatórias produzida principalmente pelo tecido adiposo branco, e seus níveis circulantes estão positivamente ligados à massa de tecido adiposo. Um aumento da massa gorda aumenta a expressão da leptina. Não surpreendentemente, encontramos níveis

elevados de leptina no total de indivíduos com sobrepeso/obesidade, em comparação com o total de indivíduos com peso saudável. Não observamos diferenças nos níveis de leptina no subgrupo SOP com peso saudável em relação aos controles. Por outro lado, encontramos níveis elevados de leptina no subgrupo SOP com sobrepeso/obesidade em comparação aos controles com sobrepeso/obesidade, sugerindo que a SOP pode aumentar ainda mais a massa de tecido adiposo nas pacientes com sobrepeso e obesidade. Ao contrário do nosso estudo, Sepilian et al. não encontraram diferença nos níveis de leptina entre o grupo SOP e controle pareados para IMC, e concluíram que a obesidade, ao invés da resistência à insulina, parece ser o principal determinante dos níveis de leptina na SOP (39). Na análise multivariada, houve uma associação da leptina com o perfil lipídico que sugere, que juntamente com o IMC, a leptina responde por variações de concentrações de colesterol e triglicérides nessa população.

O MCP-1 é uma quimiocina (citocina quimiotática) secretada em resposta a sinais de inflamação, como a presença das citocinas pró-inflamatórias. O MCP-1 é um fator crítico para o recrutamento de monócitos, pois ajuda a regular a migração e infiltração de monócitos, neutrófilos e linfócitos para o local da inflamação (40). O MCP-1 é considerado um fator de risco cardiovascular relacionado à aterosclerose e parece também ter um papel na ovulação (40, 41). Em nosso subgrupo de mulheres com sobrepeso/obesidade, encontramos maiores níveis de MCP-1 em mulheres com SOP em comparação aos controles. Os estudos sobre MCP-1 e SOP são escassos. Nossos achados, contudo, se alinham com Grintborg et al., que observaram aumento dos níveis séricos de MCP-1 em mulheres com SOP comparadas a controles pareadas para idade (42). Curiosamente, neste estudo, os níveis de MCP-1 foram associados ao IMC e à adiposidade visceral, mas não foram afetados pelo tratamento com o pioglitazona, um sensibilizador de insulina. Adicionalmente, outros estudos demonstraram que a secreção de MCP-1 é maior na gordura visceral do que em gordura subcutânea (43, 44). Embora nossas análises não tenham encontrado correlação entre MCP-1 e parâmetros metabólicos e hormonais, as diferenças nos níveis de MCP-1 entre SOP e controles no subgrupo com

sobrepeso/obesidade sugerem maior gordura visceral nesse subgrupo de SOP do que em controles.

A IL-6 e TNF- α estão entre os marcadores inflamatórios mais estudados na SOP, porém sua associação com a SOP permanece controversa. Samy et al. não mostraram diferenças nos níveis de IL-6 e TNF- α entre mulheres com SOP e controles em uma população com IMC <27 mg/m², mas observaram aumento nos níveis de IL-6 e TNF- α em mulheres com SOP e IMC > 27 mg/m² (45). Entretanto, alinhadas com nossos achados, outras duas meta-análises não mostraram diferença nos níveis séricos de IL-6 e TNF- α entre o grupo SOP e controles (46, 47).

Exceto pelo marcador de disfunção endotelial PAI-1, não encontramos nenhum outro marcador inflamatório que se correlacionasse com a SOP independente do IMC. Esse achado pode ser corroborado por Escobar-Morreale et al. que avaliaram as concentrações de marcadores inflamatórios em 35 mulheres com SOP e 28 controles, e observaram que a obesidade, e não a resistência à insulina associada à SOP, foi o determinante do aumento dos marcadores inflamatórios nessa população (48). Visto que as adipocinas e as citocinas são produzidas e liberadas principalmente por adipócitos hipertrofiados que induzem uma inflamação crônica ligada à obesidade, esses marcadores inflamatórios podem anteceder a resistência à insulina na SOP, e serem marcadores mais sensíveis das alterações sistêmicas, especialmente em mulheres com SOP e IMC normal (49, 50).

5.3 Limitações

Como limitação de estudo transversal, não pudemos fazer inferências causais dos nossos achados. Além disso, a maioria da nossa casuística com SOP incluiu mulheres com SOP fenótipo clássico, que está associado a maior risco de disfunções metabólicas (51). Apesar de termos ajustado as análises estatísticas para o IMC sempre que possível, nosso grupo de mulheres com SOP apresentou média do IMC significativamente mais elevada do que o grupo

controle. Por fim, o pequeno tamanho da nossa amostra pode ter afetado o significado estatístico dos nossos resultados.

