

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Prevalência e estadiamento da doença hepática gordurosa não alcoólica em pacientes com síndrome dos ovários policísticos em centro de referência do Hospital das Clínicas da UFMG

Belo Horizonte – MG

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Prevalência e estadiamento da doença hepática gordurosa não alcoólica em pacientes com síndrome dos ovários policísticos em centro de referência do Hospital das Clínicas da UFMG

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Medicina.

Daniela Oliveira de Lima Taranto

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Costa Faria

Coorientadora: Profa. Dra. Claudia Alves Couto

Belo Horizonte – MG

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitora: Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitor: Prof. Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Fábio Alves da Silva Júnior

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Mario Fernando Montenegro Campos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Humberto José Alves

Vice-Diretora da Faculdade de Medicina: Profa. Alamanda Kfoury Pereira

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Chefe do Departamento de Clínica Médica: Profa. Valéria Maria Augusto

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO

Coordenadora: Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Subcoordenadora: Profa. Suely Meireles Rezende

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto:

Prof. Eduardo Garcia Vilela

Profa. Luciana Costa Faria

Profa. Luciana Diniz Silva

Prof. Paulo Caramelli

Profa. Suely Meireles Rezende

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Leticia Lemos Jardim – Discente Titular

APOIO INSTITUCIONAL

Esse trabalho foi realizado com o auxílio das seguintes instituições: Hospital das Clínicas da UFMG/Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH) (liberação da aluna durante três meses para conclusão dos trabalhos finais da dissertação); Faculdade de Medicina da UFMG.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Luciana Costa Faria, orientadora, pelo rico aprendizado e pelas valiosas ajudas e correções. Esse caminho teria sido árduo sem a sua experiência, sensatez e disponibilidade para me orientar em todo o processo.

À Profa. Claudia Alves Couto, coorientadora, pelo grande apoio e incentivo.

Às Profas. Ana Lucia Cândido, Ana Luiza Lunardi Rocha Baroni e Rosana Correa Silva Azevedo, responsáveis pelo Ambulatório de Hiperandrogenismo do HC-UFMG que apoiaram e contribuíram para a realização deste projeto.

À Thais Cristine Moura Guimarães, nutricionista participante do projeto de pesquisa, que além da inestimável colaboração em selecionar e atender as pacientes, foi uma grande aliada e companheira na superação dos desafios.

Ao Dr. Marcelo Arouca Araujo, pela disponibilidade em realizar conjuntamente os exames de ultrassonografia.

Às Profas. Luciana Diniz Silva e Márcia Cristina França Ferreira pelas correções e sugestões no exame de qualificação.

Aos membros da banca examinadora para a defesa de Mestrado, Profa. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz, Profa. Maria de Lourdes Abreu Ferrari, Dr. Francisco Guilherme Cancela e Penna pela disponibilidade e análise da dissertação.

Aos membros da Coordenação da Unidade de Diagnóstico por Imagem do Hospital das Clínicas da UFMG, Eduardo dos Santos Junior, Dra. Jovita Lane Zanini, e Dra. Ana Paula Santiago, que viabilizaram a conciliação de minhas atividades assistenciais com as atividades acadêmicas referentes ao Mestrado.

Aos professores das disciplinas cursadas no Mestrado, minha admiração e respeito pelo empenho em cumprirem essa nobre função da docência.

Às alunas de Iniciação Científica, Fernanda Souza Mattos e Maria Luiza Cândido Elias pelas valiosas contribuições.

Aos meus pais e irmãos pelo apoio e amizade em todas as etapas de minha vida.
Ao meu esposo, Marcos Paulo de Lima Taranto, companheiro do projeto mais importante da minha vida: a constituição de nossa família.

Às minhas filhas, Isa e Laís, que despertaram em mim a divina missão da docência e constituem meu incentivo diário pela busca de conhecimento e de superação.

DEDICATÓRIA

“As coisas que se fazem na vida e que tomam um vulto muito maior do que o corpo físico, permanecem, mesmo que este último não exista; tal realidade pode ser vista estampada nas páginas da história e em todas as partes do mundo. É necessário, então, seguir exemplos dignos de serem realizados; realizados, não imitados, porque as imitações nem sempre são boas. Realizar, neste aspecto, significa introduzir uma variante pessoal, que logicamente deve existir, sobre o modelo tomado como exemplo”. (Carlos Bernardo Gonzáles Pecotche)

Dedico esse trabalho a todos que ao longo de minha vida têm sido fontes de inspiração e de exemplos, dignos de serem realizados. Em especial à minha mãe, minha primeira e maior docente, que sempre me inspirou a buscar a superação e o saber, minha eterna gratidão.

RESUMO

Introdução e objetivos: A síndrome dos ovários policísticos (SOP) é uma endocrinopatia de elevada prevalência em mulheres na idade reprodutiva e constitui um fator de risco para doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). Os objetivos desse estudo foram investigar a prevalência e os fatores associados à DHGNA em mulheres com SOP e avaliar o estágio de fibrose hepática utilizando-se métodos não-invasivos. **Método:** Esse estudo transversal prospectivo avaliou pacientes com SOP e mulheres sem SOP como controle. A DHGNA foi diagnosticada por ultrassonografia abdominal (US) com exclusão de consumo de álcool e de doenças hepáticas virais e autoimunes. Foram coletados dados antropométricos, clínicos e metabólicos, calculados FIB4 e NALFD score e realizada elastografia hepática transitória (EHT) nas pacientes com SOP e DHGNA. **Resultados:** 87 pacientes com SOP foram incluídas (idade: $34,4 \pm 5,7$ anos, índice de massa corporal [IMC]: $34,7 \pm 4,7$ Kg/m²); 67 (77,0%) com diagnóstico de DHGNA vs. 21/40 (52,5%) pacientes no grupo controle ($p=0,005$). Mulheres com SOP e esteatose apresentaram maior IMC, circunferência abdominal (CA) e níveis séricos de triglicérides (TG), colesterol total, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamil transferase que mulheres com SOP e US normal ($35,7 \pm 4,1$ vs. $31,2 \pm 5,2$ Kg/m², $p=0,001$; 103 [88-128] vs. 95 [67-115] cm, $p<0,001$; 140 [56-373] vs. 92 [49-173] mg/dL, $p=0,003$; 195 [134 – 288] vs. 177 [127-228] mg/dL, $p=0,01$; 36 [11-81] vs. 25 [13-37] U/L, $p=0,001$; 24 [9-48] vs. 18 [11-31] U/L, $p=0,001$; 37 [14-234] vs. 29 [11-68], $p=0,04$, respectivamente). Mulheres com SOP e DHGNA apresentaram maior frequência de obesidade, síndrome metabólica e resistência insulínica (91% vs. 70%, $p=0,02$; 58,2% vs. 20,0%, $p=0,007$; and 91,0% vs. 55, 0%, $p=0,001$, respectivamente). Na análise multivariada, os fatores associados à DHGNA em pacientes com SOP foram WC, TG and ALT (OR [IC 95%] = 1,013 [1.0021.024], $p=0.025$; 1.002 [1.0-1.003], $p=0.049$; and 1.007 [1.0-1.013], $p=0.047$, respectivamente). FIB-4 foi compatível com ausência de fibrose ($<1,3$) em 45/45 pacientes (100%). NAFLD score foi compatível com ausência de fibrose ($<-1,455$) em 7/26 (27%), indeterminado ($\geq -1,455$ e $\leq 0,676$) em 18/26 (69%) e fibrose avançada ($>0,676$) in 1/26 pacientes (4%). EHT foi realizada em 25 pacientes com valores de kPa $< 7,0$, entre 7,0 e 9,5 e entre 9,5 e 12,5 em 15 (60%), 7 (28%) e 3(12%) pacientes, respectivamente. **Conclusão:** Mulheres com SOP apresentam risco elevado de DHGNA, que está associado a obesidade central, dislipidemia, resistência insulínica e síndrome metabólica. O estadiamento da fibrose hepática por métodos não invasivos demonstrou baixa frequência de fibrose avançada.

ABSTRACT

Background and Aims: Polycystic ovarian syndrome (PCOS) is a common endocrinopathy in reproductive age women and is a recognized risk factor for nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). The aims of this study were to investigate the prevalence and associated factors to NAFLD in women with PCOS and to evaluate fibrosis stage by non-invasive methods in patients with PCOS and NAFLD. **Method:** This cross-sectional prospective study evaluated patients with PCOS and women without PCOS as controls. NAFLD was diagnosed by abdominal ultrasonography followed by the exclusion of alcohol consumption, viral or autoimmune liver disease. Anthropometric, clinical and metabolic variables, FIB-4, NAFLD score and transient elastography (TE) by Fibroscan® were performed in subsets of PCOS and NAFLD patients. **Results:** Eighty-seven PCOS patients were included (mean age: 34.4±5.7 years, mean body mass index [BMI]: 34.7±4.7 Kg/m²); 67 (77.0%) had NAFLD vs. 21/40 (52.5 %) patients in control group (p=0.005). PCOS women with liver steatosis had higher BMI, waist circumference (WC), triglycerides, total cholesterol, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyltransferase (GGT) than PCOS women with normal ultrasonography, (35.7 ± 4.1 vs. 31.2 ± 5.2 Kg/m², p=0.001; 103 [88-128] vs. 95 [67-115] cm, p<0.001; 140 [56-373] vs. 92 [49-173] mg/dL, p=0.003; 195 [134 – 288] vs. 177 [127-228] mg/dL, p=0.01; 36 [11-81] vs. 25 [13-37] U/L, p=0.001; 24 [9-48] vs. 18 [11-31] U/L, p=0.001; 37 [14-234] vs. 29 [11-68], p=0.04, respectively). Women with PCOS and NAFLD presented higher frequencies of obesity, metabolic syndrome and insulin resistance (91% vs. 70%, p=0.02; 58.2% vs. 20.0%, p=0.007; and 91.0% vs. 55.0%, p=0.001, respectively). On multivariate analysis, the associated factors with NAFLD in patients with PCOS were WC, triglycerides and ALT (OR [IC 95%] = 1.013 [1.002-1.024], p=0.025; 1.002 [1.0-1.003], p=0.049; and 1.007 [1.0-1.013], p=0.047, respectively). FIB-4 was compatible with absent advanced fibrosis (<1.3) in 45/45 patients (100%). NAFLD score was compatible with absent advanced fibrosis (<-1.455) in 7/26 (27%), was indeterminate (≥-1.455 and ≤0.676) in 18/26 (69%) and compatible with advanced liver fibrosis (>0.676) in 1/26 patients (4%). TE was performed in 25 patients with PCOS and NAFLD and was <7.0 kPa, between 7.0 and 9.5 kPa and between 9.5 and 12.5 kPa in 15 (60%), 7 (28%) and 3 (12%) patients, respectively. **Conclusion:** Women with PCOS have a high risk of NAFLD, which is associated with central obesity, dyslipidemia, insulin resistance and metabolic syndrome in this population. Low rates of hepatic fibrosis in this series were observed.

LISTA DE QUADROS

1. Critérios diagnósticos de SOP propostos pelos principais grupos 18
2. Prevalência dos quatro fenótipos da SOP em diferentes estudos, segundo diagnóstico pelos critérios de Rotterdam e classificação fenotípicas proposta pelo NIH 19
3. Estudos de prevalência de DHGNA em pacientes com SOP, utilizando como critério diagnóstico a presença de esteatose à ultrassonografia abdominal, a maioria com grupos controle semelhantes em IMC 27

LISTA DE FIGURAS

1. US Plano sagital – Ausência de esteatose (ecogenicidade do parênquima hepático igual ao do córtex renal, clara visualização dos vasos intra-hepáticos e do diafragma) 35
2. US Plano sagital – Presença de esteatose (ecogenicidade do parênquima hepático maior que do córtex renal) 35
3. US Plano sagital – Presença de esteatose (atenuação posterior do feixe de ultrassom, borramento da parede das veias hepáticas e do diafragma) 35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE-PCOS	<i>Androgen Excess and PCOS Society</i>
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CHC	Carcinoma hepatocelular
CA	Circunferência abdominal
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CAP	<i>Controlled Attenuation Parameter</i>
DM	Diabete melito tipo 2
OD	Disfunção ovulatória
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
EHNA	Esteatohepatite não alcoólica
ESHRE	<i>European Society of Human Reproduction and Embryology</i>
EHT	Elastografia hepática transitória
FLI	<i>Fatty Liver Index</i>
GGT	Gama-glutamil transferase
HC-UFMG	Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
SHBG	Globulina de ligação de hormônios sexuais
HSI	<i>Hepatic Steatosis Index</i>
HA	Hiperandrogenismo
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HOMA-IR	<i>Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance Index</i>
LAP	<i>Lipid accumulation product</i>
ILA	Índice livre de androgênios
IMC	Índice de massa corporal
IG	Intolerância à glicose
IQR	Intervalo interquartil
HDL	<i>High-density lipoprotein cholesterol</i>
LDL	<i>Low-density lipoprotein cholesterol</i>
PCOM	Morfologia ovariana policística
NIH	<i>National Institute of Health</i>

kPa	Quilopascal
RI	Resistência insulínica
SHBG	<i>Sex hormone binding globulin</i>
SOP	Síndrome dos ovários policísticos
SM	Síndrome metabólica
TTOG	Teste tolerância oral à glicose
TG	Triglicérides
US	Ultrassonografia
VAI	<i>Visceral adiposity index</i>
HCV	<i>Hepatitis C Virus</i>
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	15
2.0 ANTECEDENTES CIENTÍFICOS.....	16
2.1 Critérios diagnósticos da SOP	16
2.2 Distribuição dos fenótipos e diagnóstico da SOP.....	19
2.3 Condições associadas à SOP	21
2.4 DHGNA	24
2.5 Associação entre DHGNA e SOP	27
3.0 OBJETIVOS	30
4.0 PARTICIPANTES E MÉTODOS	31
4.1 Participantes	31
4.2 Avaliação clínica, antropométrica, laboratorial e metabólica	32
4.3 Diagnóstico e estadiamento da DHGNA	34
4.4 Análise estatística.....	37
5.0 REFERÊNCIAS	39
6.0 ARTIGO	46
7.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
8.0 ANEXOS	71

Prevalência e estadiamento da doença hepática gordurosa não alcoólica em pacientes com síndrome dos ovários policísticos e avaliação dos fatores clínicos e metabólicos associados

1.0- INTRODUÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) representa atualmente a hepatopatia crônica mais comum na população geral, com prevalência estimada em 25%,¹ sendo responsável por até 70% dos casos de cirrose criptogênica.² A síndrome dos ovários policísticos (SOP) é também uma condição de elevada prevalência, caracterizada como uma desordem reprodutiva e metabólica na qual a resistência insulínica (RI) tem papel fundamental. A RI é uma característica comum à SOP e à DHGNA, observando-se com frequência, na prática clínica, a concomitância das duas condições, com um crescente número de estudos nos últimos anos demonstrando essa associação.³

Ainda não está claro se a SOP representa um fator de risco específico para o desenvolvimento de DHGNA, ou se a associação entre elas é mediada pela elevada prevalência de obesidade e RI, comuns em ambas as condições.

Conhecer a prevalência, os fatores associados e a história natural da DHGNA em pacientes com SOP é de grande relevância para planejar o rastreamento e a abordagem adequada da doença hepática nessa população. Trata-se de pacientes predominantemente jovens, nas quais o desenvolvimento de lesão hepática em idade precoce pode representar um risco significativo de progressão ao longo de suas vidas, com possibilidade de evolução para cirrose hepática e carcinoma hepatocelular.

Existem poucos dados sobre a associação entre DHGNA e SOP em nosso meio. Assim sendo, esse estudo foi desenvolvido com os objetivos de conhecer a prevalência da DHGNA em pacientes com diagnóstico de SOP acompanhadas no Ambulatório de Hiperandrogenismo do Hospital das Clínicas da UFMG, avaliar fatores associados à presença de DHGNA e estimar a gravidade da DHGNA nessa população.

2.0- ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

A SOP é uma endocrinopatia de elevada prevalência, que varia entre 6% a 20% das mulheres em idade reprodutiva, de acordo com a etnia e os critérios diagnósticos utilizados.⁴⁻⁷ As características principais consistem em disfunção ovariana e hiperandrogenismo. Sua etiologia é complexa e não completamente compreendida, incluindo múltiplos fatores genéticos, ambientais, metabólicos e hormonais.⁸ As manifestações clínicas incluem irregularidade menstrual, acne, hirsutismo, alopecia, adiposidade central e infertilidade.

2.1 - Critérios diagnósticos da SOP

Uma revisão histórica demonstra como a heterogeneidade da doença tem gerado dúvidas e controvérsias em relação à sua definição e aos critérios diagnósticos a serem utilizados.

A primeira descrição da SOP foi feita por *Stein e Leventhal* em 1935,⁹ que observaram uma associação entre anovulação, hirsutismo e ovários policísticos. Em publicações subsequentes, a morfologia ovariana policística mostrou-se um achado comum em pacientes com amenorreia e sinais clínicos de excesso de androgênio. No entanto, a heterogeneidade da doença tornou-se aparente, pois nem todas as pacientes apresentavam hirsutismo e algumas não mostravam evidências de irregularidades na ovulação.¹⁰⁻¹²

Em 1990, o *National Institute of Health* (NIH) realizou a primeira tentativa de consolidar os critérios diagnósticos da SOP, definindo-a pela presença combinada de excesso de androgênio e oligoanovulação, na ausência de outras causas de infertilidade anovulatória. Segundo esse consenso, o fator determinante primário da SOP seria um desarranjo no metabolismo de androgênio com conseqüente alteração ovulatória, tendo sido excluída a morfologia ovariana de sua definição.¹³ Esse consenso foi criticado por não ter se baseado em estudos clínicos e pelo fato de estudos posteriores demonstrarem que a anovulação nessas pacientes não era necessariamente crônica, havendo episódios intermitentes de ciclos ovulatórios.^{14,15}

Frente às crescentes evidências de que mulheres com ciclos ovulatórios, ovários policísticos e hiperandrogenismo deveriam ser incluídas na definição da SOP por apresentarem alterações clínicas e metabólicas semelhantes,¹⁶ foi organizada em 2003 uma conferência pela *European*

Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) e *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM).¹⁷ Surgiu uma nova proposta de critérios diagnósticos, conhecida como critérios de Rotterdam. Esse consenso considerou a SOP uma síndrome primariamente de disfunção ovariana e definiu seu diagnóstico pela presença de pelo menos dois dos seguintes achados: 1) hiperandrogenismo clínico ou bioquímico; 2) oligoanovulação crônica; e 3) evidências ultrassonográficas de ovários policísticos. Ao incluir a aparência policística dos ovários na ultrassonografia (US) e não exigir a comprovação de hiperandrogenismo, houve aumento no número de pacientes diagnosticadas com SOP¹⁸ e também ampliação do espectro da doença, com maior heterogeneidade dos fenótipos quando comparado à definição do NIH.¹⁹ O consenso de Rotterdam provocou controvérsias pois preencher apenas dois dos três critérios implicava em diagnosticar a SOP na ausência de excesso de androgênio ou de irregularidade menstrual, condições anteriormente consideradas necessárias para o seu diagnóstico.

Estudos subsequentes demonstraram que pacientes com SOP hiperandrogênicas apresentavam uma maior prevalência de RI, com conseqüente maior disfunção metabólica^{20,21} e alguns pesquisadores passaram a considerar que mulheres não hiperandrogênicas não representavam verdadeiramente pacientes com a síndrome. Em 2006, a *Androgen Excess and PCOS Society* (AE-PCOS) realizou uma revisão sistemática da literatura e definiu a SOP como uma desordem predominantemente hiperandrogênica, sendo excluído o fenótipo sem hiperandrogenismo proposto pelos critérios de Rotterdam.²²

Na falta de um consenso quanto ao diagnóstico da SOP e reconhecendo que o uso de critérios distintos é um fator limitante para a análise conjunta de resultados de pesquisas clínicas em todo o mundo, o NIH realizou um seminário em 2012, contando com a participação de especialistas de diferentes países e utilizando uma metodologia baseada em evidências.²³ Após avaliar os benefícios e as desvantagens das propostas diagnósticas existentes, recomendou o uso de critérios mais amplos de acordo com o consenso de Rotterdam, acompanhado da descrição do fenótipo, cabendo quatro possibilidades fenotípicas: hiperandrogenismo clínico ou bioquímico (HA) + disfunção ovulatória (OD) + morfologia ovariana policística (PCOM), HA + OD, HA + PCOM, OD + PCOM. Essa recomendação tem sido adotada a partir de então em grande parte das publicações científicas sobre a SOP.

