

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade De Farmácia
Programa De Pós-Graduação Em Análises Clínicas E Toxicológicas

Fernanda Medeiros Vale Magalhães

**ANÁLISE DOS NÍVEIS DE GDF-15 E VIAS BIOLÓGICAS REGULADAS EM
PACIENTES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS TRATADOS COM
METFORMINA**

Belo Horizonte

2023

Fernanda Medeiros Vale Magalhães

**ANÁLISE DOS NÍVEIS DE GDF-15 E VIAS BIOLÓGICAS REGULADAS EM
PACIENTES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS TRATADOS COM
METFORMINA**

Versão final

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de mestra em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Karina Braga
Gomes Borges

Belo Horizonte

2023

M189a Magalhães, Fernanda Medeiros Vale.
Análise dos níveis de GDF-15 e vias biológicas reguladas em pacientes com síndrome dos ovários policísticos tratados com metformina [recurso eletrônico] / Fernanda Medeiros Vale Magalhães. – 2023.
1 recurso eletrônico (62 f. : il.) : pdf

Orientadora: Karina Braga Gomes Borges.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Ovários – Teses. 2. Citocinas – Teses. 3. Medicamentos – Teses. 4. Pacientes – Teses. 5. Metformina/uso terapêutico. I. Borges, Karina Braga Gomes. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD: 618.11

Elaborado por Leandro da Conceição Borges – CRB-6/3448



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

"ANÁLISE DOS NÍVEIS DE GDF-15 E VIAS BIOLÓGICAS REGULADAS EM PACIENTES COM SINDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS TRATADOS COM METFORMINA"

FERNANDA MEDEIROS VALE MAGALHÃES

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia cinco de julho de dois mil e vinte e três, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

Claudia Natalia Ferreira
Colégio Técnico da UFMG

Ieda de Fatima Oliveira Silva
UFMG

Karina Braga Gomes Borges - Orientadora
UFMG

Belo Horizonte, 05 de julho de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Karina Braga Gomes Borges, Professora do Magistério Superior**, em 06/07/2023, às 10:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Claudia Natalia Ferreira, Chefe de setor**, em 06/07/2023, às 10:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ieda de Fatima Oliveira Silva, Professora do Magistério Superior**, em 06/07/2023, às 17:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?

AGRADECIMENTOS

Nesses anos de mestrado e novos desafios, gostaria de agradecer a algumas pessoas que me acompanharam e foram fundamentais para a realização de mais esta etapa tão especial. Primeiramente, agradeço à Deus por me iluminar. Aos meus pais Marco e Julia e à minha irmã Sofia, pela compreensão e imenso apoio. Obrigada por todo esforço que fizeram para que eu pudesse superar cada obstáculo em meu caminho e até chegar aqui. À minha orientadora, Prof. Karina Braga, pela pessoa e profissional tão inspiradora. Agradeço por sua dedicação e acolhimento. Ao Gabriel, por sempre me ouvir e não medir esforços para me apoiar em todos os momentos; e à sua família por me incentivar tanto nessa jornada. Aos meus amigos, por desejarem sempre o melhor para mim. À todos que contribuíram e ajudaram no desenvolvimento deste trabalho diretamente e indiretamente, em especial à Daiane Oliveira, Jéssica Diniz e Jéssica Tosatti. À Faculdade de Farmácia, à Universidade Federal de Minas Gerais e em especial ao Programa de Pós Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas, pela oportunidade e pelas tantas portas abertas.

RESUMO

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é uma condição endócrina que se relaciona com diversas manifestações clínicas metabólicas, reprodutivas e psicológicas. O GDF-15 é uma citocina associada a distúrbios metabólicos e pode regular o metabolismo de lipídeos, glicose e como consequência aumentar a sensibilidade à insulina em pacientes que possuem resistência insulínica e/ou diabetes mellitus tipo 2 (DM2). A metformina é comumente usada no tratamento de DM2 e atualmente também têm sido utilizada na SOP. Considerando que o GDF-15 está relacionado a doenças inflamatórias e metabólicas, nossa hipótese é de que o GDF-15 pode estar associado à SOP e suas complicações, bem como pode ser modulado pelo tratamento com metformina. No presente estudo, investigamos a relação entre GDF-15 e SOP, o efeito da metformina nos níveis de GDF-15 e possíveis vias biológicas relacionadas ao GDF-15. Para isso, 35 pacientes com SOP e 32 mulheres híidas foram incluídas e os níveis de GDF-15 foram comparados entre esses grupos. Além disso, amostras de 7 pacientes com SOP tratadas com metformina e 15 sem tratamento foram incluídas nesta análise. Os níveis de GDF-15 foram analisados através do kit MILLIPLEX® MAP. As vias biológicas relacionadas ao GDF-15 foram avaliadas usando conjuntos de dados STRING, SIGNOR e Pathway Commons. Os níveis de GDF-15 no grupo SOP foram maiores em comparação aos controles ($p=0,039$). No grupo de mulheres com SOP tratadas com metformina, os níveis de GDF-15 também foram significativamente maiores ($p=0,007$). Após análise de proteínas relacionadas ao GDF-15 entre os conjuntos de dados, encontramos uma interação significativa com proteínas relacionadas à SOP e suas complicações, como resposta ao estrogênio, estresse oxidativo, infertilidade ovariana, IL-18, IL-4, AGE/RAGE, leptina, TGF-beta, adipogênese e insulina. Desta forma, os achados sugerem que existe uma relação entre GDF-15 e SOP, e que o tratamento com metformina pode aumentar os níveis de GDF-15. Além disso, o mesmo poderia participar de vias biológicas relacionadas a complicações na SOP.

Palavras-chave: GDF-15; síndrome dos ovários policísticos; metformina; vias biológicas.

ABSTRACT

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is an endocrine condition that is related to several metabolic, reproductive and psychological clinical manifestations. GDF-15 is a cytokine associated with metabolic disorders and can regulate lipid and glucose metabolism and, as a consequence, increase insulin sensitivity in patients with insulin resistance and/or type 2 diabetes mellitus (DM2). Metformin is commonly used in the treatment of T2DM and is now also being used in PCOS. Considering that GDF-15 is related to inflammatory and metabolic diseases, our hypothesis is that GDF-15 may be associated with PCOS and its complications, as well as being modulated by metformin treatment. In the present study, we investigated the relationship between GDF-15 and PCOS, the effect of metformin on GDF-15 levels and possible biological pathways related to GDF-15. For this, 35 patients with PCOS and 32 healthy controls were included and the levels of GDF-15 were compared between these groups. In addition, the sample of 7 PCOS patients treated with metformin and 15 without treatment were included in this analysis. GDF-15 levels were analyzed using the MILLIPLEX® MAP Human kit Magnetic Bead Panel for Cardiovascular Disease 2. Biological pathways related to GDF-15 were evaluated using STRING, SIGNOR, and Pathway Commons datasets. GDF-15 levels in the PCOS group were higher compared to controls ($p=0.039$). In the group of women with PCOS treated with metformin, GDF-15 levels were also significantly higher ($p=0.007$). After analyzing GDF-15-related proteins across datasets, we found a significant interaction with proteins related to PCOS and its complications, such as estrogen response, oxidative stress, ovarian infertility, IL-18, IL-4, AGE/RAGE, leptin, TGF-beta, adipogenesis and insulin. Thus, the findings suggest that there is a relationship between GDF-15 and PCOS, and that treatment with metformin can increase GDF-15 levels. In addition, it could participate in biological pathways related to complications in PCOS.

Keywords: GDF-15; polycystic ovary syndrome; metformin; biological pathways.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fatores que estão relacionados com a fisiopatologia da SOP.....**17**

Figura 2: Fisiopatologia da SOP e potenciais fármacos utilizados para melhora do quadro clínico.....**23**

Figura 3: Mecanismos de redução dos níveis séricos de glicose e de peso corporal pelo uso de metformina sob ação do GDF-15.....**30**

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

ACOs: anticoncepcionais orais

AMPK: *activated protein kinase*, proteína monofosfato quinase ativada

CT: colesterol total

DM1: diabetes mellitus tipo 1

DM2: diabetes mellitus tipo 2

DNCT: doenças crônicas não transmissíveis

ESHRE/ASRM: *European Society of Human Reproduction and Embryology e American Society for Reproductive Medicine*, Sociedade Europeia de Embriologia e Reprodução Humana e Sociedade Americana para Medicina Reprodutiva

GDF-15: *growth Differentiation Factor-15*, fator de crescimento e diferenciação-15

GNDF: *glial cell line-derived neurotrophic fator*, fator neurotrófico derivado da glia

GFRAL: *gDNF Family Receptor Alpha Like*, receptor alfa da família GDNF

GLP-1: *glucagon-like Peptide-1*, peptídeo semelhante a glucagon-1

HOP: fenótipo clássico da SOP

HO: fenótipo clássico não cístico da SOP

HOMA IR: Homeostatic Model Assessment, Modelo de Avaliação da Homeostase - índice que avalia a resistência insulínica

HP: fenótipo ovulatório não clássico

HPO: eixo feminino hipotálamo-hipófise-ovariano

HDL-c: lipoproteína de alta-densidade

IFN- γ : interferon-gamma

IMC: índice de massa corpórea

IL-6: interleucina 6

IL-8: interleucina 8

IL-10: interleucina 10

IL-18: interleucina 18

LAP: Lipid Accumulation Product, Produto de acumulação lipídica

LDL-c: lipoproteína de baixa densidade

LH: hormônio luteinizante

MIC-1: *macrophage inhibitory cytokine-1*, citocina inibitória de macrófagos-1

NAG-1: *NSAID activated gene*, gene induzível por drogas anti-inflamatórias não esteroides-1