5.4 Perspectivas futuras

A caracterização do papel dos andrógenos clássicos e C19 11-oxigenados, resistência insulínica, disfunção do tecido adiposo e inflamação na fisiopatologia da SOP é fundamental para o aprimoramento das ferramentas de diagnóstico, bem como de tratamento da SOP. Mostram-se necessários mais estudos de caracterização clínica da SOP não apenas na nossa população de mulheres brasileiras, como também em populações de outros países, a fim de se determinar os aspectos metabólicos e o risco cardiovascular em mulheres com SOP de diferentes etnias.

Nesse sentido, diferentemente do que foi demonstrado em amostras de mulheres com SOP inglesas e japonesas (1, 78), os esteroides C19 11-oxigenados não demonstraram importante papel na fisiopatologia da SOP nas mulheres brasileiras incluídas neste estudo. Em nosso estudo, apenas os andrógenos clássicos foram significativamente diferentes nas mulheres com SOP versus controles, e devem continuar a ser utilizados na caracterização do hiperandrogenismo na SOP.

As diferenças entre as variáveis metabólicas e inflamatórias entre o grupo SOP e controle perderam a significância estatística quando foram ajustadas para o IMC, o que sugere o tratamento da obesidade como principal estratégia de intervenção para redução das comorbidades e risco cardiovascular das pacientes com SOP.

A única exceção foi o PAI-1, que se mostrou um marcador de disfunção endotelial e estado pró-trombótico precoce mesmo em mulheres com SOP e peso normal, independente da variação de marcadores de resistência insulínica. Estudos prospectivos com tamanhos amostrais representativos são necessários para elucidar o papel da inflamação na fisiopatologia da SOP, bem como esclarecer se os marcadores de inflamação são determinantes do risco

cardiovascular em mulheres portadoras da síndrome, e quais seriam os melhores preditores desse risco. Adicionalmente, estudos são necessários para avaliar o papel do PAI-1 como marcador de risco de risco cardiovascular e eventos trombóticos nas mulheres com SOP, em especial em mulheres com peso saudável e em uso de anticoncepcional hormonal combinada.

6. CONCLUSOES

1. Encontramos uma elevada prevalência de disfunções metabólicas como obesidade, pré-diabetes e dislipidemia nas mulheres com SOP, bem como a presença de inflamação crônica marcada pelas concentrações elevadas de marcadores pro-inflamatórios (PAI-1, IL-8, MCP-1, leptina, resistina) e níveis reduzidos de fatores anti-inflamatórios (adiponectina) no grupo SOP. Em nosso estudo, os andrógenos clássicos parecem ser os principais responsáveis pelo excesso de andrógenos na SOP. Nossos resultados sugerem uma hiperativação da esteroidogênese ovariana em detrimento da esteroidogênese adrenal.
2. Dentre todos os marcadores de inflamação estudados, o marcador de disfunção endotelial PAI-1 foi o único que se correlacionou com a SOP e com os níveis de andrógenos, independente do IMC, o que sugere que a SOP se associa a um estado pro-trombótico e de inflamação crônica.
3. Os andrógenos clássicos mostraram-se os principais responsáveis pelo excesso de andrógenos na SOP. Nossos resultados sugerem uma hiperativação da esteroidogênese ovariana em detrimento da esteroidogênese adrenal na nossa amostra de mulheres brasileiras avaliadas.
4. Apesar de termos observado a coexistência de marcadores de resistência insulínica, inflamação e excesso de andrógenos nas mulheres com SOP, a obesidade foi o principal fator determinante do risco metabólico e inflamatório das mulheres com SOP.

7. ANEXOS

Anexo A - Estatística descritiva dos parâmetros antropométricos, metabólicos e inflamatórios estratificadas por IMC (<25 Kg/m² e ≥25 Kg/m²) incluindo mediana, intervalo interquartil (P25-P75) e nível descritivo (p-valor)