No quadro 1, podemos visualizar um resumo histórico com os critérios diagnósticos recomendados pelos diferentes grupos. Todos consideram o diagnóstico de SOP após exclusão de outras endocrinopatias.

Quadro 1 - Critérios diagnósticos de SOP propostos pelos principais grupos

NIH 1990	ESHRE/ASRM (Rotterdam) 2003	AE-PCOS 2006	NIH 2012
<ul style="list-style-type: none"> • Hiperandrogenismo clínico ou bioquímico • Oligoanovulação 	<p><u>Dois</u> dos seguintes critérios:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hiperandrogenismo clínico ou bioquímico • Oligoanovulação • Ovários policísticos à ultrassonografia 	<ul style="list-style-type: none"> • Hiperandrogenismo clínico ou bioquímico • Oligoanovulação e/ou ovários policísticos à ultrassonografia 	<p>Dois dos seguintes critérios:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hiperandrogenismo clínico ou bioquímico • Oligoanovulação • Ovários policísticos à ultrassonografia <p>Classificação Fenotípica</p>
<i>1ª proposta de critérios diagnósticos</i>	<i>Inclusão da morfologia ovariana policística à ultrassonografia</i>	<i>Hiperandrogenismo como critério diagnóstico obrigatório</i>	<i>Manutenção do consenso de Rotterdam com inclusão da descrição fenotípica</i>

Abreviaturas: SOP: Síndrome dos ovários policísticos; NIH: *National Institute of Health*, ESHRE/ASRM: *European Society for Human Reproduction and Embriology/ American Society for Reproductive Medicine*, AE *Androgen Excess and PCOS Society*

Com base nos critérios anteriormente propostos em Rotterdam e na recomendação do NIH de 2012, a maioria dos pesquisadores passou a adotar a seguinte classificação fenotípica:

- fenótipo A (clássico I): HA + OD + PCOM
- fenótipo B (clássico II): HA + OD
- fenótipo C (ovulatório): HA + PCOM
- fenótipo D (não hiperandrogênico): OD + PCOM

Apesar das dificuldades em se estabelecer um consenso, tendo como principal impasse a presença obrigatória ou não do hiperandrogenismo para o diagnóstico da síndrome, predomina hoje a compreensão de que a SOP engloba múltiplos fenótipos possíveis. A abordagem fenotípica traz muitos benefícios. Nas pesquisas epidemiológicas, favorece uma melhor comparação entre trabalhos realizados com populações específicas. Na prática clínica, a divisão das pacientes em categorias com diferentes características metabólicas permite

identificar mulheres com maior risco de comorbidades, ajudando direcionar tratamentos específicos e prevenir complicações a longo prazo.

2.2 - Distribuição dos fenótipos e diagnóstico da SOP

A distribuição da SOP em fenótipos é importante para melhor compreensão da síndrome, para estudo de sua epidemiologia e da prevalência de comorbidades nos diversos grupos estudados. Dados publicados em pesquisas clínicas indicam que aproximadamente dois terços das pacientes com diagnóstico de SOP apresentam os fenótipos A e B (Quadro 2).

Quadro 2 – Prevalência dos quatro fenótipos da SOP em diferentes estudos, segundo diagnóstico pelos critérios de Rotterdam e classificação fenotípica proposta pelo NIH

ESTUDO	ANO	PAÍS	N	FENÓTIPOS %			
				A (HA + OD + PCOM)	B (HA+OD)	C (HA + PCOM)	D (OD + PCOM)
Dewailly ²⁴	2006	EUA	406	60,6	6,7	16,5	16,3
Shroff ²⁵	2007	EUA	258	58,0	14,0	14,0	13,0
Pehlivanon ²⁶	2007	Bulgária	70	58,6	11,4	10,0	20,0
Guastella ²⁷	2010	Itália	382	53,9	8,9	28,8	16,4
Yilmaz ²⁸	2011	Turquia	127	44,0	22,8	18,9	14,7
Wijeyarante ²⁹	2011	Sri Lanka	469	54,6	17,5	7,7	20,3
Panidis ³⁰	2012	Servia	1212	48,2	30,7	9,7	11,4
Clark ³¹	2014	EUA	126	66,0	9,0	13,0	11,0

Abreviaturas: SOP: Síndrome dos ovários policísticos; NIH: *National Institutes of Health*; N: número de pacientes com SOP; HA: hiperandrogenismo clínico ou bioquímico; PCOM: morfologia ovariana policística; OD: disfunção ovulatória

Existem poucos dados sobre a distribuição de fenótipos em populações não selecionadas, que refletiriam de forma mais fidedigna a prevalência de cada categoria na população geral. Alguns trabalhos realizados com esse objetivo demonstraram uma distribuição diferente da descrita em pesquisas clínicas, observando-se uma maior prevalência dos fenótipos ovulatório e não-hiperandrogênico (C e D). Uma meta-análise realizada em 2016 evidenciou que, em populações não selecionadas, 54 % das pacientes com SOP apresentariam os fenótipos C e D, enquanto em pesquisas clínicas essa taxa é de aproximadamente 34%.³²

Vários estudos indicam que mulheres com SOP que apresentam hiperandrogenismo (fenótipos A, B e C) exibem maior prevalência de RI e um pior perfil metabólico e cardiovascular quando comparadas àquelas sem hiperandrogenismo, independente do índice de massa corporal (IMC) e da adiposidade central.^{26,30,31,33} Os fenótipos ovulatório e não hiperandrogênico (C e D) tendem a identificar uma população de menor IMC, mais jovem e com uma menor prevalência de alterações metabólicas.²⁷⁻²⁹

No entanto, a associação do hiperandrogenismo com as manifestações metabólicas não foi encontrada em todos os trabalhos.^{29,34} São necessários novos estudos sobre a prevalência das alterações metabólicas com cada fenótipo para melhor estratificação de riscos de cada grupo.

Para o diagnóstico da SOP, é necessária a exclusão de outras causas de disfunção ovulatória e endocrinopatias que mimetizam a síndrome, incluindo: hiperplasia adrenal congênita, síndrome de Cushing, tumores produtores de androgênio, excesso de androgênio induzido pelo uso de medicamentos, disfunção tireodiana e hiperprolactinemia. Após excluir outras endocrinopatias, é realizada a investigação do hiperandrogenismo, da disfunção ovulatória e da morfologia polimicrocística dos ovários à US.

O diagnóstico clínico do hiperandrogenismo é habitualmente realizado através da identificação de hirsutismo, acne ou alopecia androgênica. O hirsutismo é reconhecido como o marcador clínico mais confiável, estando presente em até 70% das pacientes com SOP.³⁵ Consiste na presença excessiva de pelo terminal em padrão masculino, causada pelos níveis elevados de androgênio e pela conversão da testosterona em dihidrotestosterona pela 5^α redutase na unidade pilossebácea. Para sua avaliação, utiliza-se habitualmente a escala modificada de Ferriman-Gallwey^{36,37} que quantifica o crescimento do pelo em nove zonas sensíveis à ação dos androgênios. É atribuída uma pontuação de 0 a 4 para cada zona e define-se a presença de hirsutismo por um escore ≥ 8 , havendo no entanto, diferença nos pontos de cortes habitualmente utilizados em decorrência de variação na distribuição de pelos de acordo com a etnia.

Quanto à medida bioquímica do hiperandrogenismo, a testosterona livre é considerada a mais sensível, mas não está disponível em muitos laboratórios, além de não existirem valores de referência bem definidos. Como alternativa, pode-se calcular o índice de androgênios livres

(ILA) a partir dos níveis séricos de testosterona total e de globulina de ligação de hormônios sexuais (SHBG), da seguinte forma: testosterona total (nmol/L) x 100 / SHBG (nmol/L).³⁸

A disfunção ovulatória é difícil de ser medida objetivamente. O diagnóstico clínico de oligomenorreia pode ser estabelecido quando os ciclos menstruais têm uma duração maior que 35 dias ou quando ocorrem menos de oito menstruações ao ano. No entanto, mulheres com ciclos menstruais regulares podem apresentar anovulação crônica. Para confirmar anovulação é necessário obter o nível sérico de progesterona durante a fase lútea do ciclo, considerandose oligoanovulação se nível sérico de progesterona inferior a 3 ng/ml ou por acompanhamento ultrassonográfico.

Ovário policístico à US consiste na presença de 12 ou mais folículos em cada ovário, medindo de 2 a 9 mm, e/ou um volume ovariano aumentado (>10 cm³) em pelo menos um ovário.¹⁷ Essa definição não se aplica a mulheres em uso de anticoncepcional oral, já que esse pode levar a modificação da morfologia ovariana. Se há evidência de folículo dominante (>10 mm) ou de corpo lúteo, a US deve ser repetida no próximo ciclo.

2.3 - Condições associadas à SOP

Além da disfunção ovulatória e do hiperandrogenismo, as pacientes portadoras da SOP apresentam diversas alterações metabólicas, havendo frequente associação com intolerância à glicose (IG), diabetes melito tipo 2 (DM)³⁹, obesidade, RI, adiposidade abdominal, dislipidemia e síndrome metabólica (SM), associados a aumento do risco cardiovascular.⁴⁰

Pacientes com SOP apresentam elevada prevalência de sobrepeso (IMC: 25 a 29,9 kg/m²) e obesidade (IMC \geq 30kg/m²),⁴¹ e alguns estudos demonstram também uma quantidade aumentada de tecido adiposo visceral,⁴²⁻⁴⁴ tanto em pacientes obesas quanto não obesas.^{45,46} A adiposidade abdominal visceral desempenha um papel importante nas complicações metabólicas associadas à síndrome já que o tecido adiposo visceral apresenta mais RI comparado ao tecido adiposo subcutâneo, com conseqüente maior risco de SM, DM e eventos cardiovasculares.

Não há um consenso sobre o meio mais adequado de avaliação da obesidade. Não se observa relação linear entre IMC e porcentagem de gordura corporal,⁴⁷ além da possibilidade de interferência de fatores como etnia, massa muscular e estado de hidratação sobre o IMC, apresentando este uma questionável utilidade como medidor do fator de risco cardiovascular. A circunferência abdominal (CA) tem sido adotada como um preditor mais acurado de anormalidades metabólicas relacionadas à obesidade,⁴⁸ mas apresenta como limitação não distinguir as adiposidades visceral e subcutânea na região abdominal. Métodos de detecção de adiposidade visceral como tomografia computadorizada, ressonância magnética e densitometria radiológica de feixe duplo não são amplamente disponíveis na prática clínica e, como alternativa, têm sido propostos biomarcadores para avaliação da adiposidade visceral e do risco cardiovascular, entre eles o *Visceral Adiposity Index* (VAI). O VAI é um índice baseado na CA, IMC, triglicérides (TG) e lipoproteína de alta densidade (HDL), apresentando correlação satisfatória com RI e quantificação de tecido adiposo visceral por RNM.⁴⁹

Existe ampla variabilidade na estimativa de obesidade associada a SOP em diferentes etnias, com maior prevalência identificada em estudos norte-americanos, alcançando 78% das pacientes.⁵⁰ Obesidade não é considerada um fator responsável pelo desenvolvimento da síndrome, dada a elevada prevalência de SOP também em mulheres eutróficas, semelhante à observada em mulheres com sobrepeso ou obesas,⁵¹ e tende também a ser semelhante nos diversos estudos, apesar das variações no peso e no IMC das populações estudadas.

A obesidade e a SOP são considerados fatores independentes e aditivos em relação à prevalência de RI, estando a RI associada à SOP tanto em mulheres obesas quanto em nãoobesas.^{52,53} A RI está presente em 50 a 70% das pacientes com diagnóstico de SOP e, embora não esteja incluída como um critério diagnóstico da síndrome, desempenha um papel fisiopatológico central.^{54,55}

A hiperinsulinemia compensatória que se desenvolve em consequência da RI é responsável por muitas das alterações clínicas e metabólicas da SOP. A insulina promove, por exemplo, o hiperandrogenismo ovariano ao agir sinergicamente com o hormônio luteinizante estimulando a síntese de androgênio pelas células da teca ovariana,⁵⁶ com consequente restrição do desenvolvimento folicular. A insulina estimula também a síntese de hormônios androgênicos nas suprarrenais. Além disso, inibe a síntese hepática da globulina de ligação de hormônios

sexuais (SHBG), aumentando a quantidade de testosterona livre sérica, biologicamente ativa. A concentração de testosterona livre nas pacientes com SOP está habitualmente aumentada, mesmo que a quantidade total de testosterona se encontre dentro da normalidade.⁵⁷

Não existe um teste clinicamente validado para detectar a RI. Testes invasivos dinâmicos como o *clamp euglicêmico*, considerados padrão-ouro, são procedimentos utilizados em pesquisas. Índices baseados em níveis de insulina e glicemia de jejum apresentam boa correlação com os testes dinâmicos, sendo o índice *Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance Index* (HOMA-IR) um dos mais utilizados.^{58,59} Sua acurácia, no entanto, é questionada na presença de DM pela redução da secreção de insulina nesses pacientes. Além disso, não há um consenso quanto ao ponto de corte a ser utilizado. Como alternativa para avaliação da RI, pode-se utilizar o *Lipid Accumulation Product* (LAP), que tem as vantagens de ser de fácil obtenção e baixo custo, utilizando em seu cálculo a CA e os níveis séricos de TG.⁶⁰

A SM apresenta também elevada prevalência em pacientes com SOP, atingindo aproximadamente 30% a 50% das pacientes, o que corresponde a aproximadamente duas vezes àquela observada em mulheres da população geral, na mesma faixa etária e IMC.^{61,62} É caracterizada pela associação de fatores de risco para doença cardiovascular: adiposidade central, hiperglicemia, dislipidemia e hipertensão arterial sistêmica (HAS). Um consenso de 2010 da *Androgen Excess Society*⁶³ destacou a importância da prevenção de complicações metabólicas em mulheres com SOP e recomendou que se determinasse IMC, CA, glicemia, lipídeos séricos e pressão arterial em todas as pacientes.

Concomitantemente a essas alterações metabólicas, tem sido demonstrado, em publicações recentes, que a DHGNA é frequente em pacientes com SOP.⁶⁴

2.4 - DHGNA

A DHGNA é uma condição clínico-patológica caracterizada por depósito de lipídeo nos hepatócitos, com um acúmulo que excede 5%, em pacientes sem história de consumo excessivo de álcool. Seu diagnóstico é definido pela presença de esteatose, evidenciada por biópsia ou por exames de imagem, na ausência de ingestão de álcool maior que 20 g/dia para mulheres e 30g/dia para homens. Pode se manifestar como esteatose simples ou como esteatohepatite não alcoólica (EHNA). Esteatose simples consiste no estágio inicial da DHGNA e caracteristicamente não progride para uma doença mais grave na maioria dos pacientes, sendo considerada uma condição relativamente benigna. A EHNA é caracterizada, além da esteatose, por lesão dos hepatócitos (balonização), inflamação e fibrose, podendo evoluir para doença hepática avançada e carcinoma hepatocelular (CHC). Ainda que não seja possível prever quais pacientes com esteatose irão evoluir com progressão da doença, a presença de fatores de risco metabólicos, idade e etnia têm sido associados a maior risco de EHNA.⁶⁵

A prevalência da DHGNA varia de 6% a 58% de acordo com o método diagnóstico utilizado e com a população estudada, sendo estimada em 25% da população mundial.⁶⁶ Na presença de obesidade ou DM, a prevalência aumenta para aproximadamente 75%.⁶⁷ Estima-se que, em um período de seguimento de 10 a 15 anos, em torno de 20% dos pacientes com esteatose irão progredir para EHNA, aproximadamente um terço dos pacientes com EHNA desenvolverão fibrose e 15 a 20% dos pacientes com fibrose irão progredir para cirrose.^{68,69} A prevalência de EHNA é estimada em 1,5 a 6,4% da população geral.⁶⁶

A DHGNA está fortemente associada a obesidade, DM, RI e SM. A RI tem importante papel na sua fisiopatologia, ocorrendo independente de obesidade e DM.⁷⁰ Leva a lipólise acelerada no tecido adiposo, causando um aumento do fluxo de ácidos graxos para o fígado, além de estar relacionada a lipogênese *de novo* (síntese de ácidos graxos livres no fígado), com ambos os mecanismos levando ao acúmulo de gordura hepática. Segundo a hipótese atualmente aceita para a etiopatogenia da DHGNA, denominada de “múltiplos *hits*”,⁷¹ o desequilíbrio no metabolismo lipídico e a RI são considerados o “primeiro *hit*”. Após o acúmulo de lipídeos hepáticos, o fígado torna-se então mais vulnerável a uma série de fatores (“múltiplos *hits*”) incluindo citocinas pró-inflamatórias, adipocinas, toxinas bacterianas derivadas do intestino,

disfunção mitocondrial e dano oxidativo. Tais fatores podem estimular inflamação, apoptose e fibrose, levando à doença hepática progressiva.

Aumento dos níveis séricos das aminotransferases é, em geral, a única anormalidade bioquímica encontrada em pacientes com DHGNA. No entanto, muitos pacientes não apresentam alterações laboratoriais e não é incomum que pacientes com EHNA e aminotransferases normais evoluam com fibrose. Portanto, não existe correlação entre níveis séricos de aminotransferases e gravidade histológica da doença hepática, com formas graves de DHGNA sendo frequentemente observadas em pacientes com níveis normais de aminotransferases.⁷²

A US abdominal é reconhecida como uma ferramenta diagnóstica de rastreamento útil por ser um método não invasivo, de rápida realização, amplamente disponível e de baixo custo. Apresenta acurácia satisfatória para detecção de esteatose hepática, com alta sensibilidade e especificidade,^{73,74} principalmente quando a área total de hepatócitos com esteatose excede 30%. Em uma meta-análise que avaliou a acurácia do método em 49 estudos, a sensibilidade encontrada foi de 84,8% e especificidade de 93,6% na presença de mais de 20% a 30% de infiltração adiposa.⁷⁵ Em níveis menores de conteúdo hepático gorduroso, a acurácia é significativamente reduzida, resultando em elevadas taxas de falso negativo.⁷⁶ Observa-se também redução da sensibilidade na presença de obesidade.^{77,78} Como outras desvantagens, o método é operador dependente, apresenta baixa acurácia para quantificar a esteatose⁷⁹ e não fornece informações sobre inflamação e fibrose.

Na busca de alternativas ao diagnóstico de esteatose, têm sido propostos biomarcadores baseados em parâmetros antropométricos e metabólicos, alguns deles validados com correlação histológica, como o *Fatty Liver Index* (FLI) e o *Hepatic Steatosis Index* (HSI).⁸⁰ O FLI tem demonstrado boa performance em detectar gordura hepática em estudos populacionais.⁸¹ Consiste em um algoritmo baseado no IMC, CA, TG e GGT, e é considerado um preditor simples e acurado de esteatose.⁸² Seu valor varia de 0 a 100 e sugere a presença de infiltração hepática gordurosa com um ponto de corte ≥ 60 , apresentando sensibilidade de 61% e especificidade de 86%. O HSI é calculado utilizando alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), IMC e presença de DM. Detecta esteatose se ≥ 36 , com sensibilidade de 93,1% e especificidade de 92,4%.⁸³

O padrão ouro para o diagnóstico e estadiamento da DHGNA é a biópsia hepática. No entanto, é um método invasivo, de alto custo, apresenta erros de amostragem, e está relacionado a morbidade e mortalidade decorrentes de complicações do procedimento.⁸⁴ Dentro do espectro da DHGNA, a presença de fibrose hepática é um dos principais fatores prognósticos e o grau de fibrose está associado ao risco de desenvolvimento de cirrose hepática e carcinoma hepatocelular. Identificar pacientes com fibrose mais avançada é essencial no manejo destes. Devido às limitações da biópsia, tem se recorrido a métodos não invasivos para auxiliar na avaliação de fibrose hepática, que incluem escores clínicos e métodos de avaliação da elasticidade do parênquima hepático.