OP: fenótipo não clássico/normoandrogênico da SOP

PCR: proteína C reativa

PDF: próstata - fator derivado

PLAB: *placental bone morphogenetic protein*, proteína morfogenética óssea da placenta

pTGFB: *placental transforming growth factor beta*, fator de crescimento transformador da placenta beta

RCQ: relação cintura-quadril

RCT: randomized controlled trial, Estudo clínico randomizado controlado

RET: *rearranged during transfection*, rearranjado durante a transfecção

RI: resistência insulínica

RNAs: ácido ribonucleico

RT-PCR: *reverse-transcriptase polymerase chain reaction*, reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa

SOP: síndrome dos ovários policísticos

SHBG: *sex hormone-binding globulin*, globulina ligadora de hormônios sexuais

TG: triglicérides

TGF- β : *growth transforming factor beta*, fator de transformação de crescimento Beta

TNF: *tumor necrosis factor*, Fator de necrose tumoral

VLDL-c: lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP).....	13
2.2 Epidemiologia da SOP.....	16
2.3 Tratamento da SOP.....	19
2.4 Infertilidade e SOP.....	23
2.5 Fator de crescimento e diferenciação 15	24
2.6 Métodos de quantificação do GDF-15	28
2.7 Metformina e GDF-15.....	28
3 OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo geral.....	30
3.2 Objetivos específicos.....	30
4 CAPÍTULO 1: Artigo	31
5 CONCLUSÕES	48
6 PERSPECTIVAS	50
REFERÊNCIAS	51
ANEXOS	57

1. INTRODUÇÃO

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é uma condição clínica complexa, definida como uma doença endócrina, resultante de um desbalanço hormonal, acometendo de 5% a 18% das mulheres em idade reprodutiva, sendo considerada um importante problema de saúde pública diante das comorbidades relacionadas e prevalência (GOORDARZI et al., 2011; PATEL et al., 2018). Sua caracterização se dá pela presença de dois dos três critérios a seguir: (1) oligo ou anovulação crônica; (2) hiperandrogenismo clínico e/ou laboratorial e; (3) características ultrassonográficas de ovários policísticos.

Por ser uma síndrome heterogênea, a SOP também pode estar associada às disfunções metabólicas e cardiovasculares (BARTHELMESS & NAZ, 2014; GOORDARZI et al., 2011), diante do estado de inflamação crônica e de baixo grau, incluindo a resistência insulínica (RI) no músculo e tecido adiposo, com hiperinsulinemia compensatória, associada à disfunção intrínseca das células β ; o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (DM2); dislipidemias; doença hepática gordurosa não-alcóolica; aumento do risco de doenças cardiovasculares; obesidade e síndrome metabólica (TASALI et al., 2008; TEEDE et al., 2010).

A inflamação crônica de baixo grau, observada na SOP, possui quadro persistente, devido à exposição prolongada a estímulos inflamatórios, como ocorre nas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Estes estímulos ativam as células inflamatórias, como macrófagos, e induzem a produção de citocinas relacionadas à inflamação, como o fator de crescimento e diferenciação-15 (*growth differentiation factor 15* - GDF-15) (DULEBA & DOKRAS, 2012; SILVA et al., 2006).

O GDF-15 é uma citocina da família do fator de transformação de crescimento Beta (TGF- β), também conhecida como citocina inibidora de macrófagos-1 (MIC-1) (BOOTCOV et al., 1997; ROCHETTE et al., 2021; WISCHHUSEN et al., 2020). Seu mecanismo está associado à ação antagonista, após a ativação de macrófagos, por citocinas inflamatórias (MAY et al., 2021; ROCHETTE et al., 2021), estando

aumentada principalmente em doenças inflamatórias, como por exemplo, obesidade, câncer, resistência à insulina, diabetes e doenças cardiovasculares (TSAI et al., 2018). A inflamação crônica de baixo grau, juntamente com o hiperandrogenismo, a resistência insulínica (RI) e a obesidade, criam um ciclo que tornam a SOP ainda mais complexa, fazendo-se necessário o uso de fármacos, como a metformina, com o intuito de reduzir o quadro hiperinsulinêmico, ocorrendo a diminuição do estímulo para a esteroidogênese ovariana (VIOLLET et al., 2012).

A metformina, da classe das biguanidas, é um dos fármacos utilizados no tratamento do DM2 e, também, da SOP (LV & GUO, 2020; UDHANE, 2017; XIAO et al., 2022). Além de aumentar a utilização da glicose nos tecidos sensíveis à insulina, ela diminui a neoglicogênese hepática, reduzindo os níveis plasmáticos de insulina e regulando a homeostase (ARIE et al., 2009). No estudo de Udhane (2017), foi demonstrado que, em pacientes que possuem SOP e diabetes, a metformina não só melhorou os sintomas do diabetes, como restaurou a ovulação e reduziu os sintomas ligados ao hiperandrogenismo.

Assim, o GDF-15 é uma proteína que pode estar ligada à fisiopatologia das complicações da SOP, em especial na infertilidade, por ser uma complicação ainda pouco conhecida na síndrome. Este estudo propõe avaliar os níveis deste potencial biomarcador em pacientes com SOP, as potenciais vias biológicas por ele reguladas, bem como avaliar o efeito da metformina na sua produção.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP)

A SOP foi descrita pela primeira vez por Irving Stein e Michael Leventhal, em 1935 (STEIN & LEVENTHAL, 1935). É considerada a condição endócrina mais comum em mulheres e sua caracterização se dá pela presença de (1) oligo ou anovulação crônica, (2) hiperandrogenismo clínico e/ou laboratorial e/ou (3) características ultrassonográficas de ovários policísticos e/ou volume ovariano > 10 mL, segundo dos critérios de Rotterdam, após a exclusão de outras alterações como síndrome de Cushing, hiperprolactinemia, deficiência enzimática da supra-renal e distúrbios da tireoide (MUJICA et al., 2020; PATEL, 2018; SIRMANS & PATE, 2013).

Por haver uma convergência considerável entre os sinais fisiológicos da puberdade (como acne, menstruação irregular e ovários policísticos) e a SOP, os especialistas consideraram critérios bem definidos para a sua diferenciação (MANIQUE & FERREIRA, 2022). A SOP é diagnosticada quando pelo menos 2 dos 3 critérios especificados forem atendidos (BEDNARSKA & SIEJKA, 2017; GANIE et al., 2019). Ainda, através dos critérios de Rotterdam, é possível diferenciar os quatro fenótipos. Estes auxiliam no melhor entendimento da fisiopatologia da SOP e, conseqüentemente, na compreensão do quadro clínico de sintomas de cada paciente, uma vez que são considerados heterogêneos. O fenótipo clássico pode apresentar a maior parte dos sinais e sintomas e o não clássico/normoandrogênico possui menor risco de distúrbios metabólicos (ARMANINI et al., 2022):

1. Fenótipo clássico (HOP): hiperandrogenismo (H), distúrbios de ovulação (O) e ovário policístico (P);
2. Fenótipo clássico não cístico (HO): hiperandrogenismo (H), distúrbios de ovulação (O), e critérios ultrassonográficos normais;
3. Fenótipo ovulatório não clássico (HP): hiperandrogenismo (H), ovário policístico definido através dos critérios ultrassonográficos (P) e sem distúrbios de ovulação;

4. Fenótipo não clássico/normoandrogênico (OP): distúrbios de ovulação (O); critérios de ovário policístico definido através dos critérios ultrassonográficos (P) e sem evidências de hiperandrogenismo clínico ou laboratorial, sendo o menos comum (BEDNARSKA & SIEJKA, 2017; SPRITZER, 2014).

A SOP pode ocasionar manifestações obstétricas resultantes das disfunções metabólicas, uma vez que a ausência de ovulação e/ou ciclo menstrual desregulado impedem a fertilização e a concepção, tornando a gravidez difícil. Deste modo, a SOP é considerada uma das principais causas de infertilidade anovulatória, acometendo mulheres em idade fértil (HOEGER et al., 2021). Por ser uma síndrome bastante heterogênea, além do acometimento obstétrico e metabólico, a SOP também pode estar associada a doenças cardiovasculares e psicológicas (BARTHELMESS & NAZ, 2014; GOORDARZI et al., 2011).

Em relação às características reprodutivas, são observadas em pacientes que possuem a condição: puberdade precoce, acne, alopecia, seborreia, ciclos menstruais irregulares, hirsutismo, infertilidade e complicações na gravidez (KUMAR et al., 2011; VANKY et al., 2004). O hirsutismo muitas vezes não se correlaciona diretamente com os níveis circulantes de andrógenos, portanto, sempre que o hiperandrogenismo clínico não for detectado, o hiperandrogenismo bioquímico deve ser avaliado por meio da dosagem da testosterona sérica total e da globulina de ligação de hormônios sexuais (*sex hormone binding globulin* - SHBG) (MANIQUE & FERREIRA, 2022).

As características psicológicas são demonstradas principalmente pelo desenvolvimento de ansiedade, depressão e não aceitação da imagem corporal (BARTHELMESS & NAZ, 2014). As características metabólicas incluem o efeito primário da resistência insulínica no músculo e tecido adiposo, com hiperinsulinemia compensatória (estima-se que 50-70% das mulheres com SOP apresentam esta condição (BEDNARSKA & SIEJKA, 2017)), associada à disfunção intrínseca das células β , diabetes mellitus tipo 2 (DM2), dislipidemias, doença hepática gordurosa não-alcóolica, aumento do risco de doenças cardiovasculares, obesidade e síndrome metabólica (TASALI et al., 2008; TEEDE et al., 2010).