	IMC <25Kg/m ²							IMC ≥25Kg/m ²						
	SOP			CONTROLE			p-valor	SOP			CONTROLE			p-valor
	MEDIANA	P25	P75	MEDIANA	P25	P75		MEDIANA	P25	P75	MEDIANA	P25	P75	
Circunferência abdominal (cm)	76,0	73,0	80,0	76,0	68,0	82,0	0,599	104,0	95,0	113,0	101,0	95,0	114,0	0,757
Circunferência quadril (cm)	97,0	92,0	99,0	96,0	93,0	101,0	0,974	113,0	106,0	121,0	115,0	106,0	117,0	0,956
Relação abdome/quadril	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,412	0,9	0,9	1,0	0,9	0,9	0,9	0,536
Glicose jejum (mg/dL)	85,0	82,0	88,0	79,0	77,0	88,0	0,270	89,0	83,0	94,0	86,0	80,0	95,0	0,629
Insulina jejum (µU/mL)	9,0	6,8	13,5	7,5	5,6	9,2	0,210	22,0	16,7	36,2	9,6	8,5	14,8	<0,001
HOMA-IR	1,9	1,5	2,7	1,5	1,1	2,2	0,176	4,8	3,5	7,5	2,2	1,9	3,0	<0,001
Glicose 120 mins (mg/dL)	120,0	83,0	136,0	-	-	-	-	127,0	110,0	148,0	-	-	-	-
Insulina 120 mins (µU/mL)	81,9	51,3	232,3	-	-	-	-	173,2	87,6	331,5	-	-	-	-
Hemoglobina glicada (%)	5,0	4,8	5,3	5,1	4,9	5,3	0,703	5,4	5,2	5,7	5,3	5,1	5,5	0,118
LDL-colesterol (mg/dL)	87,0	78,0	93,0	93,0	83,0	105,0	0,384	113,0	90,0	135,0	108,0	97,0	118,0	0,519
Triglicerídeos (mg/dL)	97,0	56,0	122,0	63,0	56,0	71,0	0,087	120,0	84,0	201,0	93,0	83,0	133,0	0,078
HDL-colesterol (mg/dL)	51,0	47,0	64,0	67,0	54,0	72,0	0,118	42,0	35,0	49,0	48,0	40,0	58,0	0,079
LH (UI/L)	13,1	6,6	22,1	6,7	5,2	9,4	0,012	8,8	6,5	11,7	5,8	3,8	6,4	0,005
FSH (UI/L)	5,8	5,4	6,6	7,6	5,7	8,3	0,131	5,3	4,4	6,3	6,0	4,8	7,7	0,101
LH/FSH	2,3	1,6	3,4	1,0	0,7	1,2	0,003	1,8	1,2	2,5	0,9	0,8	1,3	<0,001
DHEA-S (ng/mL)	1817,0	1389,0	2589,0	1739,5	1283,5	2271,0	0,951	2049,0	1144,5	2945,5	2387,0	1181,0	2923,0	0,774
Androstenediona (nmol/L)	4,9	3,4	8,3	3,3	2,7	4,4	0,030	5,9	4,1	8,4	4,0	2,7	5,6	0,043
Testosterona total (ng/dL)	55,0	35,0	76,0	16,0	13,0	32,0	0,002	52,0	38,0	69,0	35,0	18,0	45,0	0,005
SHBG (nmol/L)	67,5	30,9	86,5	97,2	77,0	146,0	0,030	35,0	25,2	51,6	50,5	39,4	61,5	0,035
Testosterona livre (pmol/L)	19,0	15,0	48,0	6,0	3,0	10,0	0,001	30,0	18,0	46,0	18,0	8,0	20,0	0,006
DHT (nmol/L)	0,4	0,3	0,6	0,4	0,3	0,9	0,998	0,4	0,2	0,6	0,3	0,2	0,5	0,419
11OHA4 (nmol/L)	14,8	10,3	17,8	14,5	8,1	16,2	0,401	11,5	8,6	15,6	11,7	9,6	16,0	0,993
11OHT (nmol/L)	0,5	0,5	0,7	0,5	0,3	0,6	0,487	0,6	0,4	1,0	0,7	0,3	0,9	0,927
11KA4 (nmol/L)	5,0	3,0	9,6	6,8	4,0	8,5	0,839	4,4	3,3	7,4	5,3	4,1	6,9	0,400
11KT (nmol/L)	1,2	0,8	2,0	0,9	0,7	1,2	0,369	1,4	0,9	2,5	1,8	0,8	1,9	0,635

	IMC <25Kg/m ²							IMC ≥25Kg/m ²						
	SOP			CONTROLE			p-valor	SOP			CONTROLE			p-valor
	MEDIANA	P25	P75	MEDIANA	P25	P75		MEDIANA	P25	P75	MEDIANA	P25	P75	
Razão T total/A4	0,3	0,2	1,7	0,3	0,2	0,3	0,469	0,8	0,3	1,4	0,2	0,2	0,3	0,003
Razão 11KT/11KA4	0,2	0,1	0,4	0,1	0,1	0,2	0,543	0,3	0,2	0,5	0,2	0,2	0,4	0,227
IL-6 (pg/mL)	0,7	0,3	1,7	1,4	0,6	1,4	0,864	3,1	1,4	5,1	6,2	1,0	22,8	0,185
Leptina (pg/mL)	5622,0	4124,0	9003,0	3556,0	2931,0	3579,0	0,126	9706,5	5352,5	16017,5	5889,0	2437,0	6747,0	0,022
IL-8 (pg/mL)	0,9	0,1	4,7	0,4	0,1	1,6	0,533	2,2	1,0	4,3	0,1	0,1	1,0	0,006
Adiponectina (pg/mL)	33,7	19,4	141,3	126,2	29,5	266,6	0,238	17,7	14,7	28,9	19,8	19,8	19,8	0,670
MCP-1 (pg/mL)	216,7	119,3	293,0	162,3	160,2	164,3	0,571	179,4	120,8	273,4	88,7	75,4	181,7	0,022
TNF-α (pg/mL)	2,3	2,1	2,9	1,0	0,8	1,6	0,100	1,9	1,3	2,5	1,1	1,0	2,4	0,298
Resistina (pg/mL)	12095,0	8944,0	13043,0	8088,0	5981,0	10401,0	0,026	11795,0	10801,5	13375,0	11502,0	9172,0	12719,0	0,525
IL-β (pg/mL)	0,3	0,3	0,5	0,3	0,3	0,3	0,210	0,4	0,3	0,6	0,4	0,3	1,9	0,495
PAI-1 total (pg/mL)	15080,0	9878,0	17469,0	8775,0	7080,0	12669,0	0,036	14449,5	10756,0	17532,5	6185,0	4751,0	14301,0	0,042