Duas opções de escores clínicos atualmente utilizados para predição de fibrose na DHGNA são o *NAFLD Fibrosis Score*⁸⁵ e o FIB4,^{86,87} que demonstram elevados valores preditivos negativos (VPN), permitindo excluir fibrose significativa e reduzir as indicações de biópsia hepática. Apresentam como vantagens a simplicidade dos parâmetros utilizados e o baixo custo. O *NAFLD fibrosis score* é atualmente o biomarcador mais estudado e validado para estratificação de risco em pacientes com DHGNA. Seu cálculo utiliza os seguintes dados clínicos e laboratoriais: idade, IMC, glicemia de jejum alterada, relação AST/ALT, contagem de plaquetas e albumina. Um escore menor que -1,455 exclui fibrose avançada (VPN de 93%), enquanto um escore maior que 0,676 é preditor de fibrose avançada, com alto valor preditivo positivo (VPP de 90%).⁸⁵ Escores entre esses valores são definidos como indeterminados e requerem outros marcadores não invasivos ou a biópsia hepática para avaliação do estágio da fibrose. O *FIB-4* foi descrito inicialmente para avaliação de fibrose hepática em pacientes portadores de coinfeção HIV/HCV, tendo sido demonstrado por regressão logística multivariada que idade, AST, ALT e plaquetas são preditores independentes de fibrose.⁸⁶ Para seu uso na DHGNA, utilizando-se o limite de < 1,30, foi obtido um VPN de 90% para fibrose avançada, enquanto que, ao se considerar valores >3,25, obteve-se um VPP de 75% para fibrose avançada.⁸⁷

A elastografia hepática transitória (EHT) propõe a avaliação por um método não-invasivo da elasticidade tissular em pacientes com doenças hepáticas crônicas para estimar o grau de fibrose, em alternativa à biópsia.⁸⁸ Avalia a elasticidade hepática medindo a velocidade de uma onda de deformação elástica de baixa frequência (50Hz), que se propaga através do fígado. Esta velocidade está diretamente relacionada à rigidez do tecido: quanto mais rígido, mais rapidamente a onda se propaga. Os resultados são expressos em quilopascals (kPa) e variam na

população normal de 2,5 a 7,0 kPa.⁸⁹ As vantagens da EHT incluem tempo curto do procedimento (< 5 min), resultados imediatos, possibilidade de realização no leito ou ambulatoriamente, facilidade de aprendizado, capacidade de avaliação de um volume de tecido hepático em torno de 100 a 200 vezes o tamanho da biopsia hepática, e excelente concordância inter e intra-observador. Apresenta limitações pelo fato de vários outros fatores clínicos poderem afetar a elasticidade hepática, como: idade, sexo, obesidade, colestase extrahepática, inflamação hepática, ascite, ingestão alimentar recente, insuficiência cardíaca congestiva. Uma particularidade da EHT refere-se à análise dos pontos de corte, pois para cada etiologia de hepatopatia, diferentes estágios de fibrose apresentam valores distintos de rigidez hepática. Além de ser considerado atualmente o melhor método não invasivo para diagnosticar cirrose, independentemente da etiologia,⁹⁰ tem se mostrado também uma modalidade útil para caracterizar a presença e a gravidade da esteatose hepática através de um novo parâmetro que mede a atenuação do ultrassom, chamado *Controlled Attenuation Parameter (CAP)*, apresentando ótima correlação com esteatose confirmada histologicamente.⁹¹

2.5 - Associação entre DHGNA e SOP

A primeira evidência de DHGNA em uma paciente com SOP foi descrita em 2005, por *Brown* e colaboradores, com relato de EHNA documentada por biopsia hepática em uma paciente de 24 anos, sem história de consumo de álcool, que apresentava aumento das transaminases.⁹² Esse relato de caso foi seguido por um estudo retrospectivo realizado para avaliar os níveis de aminotransferases em pacientes com SOP que observou que 30% das 70 mulheres estudadas apresentavam elevação de ALT.⁹³

Desde então, vários estudos foram publicados confirmando a associação entre SOP e DHGNA. A prevalência de DHGNA em pacientes com SOP varia nas diferentes populações estudadas, dependendo da etnia e dos métodos diagnósticos empregados. Em estudos que utilizaram a US para a detecção de esteatose, as prevalências encontradas variaram de 24% a 70% (quadro 3).

Quadro 3. Estudos de prevalência de DHGNA em pacientes com SOP, utilizando como critério diagnóstico a presença de esteatose à ultrassonografia abdominal, a maioria com grupos controle semelhantes em IMC

Referência	Ano	País	N SOP/ controle	IMC (Kg/m ²) SOP Mediana ou Média ± SD	Prevalência esteatose SOP (%)	Prevalência esteatose Controle (%)	Valor de <i>p</i>
Gambarin-Gelwan, M ⁹⁴	2007	EUA	88/-	26,9	55,0	-	-
Cerda, C ⁹⁵	2007	Chile	41/30	30,4 ± 7.1	41,5	19,4	0,046
Vassilatou, E ⁹⁶	2010	Grécia	57/60	28,3 ± 7.6	36,8	20,0	< 0,05
Ma, R ⁹⁷	2011	China	117/-	24,3 ± 5.3	39,3	-	-
Qu, Z ⁹⁸	2103	China	602/588	29,1 ± 3.2	32,9	18,5	< 0,001
Karoli, R ⁹⁹	2013	India	54/55	27,2 ± 5,4	66,7	25,0	0,001
Gutierrez-Grobe ¹⁰⁰	2014	México	197/-	22,9 ± 3,2	46,2	-	-
Kuliczowska, J ¹⁰¹	2014	Polônia	173/125	28,7 ± 7.4	69,7	30,3	< 0,001
Romanowski, M ¹⁰²	2015	Brasil	101/30	28,5 ± 6,0	23,8	3,3	0,01
Macut, D ¹⁰³	2016	Grécia	600/125	30,6 ± 6,9	50,6	34,0	0,002
Cai, J ¹⁰⁴	2017	China	400/100	25,9 ± 5,5	56,2	38,0	0,001
Zhang, J ¹⁰⁵	2018	China	188/65	25,1 ± 3.2	44,6	24,6	< 0,05
Vassilatou, E ¹⁰⁶	2018	Grécia	145/145	31,8 ± 6.9	54,0	37,0	0.01

Abreviaturas: DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; SOP: Síndrome dos ovários policísticos; N: número de pacientes com SOP e do grupo controle; IMC: Índice de massa corporal; SD: desvio padrão

Diferentes fatores relacionados à concomitância de SOP e DHGNA têm sido propostos na fisiopatologia dessa associação, com destaque para RI,^{94,95,105} obesidade,^{94,98} adiposidade central^{97,100} e SM.^{99,102,107} Mas, apesar das várias publicações tentando elucidar a relação entre as duas doenças, persiste ainda a dúvida se a DHGNA associa-se a SOP devido aos fatores comuns às duas condições ou se a SOP contribui para a DHGNA de forma independente.

Alterações endócrinas e metabólicas se sobrepõem formando uma complexa rede multifatorial. Um primeiro elo na etiopatogênese de ambas as condições é estabelecido pela RI, considerada evento chave. É observada em 50% a 80% das mulheres com ambos os diagnósticos, afetando tanto obesas como eutróficas.^{103,108,109} A distribuição central do tecido adiposo observada em pacientes com SOP também é um fator importante, uma vez que o tecido adiposo visceral é mais resistente à ação da insulina que o tecido adiposo subcutâneo.¹¹⁰

Embora obesidade e RI sejam consideradas fatores principais, sua presença não é suficiente para esclarecer completamente a associação DHGNA e SOP. A elevada prevalência de DHGNA em pacientes jovens com SOP, independente da presença de obesidade e de SM, demonstra que essa associação não é explicada apenas pela sobreposição de obesidade em ambas as condições, mas também por outros mecanismos.¹¹¹

Há evidências de que o excesso de androgênio seja um fator contribuinte adicional para a ocorrência de DHGNA em pacientes com SOP.^{112,113} Recentes meta-análises evidenciaram que mulheres com SOP e hiperandrogenismo apresentam maior prevalência de DHGNA quando comparadas a mulheres com SOP sem hiperandrogenismo, mesmo após ajuste de potenciais variáveis confundidores, como IMC, adiposidade e RI.^{3,114} Mulheres com SOP e DHGNA apresentam redução dos níveis de SHBG e aumento dos valores do ILA quando comparadas a mulheres sem DHGNA.^{96,104} Porém, esses achados não foram confirmados em dois estudos.^{115,116}

Apesar da presença de hiperandrogenismo parecer aumentar o risco de DHGNA nas pacientes com SOP, não se sabe ainda se RI e hiperandrogenismo são fatores concomitantes ou independentes na fisiopatologia da DHGNA.

As dúvidas em relação aos mecanismos fisiopatológicos dessa associação dificultam o rastreamento adequado e a identificação das pacientes com SOP que apresentam maior risco de desenvolverem DHGNA. Existem poucos dados em nosso meio sobre a prevalência e a gravidade da doença hepática em mulheres com SOP e sobre as características clínicas e metabólicas mais prevalentes na concomitância dessas duas condições. O conhecimento dos fatores relacionados ao risco de DHGNA nessas pacientes possibilitaria uma intervenção precoce para evitar o desenvolvimento da lesão hepática ou reduzir a possibilidade de progressão da doença.

3.0-OBJETIVOS

Objetivo primário:

Investigar a prevalência de DHGNA identificada por ultrassonografia de abdome em pacientes com diagnóstico de SOP acompanhadas no Ambulatório de Hiperandrogenismo do Hospital das Clínicas da UFMG e comparar à prevalência em pacientes sem diagnóstico de SOP.

Objetivos secundários:

- Comparar as características clínicas e antropométricas entre pacientes com diagnóstico de SOP e mulheres sem SOP com IMC semelhante;
- Descrever em pacientes com DHGNA e SOP as características antropométricas e laboratoriais incluindo idade, IMC, CA, glicemia, perfil lipídico, aminotransferases, GGT com identificação das seguintes comorbidades clínicas: hipertensão arterial, DM, IG, hiperandrogenismo, resistência insulínica e síndrome metabólica.
- Investigar fatores clínicos, antropométricos e metabólicos associados ao diagnóstico de DHGNA em pacientes com SOP;
- Avaliar a prevalência de esteatose em pacientes com diagnóstico de SOP e DHGNA utilizando-se escores FLI e HSI;
- Descrever os fenótipos observados da SOP e investigar associações entre os mesmos e o diagnóstico de DHGNA;
- Realizar o estadiamento da DHGNA em pacientes com SOP utilizando-se marcadores nãoinvasivos de fibrose (*NAFLD fibrosis score*, FIB4, elastografia hepática transitória).

4.0 – PARTICIPANTES E MÉTODOS

Trata-se de estudo observacional transversal com inclusão prospectiva de pacientes, realizado no período de setembro de 2016 a agosto de 2018. Foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (nº 090/2016). (Anexo 1)

4.1 – Participantes

Foram convidadas e selecionadas a participar do estudo mulheres com diagnóstico de SOP, estabelecido segundo os critérios de Rotterdam, acompanhadas no Ambulatório de Hiperandrogenismo do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HCUFMG). Esse ambulatório recebe pacientes com sintomas de hiperandrogenismo, disfunção ovulatória e infertilidade e estas são avaliadas segundo protocolo do serviço (Anexo 2), que inclui identificação dos critérios diagnósticos de SOP e exclusão de outras endocrinopatias. As pacientes são avaliadas sem estarem em uso de anticoncepcional oral durante a propedêutica.

Todas as pacientes com diagnóstico de SOP atendidas no Ambulatório de Hiperandrogenismo no período de setembro de 2016 a agosto de 2018 foram convidadas a participar do estudo e aquelas que concordaram foram encaminhadas para avaliação por nutricionista, que realizou a seleção das pacientes segundo os seguintes critérios de inclusão:

- Idade entre 18 e 50 anos;
- Uso de álcool < 20g de etanol/dia;
- Ausência de outras hepatopatias conhecidas previamente;
- Ausência de uso nos últimos 6 meses de drogas que possam causar esteatose (tamoxifeno, corticosteróide, amiodarona, diltiazem);
- Ausência de contato profissional com petroquímicos;
- Concordância em participar do estudo;
- Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexo 3)

O critério de exclusão foi:

- Desistência em participar do estudo

Também foram incluídas, para constituir grupo controle, mulheres sem diagnóstico de SOP, atendidas no Ambulatório de Ginecologia do HC-UFMG para consulta ginecológica de rotina, pareadas por IMC. Foram recrutadas para esse grupo mulheres que apresentavam história de ciclos menstruais regulares, ausência de evidência clínica de hiperandrogenismo ou história de infertilidade, não estavam em uso de medicamentos causadores de esteatose e relatavam consumo de álcool menor que 20g/dia.

O cálculo do tamanho da amostra foi executado a partir de estudo piloto com 30 pacientes, em que as prevalências de esteatose hepática avaliada por US do abdome foram de 76,0% no grupo de pacientes com SOP e 42,0% das pacientes sem diagnóstico de SOP. Adotou-se como hipótese nula: a prevalência de DHGNA em pacientes com SOP é a mesma que em pacientes sem SOP, e, como hipótese alternativa: a prevalência de DHGNA em pacientes com SOP é diferente daquela em pacientes sem SOP; α (bilateral)=0,05 e β =0,2. O tamanho estimado da amostra foi de 35 pacientes do grupo SOP e 35 pacientes do grupo controle.

4.2- Avaliação clínica, antropométrica, laboratorial e metabólica

Preenchidos os critérios de inclusão e assinado o TCLE, a nutricionista realizou aferição de dados antropométricos (peso, altura, CA) e registro de história clínica (uso de medicamentos, diagnóstico prévio de hipertensão arterial, DM, dislipidemia) (Anexo 4).

A CA foi medida no ponto médio entre a crista ilíaca e a margem mais inferior do arco costal ao final da expiração normal.

Dados como escore de Ferriman-Gallwey, classificação do fenótipo da SOP e resultados de exames laboratoriais recentes (até seis meses entre a coleta e a data de inclusão no estudo), incluindo glicemia de jejum, glicohemoglobina, teste de tolerância oral à glicose (TTOG), insulina, transaminases, gama-glutamil transferase (GGT), testosterona total, perfil lipídico, foram obtidos por revisão de prontuários médicos, realizada pelos pesquisadores. Com os dados coletados foram calculados índices (IMC, FLI, HSI, HOMA-IR, LAP, VAI) e definida a presença ou não de RI e SM.

Conforme orientação do consenso do NIH 2012,²³ as pacientes foram divididas em quatro fenótipos: A (HA + OD + PCOM), B (HA + OD), C (HA + PCOM), D (OD + PCOM).

O IMC foi calculado pela fórmula: peso (kg)/ altura (m)² e as pacientes foram agrupadas de acordo com o IMC segundo a *World Health Organization* em: eutróficas (IMC < 25,0 kg/m²), sobrepeso (IMC de 25,0 a 29,9 kg/m²), obesidade grau I (IMC de 30,0 a 34,9 kg/m²), obesidade grau II (IMC de 35,0 a 39,9 kg/m²) e obesidade grau III (IMC ≥ 40,0 kg/m²). As pacientes foram também categorizadas de acordo com o IMC em não obesas (IMC <29,9) e obesas (IMC ≥ 30).

Para o diagnóstico de DM, foram utilizados os critérios recomendados pela *International Diabetes Federation* (IDF):⁴⁸

- 2 glicemias de jejum em dias diferentes ≥ 126 mg/dl ou
- 2 resultados do TTOG ≥ 200mg/dl ou
- 1 glicemia casual ≥ 200mg/dl com sintomas (poliúria, polifagia, polidipsia) ou
- 2 glicohemoglobinas > 6,5%

A IG foi considerada se glicemia entre 140 e 199 mg/dl 2h após 75g dextrosol.

Na avaliação da RI, foram utilizados como índices o HOMA-IR, LAP e VAI, assim calculados:

- HOMA-IR = insulina de jejum (μUI/ml) x glicemia de jejum (mg/dl) /405. RI foi considerado quando maior ou igual a 2,7.¹¹⁷
- LAP = (CA – 58) x TG (nmol/L). RI foi considerado se maior ou igual a 34,5.⁶⁰
- VAI = [(CA/36,58 – 1.89 x IMC)] x [TG/0,81] x [1,52/ HDL]. RI foi considerado se maior ou igual a 1,675.¹¹⁸

Para a definição da presença de SM, foram utilizados os critérios propostos pela IDF, que requerem a presença de CA ≥ 80 cm e dois dos quatro fatores: PA ≥ 130/85 mmHg ou tratamento para hipertensão arterial, glicemia de jejum ≥ 100 mg/dl ou diagnóstico de DM, HDL < 50 mg/dl, triglicérides ≥ 150 mg/dl ou tratamento de dislipidemia.

O perfil lipídico alterado foi considerado se $TG \geq 150$ mg/dl, e/ou $HDL < 50$ mg/dl, e/ou lipoproteínas de baixa densidade (LDL) > 160 mg/dl.

A avaliação clínica e laboratorial do excesso de hormônios androgênicos foi realizada no momento do diagnóstico da SOP. Como o laboratório do HC-UFGM não realiza na rotina as dosagens de testosterona livre e SHBG, utiliza-se a medida da testosterona total. A presença de hirsutismo foi determinada se escore ≥ 8 na escala de Ferriman-Gallwey modificada.³⁷

Aumento nos níveis de transaminases e GGT foi definido como valores excedendo o limite superior dos valores de referência do laboratório ($ALT > 69$ UI/L, $AST > 46$ UI/L e $GGT > 43$ UI/L).

Nas participantes do grupo controle, foram coletados os seguintes dados: idade, CA, peso, altura, história de diagnóstico prévio de HAS e DM, uso de medicamentos (Anexo 5).

4.3 – Diagnóstico e estadiamento da DHGNA

As pacientes dos grupos SOP e controle foram submetidas a US abdominal no Serviço de Diagnóstico por Imagem do HC-UFGM por dois radiologistas com mais de 15 anos de experiência, de forma independente e sem informação sobre a presença ou ausência do diagnóstico de SOP, utilizando aparelho de US com transdutor convexo de 3,5 MHz (Toshiba Xario, Tochigi, Japan). Um plano sagital demonstrando o parênquima hepático e o rim direito foi selecionado para determinar a ecogenicidade. Ausência de esteatose foi definida como ecogenicidade do parênquima hepático semelhante à do córtex renal, clara visualização dos vasos intra-hepáticos e do diafragma (figura 1). O diagnóstico ultrassonográfico de esteatose hepática foi estabelecido com base na análise dos seguintes achados: ecogenicidade do parênquima hepático maior que a do córtex renal, atenuação posterior do feixe de US, borramento da parede das veias hepáticas e do diafragma (figuras 2 e 3).