A SOP também tem sido associada à inflamação crônica de baixo grau, caracterizada por aumento da contagem de glóbulos brancos, altos níveis de proteína C reativa (PCR) e Inter leucinas 6 e 18 (IL-6 e IL-18) (ARMANINI et al., 2022). Desequilíbrios em relação a marcadores inflamatórios também foram vistos no estudo do nosso grupo, onde foi observado níveis mais baixos de TNF e diminuição das relações TNF/IL-6, TNF/IL-2 e TNF/IL-4 em pacientes com SOP em comparação com o grupo controle, podendo ser considerada uma produção maior de citocinas contra-reguladoras na SOP (TOSATTI et al., 2020).

Outra relação importante, considerada pró-inflamatória, é o aumento do tecido adiposo, principalmente na região abdominal, sendo uma característica frequente nas pacientes com SOP e uma consequência direta do hiperandrogenismo e da resistência insulínica. A hipertrofia deste tecido estabelece um ambiente caracterizado por hipóxia, aumento da liberação de ácidos graxos livres, invasão de macrófagos e resistência insulínica. Os macrófagos residentes neste tecido liberam citocinas pró-inflamatórias que pioram o quadro metabólico. Além disso, os exames bioquímicos mostram níveis de perfil lipídico alterados, caracterizado por elevação dos triglicerídeos e dos níveis de LDL-c, bem como redução do HDL-c (MUJICA et al., 2020).

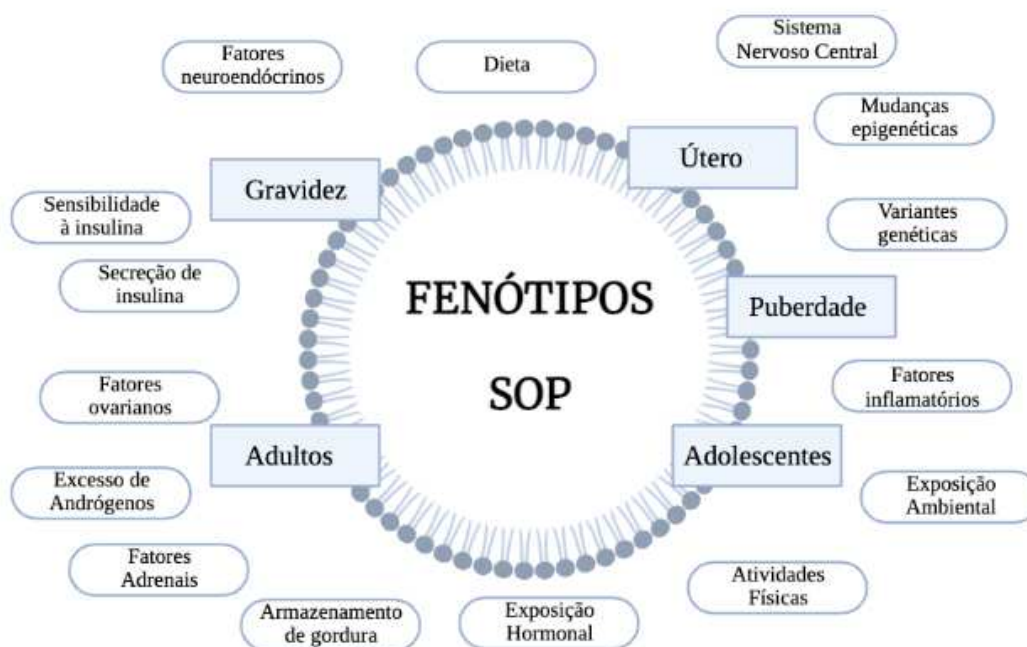
Segundo Armanini et al. (2022), o hormônio envolvido na fisiopatologia da SOP é a aldosterona, um hormônio sintetizado na zona glomerulosa do córtex das glândulas suprarrenais. É um fator subestimado no diagnóstico e tratamento da SOP, mas a relação aldosterona/renina se encontra frequentemente aumentada e este fato não só acentua o estado inflamatório subjacente, como também pode estar envolvido no desenvolvimento de alguns distúrbios metabólicos e cardiovasculares.

O eixo feminino hipotálamo-hipófise-ovariano (HPO) é uma rede síncrona e regulada, responsável pela competência reprodutiva e sobrevivência. A SOP interrompe a função do eixo HPO, ocasionando um desequilíbrio hormonal. O aumento de andrógenos circulantes, uma das principais características, é ocasionado pela secreção exagerada de androgênios por parte dos ovários e das glândulas adrenais e pode ser explicado pelo hiperestímulo do hormônio luteinizante (LH) nas células da teca ovariana. Alguns estudos evidenciaram que nestas mesmas células há aumento

da expressão do gene *CYP17A1*, sendo considerado um gene chave na regulação da esteroidogênese (MARCONDES, 2012; MUJICA et al., 2020).

A resistência à insulina, o hiperandrogenismo, a inflamação crônica de baixo grau e o aumento de tecido adiposo contribuem para o ciclo de complicações que a SOP traz, entretanto, a patogênese da SOP não é totalmente esclarecida, por ser uma condição complexa e multifatorial, incluindo fatores genéticos, ambientais e transgeracionais, conforme demonstrado na **Figura 1** (ARMANINI et al., 2022; BEDNARSKA & SIEJKA, 2017; GANIE et al., 2019).

Figura 1. Fatores que estão relacionados com a fisiopatologia da SOP.



Fonte: Adaptado de WITCHEL et al., 2019.

2.2 Epidemiologia da SOP

A SOP é uma disfunção endócrina considerada um importante problema de saúde pública diante da prevalência atual e comorbidades (GOODARZI et al., 2011; PATEL, 2018). Os sintomas surgem normalmente durante os primeiros anos da puberdade (WITCHEL et al., 2019). O entendimento acerca de sua prevalência é essencial, porém, é importante considerar fatores geográficos e étnicos por possuir mais de um fenótipo (LIZNEVA et al., 2016). É considerada um dos distúrbios endócrinos mais

comuns entre as mulheres com idade fértil (BEDNARSKA & SIEJKA, 2017). Este desbalanço hormonal acomete de 5% a 18% das mulheres em idade reprodutiva, dependendo do método de avaliação utilizado para o diagnóstico utilizado e região geográfica (PATEL, 2018). Entre as mulheres que possuem anovulação crônica, a prevalência da SOP é de cerca de 30% (REINDOLLAR et al., 1986).

Estudos realizados em países como Estados Unidos e nos continentes europeu e asiático mostram que a SOP é mais comum em mulheres jovens e obesas, e está associada a um maior risco de DM2, doenças cardiovasculares e infertilidade. Além disso, pode estar relacionada com grupos étnicos específicos, como é citado no estudo de Engmann et al. (2017), no qual as mulheres hispânicas com SOP possuem um fenótipo mais grave, com maior prevalência de RI, hiperglicemia e hiperandrogenismo do que mulheres SOP brancas não hispânicas. Mulheres negras com SOP não hispânicas possuem o fenótipo com menor sintomatologia (AZZIZ et al., 2016). Há ainda outros fatores que são considerados de risco para o seu desenvolvimento, como: baixo peso ao nascer, exposição uterina a andrógenos, rápido ganho de peso após o nascimento, menarca precoce, e adolescência com índice de massa corpórea (IMC) alto, fazendo com que a hipótese de que aspectos ambientais, incluindo a dieta e exposição à esteróides sexuais, associados a uma predisposição genética, possam desencadear a síndrome (MANIQUE & FERREIRA, 2022; MUJICA et al., 2020).

É visto que o pico da incidência de SOP ocorre entre 18 e 30 anos de idade, uma vez tratar-se de faixa etária reprodutiva. É uma fase em que as mulheres possuem maior preocupação em encontrar um parceiro, dar início à vida sexual e formar uma família. Desta forma, a condição pode ocasionar efeitos negativos sobre a aparência física e comprometer a fertilidade, causando ansiedade e distúrbios psicosssexuais. Também está associada a um maior risco de complicações durante a gestação, como diabetes gestacional, pré-eclâmpsia e parto prematuro (AZEVEDO, 2016; GANIE et al., 2019; BEDNARSKA & SIEJKA, 2017). Além disso, é a causa mais comum de hirsutismo, sendo responsável por até 80% dos casos. A presença do hirsutismo possui um impacto negativo sobre a autoestima e a identidade feminina (AZEVEDO, 2016).

Levando em consideração os critérios diagnósticos da Sociedade Europeia de Embriologia e Reprodução Humana e da Sociedade Americana para Medicina Reprodutiva (ESHRE/ASRM) (SIRMANS & PATE, 2013) utilizados atualmente, até 70% das mulheres afetadas podem não ser diagnosticadas (MARCH et al., 2010), e uma explicação para este fato seria de que a SOP possui características bastante heterogêneas, impossibilitando muitas vezes a determinação definitiva do que é uma causa e o que é um efeito no desenvolvimento da patologia (LIZNEVA et al., 2016).

As variações na prevalência da SOP relatada entre os países nos estudos podem ser explicadas em parte pelas diferenças étnicas, pela variedade de abordagens usadas para definir a população estudada e pela aplicação de diferentes critérios de diagnóstico (LIZNEVA et al., 2016). No entanto, por desencadear distúrbios metabólicos, é visto que nas populações que apresentam IMC menores e possuem baixa prevalência de DM2, o risco de desenvolvimento de SOP provavelmente é menor, uma vez que a história familiar constitui um fator de risco importante para o seu desenvolvimento, sugerindo assim, que os fatores genéticos exercem um papel importante em sua etiologia (EHRMANN et al., 2005).