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. O'Reilly MW, Kempegowda P, Walsh M, Taylor AE, Manolopoulos KN, Allwood JW, et al. AKR1C3-Mediated Adipose Androgen Generation Drives Lipotoxicity in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(9):3327-39.
2. Crespo RP, Bachega TASS, Mendonça BB, Gomes LG. An update of genetic basis of PCOS pathogenesis. *Arch Endocrinol Metab.* 2018;62(3):352-61.
3. Bozdag G, Mumusoglu S, Zengin D, Karabulut E, Yildiz BO. The prevalence and phenotypic features of polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2016;31(12):2841-55.
4. Ding T, Hardiman PJ, Petersen I, Wang FF, Qu F, Baio G. The prevalence of polycystic ovary syndrome in reproductive-aged women of different ethnicity: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8(56):96351-8.
5. Moran LJ, Misso ML, Wild RA, Norman RJ. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2010;16(4):347-63.
6. Jones H, Sprung VS, Pugh CJ, Daousi C, Irwin A, Aziz N, et al. Polycystic ovary syndrome with hyperandrogenism is characterized by an increased risk of hepatic steatosis compared to nonhyperandrogenic PCOS phenotypes and healthy controls, independent of obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(10):3709-16.
7. Legro RS, Kunselman AR, Dunaif A. Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Med.* 2001;111(8):607-13.
8. Cooney LG, Lee I, Sammel MD, Dokras A. High prevalence of moderate and severe depressive and anxiety symptoms in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2017;32(5):1075-91.
9. Barry JA, Azizia MM, Hardiman PJ. Risk of endometrial, ovarian and breast cancer in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2014;20(5):748-58.
10. Wild S, Pierpoint T, McKeigue P, Jacobs H. Cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up: a retrospective cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2000;52(5):595-600.
11. Puurunen J, Piltonen T, Morin-Papunen L, Perheentupa A, Järvelä I, Ruokonen A, et al. Unfavorable hormonal, metabolic, and inflammatory alterations persist after menopause in women with PCOS. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(6):1827-34.
12. Doroszewska K, Milewicz T, Mrozińska S, Janeczko J, Rokicki R, Janeczko M, et al. Blood pressure in postmenopausal women with a history of polycystic ovary syndrome. *Prz Menopauzalny.* 2019;18(2):94-8.
13. Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med.* 2010;8:41.
14. Louwers YV, Stolk L, Uitterlinden AG, Laven JS. Cross-ethnic meta-analysis of genetic variants for polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(12):E2006-12.
15. Carmina E, Koyama T, Chang L, Stanczyk FZ, Lobo RA. Does ethnicity influence the prevalence of adrenal hyperandrogenism and insulin resistance in polycystic ovary syndrome? *Am J Obstet Gynecol.* 1992;167(6):1807-12.
16. Welt CK, Arason G, Gudmundsson JA, Adams J, Palsdóttir H, Gudlaugsdóttir G, et al. Defining constant versus variable phenotypic features of women with polycystic ovary syndrome using different ethnic groups and populations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(11):4361-8.
17. Vink JM, Sadrzadeh S, Lambalk CB, Boomsma DI. Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(6):2100-4.