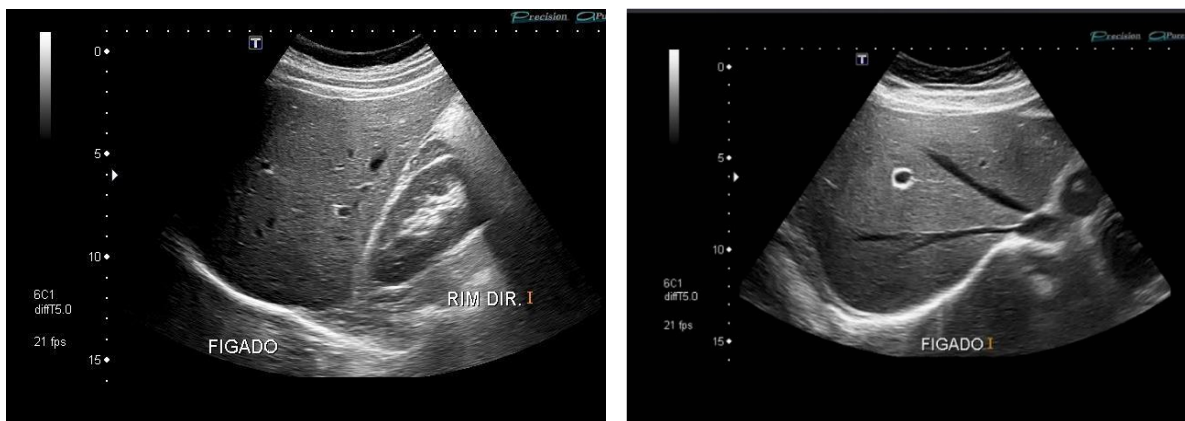


Figura 1. US Plano sagital – Ausência de esteatose (ecogenicidade do parênquima hepático igual ao do córtex renal, clara visualização dos vasos intra-hepáticos e do diafragma)

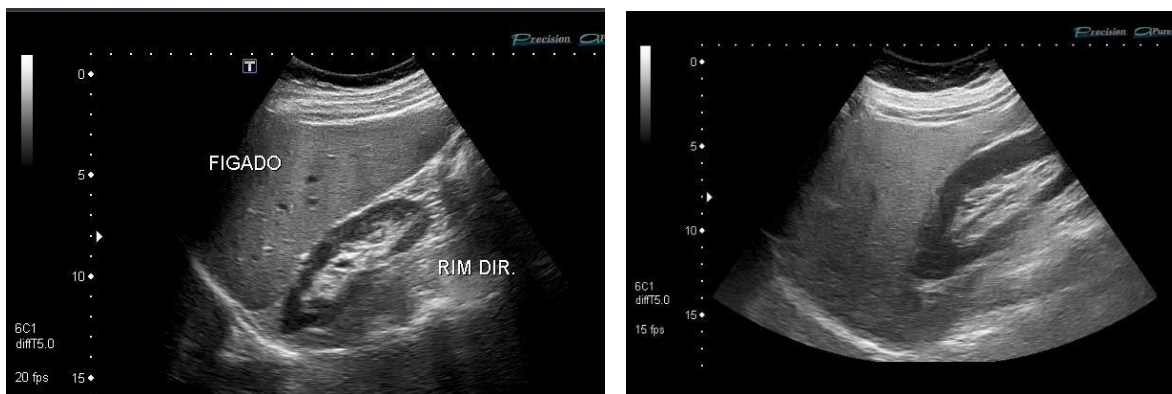


Figura 2. US Plano sagital – Presença de esteatose (ecogenicidade do parênquima hepático maior que do córtex renal)

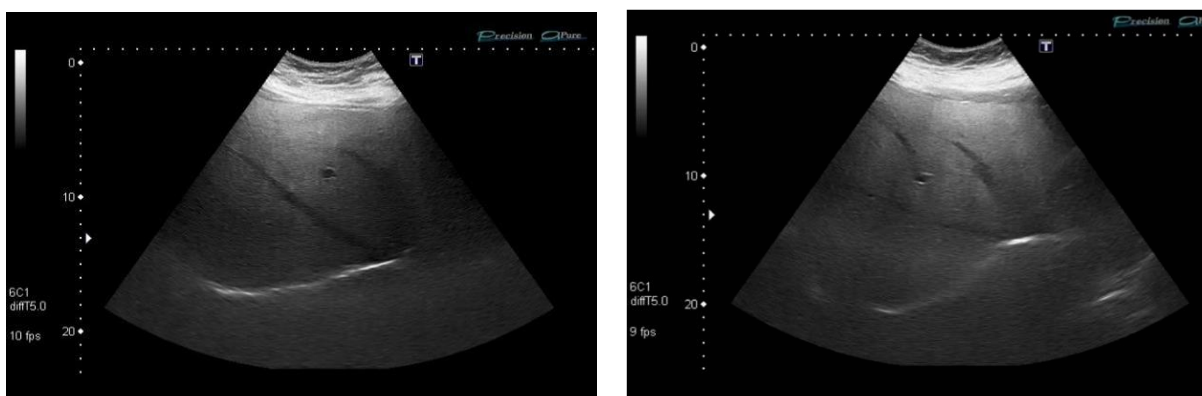


Figura 3. US Plano sagital – Presença de esteatose (atenuação posterior do feixe de ultrassom, borrimento da parede das veias hepáticas e do diafragma)

Os escores preditores de esteatose FLI e HSI foram calculados a partir das seguintes fórmulas:

- $FLI = [e0,953 \times \ln(TG) + 0,139 \times IMC + 0,718 \times \ln(GGT) + 0,053 \times CA - 15,745] / [1 + e0,953 \times \ln(TG) + 0,139 \times IMC + 0,718 \times \ln(GGT) + 0,053 \times CA - 15,745] \times 100$
- $HSI = 8 \times ALT/AST + IMC + 2(\text{se sexo feminino}) + 2(\text{se DM})$
- Os cálculos foram feitos usando os seguintes endereços eletrônicos:
- www.mdcalc.com/fatty-liver-index/
- www.mdapp.co/hepatic-steatosis-index-hsi-calculator-357/

Segundo esses índices, ausência de esteatose é definido se $FLI < 30$ e $HSI < 30$ e considera-se a presença de esteatose se $FLI \geq 60$ e $HSI \geq 36$.^{82,83}

As pacientes do grupo SOP com esteatose hepática identificada à US foram encaminhadas para avaliação por hepatologista no Ambulatório de DHGNA do Instituto Alfa de Gastroenterologia do HC-UFMG, onde foram submetidas à propedêutica usual desse serviço (Anexo 6), que inclui: anamnese, exame físico, provas de função hepática, sorologias de hepatites virais, autoanticorpos, eletroforese de proteínas, cinética de ferro, dosagens séricas de ceruloplasmina e alfa-1 antitripsina, perfil lipídico, glicemia de jejum, glicohemoglobina, dosagem de insulina, função tireoidiana, 25-hidroxi-vitamina D. Foram excluídas outras etiologias de doença hepática, incluindo hepatites B e C, hepatite autoimune, hemocromatose, doença de Wilson, colangite biliar primária, colangite esclerosante primária.

Com base nos resultados laboratoriais, foi calculado o *NAFLD score* e o FIB4, a partir das seguintes fórmulas:

- $NAFLD \text{ fibrosis score} = - 1,675 + (0,037 \times \text{idade}) + (0,094 \times IMC) + (1,13 \times IG/\text{diabetes}) (\text{sim}=1, \text{não}=0) + (0,99 \times AST/ALT) - (0,013 \times \text{plaquetas}) - (0,66 \times \text{albumina})$
- $FIB4 = \text{idade} \times AST / \text{plaquetas} \times \sqrt{ALT}$
- Os cálculos foram feitos usando os seguintes endereços eletrônicos:
- <http://gihep.com/calculators/hepatology/nafl-d-fibrosis-score/>
- <http://gihep.com/calculators/hepatology/fibrosis-4-score/>

Para o NALFD score, os valores de corte utilizados para excluir ou prever fibrose avançada foram, respectivamente, $< -1,455$ e $> 0,676$.⁸⁵ Para o FIB4, os valores de corte para excluir ou prever fibrose avançada foram $< 1,30$ e $> 3,25$, respectivamente.⁸⁷

Para realização da elastografia hepática, foi utilizado o FibroScan® (Echosens, Paris, France), sonda XL, sendo incluídos apenas resultados com IQR/med $< 30\%$, correspondendo ao intervalo interquartil da variabilidade de medições.¹¹⁹ Foram avaliados os seguintes parâmetros: coeficiente kPa para a classificação de fibrose⁸⁹ e CAP para graduação da esteatose.¹²⁰

A biópsia hepática foi realizada a partir de indicação clínica, a saber: aumento das transaminases mais de duas vezes o valor de referência, presença de SM ou DM. As lâminas foram avaliadas por um patologista no Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG. Os achados histológicos foram classificados de acordo com os critérios de *Kleiner*¹²¹ baseados nos seguintes parâmetros: esteatose hepática, inflamação lobular e balonização de hepatócitos. A classificação do estágio de fibrose hepática foi realizada seguindo os critérios de avaliação de Metavir:¹²² F0 sem fibrose, F1 fibrose portal e periportal sem septações, F2 fibrose portal e periportal com raras septações, F3 fibrose portal e periportal com muitas septações, esboçando nódulos e F4 cirrose.

4.4 – Análise estatística

Foi utilizado o programa SPSS para Windows, versão 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Os testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk foram utilizados para testar a normalidade da distribuição de variáveis contínuas. Nas análises descritivas para a caracterização da amostra, as variáveis contínuas foram expressas como médias e desvio padrão ou medianas e variação, e as variáveis categóricas como frequências e porcentagens. O teste de Levine foi utilizado para comparar a variância entre os grupos. Regressão logística univariada foi realizada para avaliar a associação da esteatose detectada pela US com as seguintes variáveis: idade, IMC, CA, fenótipo da SOP, níveis de CT, LDL, HDL, TG, insulina, testosterona total, transaminases, GGT, HOMA-IR, LAP, VAI, hiperandrogenismo, SM, RI, HAS, DM, IG, dislipidemia, obesidade, adiposidade central. As diferenças das variáveis contínuas entre grupos foi verificada usando o teste *t* de Student (distribuição normal) para as médias ou o teste de MannWhitney U (distribuição não-normal) para as medianas. Para variáveis categóricas foram

utilizados o teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher para proporções. Um modelo de regressão logística multivariada foi realizada para avaliar fatores independentes associados a esteatose (Regressão de Poisson com variância robusta). Variáveis inicialmente avaliadas por regressão univariada que apresentaram p valor $< 0,20$ com a variável dependente foram incluídas segundo método de seleção *forward*. Foram consideradas relações estatísticas significativas aquelas que apresentaram valor p menor ou igual a 0,05.

5.0 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bedogni, G. *et al.* Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: The dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* **42**, 44–52 (2005).
2. Caldwell, S. H. *et al.* Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* **29**, 664–669 (1999).
3. Wu, J., Yao, X.-Y., Shi, R.-X., Liu, S.-F. & Wang, X.-Y. A potential link between polycystic ovary syndrome and non-alcoholic fatty liver disease: an update metaanalysis. *Reprod. Health* **15**, 1–9 (2018).
4. Kumarapeli, V., Seneviratne, R. D. A., Wijeyaratne, C. N., Yapa, R. M. S. C. & Dodampahala, S. H. A simple screening approach for assessing community prevalence and phenotype of polycystic ovary syndrome in a semiurban population in Sri Lanka. *Am. J. Epidemiol.* **168**, 321–328 (2008).
5. Tehrani, F. R., Simbar, M., Tohidi, M., Hosseinpanah, F. & Azizi, F. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample of Iranian population: Iranian PCOS prevalence study. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **9**, 1–7 (2011).
6. Li, R. *et al.* Prevalence of polycystic ovary syndrome in women in China: A large community-based study. *Hum. Reprod.* **28**, 2562–2569 (2013).
7. Lauritsen, M. P. *et al.* The prevalence of polycystic ovary syndrome in a normal population according to the Rotterdam criteria versus revised criteria including antiMüllerian hormone. *Hum. Reprod.* **29**, 791–801 (2014).
8. Franks, S., Mccarthy, M. I. & Hardy, K. Development of polycystic ovary syndrome: involvement of genetic and environmental factors. *Int. J. Androl.* **29**, 278–285 (2006).
9. Stein, I. F. & Leventhal, M. L. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **29**, 181–191 (1935).
10. Adams, J., Dwpolson, D. & Franks, S. Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed).* **293**, 355–359 (1986).
11. Schwartz, M., Gindoff, P. R. & Jewelewicz, R. Polycystic ovary syndrome: an enigma awaiting solution. *Bull. N. Y. Acad. Med.* **63**, 134–155 (1987).
12. Conway, G. S., Honour, J. W. & Jacobs, H. S. Heterogeneity of the Polycystic Ovary Syndrome: Clinical, Endocrine and Ultrasound Features in 556 Patients. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* **30**, 459–470 (1989).
13. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome; towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens JR, Haseltine F, Merriam G, eds. *Polycystic Ovary Syndrome*. Boston, MA: Blackwell Scientific; 377–384 (1992).
14. Carmina E & Lobo RA. Do hyperandrogenic women with normal menses have PCOS? *Fertil Steril* **71**, 319–322 (1999).
15. Carmina, E. & Lobo, R. A. Polycystic ovaries in hirsute women with normal menses. *Am. J. Med.* **111**, 602–606 (2001).
16. Balen, A. H. *et al.* Poly cystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients. *Hum. Reprod.* **10**, 21–7 (1995).
17. Fauser, B. C. J. M. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* **81**, 19–25 (2004).
18. March, W. A. *et al.* The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum. Reprod.* **25**, 544–551 (2010).
19. Azziz, R. PCOS: A diagnostic challenge. *Reprod. Biomed. Online* **8**, 644–648 (2004).

20. Chang, W. Y., Knochenhauer, E. S., Bartolucci, A. A. & Azziz, R. Phenotypic spectrum of polycystic ovary syndrome: Clinical and biochemical characterization of the three major clinical subgroups. *Fertil. Steril.* **83**, 1717–1723 (2005).
21. Apridonidze, T., Essah, P. A., Iuorno, M. J. & Nestler, J. E. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **90**, 1929–1935 (2005).
22. Azziz, R. *et al.* Position statement: Criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: An androgen excess society guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91**, 4237–4245 (2006).
23. Johnson, T. R. B., Kaplan, L. K., Ouyang, P. & Rizza, R. A. National Institute of Health Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome. *Natl. Institutes Heal.* 1–14 (2012).
24. Dewailly, D., Catteau-Jonard, S., Reyss, A. C., Leroy, M. & Pigny, P. Oligoanovulation with polycystic ovaries but not overt hyperandrogenism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91**, 3922–3927 (2006).
25. Shroff, R., Syrop, C. H., Davis, W., Van Voorhis, B. J. & Dokras, A. Risk of metabolic complications in the new PCOS phenotypes based on the Rotterdam criteria. *Fertil. Steril.* **88**, 1389–1395 (2007).
26. Pehlivanov, B. & Orbetzova, M. Characteristics of different phenotypes of polycystic ovary syndrome in a Bulgarian population. *Gynecol. Endocrinol.* **23**, 604–609 (2007).
27. Guastella, E., Longo, R. A. & Carmina, E. Clinical and endocrine characteristics of the main polycystic ovary syndrome phenotypes. *Fertil. Steril.* **94**, 2197–2201 (2010).
28. Yilmaz, M., Isaoglu, U., Delibas, I. B. & Kadanali, S. Anthropometric, clinical and laboratory comparison of four phenotypes of polycystic ovary syndrome based on Rotterdam criteria. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* **37**, 1020–1026 (2011).
29. Wijeyaratne, C. N. *et al.* Phenotype and metabolic profile of South Asian women with polycystic ovary syndrome (PCOS): Results of a large database from a specialist Endocrine Clinic. *Hum. Reprod.* **26**, 202–213 (2011).
30. Panidis, D. *et al.* Insulin resistance and endocrine characteristics of the different phenotypes of polycystic ovary syndrome: A prospective study. *Hum. Reprod.* **27**, 541–549 (2012).
31. Clark, N. M. *et al.* Prevalence of polycystic ovary syndrome phenotypes using updated criteria for polycystic ovarian morphology: An assessment of over 100 consecutive women self-reporting features of polycystic ovary syndrome. *Reprod. Sci.* **21**, 1034–1043 (2014).
32. Lizneva, D. *et al.* Phenotypes and body mass in women with polycystic ovary syndrome identified in referral versus unselected populations: systematic review and meta-analysis. *Fertil. Steril.* **106**, 1510–1520 (2016).
33. Diamanti-Kandarakis, E. & Panidis, D. Unravelling the phenotypic map of polycystic ovary syndrome (PCOS): A prospective study of 634 women with PCOS. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* **67**, 735–742 (2007).
34. Legro, R. S. *et al.* Polycystic ovaries are common in women with hyperandrogenic chronic anovulation but do not predict metabolic or reproductive phenotype. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **90**, 2571–2579 (2005).
35. Fauser, B. C. J. M. *et al.* Consensus on women’s health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): The Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil. Steril.* **97**, 28–38 (2012).
36. Ferriman, D. & Gallwey, J. D. Clinical Assessment of Body Hair Growth in Women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **21**, 1440–1447 (1961).

37. Hatch, R., Rosenfield, R. L., Kim, M. H. & Tredway, D. Hirsutism: Implications, etiology, and management. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **140**, 815–830 (1981).
38. Al Kindi, M. K., Al Essry, F. S., Al Essry, F. S. & Mula-Abed, W. A. S. Validity of serum testosterone, free androgen index, and calculated free testosterone in women with suspected hyperandrogenism. *Oman Med. J.* **27**, 471–474 (2012).
39. Boureaux, M. Y., Talbott, E. O., Kip, K. E., Brooks, M. M. & Witchel, S. F. Risk of T2DM and impaired fasting glucose among PCOS subjects: Results of an 8-year follow-up. *Curr. Diab. Rep.* **6**, 77–83 (2006).
40. Dokras, A. Cardiovascular disease risk in women with PCOS. *Steroids* **78**, 773–776 (2013).
41. Lim, S. S., Davies, M. J., Norman, R. J. & Moran, L. J. Overweight, obesity and central obesity in women with polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* **18**, 618–637 (2012).
42. Lord, J., Thomas, R., Fox, B., Acharya, U. & Wilkin, T. The central issue? Visceral fat mass is a good marker of insulin resistance and metabolic disturbance in women with polycystic ovary syndrome. *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* **113**, 1203–1209 (2006).
43. Carmina, E. *et al.* Abdominal fat quantity and distribution in women with polycystic ovary syndrome and extent of its relation to insulin resistance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **92**, 2500–2505 (2007).
44. Borrueal, S. *et al.* Global adiposity and thickness of intraperitoneal and mesenteric adipose tissue depots are increased in women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **98**, 1254–1263 (2013).
45. Faloia, E. *et al.* Body composition, fat distribution and metabolic characteristics in lean and obese women with polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Invest* **27**, 424–429 (2004).
46. Boumosleh, J. M. *et al.* Metabolic Concomitants of Obese and Nonobese Women With Features of Polycystic Ovarian Syndrome. *J. Endocr. Soc.* **1**, 1417–1427 (2017).
47. D. Gallagher, S. B. Heymsfield, M. Heo, S. A. Jebb, P. R. Murgatroyd, and Y. S. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *The American Journal of Clinical Nutrition* **72**, 694–701 (2000).
48. Alberti, K. G. M. M., Zimmet, P. & Shaw, J. The metabolic syndrome - A new worldwide definition. *Lancet* **366**, 1059–1062 (2005).
49. Amato, M. C. *et al.* Visceral Adiposity Index. *Diabetes Care* **33**, 920–922 (2010).
50. Glueck, C. J. *et al.* Obesity and extreme obesity , manifest by ages 20 – 24 years, continuing through 32 – 41 years in women , should alert physicians to the diagnostic likelihood of polycystic ovary syndrome as a reversible underlying endocrinopathy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **122**, 206–212 (2005).
51. Yildiz, B. O., Knochenhauer, E. S. & Azziz, R. Impact of Obesity on the Risk for Polycystic Ovary Syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **93**, 162–168 (2008).
52. Chang, R., Nakamura, R., Judd, H. & Kaplan, S. Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **57**, 356–359 (1983).
53. Dunaif, A., Segal, K. R., Futterweit, W. & Dobrjansky, A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* **38**, 1165–1174 (1989).
54. DeUgarte, C. M., Bartolucci, A. A. & Azziz, R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment. *Fertil. Steril.* **83**, 1454–1460 (2005).