Estudos destacam que o aumento da RI está presente em pelo menos 60% das mulheres com SOP e vem sendo considerada, junto com o hiperandrogenismo, a base fisiopatológica da doença (FERNANDES, 2017). A obesidade, observada em até 50% dos casos, pode estar associada a níveis elevados de insulina, que semelhantemente ao LH, é estimulador da secreção de androgênios pela teca (MUJICA et al., 2020). A SOP e a síndrome metabólica possuem características semelhantes como o desenvolvimento de RI, DM2 e obesidade, por isso, prevalência dessa síndrome é quase três vezes maior em mulheres com SOP (MANIQUE & FERREIRA, 2022).

Algumas evidências sugerem que adolescentes que possuem menstruação irregular desde os 14 a 19 anos estão pré-dispostas a um risco aumentado de desenvolvimento de SOP, principalmente quando são obesas ou apresentam níveis elevados de LH (LIZNEVA et al., 2016; VAN HOOFF et al., 2004). Além disso, é geralmente reconhecido que a obesidade aumenta os distúrbios menstruais e o hiperandrogenismo, enquanto a redução de peso reduz os sinais clínicos (BEDNARSKA & SIEJKA, 2017; GANIE et al., 2019).

2.3 Tratamento da SOP

As pacientes que possuem SOP, geralmente, procuram serviços médicos para orientação e tratamento pelos ciclos menstruais irregulares, acne, hirsutismo e infertilidade (MANIQUE & FERREIRA, 2022).

Segundo o Ministério da Saúde (2019), a identificação dos fatores de risco da doença em seu estágio inicial e o encaminhamento precoce e adequado para o atendimento especializado dão um caráter essencial para um resultado terapêutico e prognóstico satisfatórios dos casos de SOP. Os tratamentos utilizados para manejo clínico dos sinais e sintomas possuem o objetivo de melhorar os níveis hormonais e metabólicos para melhora da qualidade de vida e a saúde em geral a longo prazo, evitando a incidência de complicações, como as já citadas (FERNANDES, 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

O tratamento de primeira escolha consiste em intervenções no estilo de vida, incluindo a prática de atividades físicas regulares e o acompanhamento nutricional, para assim, ocorrer o controle do peso corporal, já que pacientes com SOP podem possuir sobrepeso ou obesidade que dificultam a melhora do quadro (MANIQUE & FERREIRA, 2022).

É descrito que as mudanças no estilo de vida podem melhorar os níveis hormonais e metabólicos, diminuindo os níveis de andrógenos e, conseqüentemente, ocasiona regulação dos ciclos menstruais. Deve também haver suspensão do consumo de tabaco e de bebidas alcoólicas. Entretanto, o grande problema neste tipo de tratamento, é sua adesão baixa e alto grau de recaídas pelas pacientes (CAROLO et al., 2017).

As opções farmacológicas para o tratamento incluem anticoncepcionais orais (ACOs), sensibilizadores de insulina, como a metformina, fármacos que possuem efeitos antiandrogênicos, como a espironolactona, e medicamentos tópicos para hirsutismo e acne. O uso de ACOS constitui-se em um dos tratamentos mais comumente prescritos para tratar a sintomatologia relacionada à SOP, particularmente a irregularidade

menstrual e o hirsutismo (FERNANDES, 2013), facilitando a contracepção no momento seguinte, que é fundamental quando são associados aos antiandrogênios. Sua ação é caracterizada pela supressão da secreção e síntese dos hormônios ovarianos e aumento da síntese de SHBG (ARMANINI et al., 2022). Entretanto, a forte presença de comorbidades e os fatores de risco cardiovasculares podem contraindicar o uso desta classe de medicamentos, pois o risco da utilização pode ser maior que o seu benefício da redução dos sintomas citados, uma vez que a utilização em excesso de estrogênio pode piorar a resistência à insulina (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Por mais que a resistência insulínica não represente um dos critérios diagnósticos, ela é considerada um alvo de tratamento muito importante (ARMANINI et al., 2022). Os sensibilizadores de insulina, possuem um ótimo benefício em relação aos efeitos positivos para diminuição dos riscos cardiovasculares e da resistência à insulina, mas não garantem a contracepção (SILVA et al., 2006). São fármacos recomendados para o tratamento das irregularidades menstruais em pacientes que apresentem alterações metabólicas de risco para o uso de ACOs, e para pacientes em que as mudanças de estilo de vida sejam falhas na melhoria do quadro (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

O sensibilizador de insulina mais utilizado na SOP é a metformina, em função da sua segurança e eficácia apresentada. É utilizado comumente no tratamento do DM2, sendo considerado um “medicamento essencial” pela Organização Mundial da Saúde. É o hipoglicemiante cujos estudos demonstram uma melhora efetiva no controle glicêmico em pacientes com DM2 e raramente causa hipoglicemia, devido ao seu notável perfil de segurança (AL-KURAI SHY et al., 2022; LV & GUO, 2020; UDHANE, 2017).

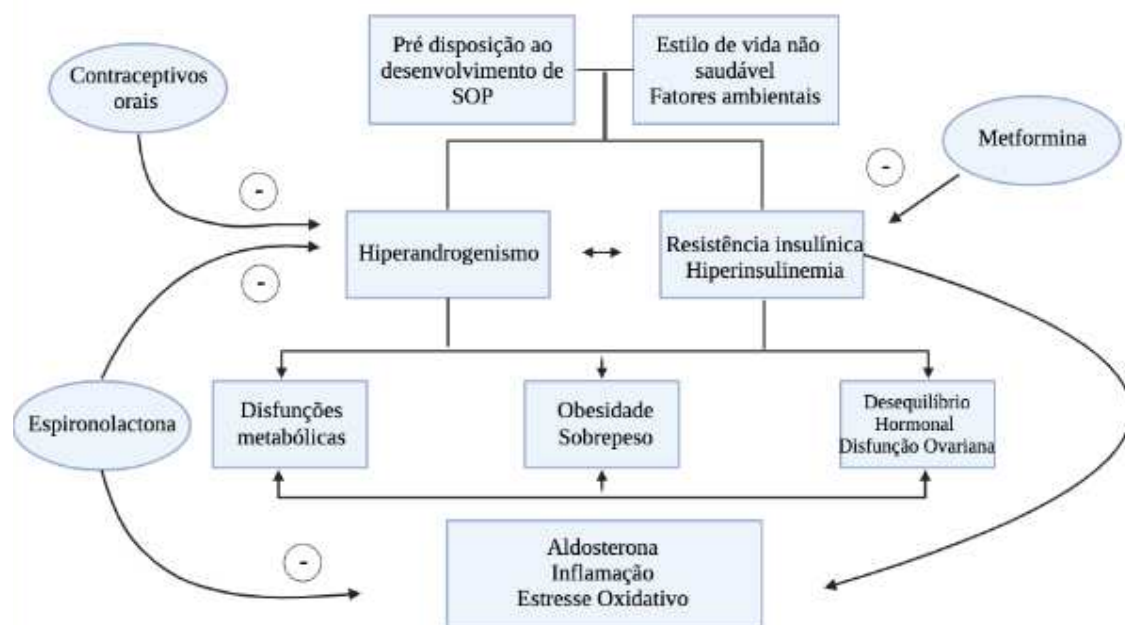
A metformina exerce seus efeitos principalmente pela supressão da produção hepática de glicose, por meio de vias dependentes de AMPK (LV & GUO, 2020). Além de aumentar a utilização da glicose nos tecidos sensíveis à insulina, ela diminui a neoglicogênese hepática, reduzindo os níveis plasmáticos de insulina e regulando a homeostase. Além disso, espera-se que este fármaco ocasione uma diminuição do risco cardiovascular (ARIE et al., 2009). O seu efeito em pacientes que possuem SOP não está bem definido, dependendo da população de estudo, mas sabe-se que pode

contribui para redução de medidas antropométricas, como IMC e relação cintura-quadril (RCQ) (OUYANG et al., 2020), e atualmente é utilizada na prática clínica.

Entretanto, os seus efeitos são cada vez mais comprovados em auxiliar na restauração da função ovariana e melhorar o perfil metabólico, principalmente quando há mudança no estilo de vida. Estudos mostram que a metformina pode melhorar o estado inflamatório por seu efeito anti-inflamatório, e, ainda, trazer melhorias indiretas em relação aos sintomas psicológicos de depressão e transtornos psiquiátricos, justamente pela melhoria dos aspectos hormonais e metabólicos (ARMANINI et al., 2022; MAZZA et al., 2013). No estudo de Udhane et al. (2017), foi demonstrado que, em pacientes que possuem SOP e DM2, a metformina não só melhorou os sintomas do diabetes, como restaurou a ovulação e reduziu os sintomas ligados ao hiperandrogenismo. E ainda, em outro estudo, o fármaco produziu um efeito redutor no peso corporal das pacientes com SOP (LV & GUO, 2020).

Outra classe de fármacos utilizada são os antiandrógenos, e os mais comumente utilizados são o acetato de ciproterona e a espironolactona. A espironolactona deve ser o medicamento de primeira escolha devido aos seus benefícios anti-inflamatórios e por agir bloqueando efeitos dos hormônios masculinos, como alopecia, hirsutismo e acne (MAZZA et al., 2013). Levando em consideração os sinais e sintomas clínicos da SOP, Armanini et al. (2022) descreveram um fluxograma relacionando os sinais clássicos da SOP com os fármacos de escolha para o tratamento (**Figura 2**).

Figura 2. Fisipatologia da SOP e potenciais fármacos utilizados para melhora do quadro clínico.



Fonte: Adaptado de ARMANINI et al., 2022.

Outra opção de tratamento considerada é a cirurgia bariátrica, para aquelas que possuem obesidade grave, quando a redução significativa de peso corporal pode ser difícil de ser alcançada e mantida. Há evidências de benefícios nos principais sintomas da SOP, como melhora no hirsutismo, fertilidade, parâmetros hormonais (LH, androgênios) e bioquímicos (HU et al., 2022; MINISTÉRIO DA SAÚDE 2019).