18. Risal S, Pei Y, Lu H, Manti M, Fornes R, Pui HP, et al. Prenatal androgen exposure and transgenerational susceptibility to polycystic ovary syndrome. *Nat Med*. 2019;25(12):1894-904.
19. Azziz R. Polycystic Ovary Syndrome. *Obstet Gynecol*. 2018;132(2):321-36.
20. Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications. *Endocr Rev*. 2012;33(6):981-1030.
21. Group REA-SPCW. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004;81(1):19-25.
22. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, et al. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2018;110(3):364-79.
23. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2745-9.
24. Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(1):165-9.
25. DeUgarte CM, Bartolucci AA, Azziz R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment. *Fertil Steril*. 2005;83(5):1454-60.
26. Lunger F, Wildt L, Seeber B. Accurate screening for insulin resistance in PCOS women using fasting insulin concentrations. *Gynecol Endocrinol*. 2013;29(6):541-4.
27. Stepto NK, Cassar S, Joham AE, Hutchison SK, Harrison CL, Goldstein RF, et al. Women with polycystic ovary syndrome have intrinsic insulin resistance on euglycaemic-hyperinsulinaemic clamp. *Hum Reprod*. 2013;28(3):777-84.
28. Rocha ALL, Faria LC, Guimarães TCM, Moreira GV, Cândido AL, Couto CA, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest*. 2017;40(12):1279-88.
29. Lim SS, Kakoly NS, Tan JWJ, Fitzgerald G, Bahri Khomami M, Joham AE, et al. Metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Obes Rev*. 2018.
30. Spritzer PM, Ramos RB, Marchesan LB, de Oliveira M, Carmina E. Metabolic profile of women with PCOS in Brazil: a systematic review and meta-analysis. *Diabetol Metab Syndr*. 2021;13(1):18.
31. Behboudi-Gandevani S, Amiri M, Bidhendi Yarandi R, Noroozadeh M, Farahmand M, Rostami Dovom M, et al. The risk of metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2018;88(2):169-84.
32. Durmus U, Duran C, Ecirli S. Visceral adiposity index levels in overweight and/or obese, and non-obese patients with polycystic ovary syndrome and its relationship with metabolic and inflammatory parameters. *J Endocrinol Invest*. 2017;40(5):487-97.
33. de Groot PC, Dekkers OM, Romijn JA, Dieben SW, Helmerhorst FM. PCOS, coronary heart disease, stroke and the influence of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2011;17(4):495-500.
34. Zhao L, Zhu Z, Lou H, Zhu G, Huang W, Zhang S, et al. Polycystic ovary syndrome (PCOS) and the risk of coronary heart disease (CHD): a meta-analysis. *Oncotarget*. 2016;7(23):33715-21.
35. Zhou Y, Wang X, Jiang Y, Ma H, Chen L, Lai C, et al. Association between polycystic ovary syndrome and the risk of stroke and all-cause mortality: insights from a meta-analysis. *Gynecol Endocrinol*. 2017;33(12):904-10.

36. Melo AS, Vieira CS, Romano LG, Ferriani RA, Navarro PA. The frequency of metabolic syndrome is higher among PCOS Brazilian women with menstrual irregularity plus hyperandrogenism. *Reprod Sci.* 2011;18(12):1230-6.
37. Lim SS, Kakoly NS, Tan JWJ, Fitzgerald G, Bahri Khomami M, Joham AE, et al. Metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Obes Rev.* 2019;20(2):339-52.
38. Carmina E, Napoli N, Longo RA, Rini GB, Lobo RA. Metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome (PCOS): lower prevalence in southern Italy than in the USA and the influence of criteria for the diagnosis of PCOS. *Eur J Endocrinol.* 2006;154(1):141-5.
39. Transmissíveis. BMrdSdSdVneSdDdAleSdeVndDaNo. Vigitel Brazil 2019: surveillance of risk and protective factors for chronic diseases by telephone survey: estimates of frequency and sociodemographic distribution of risk and protective factors for chronic diseases in the capitals of the 26 Brazilian states and the Federal District in 2019. 2020.
40. O'Reilly MW, Taylor AE, Crabtree NJ, Hughes BA, Capper F, Crowley RK, et al. Hyperandrogenemia predicts metabolic phenotype in polycystic ovary syndrome: the utility of serum androstenedione. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(3):1027-36.
41. O'Reilly MW, House PJ, Tomlinson JW. Understanding androgen action in adipose tissue. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;143:277-84.
42. Repaci A, Gambineri A, Pasquali R. The role of low-grade inflammation in the polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2011;335(1):30-41.
43. Aboeldalyl S, James C, Seyam E, Ibrahim EM, Shawki HE, Amer S. The Role of Chronic Inflammation in Polycystic Ovarian Syndrome-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(5).
44. Abiad F, Khalife D, Safadi B, Alami R, Awwad J, Khalifeh F, et al. The effect of bariatric surgery on inflammatory markers in women with polycystic ovarian syndrome. *Diabetes Metab Syndr.* 2018;12(6):999-1005.
45. Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Wittert GA, Belobrajdic DP, Norman RJ. C-reactive protein before and after weight loss in overweight women with and without polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(8):2944-51.
46. Tilg H, Moschen AR. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med.* 2008;14(3-4):222-31.
47. Barbosa-Desongles A, Hernández C, Simó R, Selva DM. Testosterone induces cell proliferation and cell cycle gene overexpression in human visceral preadipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2013;305(3):C355-9.
48. Spritzer PM, Lecke SB, Satler F, Morsch DM. Adipose tissue dysfunction, adipokines, and low-grade chronic inflammation in polycystic ovary syndrome. *Reproduction.* 2015;149(5):R219-27.
49. Rosen ED, Spiegelman BM. What we talk about when we talk about fat. *Cell.* 2014;156(1-2):20-44.
50. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9(5):367-77.
51. Samy N, Hashim M, Sayed M, Said M. Clinical significance of inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: their relationship to insulin resistance and body mass index. *Dis Markers.* 2009;26(4):163-70.
52. Ebejer K, Calleja-Agius J. The role of cytokines in polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Endocrinol.* 2013;29(6):536-40.
53. Garg D, Merhi Z. Relationship between Advanced Glycation End Products and Steroidogenesis in PCOS. *Reprod Biol Endocrinol.* 2016;14(1):71.