55. Diamanti-Kandarakis, E. & Dunaif, A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: An update on mechanisms and implications. *Endocr. Rev.* **33**, 981–1030 (2012).
56. Willis, D. & Franks, S. Insulin action in human granulosa cells from normal and polycystic ovaries is mediated by hte insulin receptor and not the type-I insuline-like growth factor receptor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **80**, 3788–3790 (1995).
57. Kumar, A., Woods, K. S., Bartolucci, A. A. & Azziz, R. Prevalence of adrenal androgen excess in patients with the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. **62**, 644–649 (2005).
58. Matthews, D. R. *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* **28**, 412–419 (1985).
59. Wallace, T. M., Levy, J. C. & Matthews, D. R. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* **27**, 1487–1495 (2004).
60. Wiltgen, D., Benedetto, I. G., Mastella, L. S. & Spritzer, P. M. Lipid accumulation product index: A reliable marker of cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* **24**, 1726–1731 (2009).
61. Ehrmann, D. A. *et al.* Prevalence and Predictors of the Metabolic Syndrome in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91**, 48–53 (2006).
62. Panidis, D. *et al.* Prevalence of metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. **78**, 586–592 (2013).
63. Wild, R. A. *et al.* Assessment of cardiovascular risk and prevention of cardiovascular disease in women with the polycystic ovary syndrome: A consensus statement by the androgen excess and polycystic ovary syndrome (AE-PCOS) society. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**, 2038–2049 (2010).
64. Ramezani Binabaj, M., Motalebi, M., Karimi-Sari, H., Rezaee Zavareh, M. S. & Alavian, S. M. Are Women With Polycystic Ovarian Syndrome at a High Risk of NonAlcoholic Fatty Liver Disease? A Meta-Analysis. *Hepat. Mon.* **14**, 1–6 (2014).
65. Marchesini, G. *et al.* EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J. Hepatol.* **64**, 1388–1402 (2016).
66. Chalasani, N. *et al.* The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* **67**, 328–357 (2018).
67. Williams, C. D. *et al.* Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: A prospective study. *Gastroenterology* **140**, 124–131 (2011).
68. Bondini, S., Kleiner, D. E., Goodman, Z. D., Gramlich, T. & Younossi, Z. M. Pathologic Assessment of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. **11**, 17–23 (2007).
69. Younossi, Z. M. *et al.* Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Metaanalytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* **64**, 73–84 (2016).
70. Utzschneider, K. M. & Kahn, S. E. The Role of Insulin Resistance in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91**, 4753–4761 (2006).
71. Buzzetti, E., Pinzani, M. & Tsochatzis, E. A. The multiple-hit pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism.* **65**, 1038–1048 (2016).
72. Rinella, M. E. Nonalcoholic fatty liver disease a systematic review. *JAMA - J. Am. Med. Assoc.* **313**, 2263–2273 (2015).

73. Joseph, A. E. A., Saverymuttu, S. H., Al-Sam, S., Cook, M. G. & Maxwell, J. D. Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease. *Clin. Radiol.* **43**, 26–31 (1991).
74. Palmentieri, B. *et al.* The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. *Dig. Liver Dis.* **38**, 485–489 (2006).
75. Hernaez, R. *et al.* Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: A meta-analysis. *Hepatology* **54**, 1082–1090 (2011).
76. Dasarathy, S. *et al.* Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: A prospective study. *J. Hepatol.* **51**, 1061–1067 (2009).
77. Mottin, C. C. *et al.* The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients. *Obes. Surg.* **14**, 635–637 (2004).
78. Liang, R.-J. *et al.* Diagnostic Value of Ultrasonographic Examination for Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients Undergoing Laparoscopic Bariatric Surgery. *Obes. Surg.* **17**, 45–56 (2007).
79. Fishbein, M. *et al.* Hepatic MRI for fat quantitation: Its relationship to fat morphology, diagnosis, and ultrasound. *J. Clin. Gastroenterol.* **39**, 619–625 (2005).
80. Fedchuk, L. *et al.* Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **40**, 1209–1222 (2014).
81. Huang, X. *et al.* Validation of the Fatty Liver Index for Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Middle-Aged and Elderly Chinese. *Medicine (Baltimore)*. **94**, 1-7 (2015).
82. Bedogni, G. *et al.* The fatty liver index: A simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol.* **6**, 1–7 (2006).
83. Lee, J. H. *et al.* Hepatic steatosis index: A simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig. Liver Dis.* **42**, 503–508 (2010).
84. Gilmore, I., Burroughs, A. & Murray-Lyon, I. Indications, methods and outcomes of percutaneous liver biopsy in England and Wales: an audit by the British Society of Gastroenterology and the Royal College of Physicians of London. *Gut* **36**, 437–41 (1995).
85. Angulo, P. *et al.* The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* **45**, 846–854 (2007).
86. Sterling, R. K. *et al.* Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology* **43**, 1317–1325 (2006).
87. Vilar-Gomez E, Chalasani N. Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers. *J Hepatol* **68**: 305-315 (2017)
88. Europeia, A. & Latinoamericana, A. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Noninvasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J. Hepatol.* **63**, 237–264 (2015).
89. Castera, L., Forns, X. & Alberti, A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J. Hepatol.* **48**, 835–847 (2008).
90. Foucher, J. *et al.* Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): A prospective study. *Gut* **55**, 403–408 (2006).
91. Jun, B. G. *et al.* A prospective comparative assessment of the accuracy of the FibroScan in evaluating liver steatosis. *PLoS One* **12**, 1–14 (2017).
92. Brown AJ, Tendler DA, McMurray RG, S. T. Polycystic ovary syndrome and severe nonalcoholic steatohepatitis: beneficial effect of modest weight loss and exercise on liver biopsy findings. *Endocr Pr.* **11**, 319–324 (2005).

93. Schwimmer, J. B., Khorram, O., Chiu, V. & Schwimmer, W. B. Abnormal aminotransferase activity in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* **83**, 494–497 (2005).
94. Gambarin-Gelwan, M. *et al.* Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **5**, 496–501 (2007).
95. Cerda, C. *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome. *J. Hepatol.* **47**, 412–417 (2007).
96. Vassilatou, E. *et al.* Increased androgen bioavailability is associated with non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* **25**, 212–220 (2010).
97. Ma, R. C. W. *et al.* Sonographic measurement of mesenteric fat predicts presence of fatty liver among subjects with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **96**, 799–807 (2011).
98. Qu, Z., Zhu, Y., Jiang, J., Shi, Y. & Chen, Z. The clinical characteristics and etiological study of nonalcoholic fatty liver disease in Chinese women with PCOS. *Iran. J. Reprod. Med.* **11**, 725–732 (2013).
99. Karoli, R. *et al.* Prevalence of hepatic steatosis in women with polycystic ovary syndrome. *J. Hum. Reprod. Sci.* **6**, 9–14 (2013).
100. Gutierrez-Grobe, Y., Ponciano-Rodríguez, G., Ramos, M. H., Uribe, M. & MéndezSánchez, N. Prevalence of non alcoholic fatty liver disease in premenopausal, postmenopausal and polycystic ovary syndrome women. The role of estrogens. *Ann. Hepatol.* **9**, 402–409 (2014).
101. Kuliczowska Plaksej, J. *et al.* Cannabinoid Receptor 1 Gene Polymorphisms and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Women with Polycystic Ovary Syndrome and in Healthy Controls. *Int. J. Endocrinol.* **2014**, 1–8 (2014).
102. Romanowski, M. D. *et al.* Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Women With Polycystic Ovary Syndrome and Its Correlation With Metabolic Syndrome. *Arq. Gastroenterol.* **52**, 117–123 (2015).
103. Macut, D. *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease is associated with insulin resistance and lipid accumulation product in women with polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* **31**, 1347–1353 (2016).
104. Cai, J. *et al.* High-free androgen index is associated with increased risk of nonAlcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome, independent of obesity and insulin resistance. *Int. J. Obes.* **41**, 1341–1347 (2017).
105. Zhang, J. *et al.* Analyses of risk factors for polycystic ovary syndrome complicated with non-alcoholic fatty liver disease. *Exp. Ther. Med.* **15**, 4259–4264 (2018).
106. Vassilatou, E. *et al.* Visceral adiposity index for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in premenopausal women with and without polycystic ovary syndrome. *Maturitas* **116**, 1–7 (2018).
107. Vassilatou, E. Nonalcoholic fatty liver disease and polycystic ovary syndrome. *World J. Gastroenterol.* **20**, 8351–8363 (2014).
108. Markou, A. *et al.* Hepatic steatosis in young lean insulin resistant women with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* **93**, 1220–1226 (2010).
109. Petta, S. *et al.* Insulin resistance and hyperandrogenism drive steatosis and fibrosis risk in young females with PCOS. *PLoS One* **12**, 1–11 (2017).
110. Carey, D. G., Jenkins, A. B., Campbell, L. V., Freund, J. & Chisholm, D. J. Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women: Direct measurements reveal a strong relationship in subjects at both low and high risk of NIDDM. *Diabetes* **45**, 633–638 (1996).

111. Baranova, A. *et al.* Molecular signature of adipose tissue in patients with both NonAlcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS). *J. Transl. Med.* **11**, 1– 8 (2013).
112. Chen, M.-J. *et al.* Hyperandrogenemia Is Independently Associated with Elevated Alanine Aminotransferase Activity in Young Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**, 3332–3341 (2010).
113. Jones, H. *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.* **97**, 3709–3716 (2012).
114. Rocha, A. L. L. *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *J. Endocrinol. Invest.* **40**, 1279– 1288 (2017).
115. Kauffman, R. P., Baker, T. E., Baker, V., Kauffman, M. M. & Castracane, V. D. Endocrine factors associated with non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome: Do androgens play a role? *Gynecol. Endocrinol.* **26**, 39–46 (2010).
116. Cussons, A. J., Watts, G. F., Mori, T. A. & Stuckey, B. G. A. Omega-3 Fatty Acid Supplementation Decreases Liver Fat Content in Polycystic Ovary Syndrome: A Randomized Controlled Trial Employing Proton Magnetic Resonance Spectroscopy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **94**, 3842–3848 (2009).
117. Geloneze, B. & Tambascia, M. A. Avaliação Laboratorial e Diagnóstico da Resistência Insulínica. *Endocrinol Metab* **50**, 208– 215 (2006).
118. Brończyk-Puzoń, A. *et al.* Usefulness of a new anthropometric indicator – VAI (Visceral Adiposity Index) in the evaluation of metabolic and hormonal disorders in women with polycystic ovary syndrome. *Adv. Clin. Exp. Med.* **26**, 825–828 (2017).
119. Bonder, A. & Afdhal, N. Utilization of fibroscan in clinical practice topical collection on liver. *Curr. Gastroenterol. Rep.* **16**, 3–7 (2014).
120. Sasso, M. *et al.* Controlled attenuation parameter (CAP): A novel VCTE™ guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: Preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. *Ultrasound Med. Biol.* **36**, 1825–1835 (2010).
121. Kleiner, D. E. *et al.* Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* **41**, 1313–1321 (2005).
122. Bedossa, P. *et al.* Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* **20**, 15–20 (1994).

6.0 - ARTIGO

Nonalcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome: associated factors and non-invasive fibrosis staging**Authors**

Daniela Oliveira de Lima Taranto^{1,2}

Thais Cristine Moura Guimarães²

Claudia Alves Couto^{2,3,4}

Ana Lucia Cândido^{4,5}

Rosana Correa Silva Azevedo⁵

Fernanda Souza Mattos⁴

Maria Luiza Cândido Elias⁴

Fernando Marcos dos Reis^{5,6}

Ana Luiza Lunardi Rocha Baroni^{5,6}

Luciana Costa Faria^{2,3,4}

¹Serviço de Diagnóstico por Imagem do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

²Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto – Faculdade de Medicina da UFMG

³Instituto Alfa de Gastroenterologia, Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

⁴Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

⁵Ambulatório de Hiperandrogenismo, Serviço de Endocrinologia, Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

⁶Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

Abstract

Background and Aims: Polycystic ovarian syndrome (PCOS) is a common endocrinopathy in reproductive age women and is a recognized risk factor for nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). The more severe form of NAFLD, known as nonalcoholic steatohepatitis (NASH), results in liver inflammation with or without fibrosis, and is now a leading cause of cirrhosis. The aims of this study were to investigate the prevalence and associated factors to NAFLD in women with PCOS and to evaluate liver fibrosis by non-invasive methods in patients with PCOS and NAFLD. **Method:** This cross-sectional prospective study evaluated patients with PCOS in a single Brazilian center and women without PCOS as controls. NAFLD was diagnosed by abdominal ultrasonography followed by the exclusion of alcohol consumption, viral or autoimmune liver disease. Anthropometric, clinical and metabolic variables, HOMA index, Lipid Accumulation Product (LAP), FIB-4, NAFLD score and transient elastography (TE) by Fibroscan® were performed in subsets of PCOS and NAFLD patients. **Results:** Eighty-seven PCOS patients were included (mean age: 34.4 ± 5.7 years, mean body mass index [BMI]: 34.7 ± 4.7 Kg/m²); 67 (77.0%) had NAFLD vs. 21/40 (52.5%) patients in control group ($p=0.005$). PCOS women with liver steatosis had higher BMI, waist circumference, triglycerides, total cholesterol, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamaglutamyltransferase than PCOS women with normal ultrasonography, (35.7 ± 4.1 vs. 31.2 ± 5.2 Kg/m², $p=0.001$; 103 [88-128] vs. 95 [67-115] cm, $p<0.001$; 140 [56-373] vs. 92 [49-173] mg/dL, $p=0.003$; 195 [134 – 288] vs. 177 [127-228] mg/dL, $p=0.01$; 36 [11-81] vs. 25 [13-37] U/L, $p=0.001$; 24 [9-48] vs. 18 [11-31] U/L, $p=0.001$; 37 [14-234] vs. 29 [11-68], $p=0.04$, respectively). Women with PCOS and NAFLD presented higher frequencies of obesity, metabolic syndrome and insulin resistance estimated by LAP (91% vs. 70%, $p=0.02$; 58.2% vs. 20.0%, $p=0.007$; and 91.0% vs. 55.0%, $p=0.001$, respectively). On multivariate analysis, the associated factors with NAFLD in patients with PCOS were waist circumference, triglycerides and alanine aminotransferase (OR [IC 95%] = 1.013 [1.002-1.024], $p=0.025$; 1.002 [1.0-1.003], $p=0.049$; and 1.007 [1.0-1.013], $p=0.047$, respectively). FIB-4 was compatible with absent advanced fibrosis (<1.3) in 45/45 patients (100%). NAFLD score was compatible with absent advanced fibrosis (<-1.455) in 7/26 (27%), was indetermined (≥ -1.455 and ≤ 0.676) in 18/26 (69%) and compatible with advanced liver fibrosis (>0.676) in 1/26 patients (4%). TE was performed in 25 patients with PCOS and NAFLD and was <7.0 kPa, between 7.0 and 9.5 kPa and between 9.5 and 12.5 kPa in 15 (60%), 7 (28%) and 3 (12%) patients, respectively. **Conclusion:** Women with PCOS have a high risk of NAFLD, which is

associated with central obesity, dyslipidemia, insulin resistance and metabolic syndrome in this population. Low rates of hepatic fibrosis in this series were observed.

Keywords: *polycystic ovary syndrome, nonalcoholic fatty liver disease, obesity, insulin resistance, metabolic syndrome, hyperandrogenism*

1. Introduction

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a spectrum of clinical–pathological conditions that can manifest as simple steatosis, with accumulation of lipids in the liver parenchyma, or non-alcoholic steatohepatitis (NASH), characterized by hepatocyte injury, inflammation and fibrosis in patients without significant alcohol consumption. NAFLD is the most common chronic liver disease in industrialized countries and is a leading cause of end-stage liver disease, hepatocellular carcinoma and liver transplantation worldwide.^{1–4} It is strongly associated with obesity, diabetes mellitus (DM), insulin resistance (IR), and metabolic syndrome (MS).

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most common endocrinopathies in premenopausal women affecting 6% to 20% of this population, depending on the used diagnostic criteria.^{5–8} The classical definition of the syndrome is characterized by hyperandrogenism and ovulatory dysfunction and PCOS is strongly associated with obesity, IR, MS, and low-grade chronic inflammation.^{9–11} Multiple genetic, metabolic, and hormonal factors interact in PCOS.

There is increasing evidence of an association between NAFLD and PCOS.¹² Obesity, mainly central adiposity, and IR are the main factors related to NAFLD in PCOS.^{13–16} Androgen excess, which is the main feature of PCOS and is interrelated to IR, may be an additional contributing factor to the development of NAFLD in PCOS.^{17–19}

NASH and most importantly fibrosis severity have been strongly implicated in the long-term prognosis in NAFLD patients.^{20–23} During the last decade, non-invasive biomarkers have been developed and validated to rule out patients with advanced fibrosis, as FIB-4 index and NAFLD fibrosis score.^{24,25}

The current study was conducted with the aims of determining the prevalence, associated factors and non-invasive fibrosis staging of NAFLD in a Brazilian population of PCOS patients.

2. Methods

2.1 Participants

Consecutive non-pregnant women with diagnosis of PCOS attending the endocrinology clinic in Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais were recruited between September 2016 and November 2018. In addition, non-pregnant women in reproductive age attending gynecology clinic from the same hospital were recruited to serve as controls. PCOS was defined according to the Rotterdam criteria, which is based upon the presence of oligomenorrhea, hyperandrogenism and polycystic ovaries.²⁶ The study was approved by the Ethics Committee in Research in Humans from the Federal University of Minas Gerais (090/2016). Subjects were excluded if they had a history of alcohol intake higher than 20g per day, other chronic liver disease or if they were using drugs that may cause liver steatosis.

2.2 Clinical, anthropometric and laboratory data

The protocol included a questionnaire with medical history including diagnosis of arterial hypertension, diabetes, dyslipidemia, a detailed history of alcohol consumption with an estimation of daily intake in grams per day, physical examination and blood tests. Anthropometric measurements included height, weight, body mass index (BMI), and waist circumference (WC). Obesity was defined in women as $BMI \geq 30 \text{ Kg/m}^2$.

Clinical and laboratory data were recorded including modified Ferriman-Gallwey score,^{27,28} phenotypic subgroup of PCOS,²⁹ fasting glucose, insulin, oral glucose tolerance test (OGTT), total testosterone (TT), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), triglycerides (TG), serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and gamma-glutamyl transferase (GGT).

Patients with PCOS diagnosis were classified in four phenotypes according to the *National Institute of Health* consensus:²⁹ A [hyperandrogenism (HA) + ovulatory dysfunction (OD) + polycystic ovary (PCOM)], B (HA + OD), C (HA + PCOM), D (OD + PCOM).

Criteria proposed by the *International Diabetes Federation* (IDF)³⁰ were used to define diabetes: 2 fasting serum glucose $\geq 126 \text{ mg/d}$ ou 2 results of OGTT $\geq 200\text{mg/dl}$ ou 1 random serum glucose $\geq 200\text{mg/dl}$ in presence of classic diabetes symptoms or 2 glycohemoglobin $> 6,5\%$. Impaired glucose tolerance (IGT) was defined as serum glucose between 140 and 199 mg/dl 2h on the 75g OGTT.

IR was estimated by the homeostasis model (HOMA-IR) calculated as fasting insulin ($\mu\text{UI/ml}$) x fasting glucose (mmol/L)/22.5, the lipid accumulation product (LAP) calculated as $(\text{WC} - 58) \times \text{TG}$ (mmol/L) and the visceral adiposity index (VAI) calculated as $[(\text{WC}/36.58 + 1.89 \times \text{BMI}) \times [\text{TG}/0.81] \times [1.52/\text{HDL}]$. IR was considered at a HOMA-IR > 2.7 ,³¹ LAP ≥ 34.5 ³² and VAI > 1.675 .³³

Diagnosis of MS was defined by criteria from *International Diabetes Federation* (IDF).³⁰ These criteria require the presence of WC ≥ 80 cm and two out of four factors: PA $\geq 130/85$ mmHg or the use of antihypertensive medication, fasting glucose ≥ 100 mg/dl or diagnosis of DM, HDL < 50 mg/dl, TG ≥ 150 mg/dl or the use of lipid-lowering medication.

Biochemical and clinical hyperandrogenism was previously defined in the moment of diagnosis of PCOS, using elevated TT levels and hirsutism assessed by modified Ferriman-Gallwey score (patients with score ≥ 8 were considered hirsute).²⁸ Oligomenorrhea was defined as < 8 menstrual cycles per year and polycystic ovaries were defined as > 12 follicles per ovary or ovarian volume > 10 cc on transvaginal ultrasound.²⁶

Increases of ALT, AST and GGT were established by levels higher than normal reference laboratory values (ALT > 69 UI/l, AST > 46 UI/l and GGT > 43 UI/l).

2.3 Diagnosis and staging of NAFLD

Abdominal ultrasonography (US) was performed in all patients enrolled in this study, by two radiologists with more than 15 years of experience in ultrasonography, independently and unaware about the diagnosis of PCOS, using a 3.5 MHz convex probe (Toshiba Xario, Tochigi, Japan). Absence of hepatic steatosis was defined as equal echogenicity of hepatic parenchyma to that of the renal cortex. The presence of fatty liver was determined with echogenicity higher than echogenicity of renal cortex and impaired visualization of intrahepatic vessels and the diaphragm. The diagnosis of liver steatosis was considered positive if there was concordance between both examiners.