Apesar da fisiopatologia da SOP ainda não ser bem compreendida, há uma diversidade de manejos clínicos para melhora dos sinais e sintomas provocados pela mesma. Entretanto, é importante conscientizar que a terapia escolhida deve ser individual, principalmente por ser uma condição endócrina bastante heterogênea e possuir mais de dois fenótipos. Para indicação do tratamento, é imprescindível verificar o histórico da paciente e ouvir suas principais queixas. Além da resolução clínica, a terapia ideal e individualizada deve objetivar a melhora dos aspectos estéticos e psicológicos, além de considerar efeitos a longo prazo (ARMANINI et al., 2022; WITCHEL et al., 2019)-

2.4 Infertilidade e SOP

A SOP é considerada a causa de infertilidade anovulatória de maior frequência feminina, uma vez que 5-20% das mulheres inférteis possuem esta condição endócrina (BUTTERWORTH et al., 2016; FROMENT et al., 2022). Para muitas mulheres, esta consequência causa diversos efeitos negativos na vida social, profissional e conjugal (AZEVEDO, 2016).

A disfunção da ovulação na SOP está associada à infertilidade e geralmente se manifesta por oligomenorréia, com menos de oito períodos menstruais por ano, ou amenorréia, definida como a ausência de períodos menstruais (BRASSARD et al., 2008). Porém, alguns estudos já evidenciaram que mulheres com SOP, independente do fenótipo apresentado, possuem um potencial reprodutivo mais baixo, porém, quando há acesso à tratamentos relacionados à fertilidade, podem atingir o mesmo tamanho familiar de outras mulheres (HADDAD-FILHO et al., 2023).

A obesidade ou sobrepeso, que acomete essas pacientes, aumenta a pré-disposição à infertilidade e a ineficácia nos tratamentos de fertilidade, e, ainda, na presença de gravidez, pode ocasionar complicações, como pré-eclâmpsia, diabetes gestacional e mortalidade infantil, uma vez que agrava mais cronicamente o distúrbio ovulatório, fazendo com que a gestação seja de risco (BUTTERWORTH et al., 2016; HADDAD-FILHO et al., 2022).

A RI e o hiperandrogenismo também contribuem fortemente para a redução da fertilidade, sendo ocasionadas por fatores genéticos e/ou ambientais (BARBIERI, 2000). A RI, e conseqüentemente a hiperinsulinemia compensatória, estimula as células da teca, causando maior liberação de andrógenos e diminuindo a produção da SHBG, ocasionando um aumento ainda maior nos níveis de androgênios, ocasionando o hiperandrogenismo (MOTTA et al., 2012).

Em relação ao hiperandrogenismo, pode-se compreender que além do processo descrito, há um aumento de LH, o qual é responsável pela regulação da síntese de androgênios na teca, fazendo com que ovários sintetizem preferencialmente androgênios. Este desbalanço hormonal causa infertilidade, principalmente pelo prejuízo no desenvolvimento folicular (MOTTA et al., 2012)

Os possíveis tratamentos para melhora do quadro de infertilidade incluem redução do peso corporal, já que a indução da ovulação é menos efetiva quando o IMC é maior, melhora do estilo de vida e administração de uma combinação de medicamentos para melhorar a resistência à insulina. Portanto, é fundamental que as mulheres com essa condição recebam um acompanhamento médico adequado para identificar a abordagem terapêutica para cada caso e aumentar as chances de uma gestação saudável, uma vez que a possibilidade de gravidez sem o controle metabólico pode gerar complicações durante a mesma (FROMENT et al., 2022; MANIQUE & FERREIRA, 2022)

Na revisão sistemática e metanálise realizada pelo nosso grupo de pesquisa, foi demonstrado que a metformina é capaz de reduzir significativamente os níveis de testosterona total e o índice de androgênio livre em pacientes com SOP comparados a um grupo controle. Além disso, a mesma possui capacidade de diminuição da produção de biomarcadores bioquímicos do hiperandrogenismo, além da redução da glicemia e aumento da sensibilidade insulínica. Assim, estes dados corroboram a prática do uso da metformina para melhorar o status de infertilidade das mulheres com SOP (FONTES et al., 2023).

2.5 Fator de crescimento e diferenciação 15 (GDF-15)

O fator de crescimento e diferenciação 15 (GDF-15) é uma citocina da família do fator de transformação de crescimento Beta (TGF- β), também conhecida como citocina inibidora de macrófagos-1 (MIC-1), gene induzível por drogas anti-inflamatórias não esteroides-1 (NAG-1), fator de crescimento transformador da placenta beta (pTGFB), próstata - fator derivado (PDF), e proteína morfogenética óssea da placenta (PLAB). (BOOTCOV et al., 1997; ROCHETE et al., 2021; WISCHHUSEN; MELERO; FRIDMAN, 2020). Os estudos em relação a esta citocina iniciaram há mais de 20 anos, e seu interesse clínico foi despertado quanto à sua função e existência de vários estudos conectando-o com diferentes patologias (EMMERSON et al., 2018; MAY et al., 2021).

O eixo fisiopatológico do GDF-15 ainda não está totalmente compreendido, mas sabe-se da sua associação com a inflamação e que sua produção é induzida por estresse (MAY et al., 2021). Dessa forma, sua expressão é regulada positivamente na presença de injúria tecidual e fisiológica, e seus níveis aumentam principalmente em doenças inflamatórias (TSAY et al., 2018).

A expressão da GDF-15 pode ocorrer em praticamente todos os tecidos, o que sugere sua importância nas funções celulares gerais e básicas. É uma proteína expressa por cardiomiócitos, adipócitos, macrófagos, células endoteliais e células musculares lisas vasculares, tanto em condições normais, como em condições patológicas, em resposta à lesão tecidual, hipóxia, inflamação e estresse oxidativo. Entretanto, é importante salientar que há maior expressão de GDF-15 na placenta, seguida pela próstata. E baixos níveis de expressão foram observados na bexiga, rim, cólon, estômago, fígado, vesícula biliar, pâncreas e endométrio (WISCHHUSEN et al., 2020).

O GDF-15 tem sido implicado em vários processos inflamatórios e estudos recentes têm explorado sua relação com a inflamação em diferentes contextos, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, doenças renais e distúrbios metabólicos, como por exemplo, obesidade, RI e DM2 (MAY et al., 2021; ROCHETTE et al., 2021).

O aumento em seus níveis pode estar relacionado com a progressão e prognóstico das doenças e alguns fatores, como, idade, tabagismo, e fatores ambientais também podem elevar estes níveis (ADELA & BANERJEE, 2015). O GDF-15 pode ainda atuar na sinalização anti-inflamatória e pró-inflamatória em diferentes complicações cardiovasculares, sendo associado a um risco aumentado de eventos adversos, como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca e morte cardiovascular ao longo do tempo. Foi demonstrado que o GDF-15 é considerado um forte biomarcador para avaliação da progressão de doenças cardiovasculares, uma vez que a sua elevação promove inflamação e angiogênese (AL-KURAISHY et al., 2022). Além disso, foi visto que esta proteína pode ter um papel na inflamação vascular e no desenvolvimento da aterosclerose, uma doença inflamatória crônica que contribui para a maioria das outras doenças cardiovasculares (BROWN et al., 2002).

No estudo de George et al. (2016), foi demonstrado que, em pacientes com doença arterial coronariana e insuficiência cardíaca, o GDF-15 correlaciona-se a um risco elevado de eventos adversos e mortalidade total. No entanto, em modelo animal, observou-se que o GDF-15 possui um efeito protetor contra as lesões cardíacas por suas propriedades anti-inflamatórias e antiapoptóticas (KEMPF et al., 2006), sugerindo que sua elevação nas doenças cardiovasculares pode ser consequência, e não causa, do *status* inflamatório, com o objetivo de contrabalancear a quebra da homeostase.

Em relação ao câncer, estudos mostram um aumento dos níveis de GDF-15 no câncer de mama, cólon, pâncreas e próstata (ADELA & BANERJEE, 2015). Portanto, o GDF-15 tem sido bastante estudado como um biomarcador prognóstico e como um possível alvo terapêutico, sendo considerado uma das proteínas mais superexpressas nestas patologias (WISCHHUSEN et al., 2020). É caracterizado por regular a inflamação ocasionada pelos tumores, o que pode influenciar o crescimento e a progressão do câncer. Um estudo mostrou que a administração de GDF-15 em camundongos reduziu o tamanho do tumor e inibiu a inflamação local. Além disso, outros estudos sugerem que o GDF-15 pode estar envolvido na resposta imune antitumoral, o que pode ter implicações para o desenvolvimento de imunoterapias para o câncer (WOLLMANN et al., 2005).

É compreendido que o GDF-15 pode atuar como um regulador metabólico nos lipídios e glicose, aumentando a sensibilidade à insulina e protegendo da inflamação crônica do tecido adiposo, corroborando a hipótese de que seu aumento nas diversas doenças decorre da tentativa de contra-balancear o efeito inflamatório (ADELA & BANERJEE, 2015). Vários estudos mostraram níveis séricos de GDF-15 aumentados em indivíduos que possuem DM2, obesidade e até mesmo em inflamação crônica de baixo grau, que é comum em pessoas com distúrbios metabólicos, podendo ser correlacionado com o IMC, gordura corporal, glicose e PCR, preditores de doença coronariana (DING et al, 2009; DOSTÁLOVÁ et al., 2009).