54. Nakamura Y, Gang HX, Suzuki T, Sasano H, Rainey WE. Adrenal changes associated with adrenarache. *Rev Endocr Metab Disord*. 2009;10(1):19-26.
55. Turcu A, Smith JM, Auchus R, Rainey WE. Adrenal androgens and androgen precursors- definition, synthesis, regulation and physiologic actions. *Compr Physiol*. 2014;4(4):1369-81.
56. group REA-SPcw. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod*. 2004;19(1):41-7.
57. Azziz R, Carmina E, Chen Z, Dunaif A, Laven JS, Legro RS, et al. Polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16057.
58. O'Reilly MW, Kempegowda P, Jenkinson C, Taylor AE, Quanson JL, Storbeck KH, et al. 11-oxygenated C19 steroids are the predominant androgens in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;jc20163285.
59. HAYANO M, DORFMAN RI. On the mechanism of the C11 beta-hydroxylation of steroids. *J Biol Chem*. 1954;211(1):227-35.
60. COOPER DY, ROBERTS JM, TOUCHSTONE JC. Steroid production by incubated human adrenal tissue. *Surg Forum*. 1955;5:583-7.
61. Dorfman RI, Rooks WH, Jones JB, Leman JD. Androgenic activity of highly purified 5alpha-androstane and 5alpha-androstan-17beta-ol. *J Med Chem*. 1966;9(6):930-1.
62. Blasco M, Carriquiriborde P, Marino D, Ronco AE, Somoza GM. A quantitative HPLC-MS method for the simultaneous determination of testosterone, 11-ketotestosterone and 11-beta hydroxyandrostenedione in fish serum. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2009;877(14-15):1509-15.
63. Borg B, Schoonen WG, Lambert JG. Steroid metabolism in the testes of the breeding and nonbreeding three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Gen Comp Endocrinol*. 1989;73(1):40-5.
64. Scher HI, Fizazi K, Saad F, Taplin ME, Sternberg CN, Miller K, et al. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med*. 2012;367(13):1187-97.
65. Stein MN, Goodin S, Dipaola RS. Abiraterone in prostate cancer: a new angle to an old problem. *Clin Cancer Res*. 2012;18(7):1848-54.
66. Storbeck KH, Bloem LM, Africander D, Schloms L, Swart P, Swart AC. 11β-Hydroxydihydrotestosterone and 11-ketodihydrotestosterone, novel C19 steroids with androgenic activity: a putative role in castration resistant prostate cancer? *Mol Cell Endocrinol*. 2013;377(1-2):135-46.
67. Pretorius E, Africander DJ, Vlok M, Perkins MS, Quanson J, Storbeck KH. 11-Ketotestosterone and 11-Ketodihydrotestosterone in Castration Resistant Prostate Cancer: Potent Androgens Which Can No Longer Be Ignored. *PLoS One*. 2016;11(7):e0159867.
68. Pretorius E, Arlt W, Storbeck KH. A new dawn for androgens: Novel lessons from 11-oxygenated C19 steroids. *Mol Cell Endocrinol*. 2016.
69. Rege J, Nakamura Y, Satoh F, Morimoto R, Kennedy MR, Layman LC, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of human adrenal vein 19-carbon steroids before and after ACTH stimulation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(3):1182-8.
70. Penning TM, Wangtrakuldee P, Auchus RJ. Structural and Functional Biology of Aldo-Keto Reductase Steroid-Transforming Enzymes. *Endocr Rev*. 2019;40(2):447-75.
71. Schiffer L, Arlt W, Storbeck KH. Intracrine androgen biosynthesis, metabolism and action revisited. *Mol Cell Endocrinol*. 2018;465:4-26.
72. Swart AC, Storbeck KH. 11β-Hydroxyandrostenedione: Downstream metabolism by 11βHSD, 17βHSD and SRD5A produces novel substrates in familiar pathways. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;408:114-23.