To assess fatty liver infiltration, two scores predictors of steatosis based on biochemical data were also calculated: $[e^{0.953 \times \log_e(\text{TG})} + 0.139 \times \text{IMC} + 0.718 \times \log_e(\text{GGT}) + 0.053 \times \text{CA} - 15.745] / [1 + e^{0.953 \times \log_e(\text{TG})} + 0.139 \times \text{IMC} + 0.718 \times \log_e(\text{GGT}) + 0.053 \times \text{CA} - 15.745] \times 100$ ³⁴ and HSI = $8 \times \text{ALT}/\text{AST} + \text{BMI} + 2$ (if female) $+ 2$ (if DM).³⁵

Based on these scores, the presence of steatosis was considered if FLI ≥ 60 ³⁴ and HSI ≥ 36 .³⁵

PCOS women with steatosis were assessed by an hepatologist and underwent clinical history, physical examination and laboratory measurements, including liver enzymes, viral hepatitis serology, autoantibodies, protein electrophoresis, iron studies, ceruloplasmin, platelet count, alfa-1 antitrypsin, glycohemoglobin, 25-hidroxi-vitamin D. NAFLD score and FIB-4 index were calculated using the formulas: $FIB-4 = \text{Age (years)} \times \text{AST (U/L)} / \text{Platelets } (\times 10^9/l) \times \sqrt{\text{ALT (U/L)}}$; $NAFLD \text{ score} = -1.675 + 0.037 \times \text{age (years)} + 0.094 \times \text{BMI (kg/m}^2) + 1.13 \times \text{IGT/diabetes (yes = 1, no = 0)} + 0.99 \times \text{AST/ALT ratio} - 0.013 \times \text{platelet } (\times 10^9/l) - 0.66 \times \text{albumin (g/dl)}$.

Transient elastography (TE) imaging study, a non-invasive method for the evaluation of hepatic fibrosis, was performed using FibroScan® (Echosens, Paris, France), XL probe. Liver stiffness was expressed in kilopascal (kPa).³⁶

2.4 Statistical analysis

Statistical analysis was performed with SPSS for Windows, version 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests were used to test normality of data. Continuous variables were presented as means and standard deviation (SD) ou medians and variation, and dichotomic variables were presented as absolute numbers and percentages. Levine test was used to evaluate homogeneity of variance. Univariate logistic regression was performed to assess the association between steatosis and the following variables: age, BMI, WC, phenotype of PCOS, levels of TC, LDL, HDL, TG, TT, AST, ALT, GGT, HOMA, LAP, VAI, hyperandrogenism, MS, IR, arterial hypertension, DM, IGT, obesity, central adiposity. Group differences for continuous variables were analyzed using t-test or the Mann–Whitney U test and, for categorical variables, using the χ^2 -test or Fisher's exact test, as appropriate. Multivariate logistic regression was used to evaluate the association of independent factors with steatosis. Variables which presented a p value lower than 0.20 in the univariate analysis were included as independent variables into the regression model. Statistical significance was set at two-sided p value less than 0.05.

3. Results

Initially, 91 patients with a diagnosis of PCOS were selected. Among these, one patient was excluded due to previous hepatitis B diagnosis and other three due to non-attendance for abdominal US, totaling 87 patients. In the control group, 40 participants were included.

3.1 Prevalence of liver steatosis in the PCOS and control groups

The clinical and anthropometric characteristics of the participants in the PCOS and control groups are shown in Table 1. The average age was lower in the PCOS group in comparison to the control group. There was no difference between the groups in relation to the BMI, WC prevalence of obesity and prevalence of arterial hypertension. The prevalence of DM was higher in the PCOS group. The prevalence of hepatic steatosis detected by US was higher in the SOP group (77.0%) than in the control group (52.5%) ($p = 0.005$).

According to the scores calculated for diagnosis of hepatic steatosis (FLI and HSI) in the SOP group, the results were positive in 85.9% ($HSI \geq 36$) and in 90.7% ($FLI \geq 36$), indicating the possibility of an even higher prevalence of liver steatosis.

3.2 Clinical and anthropometric characteristics of patients in the PCOS group and factors associated with liver steatosis

Clinical, anthropometric and laboratory characteristics of the total number of participants with a diagnosis of PCOS are shown in Table 2. The distribution by BMI categories of participants with PCOS is shown in Figure 1. Central adiposity ($WC \geq 80$ cm) was observed in 85 (97.7%) of patients with PCOS.

Clinical, anthropometric and laboratory data of the participants with a diagnosis of PCOS with and without hepatic steatosis on US as well as the results of the univariate analysis comparing these variables between the two groups are shown in Table 2.

On multivariate analysis, WC, serum triglycerides and ALT levels were associated with the presence of hepatic steatosis (Table 3).

Only two patients presented serum levels of aminotransferases above the upper limit of normality. Despite this, there was an association between AST (univariate analysis) and ALT levels (univariate and multivariate analysis) and the diagnosis of hepatic steatosis by US.

3.3 NAFLD staging

The FIB-4 score was calculated in 45 patients with PCOS and hepatic steatosis, with an average value of 0.56 ± 0.17 . Amongst all patients the value found was lower than 1.3, considered a cutoff point for exclusion of advanced fibrosis, with a 90% negative predictive value (NPV). No patient presented $FIB-4 > 3.25$, which corresponds to F3-F4 (value that is considered as a predictor of advanced fibrosis).³⁷ (Figure 2)

NAFLD score was calculated in 26 patients with PCOS and hepatic steatosis. In seven patients (27%), the score was lower than -1.455, the recommended cut-off to rule out advanced fibrosis. Intermediate values, considered indeterminate, between -1.455 and 0.676 were found in 18 patients (69%) and, in one patient (4%), it was higher than 0.676, suggestive of advanced hepatic fibrosis F3-F4.²⁵ (Figure 3)

Transient hepatic elastography was performed in 25 patients. Hepatic stiffness varied between 3.1 and 12.0 kPa, lower than 7.0 kPa (F0-F1) in 15 patients (60%), between 7.0 and 9.5 kPa (F2) in seven patients (28%) and between 9.5 and 12.5 kPa (F3) in three patients (12%) (Figure 4). One of the patients underwent liver biopsy and did not present histological evidence of fibrosis (Metavir F0) or NASH (NAS score = 2, steatosis 1, ballonization 0, inflammation 1).

4. Discussion

In the present study, the prevalence of hepatic steatosis in patients with PCOS was evaluated in comparison with a control group of women without a diagnosis of PCOS, with similar BMI and WC, and associated factors regarding the presence of steatosis in patients with diagnosed PCOS were investigated. High prevalence of liver steatosis in patients with PCOS (77.0%) was observed, with an association with the following factors: WC, BMI, prevalence of MS, obesity and central adiposity, IR diagnosed by LAP, serum TG, TC, ALT, AST and GGT. In multivariate analysis, WC, TG and ALT were confirmed as independent factors associated with the presence of hepatic steatosis in patients with PCOS.

According to our knowledge, to this date, only one study has been conducted to investigate the prevalence of NAFLD in Brazilian patients diagnosed with PCOS,³⁸ in which, a prevalence of 23.8% was found in 101 studied patients, a rate significantly lower than the observed in the present study. This discrepancy may be due to different clinical and metabolic profiles of the studied populations. In comparison to the characteristics of our population, the patients reported by *Romanowski et al* were younger (26.8 ± 5 years) had lower BMI (28.5 ± 6 kg / m²) and a lower prevalence of MS (32.7%). Another possibility is the influence of ethnic-racial diversities in distinct regions of the country, taking into account the impact of ethnic variability regarding the characteristics of PCOS and the prevalence of NAFLD described by

others.³⁹⁻⁴¹ Future studies could help to better elucidate the prevalence of NAFLD in patients with PCOS in different Brazilian populations.

Higher prevalence of hepatic steatosis in patients with PCOS was found in the present study in comparison to a control group without PCOS of similar BMI, which corroborates the hypothesis that NAFLD associates with PCOS regardless obesity, as well as a study that demonstrated an association between PCOS and NAFLD in eutrophic patients.⁴² On the other hand, comparing the two groups of PCOS, with and without steatosis, patients with steatosis presented higher BMI, WC and prevalence of obesity, which was consistent with previous studies.^{16,43} In a longitudinal study that evaluated the risk of NAFLD in 63,000 women with PCOS and in the control group including 121,000 women with similar age and BMI,⁴⁴ women with PCOS present a higher risk of NAFLD, superior than the one expected solely due to obesity, and the diagnosis of PCOS was associated with a 2.0 to 2.4-fold increased risk of NAFLD, including non-obese women.

The high prevalence of obesity in patients with PCOS (86.2%), with a high mean BMI, higher than the majority of the studies performed in other countries, reflects not only high prevalence of metabolic alterations associated with PCOS in our population but also warns about the alarming growth of obesity in Brazil.⁴⁵ The association observed between hepatic steatosis and central adiposity, triglyceride levels and prevalence of MS corroborates previous reports^{13,15,46-48} According to the knowledge that the components of MS are risk factors for NASH and for the development of advanced liver disease,⁴⁹ the investigation of metabolic abnormalities in patients with PCOS is of great importance in clinical practice. The high prevalence and association of IR with steatosis confirm its importance in the pathophysiology of both conditions. The diagnosis of IR was higher when LAP (82.7%) and VAI (94.2%) were used, rather than HOMA-IR (47.1%). LAP was described in 2005 by *Kan* as a predictor of cardiovascular risk⁵⁰ and subsequent studies demonstrated its role in assessing the presence of IR in patients with PCOS.³² Besides being used as a predictor of IR and visceral adiposity in patients with PCOS, VAI has been related to the risk of NAFLD in these patients.^{51,52} The finding of a higher prevalence of IR by LAP and notably by VAI indicates that they may be more sensitive than HOMA-IR, in agreement with previous reports.⁵³

Regarding the separation of PCOS group in the four phenotypes proposed by NIH, a similar distribution was observed in previous studies, predominantly the classical phenotype (62.0%

of the patients belonging to phenotypes A and B). As the present study was conducted in a reference center, it is possible that the classic hyperandrogenic phenotypes predominance is related to selection bias, not representing the real distribution in general population. Associations of steatosis with the classical phenotype and with hyperandrogenism were not found, as described by other authors^{18,43,54,55} and this may be due to our limitation for adequate evaluation of excess androgen. Considered the most reliable clinical marker of hyperandrogenism, hirsutism had a prevalence of 70.5% in patients with PCOS, which is similar to previous studies.⁵⁶ However, clinical evaluation of hirsutism through the FerrimanGallwey scale presents difficulties of interpretation by subjectivity, interobserver variability and ethnicity differences were not considered in the score. Concerning the biochemical evaluation of hyperandrogenism, as the measures of free testosterone and SHBG were not available, it was used the measurement of total testosterone, considered as a low sensitivity method for the detection of hyperandrogenism.

Only two PCOS patients (2.3%) presented aminotransferases above the normal upper limit, both with NAFLD diagnosis. However, it could be observed an association between AST and ALT levels and the presence of hepatic steatosis. These findings demonstrate the low sensitivity of the aminotransferases according to the used reference values, although there was an association between the increase of their levels and the diagnosis of NAFLD.

Although several studies have shown a high prevalence of steatosis in patients with PCOS, the detection of liver disease may still be underestimated. US, despite an acceptable level of sensitivity for detecting liver fat, presents limitations as a lower accuracy in the presence of obesity.⁵⁷ Considering that 86.2% of patients with PCOS in our study were obese, it is possible that the prevalence of liver steatosis could be even higher, as suggested by the results of the FLI and HSI scores, which have been proposed as an alternative for the diagnosis of hepatic steatosis. Few previous studies have evaluated the performance of these biomarkers in patients with PCOS. In a cohort of 611 patients with SOP⁵⁸, only 30% had FLI values indicative of steatosis, but the patients studied had a lower BMI (mean of 24.5 kg/m², with 24.8% of obesity). However, in obese patients with PCOS, the prevalence of FLI \geq 60 was 88%, and this finding was inclined to the findings of this study. In a more recent article, *Vassilatou et al.* evaluated the sensitivity of FLI and HSI in PCOS and demonstrated that these two biomarkers are valid predictors of steatosis in this group of patients (ROC curves of 0.87 ± 0.02 for FLI and 0.83 ± 0.02 for HSI).⁵³ Given the need for accurate and low-cost screening methods for the

diagnosis of steatosis, the use of these indexes may be an acceptable alternative for the diagnosis of NAFLD.

Fibrosis is the most associated characteristic with mortality due to NAFLD, being its early detection of great importance. NAFLD staging in the present study showed that patients with PCOS did not present evidence of advanced liver fibrosis when evaluated by FIB4, NAFLD score and transient elastography. However, a high prevalence of risk factors for NASH and fibrosis progression was observed in these patients, such as obesity and MS. The natural history of NAFLD in PCOS patients is poorly understood. As in this study, other more recent studies have used non-invasive methods such as elastography and serum biomarkers (FIB4 and NAFLD score) to estimate more accurately liver disease stage in patients with PCOS.⁵⁹⁻⁶¹

Despite the evidences of a higher prevalence of NAFLD in women with PCOS and the potential for progressive liver disease due to the concomitance of MS factors, this association needs to be widely reported amongst physicians who take care of these patients. A North American study conducted in 2017 to assess gaps in the diagnosis and management of PCOS⁶² showed that such association is known only by 29.2% of gynecologists and 67.6% of endocrinologists who work in human reproduction. In addition, there are many controversies about the recommendations to investigate NAFLD in PCOS women and the impact of NAFLD in these patients is most likely underestimated.^{4,63} A more precise definition of which factors are implicated in the pathophysiology of NAFLD in PCOS and knowledge of the natural history of liver disease in these patients may allow, in the future, a better selection of risk groups with more precise interventions.

The following limitations were found in this study: alcohol consumption (considered as an exclusion criterion) was determined by the patients report, the diagnosis of PCOS in the control group was not excluded by biochemical or imaging tests, the results of laboratory tests were not available for all patients with PCOS. In addition, some patients with PCOS who had a diagnosis of steatosis on US did not adhere to the proposed evaluation and staging of liver disease. As a prevalence study performed from the recruitment of patients seeking medical evaluation due to symptoms related to PCOS, it is likely that the selected patients will have more clinical features than the general population of patients with PCOS. Other limitations are inherent to a cross-sectional study, which fails to clarify whether the clinical conditions

associated with the presence of NAFLD in concomitance with PCOS are etiological factors. Prospective cohort studies are required to establish the temporal sequence of events and elucidate the possible cause-effect relationship.

In conclusion, the present study on the association between NAFLD and PCOS in a Brazilian center has demonstrated a high prevalence of steatosis in patients with PCOS when compared to patients without PCOS, with similar BMI and WC. Central adiposity and serum triglyceride levels, two components of the MS, were identified as independent factors associated with steatosis. As the MS is commonly related to progression of liver disease, patients with PCOS who present such abnormalities should be screened for NAFLD. Staging of liver disease through biomarkers and transient elastography showed low stages of fibrosis in these patients, which means that intervention in patients with premenopausal PCOS can be an important measure to reduce the risk of progression to advanced liver disease.

5. References

1. Younossi, Z. & Henry, L. Contribution of Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease to the Burden of Liver-Related Morbidity and Mortality. *Gastroenterology* **150**, 1778–1785 (2016).
2. Younossi, Z. M. *et al.* The economic and clinical burden of nonalcoholic fatty liver disease in the United States and Europe. *Hepatology* **64**, 1577–1586 (2016).
3. Marchesini, G. *et al.* EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J. Hepatol.* **64**, 1388–1402 (2016).
4. Chalasani, N. *et al.* The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* **67**, 328–357 (2018).
5. Kumarapeli, V., Seneviratne, R. D. A., Wijeyaratne, C. N., Yapa, R. M. S. C. & Dodampahala, S. H. A simple screening approach for assessing community prevalence and phenotype of polycystic ovary syndrome in a semiurban population in Sri Lanka. *Am. J. Epidemiol.* **168**, 321–328 (2008).
6. Tehrani, F. R., Simbar, M., Tohidi, M., Hosseinpanah, F. & Azizi, F. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample of Iranian population: Iranian PCOS prevalence study. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **9**, 39 (2011).
7. Li, R. *et al.* Prevalence of polycystic ovary syndrome in women in China: A large community-based study. *Hum. Reprod.* **28**, 2562–2569 (2013).
8. Lauritsen, M. P. *et al.* The prevalence of polycystic ovary syndrome in a normal population according to the Rotterdam criteria versus revised criteria including antiMüllerian hormone. *Hum. Reprod.* **29**, 791–801 (2014).

9. Dunaif, A., Segal, K. R., Futterweit, W. & Dobrjansky, A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* **38**, 1165–1174 (1989).
10. Ehrmann, D. A. *et al.* Prevalence and Predictors of the Metabolic Syndrome in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91**, 48–53 (2006).
11. Boureaux, M. Y., Talbott, E. O., Kip, K. E., Brooks, M. M. & Witchel, S. F. Risk of T2DM and impaired fasting glucose among PCOS subjects: Results of an 8-year follow-up. *Curr. Diab. Rep.* **6**, 77–83 (2006).
12. Ramezani Binabaj, M., Motalebi, M., Karimi-Sari, H., Rezaee Zavareh, M. S. & Alavian, S. M. Are Women With Polycystic Ovarian Syndrome at a High Risk of NonAlcoholic Fatty Liver Disease? A Meta-Analysis. *Hepat. Mon.* **14**, 1–6 (2014).
13. Cerda, C. *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome. *J. Hepatol.* **47**, 412–417 (2007).
14. Gambarin-Gelwan, M. *et al.* Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **5**, 496–501 (2007).
15. Ma, R. C. W. *et al.* Sonographic measurement of mesenteric fat predicts presence of fatty liver among subjects with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **96**, 799–807 (2011).
16. Zhang, J. *et al.* Analyses of risk factors for polycystic ovary syndrome complicated with non-alcoholic fatty liver disease. *Exp. Ther. Med.* **15**, 4259–4264 (2018).
17. Chen, M.-J. *et al.* Hyperandrogenemia Is Independently Associated with Elevated Alanine Aminotransferase Activity in Young Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**, 3332–3341 (2010).
18. Jones, H. *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.* **97**, 3709–3716 (2012).
19. Rocha, A. L. L. *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *J. Endocrinol. Invest.* **40**, 1279–1288 (2017).
20. Bhala, N. *et al.* The natural history of nonalcoholic fatty liver disease with advanced fibrosis or cirrhosis: An international collaborative study. *Hepatology* **54**, 1208–1216 (2011).
21. Ekstedt, M. *et al.* Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology* **61**, 1547–1554 (2015).
22. Angulo, P. *et al.* Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with longterm outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* **149**, 389–397 (2015).
23. Hagström, H. *et al.* Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *J. Hepatol.* **67**, 1265–1273 (2017).
24. Sterling, R. K. *et al.* Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology* **43**, 1317–1325 (2006).
25. Angulo, P. *et al.* The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* **45**, 846–854 (2007).
26. Fauser, B. C. J. M. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* **81**, 19–25 (2004).
27. Ferriman, D. & Gallwey, J. D. Clinical Assessment of Body Hair Growth in Women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **21**, 1440–1447 (1961).