O GDF-15 atua nas células do tecido adiposo e em resposta a sinais anti-inflamatórios, o GDF-15 é induzido localmente em macrófagos do tecido adiposo branco. Assim, ele pode ser capaz de reverter a RI e ocasionar melhora na síndrome metabólica,

modulando metabolicamente a função dos macrófagos (WISCHHUSEN et al., 2020). O aumento do GDF-15 na DM2 pode ser considerado um mecanismo compensatório. Em um estudo *in vivo* em camundongos com diabetes mellitus tipo 1 (DM1) induzida por estreptozotocina, os níveis de GDF15 aumentaram nos primeiros 7 dias. Já outro estudo de caso-controle em pacientes com DM2 em comparação a controles saudáveis, demonstrou-se que os níveis séricos de GDF-15 foram maiores em pacientes com DM2 e glicemia de jejum alterada, e correlacionados com RI, IMC e idade (AL-KURAI SHY et al., 2022).

Estudos ainda mostram que o aumento de GDF-15 está correlacionado com a progressão de complicações diabéticas, incluindo trombose e neuropatia diabética. No entanto, essa associação precisa ser verificada em diferentes estudos pré-clínicos e clínicos para que a proteína seja utilizada como um biomarcador preditor nestes quadros clínicos (AL-KURAI SHY et al., 2022; WISCHHUSEN et al., 2020).

Atualmente, há uma escassez de estudos relacionando o GDF-15 com a infertilidade. Uma análise de transcriptoma de blastocistos de pacientes com infertilidade, incluindo pacientes com SOP, observou que há diferenças significativas nos genes expressos relacionados à transdução de sinal, ligação ao receptor, reprodução, adesão celular e resposta a estímulos quando comparados aos oócitos de doadoras férteis, incluindo o gene *GDF-15* (McCALLIE et al., 2017). Ma et al. (2022) analisaram o fluido folicular de pacientes com SOP e observaram aumento de ácido araquidônico, que é um ácido graxo poliinsaturado que possui relação com estresse oxidativo, o qual regulou positivamente a expressão de GDF15, que por sua vez, possuiu um efeito protetor na inflamação, dano tecidual e apoptose. Já o estudo de Santoso et al. (2021) avaliou pacientes com infertilidade e endometriose grave e observou que os níveis de GDF-15 no líquido peritoneal foram mais altos quando comparados ao grupo controle. Desta forma, por ser uma proteína muito expressa na placenta, o GDF-15 foi sugerido como um potencial biomarcador para rastreio de complicações relacionadas à gravidez, como observado no estudo de Yuksel et al. (2018), onde o GDF-15 aumentou em pacientes com pré-eclâmpsia em resposta à lesão endotelial causada por citocinas relacionadas

2.6 Métodos de quantificação do GDF-15

Existem vários métodos de análise para a quantificação de GDF-15 em amostras biológicas, incluindo imunoenaios, espectrometria de massa e técnicas de biologia molecular para análise de expressão. Os imunoenaios são geralmente os mais amplamente utilizados devido à sua alta sensibilidade e especificidade, os quais detectam e quantificam a proteína em uma amostra biológica usando anticorpos específicos contra o GDF-15 (MAY et al., 2021). As técnicas de biologia molecular, principalmente a reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR) e sequenciamento de RNAs, podem ser utilizadas para medir a expressão de GDF-15 em amostras de tecidos e podem fornecer informações sobre a regulação da expressão gênica em diferentes condições clínicas (BARONI, 2014). Já a espectrometria de massa é uma técnica avançada que envolve a separação das proteínas presentes em uma amostra biológica e a identificação e quantificação com base na massa molecular (LACRAJAN et al., 2015). A escolha do método depende da finalidade da análise, bem como das limitações e recursos disponíveis.

2.5 Metformina e GDF-15

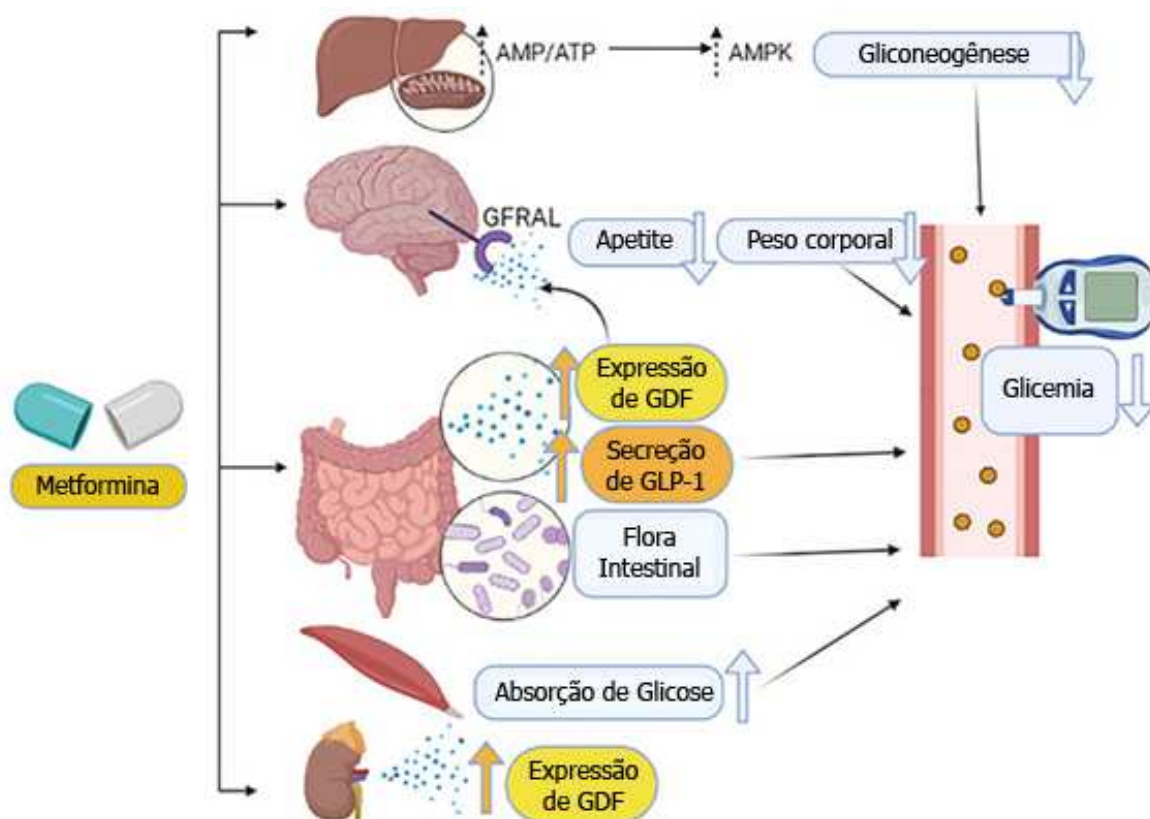
A correlação entre os níveis de GDF-15 e os efeitos da metformina vem sendo estudada nos últimos anos, principalmente em sua utilização na DM2 e redução de peso.

Estudos de experimentação animal já relataram que a administração oral de metformina aumenta os níveis de GDF-15 com subsequente atenuação do ganho de peso em resposta a uma dieta rica em gordura em camundongos. Outros estudos mostraram evidências convergentes de que o GDF-15 medeia o efeito da metformina no eixo do sistema nervoso intestinal para diminuir o peso corporal, inibindo o centro da fome e induzindo a saciedade (AL-KURASHY et al., 2022; COLL et al., 2019; LV & GUO, 2020). Já um estudo de caso-controle com 1.438 indivíduos adultos mostrou que a metformina foi um fator de influência chave na elevação do GDF-15 sérico, uma vez que foi aumentado em 40% nos pacientes com DM2 previamente tratados com metformina (XIAO et al., 2022).

Para Ouyang et al. (2020) e Al-kuraisky et al. (2022), a metformina induz a expressão de proteínas reguladoras de resposta ao estresse celular e como consequência, há estímulo da secreção do GDF-15 circulante. Assim, a proteína se liga ao seu receptor

exclusivo GFRAL e ao co-receptor RET no tronco cerebral. Este complexo de sinalização intracelular do GDF-15-GFRAL-RET leva ao controle do peso e aumento da sensação de saciedade. A relação entre metformina e GDF-15 no controle glicêmico está demonstrada na **Figura 3**, na qual a metformina aumenta a expressão de GDF-15, no intestino delgado e no rim, que ativa o receptor da família do fator neurotrófico derivado da glia (GDNF) no cérebro, ocasionando a diminuição do apetite e consequentemente a redução de peso. Além disso, ativa a proteína monofosfato quinase ativada (AMPK) e é capaz de modular a flora bacteriana, que por sua vez, aumenta a liberação de peptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1).

Figura 3. Mecanismos de redução dos níveis séricos de glicose e de peso corporal pelo uso de metformina sob ação do GDF-15.



Fonte: Adaptado de AL-KURAI SHY, Hayder M. et al., 2022.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Avaliar os níveis de GDF-15 em pacientes com síndrome dos ovários policísticos (SOP) e a sua relação com o uso de metformina, bem como propor vias metabólicas de ação da GDF-15 no contexto da síndrome.

3.2 Objetivos Específicos:

1. Comparar os níveis de GDF-15 entre um grupo de mulheres com SOP e um grupo controle;
2. Comparar os níveis de GDF-15 em mulheres com SOP tratadas e não tratadas com metformina.
3. Realizar um estudo de vias metabólicas nas quais o GDF-15 tem participação e propor mecanismos relacionados à SOP.