73. Turcu AF, Nanba AT, Chomic R, Upadhyay SK, Giordano TJ, Shields JJ, et al. Adrenal-derived 11-oxygenated 19-carbon steroids are the dominant androgens in classic 21-hydroxylase deficiency. *Eur J Endocrinol*. 2016;174(5):601-9.
74. Nanba AT, Rege J, Ren J, Auchus RJ, Rainey WE, Turcu AF. 11-Oxygenated C19 Steroids Do Not Decline with Age in Women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019.
75. Alves ANL MB, Valassi HPL. Analytical Performance of LC-MS/MS Method for Simultaneous Determination of Five Steroids in Serum. *Mass Spectrom Purif Tech*. 2015;1(2):1-5.
76. Schiffer L, Shaheen F, Gilligan LC, Storbeck KH, Hawley JM, Keevil BG, et al. Multi-steroid profiling by UHPLC-MS/MS with post-column infusion of ammonium fluoride. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2022;1209:123413.
77. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(10):3666-72.
78. Yoshida T, Matsuzaki T, Miyado M, Saito K, Iwasa T, Matsubara Y, et al. 11-oxygenated C19 steroids as circulating androgens in women with polycystic ovary syndrome. *Endocr J*. 2018;65(10):979-90.
79. Kakoly NS, Earnest A, Teede HJ, Moran LJ, Joham AE. The Impact of Obesity on the Incidence of Type 2 Diabetes Among Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes Care*. 2019;42(4):560-7.
80. Ollila MM, West S, Keinänen-Kiukaanniemi S, Jokelainen J, Auvinen J, Puukka K, et al. Overweight and obese but not normal weight women with PCOS are at increased risk of Type 2 diabetes mellitus-a prospective, population-based cohort study. *Hum Reprod*. 2017;32(2):423-31.
81. Mannerås-Holm L, Baghaei F, Holm G, Janson PO, Ohlsson C, Lönn M, et al. Coagulation and fibrinolytic disturbances in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(4):1068-76.
82. Apostolakis S, Vogiatzi K, Amanatidou V, Spandidos DA. Interleukin 8 and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 2009;84(3):353-60.
83. Wu Y, Wang W, Li XY, Qian LL, Dang SP, Tang X, et al. Strong association between the interleukin-8-251A/T polymorphism and coronary artery disease risk. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(10):e14715.

APÊNDICES

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS SOBRE A PESQUISA

TÍTULO DA PESQUISA: *Avaliação do papel dos esteroides c19 clássicos e c19 11-oxigenados no excesso de andrógenos e no perfil metabólico de pacientes com síndrome dos ovários policísticos.*

PESQUISADOR: Thaís Machado Pagliaro Rocha

DEPARTAMENTO/INSTITUTO: Disciplina de Endocrinologia do Departamento de Clínica Médica / Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Você está sendo convidada a participar deste estudo pois possui a Síndrome dos Ovários Policísticos. A Síndrome dos Ovários Policísticos é uma doença hormonal que ocorre nas mulheres e pode provocar aumento de pelos no corpo, espinhas, falhas da menstruação e dificuldade de engravidar e que pode, também, aumentar o risco de obesidade, diabetes (aumento da glicose no sangue) e de doenças do coração e geralmente ocorrem por aumento de alguns hormônios no sangue (o mais comum deles é a testosterona). No entanto, em algumas pacientes, esses hormônios classicamente aumentados estão normais mesmo na presença dos sintomas clínicos. Isso sugere que outros hormônios presentes no sangue, mas que ainda não são dosados de rotina, possam estar alterados, sendo os responsáveis por essas duas doenças. O objetivo desse estudo é avaliar os níveis desses novos hormônios que tem ação no organismo, mas que não são dosados de rotina no sangue, nas mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP).

Você será acompanhada em consultas e vai realizar os exames de rotina que são necessários para o seu tratamento. Este estudo implica na coleta adicional de 2 tubos pequenos de sangue (\pm 10mL, correspondente a 2 colheres de sopa) através de uma picada na veia do antebraço com agulha estéril e descartável para a obtenção de sangue para estudo dos hormônios. Pode ocorrer dor leve no local da picada e, eventualmente, o aparecimento de pequena mancha roxa no local (equimose), que desaparecerá em até uma semana.

Este estudo pode trazer benefícios diretos para o diagnóstico e para o tratamento da sua doença e o seu resultado poderá ajudar, também, outros pacientes. Os seus hormônios serão identificados apenas por um número (e não pelo seu nome) e somente os pesquisadores diretamente envolvidos no estudo terão acesso aos seus dados clínicos e hormonais. Você será acompanhada em consultas regulares no ambulatório de Endocrinologia, durante e após o término do estudo, até o tempo necessário para seu tratamento. Seu acompanhamento médico não sofrerá influência do andamento da pesquisa.