28. Hatch, R., Rosenfield, R. L., Kim, M. H. & Tredway, D. Hirsutism: Implications, etiology, and management. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **140**, 815–830 (1981).
29. Johnson, T. R. B., Kaplan, L. K., Ouyang, P. & Rizza, R. A. National Institute of Health Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome. *Natl. Institutes Heal.* 1–14 (2012).
30. Alberti, K. G. M. M., Zimmet, P. & Shaw, J. The metabolic syndrome - A new worldwide definition. *Lancet* **366**, 1059–1062 (2005).
31. Geloneze, B. & Tambascia, M. A. Avaliação Laboratorial e Diagnóstico da Resistência Insulínica. **50**, (2006).
32. Wiltgen, D., Benedetto, I. G., Mastella, L. S. & Spritzer, P. M. Lipid accumulation product index: A reliable marker of cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* **24**, 1726–1731 (2009).
33. Brończyk-Puzoń, A. *et al.* Usefulness of a new anthropometric indicator – VAI (Visceral Adiposity Index) in the evaluation of metabolic and hormonal disorders in women with polycystic ovary syndrome. *Adv. Clin. Exp. Med.* **26**, 825–828 (2017).
34. Bedogni, G. *et al.* The fatty liver index: A simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol.* **6**, 1–7 (2006).
35. Lee, J. H. *et al.* Hepatic steatosis index: A simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig. Liver Dis.* **42**, 503–508 (2010).
36. Castera, L., Forns, X. & Alberti, A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J. Hepatol.* **48**, 835–847 (2008).
37. Vilar-Gomez, Chalasani N. Non-invasive assesmente of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers. *J Hepatol* **68**, 305-315 (2017)
38. Romanowski, M. D. *et al.* Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Women With Polycystic Ovary Syndrome and Its Correlation With Metabolic Syndrome. *Arq. Gastroenterol.* **52**, 117–123 (2015).
39. Zhao, Y. & Qiao, J. Ethnic differences in the phenotypic expression of polycystic ovary syndrome. *Steroids* **78**, 755–760 (2013).
40. Browning, J. D. *et al.* Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity. *Hepatology* **40**, 1387–1395 (2004).
41. Sarkar, M. & , N Terrault, CC Duwaerts, P Tien, MI Cedars. The Association of Hispanic Ethnicity with Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Polycystic Ovary Syndrome. *Curr Opin Gynecol Obs.* **2**, 24–33 (2018).
42. Kim JJ, Kim D, Yim JY, Kang JH, Han KH, Kim SM, Hwang KR, Ku SY, Suh CS, Kim SH, C. Y. Polycystic ovary syndrome with hyperandrogenism as a risk factor for non-obese non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* **45**, 1403–1412 (2017).
43. Setji, T. L. *et al.* Nonalcoholic Steatohepatitis and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Young Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91**, 1741–1747 (2006).
44. Kumarendran, B. *et al.* Polycystic ovary syndrome, androgen excess, and the risk of nonalcoholic fatty liver disease in women: A longitudinal study based on a United Kingdom primary care database. *PLoS Med.* **15**, 1–20 (2018).
45. bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2017_vigilancia_fatores_riscos.pdf.
46. Kauffman, R. P., Baker, T. E., Baker, V., Kauffman, M. M. & Castracane, V. D. Endocrine factors associated with non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome: Do androgens play a role? *Gynecol. Endocrinol.* **26**, 39–46 (2010).

47. Zhang, Y. *et al.* Hyperandrogenism and insulin resistance contribute to hepatic steatosis and inflammation in female rat liver. *Oncotarget* **9**, 18180–18197 (2018).
48. Karoli, R. *et al.* Prevalence of hepatic steatosis in women with polycystic ovary syndrome. *J. Hum. Reprod. Sci.* **6**, 9 (2013).
49. Marchesini, G. *et al.* Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* **37**, 917–923 (2003).
50. Kahn, H. S. The ‘lipid accumulation product’ performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: A population-based comparison. *BMC Cardiovasc. Disord.* **5**, 1–10 (2005).
51. Zheng, S. H. & Li, X. L. Visceral adiposity index as a predictor of clinical severity and therapeutic outcome of PCOS. *Gynecol. Endocrinol.* **32**, 177–183 (2016).
52. Vassilatou, E. *et al.* Visceral adiposity index for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in premenopausal women with and without polycystic ovary syndrome. *Maturitas* **116**, 1–7 (2018).
53. Ramezani Tehrani, F., Minooe, S. & Azizi, F. Comparison of various adiposity indexes in women with polycystic ovary syndrome and normo-ovulatory non-hirsute women: A population-based study. *Eur. J. Endocrinol.* **171**, 199–207 (2014).
54. Vassilatou, E. *et al.* Increased androgen bioavailability is associated with non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* **25**, 212–220 (2010).
55. Petta, S. *et al.* Insulin resistance and hyperandrogenism drive steatosis and fibrosis risk in young females with PCOS. *PLoS One* **12**, 1–11 (2017).
56. Wijeyaratne, C. N. *et al.* Phenotype and metabolic profile of South Asian women with polycystic ovary syndrome (PCOS): Results of a large database from a specialist Endocrine Clinic. *Hum. Reprod.* **26**, 202–213 (2011).
57. Moura Almeida, A. de *et al.* Fatty liver disease in severe obese patients: diagnostic value of abdominal ultrasound. *World J. Gastroenterol.* **14**, 1415–1418 (2008).
58. Lerchbaum, E. *et al.* Fatty liver index in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* **165**, 935–943 (2011).
59. Blond, E. *et al.* EASL–EASD–EASO Clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease in severely obese people: do they lead to overreferral? *Diabetologia* **60**, 1218–1222 (2017).
60. Polyzos, S. a *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome: assessment of non-invasive indices predicting hepatic steatosis and fibrosis. *Hormones (Athens)*. **13**, 519–31 (2014).
61. Sarkar, M. *et al.* The Association of Hispanic Ethnicity with Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Polycystic Ovary Syndrome. *Curr Opin Gynecol Obs.* **1**, 24–33 (2018).
62. Dokras, A. *et al.* Gaps in knowledge among physicians regarding diagnostic criteria and management of polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* **107**, 1380–1386 (2017).
63. Teede, H. J. *et al.* Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* **110**, 364–379 (2018).

Table 1 - Clinical and anthropometric characteristics of participants of the Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and control groups

	PCOS (n = 87)	Controls (n = 40)	<i>P value</i> ^a
Age (years)	34.4 ± 5.7	39.1 ± 7,6	0.001
BMI (Kg/m ²)	34.7 ± 4.7	33.8 ± 5.2	0.316
WC (cm)	103 (67-128)	104 (88-126)	0.310
Obesity n (%)	75 (86.2)	31 (77.5)	0.22
SAH n (%)	22 (25.3)	11 (27.5)	0.40
DM n (%)	11 (12.6)	3 (7.5)	0.019
Liver steatosis by US n (%)	67 (77.0)	21 (52.5)	0.005

PCOS: Polycystic Ovarian Syndrome; BMI: body mass index; SAH: systemic arterial hypertension; WC: waist circumference; DM: diabetes mellitus; US: ultrasonography.

Table 2 - Clinical and anthropometric data on participants with polycystic ovary syndrome (PCOS), PCOS and hepatic steatosis and PCOS without hepatic steatosis

	PCOS (N = 87)	PCOS and hepatic steatosis (N = 67)	PCOS without steatosis (N = 20)	<i>P</i> value ^a
Age (years)	34.4 ± 5.7	35.0 ± 5.4	32.4 ± 6.4	0.07
BMI (kg/m ²)	34.7 ± 4.7	35.7 ± 4.1	31.2 ± 5.2	0.001
WC (cm)	103 (67-128)	103 (88-128)	95 (67-115)	< 0.001
Obesity n (%)	75 (86.2)	61 (91.0)	14 (70.0)	0.02
Hyperandrogenism n (%)	66 (75.8)	53 (79.1)	13 (65.0)	0.13
SAH n (%)	22 (25.3)	18 (26.9)	4 (20.0)	0.53
Metabolic syndrom n (%)	43 (49.4)	39 (58.2)	4 (20.0)	0.007
IR (HOMA ≥ 2.7) n (%)	41 (47.1)	34 (50.7)	7 (35.0)	1.0
IR (LAP ≥ 34.5) n (%)	72 (82.7)	61 (91.0)	11 (55.0)	0.001
IR (VAI ≥ 1.675) n (%)	82 (94.2)	65 (97.0)	17 (85.0)	0.21
IGT n (%)	15 (17.2)	12 (18.0)	3 (15.0)	0.75
DM n (%)	11 (12.6)	10 (14.9)	1 (5.0)	0.44
Dyslipidemia n (%)	13 (14.9)	11(16.4)	2 (10.0)	0.72
TG (mg/dl)	134 (49 - 373)	140 (56-373)	92 (49-173)	0.003
TC (mg/dl)	188 (127-288)	195 (134 - 288)	177 (127-228)	0.01
LDL (mg/dl)	116 (56-203)	113 (59-203)	112 (56 -165)	0.17
HDL (mg/dl)	45 (23-77)	44 (23 - 77)	47 (33- 59)	0.48
Fasting glycemia (mg/dl)	90 (68-128)	89 (75-128)	85 (68-98)	0.06
GOTT (mg/dl)	125 (56-260)	123 (63-260)	107 (56-155)	0.005
Glycohemoglobin (mg/dl)	5.5 (4.8 -6.9)	5.5 (4.9 - 6.9)	5.4 (4.8-5.7)	0.09
Insulin (μUI/ml)	19 (3-55)	18 (8-55)	15 (3-37)	0.15
ALT (U/L)	22 (11-81)	36 (11-81)	25 (13-37)	0.001
AST (U/L)	24 (9-48)	24 (9-48)	18 (11-31)	0.001
GGT (U/L)	36 (11-234)	37 (14-234)	29 (11-68)	0.04
ALT ≥ 69 U/L n (%)	2 (2.3)	2 (2.9)	0 (0)	1.0
AsT ≥ 460 U/L n (%)	2 (2.3)	2 (2.9)	0 (0)	1.0
GGT ≥ 44 U/L n (%)	25 (28.7)	23 (34.3)	2 (10.0)	0.32
Phenotype A	45 (51.7)	36 (53.7)	9 (45.0)	0.64
Phenotype B	9 (10.3)	6 (9.0)	3 (15.0)	
Phenotype C	13 (14.9)	11 (16.4)	2 (10.0)	
Phenotype D	20 (23.0)	14 (20.9)	6 (30.0)	

Abbreviations: PCOS: polycystic ovary syndrome; BMI: body mass index; WC: waist circumference; SAH: systemic arterial hypertension; IR: insulin resistance; HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance; LAP: lipid accumulation product; IGT: impaired glucose tolerance; DM: diabetes mellitus; TT: total testosterone; TG: triglycerides; TC: total cholesterol; LDL: low density lipoprotein; HDL: high density lipoprotein; GOTT: glucose oral tolerance test; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; GGT: γ -glutamyl transferase; MS: Metabolic syndrome; HA: hyperandrogenism; OD: ovulatory dysfunction; PCOM: polycystic ovarian morphology; the value of p indicates the difference between the PCOS groups with steatosis and PCOS without steatosis

Table 3. Results of multivariate logistic regression analysis of factors associated with hepatic steatosis in patients with polycystic ovary syndrome

Variable	OR	95% IC	<i>P value</i> ^a
WC	1.013	1.002 – 1.024	0.025
TG	1.002	1.0 – 1.003	0.049
ALT	1.007	1.0 – 1.013	0.047

WC: waist circumference; TG: triglycerides; ALT: alanine aminotransferase

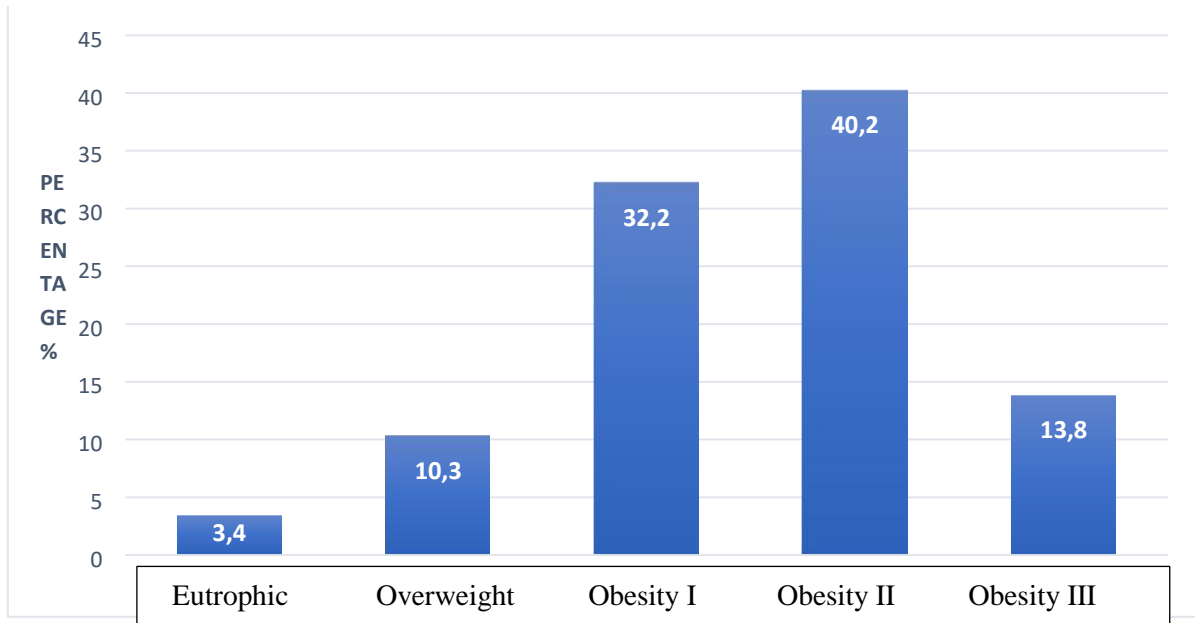


Figure 1- Prevalence of BMI categories in participants of PCOS group (N = 87). Eutrophic (BMI < 25.0 and > 18,5 kg/m²); overweight (BMI ≥ 25.0 and < 30.0 kg/m²), grade I obesity (BMI ≥ 30.0 and < 35.0 kg/m²), grade II obesity (BMI ≥ 35.0 to 39.9 kg/m²), grade III obesity (BMI ≥ 40.0 kg/m²)

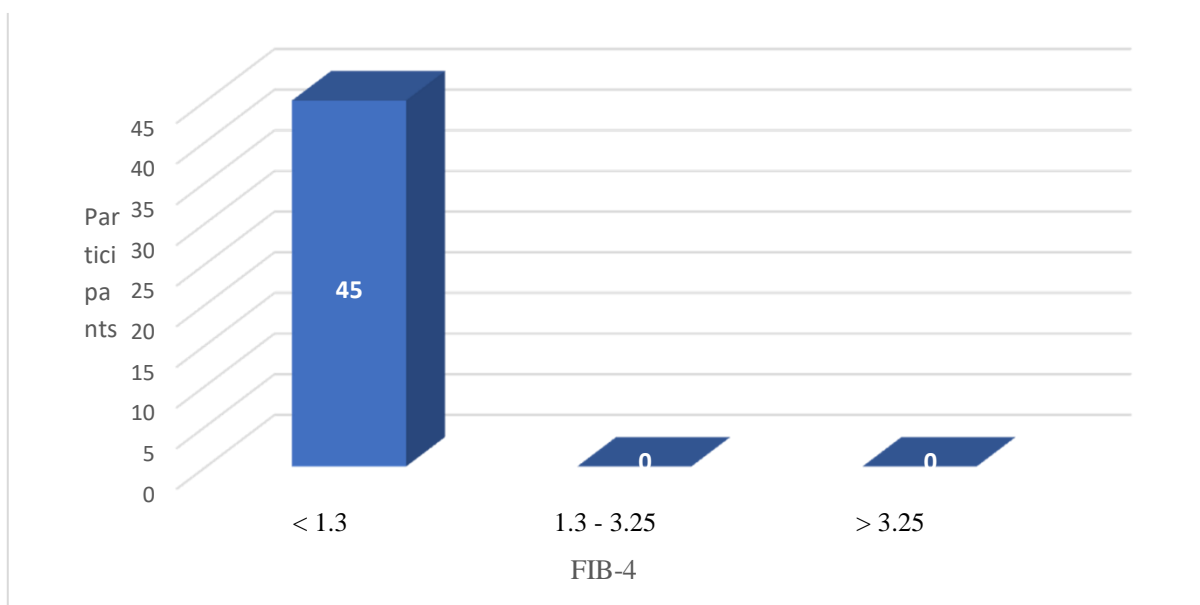


Figure 2- Distribution of FIB-4 values in participants in the PCOS group with hepatic steatosis. (N = 45).

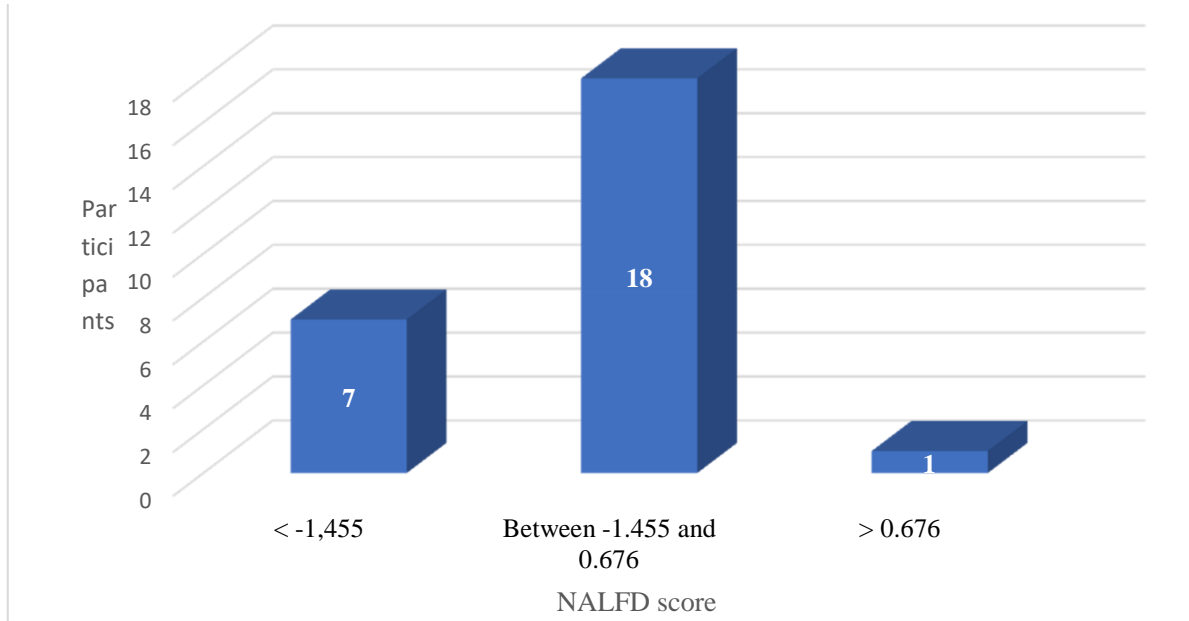


Figure 3- Distribution of the NALFD score results in the participants of the PCOS group with hepatic steatosis (N = 26)

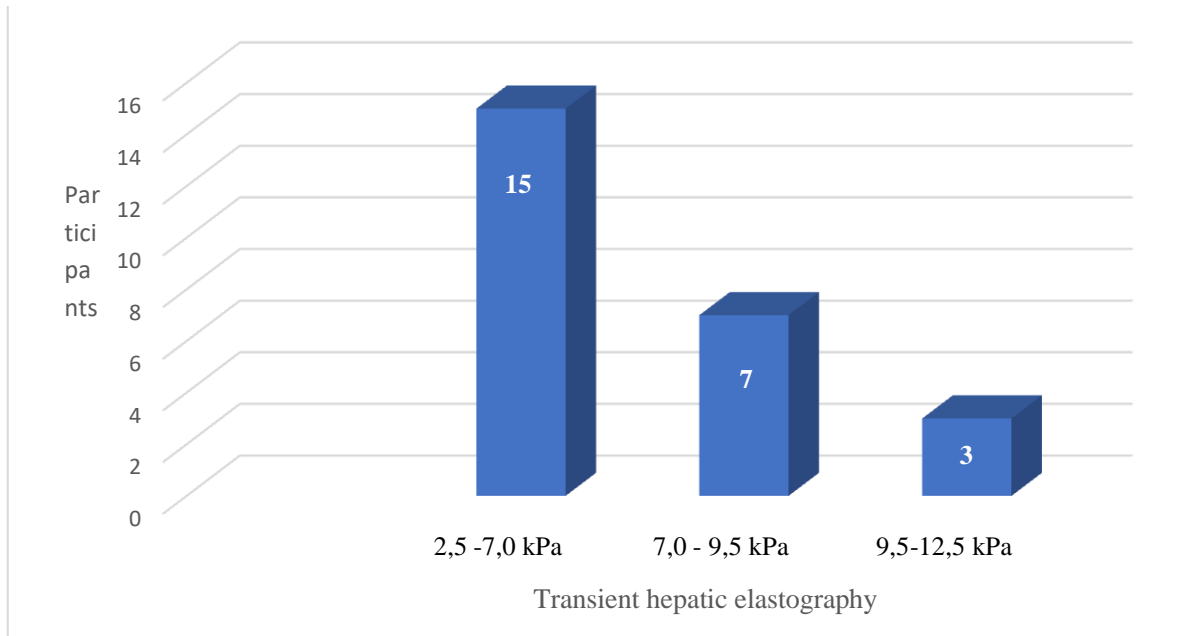


Figure 4- Distribution of the transient hepatic elastography results in participants in the PCOS group with hepatic steatosis (N = 25)

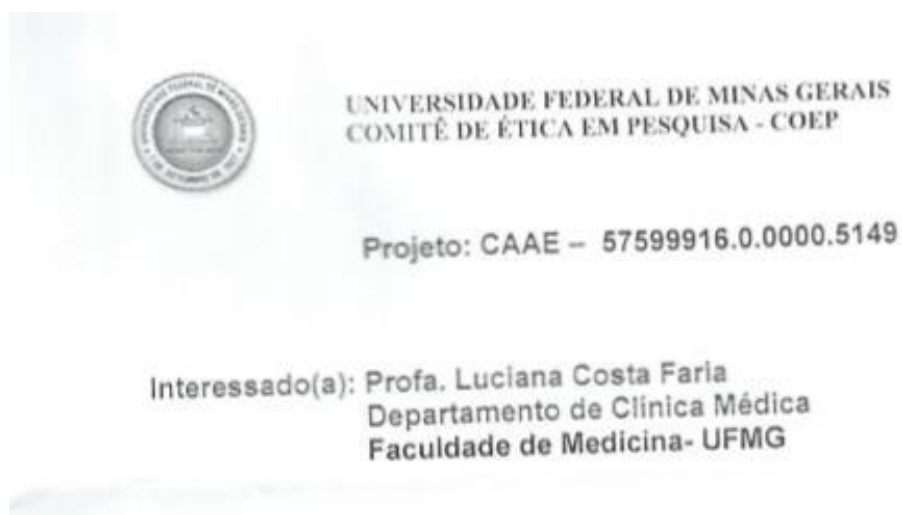
7.0 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os principais achados do presente estudo foram:

- Mulheres com SOP acompanhadas no Ambulatório de Hiperandrogenismo do Hospital das Clínicas da UFMG e submetidas à ultrassonografia abdominal apresentaram elevada prevalência (77%) de esteatose hepática, significativamente superior ao grupo controle de mulheres sem SOP com IMC e CA comparáveis.
- As pacientes com SOP do presente estudo apresentaram elevada prevalência de alterações metabólicas associadas, incluindo: obesidade, adiposidade visceral, resistência insulínica, hiperandrogenismo e síndrome metabólica.
- Foram identificados por regressão multivariada como fatores independentes associados à concomitância de SOP e DHGNA dois componentes das síndrome metabólica: adiposidade central e níveis séricos de triglicérides.
- O estadiamento da doença hepática através de elastografia hepática transitória e marcadores não invasivos evidenciou uma baixa predição de fibrose nesse grupo de pacientes.