CAPÍTULO 1

GDF-15 IN PATIENTS WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME (PCOS) TREATED WITH METFORMIN: A CASE-CONTROL STUDY AND PATHWAY ANALYSIS

ABSTRACT

Background: Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is endocrine disease related to metabolic, reproductive and psychological manifestations. GDF-15 is a cytokine associated with metabolic and inflammatory disorders. Metformin is commonly used in the treatment of PCOS. **Aim:** We investigated the relationship between GDF-15 and PCOS, the effect of metformin on GDF-15 levels, and possible biological pathways related to GDF-15. **Methods:** In this study, 35 women with PCOS and 32 healthy controls were included and GDF-15 levels were compared between these groups. Besides, samples from 22 PCOS patients treated with metformin (n=7) or placebo (n=15) in a previous randomized clinical trial were included in this analysis. GDF-15 levels were analyzed by the MILLIPLEX®. The biological pathways related to GDF-15 were evaluated using STRING, SIGNOR and Pathway Commons datasets. The statistical analysis was conducted in SPSS software. **Results:** GDF-15 levels were higher in the PCOS group compared to controls (p=0.039). In women with PCOS treated with metformin, GDF-15 levels were higher than in those treated with placebo (p=0.007). After an overlapping of GDF-15-related proteins between the datasets, we found a significant interaction with proteins related to PCOS and its complications, such as estrogen response, oxidative stress, ovarian infertility, IL-18, IL-4, AGE/RAGE, leptin, TGF-beta, adipogenesis and insulin. **Conclusion:** The findings suggest that there is a relationship between GDF-15 and PCOS, and that metformin treatment could increase the GDF-15 levels. Also, GDF-15 could participate in biological pathways related to complications of PCOS.

Keywords: GDF-15; polycystic ovary syndrome; metformin; biological pathways.

1. INTRODUCTION

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is considered the most common endocrine condition in reproductive age and affects approximately 5% to 18% of women in this period. PCOS is an important public health problem due to the current prevalence and comorbidities [1,2]. Its characterization is based on the presence of at least two of the three clinical aspects defined by the Rotterdam criteria: (1) chronic oligo or anovulation, (2) clinical and/or laboratory hyperandrogenism, and (3) ultrasonographic characteristics of polycystic ovaries and/or ovarian volume > 10 mL [1,3].

In addition to these core symptoms and signs, PCOS may have many clinical manifestations [4], such as precocious puberty, infertility and pregnancy complications [5,6]. Its metabolic features include primary insulin resistance on muscle and adipose tissue, with compensatory hyperinsulinemia, associated with intrinsic dysfunction of β cells, type 2 diabetes mellitus (DM2), dyslipidemia, non-alcoholic fatty liver disease, increased risk of cardiovascular diseases, obesity and metabolic syndrome are also described [7,8]. Psychological characteristics are demonstrated mainly by the development of anxiety, depression and non-acceptance of body image [3]. PCOS is also associated with low-grade chronic inflammation, which has a persistent condition, due to prolonged exposure to inflammatory stimuli, as occurs in chronic noncommunicable diseases [9]. These stimuli activate inflammatory cells, such as macrophages, and induce the production of cytokines related to inflammation [10,11].

Growth and differentiation factor 15 (GDF-15) is a cytokine of the transforming growth factor beta (TGF- β) family that has been increasingly studied for its relationship with several physiological and pathological processes, including stress-induced inflammation, cardiovascular diseases, kidney diseases and obesity, probably in a counter-regulatory way [12-16]. In fact, GDF-15 can regulate lipid and glucose metabolism, increasing insulin sensitivity and protecting against chronic inflammation of adipose tissue [17].

Metformin, from the biguanide class, is one of the drugs commonly used in the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and other diseases like PCOS, due to its excellent tolerability and safe profile for the patients [18,19,20]. There is evidence that in patients with PCOS and T2DM metformin not only improved the clinical symptoms of diabetes but also restored ovulation and reduced symptoms linked to hyperandrogenism [19]. The correlation between GDF-15 levels and the effects of

metformin has been studied in recent years, mainly in T2DM control and weight reduction [21, 22], food intake [23], coronary artery disease and cancer [24]. However, it is still unclear how GDF-15 levels change in the presence of PCOS and/or in response to metformin treatment in people with this highly prevalent condition.

Considering that GDF-15 is related to inflammatory and metabolic diseases, our hypothesis is that GDF-15 could be associated to PCOS and its complications. In addition, we investigated the effect of metformin on GDF-15 production and possible biological pathways, in which GDF-15 could be related to the pathophysiology of the syndrome.

2. METHODS

2.1 Subjects

We initially performed a prospective, cross-sectional study comparing 35 women with PCOS and 32 healthy controls (Table 1). Patients with PCOS were recruited at the Hyperandrogenism Outpatient Clinic of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Minas Gerais (UFMG), according to the inclusion criteria: patients aged 18 to 40 years and diagnosed with PCOS according to the criteria established by the ESHRE/ASRM PCOS Consensus Workshop Group diagnostic criteria (oligo / amenorrhoea, clinical and/or laboratory hyperandrogenism and ultrasonographic morphology of polycystic ovaries) [25]. Participants who had a previous diagnosis of T2DM, adrenal, kidney, liver, thyroid disorders, tumors, acute inflammatory reaction, hyperprolactinemia (prolactin >40 ng/mL), hypogonadism, pregnancy, treatment with steroid and non-steroidal anti-inflammatory drugs, isotretinoin, cyclosporine, antiretroviral, insulin and oral contraceptives were excluded. The controls were recruited from the UFMG community, including women aged between 18 and 40 years, without PCOS, and following the same exclusion criteria.

To assess the regulation of metformin on GDF-15 levels in women with PCOS we retrieved serum samples from a previous randomized clinical trial (RCT) [26], which had the same inclusion and exclusion criteria mentioned above. The participants were

randomly assigned to receive 60 days of treatment with metformin (Glifage XR, Merck, 1,500 mg, single daily dose at night, n = 7), or placebo tablets (n = 15). The samples were obtained at end of the treatment.

2.2 Ethics

This study was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais (Protocol ID 0379.0.203.00-11). The previous RCT was also registered at the Brazilian Clinical Trials Registry, REBEC (Primary ID Number RBR-47tvky) and Brazilian Ministry of Health Human Research Registry (Protocol ID 17127713.2.0000.5149). Informed consent was obtained in all cases. The protocol was in accordance with the Declaration of Helsinki.

2.3 Biochemical determinations

Venous blood samples were collected after fasting for 12 h. The samples were centrifuged at 2500 g for 20 min at 4 °C to obtain the plasma (EDTA or citrate) or serum. Aliquots were stored at -80 °C until use.

The determination of glucose, total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDLc), triglycerides (TG) and C-reactive protein (CRP) were performed through the Vitros System (Johnson & Johnson, New Brunswick, NJ, USA). Low-density lipoprotein cholesterol (LDLc) and very low-density lipoprotein cholesterol (VLDLc) levels were estimated. Insulin and total testosterone were measured through immunoassays in the ARCHITECT equipment (Abbott, Chicago, IL, USA). All determinations were performed following the manufacturer's instructions.

Weight was measured using a calibrated scale. Height was measured with a rigid stadiometer and waist circumference with a tape measure. The Lipid Accumulation Product Index (LAP) was calculated using the following formula: $LAP = [\text{waist circumference (cm)} - 58] \times \text{TG (mmol/L)}$. Finally, the HOMA-IR index (assessment of the homeostatic model for insulin resistance) was calculated using the formula: $HOMA-IR = [\text{insulin (mU/L)} \times \text{glucose (mM/L)}] / 22.5$.

2.4 GDF-15 levels determination

Plasma samples in citrate-coated vacuum tubes were obtained from the individuals that participated of the cross-sectional evaluation while serum samples were used from the RCT study. Aliquots were stored at -80 °C until use. GDF-15 levels were analyzed using the MILLIPLEX® MAP Human Cardiovascular Disease Magnetic Bead Panel 2 kit (Kit Catalog # HCVD2MAG-67K, Merck, Millipore, Darmstadt, Germany) following the manufacturer's instructions. The equipment used was the MagPix® (Luminex MAGPIX system, Luminex Corporation, Austin, TX, USA). Concentrations were determined after fitting the standard curve using the MILLIPLEX® Analyst Software. The method presents a coefficient of variation intra-assay = 3.1% and inter-assay = 11.2%; sensitivity = 0.0006 ng/mL.

2.5 Metabolic Pathways

In order to develop an integrated understanding of the proteins related to GDF-15 pathways and PCOS, we applied a network biology approach using the databases: SIGNOR (<https://signor.uniroma2.it/>) and Pathway Commons (<https://www.pathwaycommons.org/>). The proteins that interact with GDF-15 from both databases were overlapped and STRING (<https://string-db.org/>) database showed significant biological pathways related to these interactions (p value <0.050).

2.6 Statistical Analysis

Analyzes were performed using the SPSS package (version 21.0 for IOS; Chicago, Illinois, USA). Data were expressed as mean \pm SD or median (interquartile range) as appropriate. The normality of quantitative variables was assessed using the Shapiro-Wilk test. To determine the difference between the groups, the T Test was used for normal data and the Mann-Whitney test for non-normal data. The level of statistical significance was considered as p value < 0.05.

3. RESULTS

The clinical and laboratory characteristics of the participants are described in **Table 1**. We observed higher values for insulin, HOMA-IR, CPR and total testosterone levels in the PCOS group compared to controls (all $p < 0.050$). PCOS group presented higher body mass index (BMI), abdominal circumference and LAP (all $p < 0.05$). There was no significant difference for the other parameters when comparing the two groups ($p > 0.05$). The characteristics of the metformin RCT participants are detailed in Oliveira et al. (2020) [26].