Está garantida a liberdade de deixar de participar do estudo com a retirada desse consentimento a qualquer momento, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição. Você terá acesso a todos os resultados da pesquisa.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Está garantida a indenização diante de eventuais danos decorrentes desta pesquisa.

O material biológico (sangue) obtido para esta pesquisa será armazenado de acordo com a resolução 441/2011.

Em qualquer etapa deste estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas, em qualquer fase do estudo. A principal investigadora é a Dr^a. Larissa Garcia

Gomes, que pode ser encontrada no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 155, 2º andar Telefone(s) 2661-7512 ou 2661-6330. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

Fui suficientemente informado a respeito do estudo “*Avaliação do papel dos esteroides c19 clássicos e c19 11-oxigenados no excesso de andrógenos e no perfil metabólico de pacientes com síndrome dos ovários policísticos.*”.

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável (Drª Larissa Garcia Gomes) ou pessoa (s) por ela delegada (s) (Drª Thaís Machado Pagliaro Rocha / Drª Raiane Pina Crespo) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo uma via assinada pelo pesquisador.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
DADOS SOBRE A PESQUISA**

TÍTULO DA PESQUISA: *Avaliação do papel dos esteroides c19 clássicos e c19 11-oxigenados no excesso de andrógenos e no perfil metabólico de pacientes com síndrome dos ovários policísticos.*

PESQUISADOR: Thaís Machado Pagliaro Rocha

DEPARTAMENTO/INSTITUTO: Disciplina de Endocrinologia do Departamento de Clínica Médica / Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Você está sendo convidado a participar desse estudo por ser uma mulher não portadora da Síndrome de Ovários Policísticos (SOP), por ter ciclos menstruais regulares e não usar método anticoncepcional hormonal. O estudo de hormônios presente no seu sangue, comparado com a análise de hormônios presentes no sangue de paciente com SOP vai contribuir para o entendimento das alterações hormonais que podem causar a SOP.

A Síndrome dos Ovários Policísticos é uma doença hormonal que ocorre nas mulheres e pode provocar aumento de pelos no corpo, espinhas, falhas da menstruação e dificuldade de engravidar e que pode, também, aumentar o risco de obesidade, diabetes (aumento da glicose no sangue) e de doenças do coração. O Hirsutismo Idiopático é também uma doença hormonal, que causa aumento de pelos grossos em algumas áreas do corpo como o buço, queixo, peito, barriga, coxa, costas, nádegas e braços. Essas duas doenças geralmente ocorrem por aumento de alguns hormônios no sangue (o mais comum deles é a testosterona). No entanto, em algumas pacientes, esses hormônios classicamente aumentados estão normais mesmo na presença dos sintomas clínicos. Isso sugere que outros hormônios presentes no sangue, mas que ainda não são dosados de rotina, podem estar alterados, sendo os responsáveis por essas duas doenças. O objetivo desse estudo é avaliar os níveis desses novos

hormônios que tem ação no organismo, mas que não são dosados de rotina no sangue, nas mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos ou com Hirsutismo Idiopático.

Este estudo implica na coleta de 2 tubos pequenos de sangue (\pm 10mL, correspondente a 2 colheres de sopa) através de uma picada na veia do antebraço com agulha estéril e descartável para a obtenção de sangue para estudo dos hormônios. Pode ocorrer dor leve no local da picada e, eventualmente, o aparecimento de pequena mancha roxa no local (equimose), que desaparecerá em até uma semana.

Este estudo pode trazer benefícios diretos para o diagnóstico e para o tratamento da SOP e o seu resultado poderá ajudar, também, outros pacientes. Os seus hormônios serão identificados apenas por um número (e não pelo seu nome) e somente os pesquisadores diretamente envolvidos no estudo terão acesso aos seus dados clínicos e hormonais.

Está garantida a liberdade de deixar de participar do estudo com a retirada desse consentimento a qualquer momento. Você terá acesso a todos os resultados da pesquisa.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Está garantida a indenização diante de eventuais danos decorrentes desta pesquisa.

O material biológico (sangue) obtido para esta pesquisa será armazenado de acordo com a resolução 441/2011.

Em qualquer etapa deste estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas, em qualquer fase do estudo. A principal investigadora é a Dr^a. Larissa Garcia Gomes, que pode ser encontrada no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 155, 2º andar Telefone(s) 2661-7512 ou 2661-6330. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

Fui suficientemente informado a respeito do estudo “*Avaliação do papel dos esteroides c19 clássicos e c19 11-oxigenados no excesso de andrógenos e no perfil metabólico de pacientes com síndrome dos ovários policísticos.*”.

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável (Dr^a Larissa Garcia Gomes) ou pessoa(s) por ela delegada(s) (Dr^a Thaís Machado Pagliaro Rocha / Dr^a Raiane Pina Crespo) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo uma via assinada pelo pesquisador.