O presente estudo é pioneiro na investigação de DHGNA em pacientes com SOP em nosso meio e aponta uma elevada prevalência de doença hepática associada à SOP, maior que a descrita em outros países, sendo que a alta taxa de obesidade observada em nossa população possa ser um potencial fator aditivo para explicar a maior concomitância encontrada das duas patologias. A faixa etária relativamente jovem das pacientes com SOP avaliadas, associada a alta prevalência de DHGNA e de alterações metabólicas que aumentam o risco de progressão da doença hepática alertam sobre a necessidade de investigação e acompanhamento clínico adequados dessas pacientes.

8.0 - ANEXOS

ANEXO 1: APROVAÇÃO DO COEP**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 22 de agosto de 2016, o projeto de pesquisa intitulado "Investigação da prevalência de doença hepática gordurosa não alcoólica e de fatores de risco associados ao seu desenvolvimento em pacientes com síndrome dos ovários policísticos", bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.

Prof.^a Dr.^a Vivian Resende

Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO 2: ROTINAS DO AMBULATÓRIO DE HIPERANDROGENISMO

Diagnóstico de Síndrome dos Ovários Policísticos (PCOS) (Consenso de Rotterdam, 2003):

Presença de pelo menos 2 itens:

- Presença de Oligo/amenorréia ou Anovulação
- Hiperandrogenismo clínico ou laboratorial
- Ultrassom evidenciando ovários micropolicísticos Exclusão de outras patologias:
- Hiperplasia adrenal congênita
- Síndrome de Cushing
- Tumores secretores de androgênios
- Patologias da tireóide
- Hiperprolactinemias
- Hipogonadismo hipogonadotrófico ou hipergonadotrófico.

PCOS: anovulação normogonadotrófica e normoestrogênica

Definições:

- **Amenorréia primária:** Ausência de menarca até os 14 anos em meninas sem desenvolvimento puberal, ou até os 16 anos independentemente da presença ou não de caracteres sexuais secundários.

-**Amenorréia secundária:** Ausência de menstruação por um período mínimo de 3 meses consecutivos em uma mulher que já menstruou previamente.

-**Oligomenorréia:** Presença de 6 ou menos ciclos menstruais/ano ou ciclos menstruais com intervalo maior que 35 dias.

-**Anovulação:** Em pacientes com ciclos menstruais regulares, a ausência de ovulação pode ser confirmada através de duas dosagens de progesterona sérica entre o 20º - 23º dia do ciclo inferiores a 3 ng/ml. Cerca de 97% das mulheres com oligo/amenorréia são anovulatórias.

-**Hiperandrogenismo Clínico:** Presença de hirsutismo (ao exame físico um escore de Ferriman \geq 8) segundo os critérios modificados de FERRIMAN & GALWEY (1961) ou presença de acne moderada/grave (tipos 3 e 4) ou de alopecia androgênica.

Outras formas de excesso de androgênios: seborréia, oleosidade excessiva da pele, virilização (caracterizada por hipertrofia do clitóris, agravamento da tonalidade da voz e aumento da massa muscular, com perda do formato corporal tipicamente feminino).

-Hiperandrogenismo Laboratorial:

Testosterona total $>90,0$ ng/dl (dosagem da testosterona livre encontra variações pelos ensaios laboratoriais, sendo pouco acurada e não utilizada) e SHBG (globulina ligadora dos esteroides sexuais)

ou

Índice de androgênios livres aumentado:

$\frac{\text{Testo total (nmol/L)}}{\text{SHBG nmol/L}} \times 100$ (VR: 5,5 – 11,2)

SHBG nmol/L

Fator de conversão: Testosterona Total ng/dl x 0,0347 = nmol/L

-Ovários micropolicísticos à Ultrassonografia (Consenso de Rotterdam, 2003):

- Presença de 12 ou mais folículos em cada ovário medindo 2 a 9 mm de diâmetro e/ou aumento do volume ovariano (> 10 ml)

- A distribuição folicular e o aumento da ecogenicidade do estroma ovariano não são importantes na caracterização da morfologia ovariana para fins diagnósticos
- Critérios **não** são válidos para usuárias de ACO
- Presença de folículo dominante (> 10 mm) ou corpo-lúteo: repetir US no próximo ciclo
- Na presença de um cisto anormal ou assimetria ovariana deve ser realizada investigação adicional.

Recomendações técnicas ao Ultrassom:

- Preferencialmente deve ser realizado o US endovaginal (paciente não virgo), principalmente em se tratando de pacientes obesas
- Em pacientes com ciclos regulares: realizar o exame entre o 3° e o 5° dia do ciclo
- Em pacientes com oligo/amenorréia: solicitar βhCG e, se negativo, dar 10mg de acetato de medroxiprogesterona (AMP) por 5 dias e realizar o exame entre o 3° e o 5° dia do ciclo. Naquelas pacientes com suspeita de SOP e amenorréia pode-se realizar o US em qualquer época do ciclo, sem necessidade do uso de AMP.

Diagnóstico Diferencial:

- **Hiperplasia adrenal congênita forma não clássica ou tardia (HACNC):** Excluída com a dosagem sérica de 17-alfa-hidroxiprogesterona (17-HP): normal até 200 ng/dl (em nosso laboratório o limite superior da normalidade é 180 ng/dl). Se maior que 800 ng/dl: diagnóstico de HACNC por deficiência de 21 hidroxilase. Se entre 200 (ou 180 ng/dl) e 800 ng/dl, fazer o teste de estímulo com ACTH (cortrosina 250 mcg, IV): níveis de 17-OHP: após 60 min superiores a 1.000 ng/dl fazem o diagnóstico. Para valores entre 500 e 1000 ng/dl, sobretudo em pacientes hipertensas, deve-se dosar o composto S (diagnóstico da HAC por deficiência de 11beta hidroxilase).

- **Síndrome de Cushing:** Naquelas pacientes com suspeita clínica, através principalmente da presença de obesidade central associada a pelo menos um outro sinal sugestivo da síndrome (aumento de gordura supra-clavicular ou dorso-cervical, presença de estrias largas e violáceas, fragilidade cutânea e equimose, miopatia proximal (fraqueza musculatura proximal), HAS, irregularidade menstrual, diabetes ou intolerância a glicose, face de lua cheia, galactorréia e labilidade emocional, dentre outros). Deverá ser excluído hipercortisolismo, pela combinação das dosagens iniciais do cortisol sérico após 1 mg de dexametasona (dada às 23:00 hs da noite anterior, sendo o cortisol dosado às 8h da manhã seguinte; VR: cortisol < 1,8 g/dl) e da dosagem de cortisol livre urinário em urina de 24hs (VR < 80 mcg/24h ou < 220 nmol/24h)-realizadas em datas diferentes. Se houver discordância entre os resultados desses dois testes (ou se o valor de cortisol livre urinário se situar entre 1 e 4 vezes o VR), deve-se solicitar um terceiro teste, de preferência o cortisol salivar das 23h, afim de se confirmar ou excluir o hipercortisolismo. Caso haja forte suspeita clínica, mesmo em vigência de resultados negativos e concordantes, os mesmos exames devem ser repetidos 3 a 6 meses depois (descartando-se assim um hipercortisolismo cíclico).

-**Tumores secretores de Androgênios:** Suspeitar principalmente em casos de virilização e/ou surgimento de sintomas de hiperandrogenismo com evolução rápida (menos de 1 ano). Perda de peso e anorexia associados também aumentam o grau de suspeição., além de níveis de testosterona total > 200 ng/dl. Quando houver suspeita clínica, deve-se dosar também os níveis de SDHEA – sulfato de

deidroepiandrosterona (suspeitos quando superiores a 700 ng/ml) e androstenediona. Em casos duvidosos, pode-se lançar mão do teste de **LIDDLE 1** (por exemplo, quando testosterona alterada - > 90 ng/dl- mas em níveis inferiores a-200 ng/dl, associado a clínica sugestiva). O teste consiste na administração de 0,5 mg de dexametasona VO 6/6hs, (iniciando-se às 6h da manhã, com última dose às 00h do dia seguinte), com dosagem de testosterona total basal e 6 horas após administração da última dose de dexametasona. Se **LIDDLE 1** alterado (redução inferior a 40% do valor basal) ou em casos de forte suspeita, solicitar US endovaginal/pelve + TC abdominal, para avaliação de ovários e adrenais, respectivamente.

-Patologias da tireóide: Dosar TSH. Se alterado, repetir e pedir T4 livre e anticorpos antitireoidianos.

-Hiperprolactinemia: PRL jejum > 25 ng/ml, confirmada em duas dosagens. Antes de se pensar em causas orgânicas, como adenomas hipofisários, excluir causas medicamentosas e fatores pré-analíticos, além de excluir macroprolactinemia.

Drogas que aumentam prolactina:

- Antagonistas Dopaminérgicos:
 - Fenotiazinas (clorpromazina)
 - Butirofenonas (haloperidol)
 - Benzamidas (metoclopramida, sulpirida, veraliprida) - Drogas depletoras da dopamina: Alfa-metildopa, reserpina
- Mecanismos não-dopaminérgicos:
 - Estrogênios e Progestagênios
 - Antidepressivos tricíclicos (inibidores da MAO)
 - Opiáceos e Cocaína

-Hipogonadismo hipogonadotrófico: Dosar níveis séricos de estradiol (E2) e FSH, que estarão reduzidos nessa condição.

-Hipogonadismo hipergonadotrófico: Níveis de E2 baixos, associados a FSH elevado. Representado principalmente pela Falência Ovariana Prematura (FOP).

Avaliação Metabólica:

Resistência insulínica e risco cardiovascular:

Todas as mulheres com PCOS devem ser rastreadas para intolerância à glicose (IGT) e diabetes mellitus tipo 2 (DM2), através do TTOG (glicemia 2h após sobrecarga de 75g de dextrosol), além da glicemia de jejum (Position Statement of the Androgen Excess Society, 2007):

□ Critérios diagnósticos (ADA 1997):

- IGT: glicemia entre 140 e 199 mg/dl 2h após 75g dextrosol
 - DM2: glicemia jejum > ou = 126 mg/dl ou glicemia 2h pós 75g dextrosol > ou = 200 mg/dl
- o As mulheres com normoglicemia devem ser rastreadas com TTOG no máximo a cada 2 anos (ou antes disso, se surgirem fatores de risco adicionais para DM2 ou má adesão às MEV), e aquelas com IGT, anualmente, para diagnóstico de DM2.

- Além da glicemia de jejum e TTOG, solicitar também, para todas as pacientes com diagnóstico firmado de PCOS, perfil lipídico, glicohemoglobina a1C, 25OH vitamina D e ácido úrico, as enzimas hepáticas AST e ALT, gamaGT e fosfatase alcalina.

- Medidas antropométricas: peso, altura e circunferência abdominal; cálculo do IMC [peso (Kg)/ altura (m)²]
- Calcular HOMA-IR (*Homeostasis model assessment index*) e índice LAP (produto de acumulação lipídica) para todas as pacientes com SOP:

HOMA- IR: $\frac{[\text{glicemia jejum (mg/dl)} \times \text{insulina jejum (microUI/ml)}]}{405}$

405

Consideraremos arbitrariamente como elevado um HOMA- IR > ou = 2,7

Índice LAP: [circunferência abdominal (cm) – 58] X triglicérides (mmol/l)

Considerado elevado quando > ou = 34,5 (Wiltgen, 2009)

(Para conversão de mg/dl em mmol/l, multiplicar por 0,0113)

Nas pacientes hipertensas (PA > ou = 140 X 90 mmHg), solicitar uréia, creatinina, urina rotina e íons.

ANEXO 3: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Estudo: Investigação da prevalência de doença hepática gordurosa não alcoólica e de fatores de risco associados ao seu desenvolvimento em pacientes com síndrome dos ovários policísticos

Prezada paciente,

Sra _____

Você está sendo convidado a participar desse estudo, que tem como objetivo investigar a frequência da doença hepática gordurosa não alcoólica em pacientes com síndrome dos ovários policísticos e quais fatores estão associados a maior chance de pacientes com ovários policísticos desenvolverem essa doença hepática.

A doença hepática gordurosa não alcoólica é uma condição em que ocorre o acúmulo de gordura no fígado e também podem ocorrer lesão das células do fígado, inflamação e fibrose, podendo ser causa de cirrose hepática. Ela vem se tornando cada vez mais frequente em todo o mundo e existe uma associação dessa doença com a síndrome dos ovários policísticos. Nesse estudo, vamos investigar essa associação em nosso meio, bem como os diversos fatores que possam estar relacionados ao seu desenvolvimento, como parâmetros metabólicos (glicemia, colesterol, triglicérides), relação peso/altura (índice de massa corporal), medida da circunferência abdominal, características da dieta, alterações hormonais e imunológicas.

Sua participação constará dos seguintes passos:

- Avaliação nutricional que incluirá questionários sobre hábitos alimentares, medidas de peso, altura, circunferência abdominal;
- Consulta de dados do prontuário médico, como resultados de exames, uso de medicamentos; - Coleta de sangue para realização de exames imunológicos; - Realização de ultrassonografia de abdome.

Os resultados desse estudo serão colocados no computador para facilitar a análise e podem ser divulgados em congressos e revistas científicas. Seu nome não será divulgado em momento algum. As únicas pessoas que terão acesso aos seus dados serão nutricionistas e a equipe médica.

Você não terá nenhum custo por participar desse estudo. Não haverá qualquer tipo de pagamento ou recompensa individual para a participação nesse estudo.

Sua participação é voluntária e, se você se recusar a participar, isso não trará nenhum prejuízo à continuação de seu acompanhamento e tratamento no Hospital das Clínicas da UFMG. Você pode mudar de opinião a qualquer momento e isso, de modo algum, afetará o seu tratamento no ambulatório. Se resolver deixar o estudo, você precisa avisar à nutricionista da pesquisa ou alguém da equipe do ambulatório.

O risco associado à participação nesse estudo é mínimo, apenas aquele associado a uma coleta de sangue: em alguns casos, podem ocorrer dor e hematoma (ficar roxo) no local onde colheu o sangue.

Para qualquer esclarecimento, por favor, entre em contato com as pesquisadoras que coordenam esses estudo: Profa. Luciana Costa Faria ou Profa. Cláudia Alves Couto: (31)34099746 ou (31)34099628.

Endereço do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP): Av. Presidente Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II – 2º andar sala 2005 – BH – MG
Tel: 3499 4592 email: coep@prpq.ufmg.br

Declaração de consentimento:

Eu, _____, após ser esclarecido sobre o projeto de pesquisa, concordo em participar do estudo acima.

Dra. Luciana Costa Faria CRMMG 29485

Dra. Cláudia Alves Couto CRMMG 28121

Belo Horizonte, ____ de _____ de 20__

ANEXO 4 - PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO CLÍNICA - GRUPO SOP

Data: ____ / ____ / ____

Nome: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Registro SAME: _____

Renda familiar média: _____ Escolaridade: _____

Idade menarca: ____ anos GPA: _____

DM tipo 2: () sim () não HAS: () sim () não Dislipidemia: () sim () não

Infertilidade: () sim () não

Características dos ciclos menstruais, menstruações/ano:

Medicamentos em uso: _____

Hirsutismo

– score Ferriman Gallwey:

Acne: () sim () não Alopecia androgênica: () sim () não Fenótipo:

Exames bioquímicos			
Glicemia de jejum:	Glicemia 2h pós-75g dextrosol:	Glicohemoglobina:	Insulina:
Colesterol total:	HDL:	LDL:	Triglicérides:
AST	ALT:	GGT:	Testosterona total:

Peso: ____ Kg Altura: ____ m IMC: ____ kg/m² CA: ____ cm**ANEXO 5 - PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO CLÍNICA / GRUPO CONTROLE**

Data ____ / ____ / ____

Nome: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Idade menarca: _____ GPA: _____

DM tipo 2: () sim () não HAS: () sim () não Infertilidade: () sim () não

Hepatopatias prévias: _____

Características dos ciclos menstruais, menstruações/ano: _____

Medicamentos em uso: _____

Peso: ____ Kg Altura: ____ cm IMC: ____ Kg/m² CC: ____ cm

ANEXO 6 - PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DE PACIENTES COM DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

Nome: _____

Data ____/____/____ Data de nascimento: ____/____/____

Peso: _____ Kg Altura: _____ cm IMC: _____ Kg/m² CC: _____ cm

Exames laboratoriais			
Glicemia de jejum:	Glicemia 2h pós-75g dextrosol:	Glicohemoglobina:	Triglicérides:
Colesterol total:	HDL:	LDL:	VLDL:
AST:	ALT:	GGT:	FA
RNI:	Bilirrubinas T/D:	Albumina:	Gamaglobulinas:
HBsAg:	Anti-HBc total:	Anti-HCV:	FAN:
Ac anti-músculo liso:	Ac anti-LKM1:	Ac antimitocôndria:	
Hemoglobina: Hematócrito: Hemácias:	Leucócitos global: Neutrófilos: Linfócitos: Eosinófilos:	Plaquetas:	Ferro sérico: CTLF: IST: Ferritina:
Alfa1 antitripsina:	Ceruloplasmina:	Insulina:	25-OH-vitamina D:
Creatinina:	TSH:	T4 livre:	Sódio:

NAFLD fibrosis score: _____

FIB4: _____

Elastografia hepática transitória: IQR/M%: _____ CAP: _____ **kPa**: _____

Biópsia hepática:

Esteatose: _____ Inflamação: _____ Balonização: _____

NAS score: _____ Fibrose: _____

Se cirrose hepática (F4):

EDA (___/___/___): _____

Hemorragia digestiva alta: () sim () não

Ascite: () sim () não

Encefalopatia hepática: () sim () não

Peritonite bacteriana espontânea: () sim () não

Carcinoma hepatocelular: () sim () não