GDF-15 levels in the PCOS group [6.11 (IQ=10.35) ng/mL] were higher compared to controls [3.62 (IQ=5.67) ng/mL] ($p = 0.039$) (**Figure 1A**). In PCOS group, the GDF-15 showed significant correlation only with VLDL-c ($r = 0.457$, $p = 0.010$) and triglycerides ($r = 0.451$, $p = 0.010$). Furthermore, in the group of women with PCOS previously treated with metformin, GDF-15 levels were higher [1.89 (IQ=2.73) ng/mL] compared to the group of PCOS women untreated [1.18 (IQ=2.73) ng/mL, $p = 0.007$, **Figure 1B**].

After an overlapping of proteins related to GDF-15 in the different datasets, we found a significant interaction of GDF-15 with Transcription factor SP1 (SP1), MAP kinase-activated protein kinase 14 (MAPK14), Early growth response protein 1 (EGR1), CCAAT/enhancer-binding protein beta (CEBPB), and Cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-3 (ATF3) proteins ($p = 1.14e-11$) (**Figure 2**). In common with PCOS pathophysiology and its complications, the pathways that showed significant relationship were namely (FDR - false discovery rate): Estrogen (0.0032), Oxidative stress response (0.0049), Ovarian infertility (0.0049), IL-18 (0.0049), IL-4 (0.0081), ratio advanced glycation end products and its receptor AGE/RAGE (0.0109), Leptin signaling pathway (0.0110), TGF-beta pathways (0.014), Adipogenesis (0.0265), and Insulin signaling (0.0335).

4. DISCUSSION

The present study demonstrated that patients with PCOS had higher levels of GDF-15 compared to healthy women. Additionally, the use of metformin was associated with higher GDF-15 levels compared to placebo. This protein seems to be involved in biological pathways related to inflammation, glucose metabolism, adipogenesis and infertility, which also participate in the pathophysiology of PCOS.

GDF-15 expression is increased in cardiovascular diseases and metabolic disorders, probably in a counter-regulatory process to reestablish the homeostasis [13,16]. Previous studies involving GDF-15 and PCOS found that it may provide a link between the risk of developing diabetes and cardiovascular disease [27], has a protective effect against inflammation and tissue damage [28], plays an important role in response to insulin [29], and yet, could be a marker of cross-regulation between bone and energy metabolism [30]. Furthermore, in the early development of PCOS, there is a relative deficit in GDF-15 levels, which could partly explain the difficulties in controlling the body adiposity in this period [31]. In addition, GDF-15 may have anti-inflammatory effects [32], besides improving body mass index, fasting insulin levels and glucose tolerance [33].

A positive correlation between GDF-15 and VLDL-c, as well as triglyceride levels was observed only in the PCOS group, although the levels of these lipids were not different between the groups. In fact, Luan et al. (2020) showed that GDF-15 stimulates hepatic triglyceride secretion depended on adrenergic signaling, suggesting that GDF-15 coordinates tolerance to inflammatory damage through regulation of triglyceride metabolism [34].

GDF-15 levels were even higher in PCOS patients who received metformin treatment compared to placebo. The results obtained are in agreement with an observational study where GDF-15 levels increased with metformin treatment in a dose-dependent manner, suggesting that the use of GDF-15 as a new biomarker for monitoring efficacy of metformin treatment [35].

In another study, the relationship between GDF-15, the use of metformin and body weight loss was evaluated, and it was hypothesized that weight loss dependent on GDF-15 contributes to increasing insulin sensitivity [36]. Coll et al. (2019) observed, in a clinical study, that the use of metformin for two weeks was able to raise circulating levels of GDF-15 by about 2.5 times. Using a mouse model, the same study showed that metformin prevented weight gain in response to a high-fat diet, based on high circulating levels of GDF-15, concluding that it has beneficial effects on energy balance and body weight [21].

In the *in silico* analysis, GDF-15 showed interaction with SP1, MAPK14, EGR1, CEBPB and ATF3 proteins, which were related to several signaling pathways like estrogen, oxidative stress, IL-18, IL-4, AGE/RAGE, leptin, TGF-beta, and mechanisms controlling adipogenesis and insulin sensitivity. Currently, there are few studies relating androgenic hormones, infertility and GDF-15. In the study by Faubion et al. (2020) in men with coronary artery disease, GDF-15 levels were inversely correlated with serum testosterone levels and testosterone/estradiol ratio. In addition, protein expression was reduced in the presence of estradiol, which may support the hypothesis of the relationship of GDF-15 with dysfunctions in the ovarian cycle [37].

Follicular fluid (FF) is a microenvironment for oocyte development and maturation, since ovarian folliculogenesis is regulated by extra- and intra-ovarian factors. Souček et al. (2018) evaluated FF GDF-15 concentration and fertility status from 26 women undergoing assisted reproduction procedures. GDF-15 levels were not associated with the patient's fertility status, but granulosa cells secreted GDF-15 into culture media and primary oocytes displayed cytoplasmic GDF-15 positivity in immunostained ovaries [38].

GDF-15 is known to be related to stress and inflammation. Its increase may be mediated by mitochondrial stress, with activation of the AMPK pathway [32]. However, a study with several inflammatory markers demonstrated that IL-18, but not GDF-15, was related to the progression of T2DM, with a deleterious effect on insulin production or action [39]. There are some studies that correlated the increase in GDF-15 with the increase in IL-4 and insulin resistance [40, 41]. The AGE/RAGE axis, which was also one of the signaling pathways of GDF-15-related proteins identified in our study, was inhibited by the increased expression of GDF-15, which also inhibited renal inflammation in patients with diabetic nephropathy [42].

Regarding glucose metabolism and adipogenesis, we observed a positive association between GDF-15 and serum lipids, which is in line with evidence showing that GDF-15 is a prognostic biomarker in metabolic disorders related to obesity [43, 44]. Leptin is a protein synthesized by adipocytes that acts directly on the hypothalamus reducing food intake and increasing energy expenditure. Kralisch et al. (2020) observed in an

animal model that GDF-15 levels were increased in those with lipodystrophy, but when treated with leptin, there was a reduction in GDF-15 levels. Furthermore, GDF-15 was increased during physical exercise and was regulated by the glucagon-insulin relationship [45]. It was also associated with reducing of body weight and improving blood glucose by increasing the feeling of satiety, through the central intracellular signaling complex GDF-15-GFRAL-RET. This mechanism also results in a reduction in hyperinsulinemia, an increase in hepatic sensitivity to insulin and, to a lesser extent, peripheral sensitivity to insulin, since it increases the use of glucose by the muscle [22, 46].

This study has limitations, such as the origin of the patients from a single center. In addition, the sample size was not powered to correlate the levels of GDF-15 with the dose of metformin, making it necessary to expand the study to better understand this relationship. GDF-15 concentrations were lower in the second set of samples, obtained from a previous RCT, which could be related to diverse blood collection (plasma *versus* serum), suggesting that the methodology is sensitive to the type of sample. Consequently, a cross validation of the results between the two groups of samples was not possible. However, to the best of our knowledge, this is the first controlled study of GDF-15 in PCOS, considering the use of metformin and proposing possible biological pathways in which GDF-15 is involved in the development of the syndrome and its complications.

5. Conclusion

The present data suggest that there is a relationship between GDF-15 and PCOS, and that metformin treatment could increase the GDF-15 levels. Higher GDF-15 levels in PCOS may help to regulate the complications of the disease, such as insulin resistance, adiposity and counterbalance the inflammatory process. Metformin treatment elevated GDF-15 levels, indicating that this protein could be a follow-up clinical biomarker in patients with PCOS treated with metformin. In addition, GDF-15 is involved in biological pathways related to inflammation, glucose metabolism, adipogenesis and infertility, all related to PCOS complications.

6. References

1. Patel S. Polycystic ovary syndrome (PCOS), an inflammatory, systemic, lifestyle endocrinopathy. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018; 182: 27-36.
2. Goodarzi M, Dumesic D, Chazenbalk G et al. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol.* 2011; 7(4): 219-231.
3. Barthelmess E, Naz R. Polycystic ovary syndrome: current status and future perspective. *Front Biosci (Elite Ed).* 2014; 6: 104.
4. Hoeger K, Dokras A, Piltonen T. Update on PCOS: consequences, challenges, and guiding treatment. *J of Clin Endocrinol & Metabol.* 2021; 106(3): e1071-e1083.
5. Vanky E, Kjørtrød S, Salvesen K, et al. Clinical, biochemical and ultrasonographic characteristics of Scandinavian women with PCOS. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004; 83(5): 482–486.
6. Kumar P, Sait S, Sharma, A et al. Ovarian hyperstimulation syndrome. *J Hum Reprod Sci.* 2011; 4(2): 70-75.
7. Tasali E, Cauter E, Ehrmann D. Polycystic Ovary Syndrome and Obstructive Sleep Apnea. *Sleep Med Clin.* 2008; 3(1): 37–46.
8. Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med.* 2010; 8: 41.
9. Armanini D, Boscaro M, Bordin L et al. Controversies in the Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of PCOS: Focus on Insulin Resistance, Inflammation, and Hyperandrogenism. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(8): 4110.
10. Silva R, Pardini D, Kater C. Síndrome dos ovários policísticos, síndrome metabólica, risco cardiovascular e o papel dos agentes sensibilizadores da insulina. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006; 50: 281-290.
11. Duleba A, Dokras A. Is PCOS an inflammatory process? *Fertil Steril.* 2012; 97(1): 7-12.
12. Wischhusen J, Melero I, Fridman W. Growth/differentiation factor-15 (GDF-15): from biomarker to novel targetable immune checkpoint. *Front Immunol.* 2020; 11: 951.
13. Rochette L, Dogon G, Zeller M. GDF15 and cardiac cells: current concepts and new insights. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(16): 8889.
14. Tsai V, Husaini Y, Sainsbury A et al. The MIC-1/GDF15-GFRAL pathway in energy homeostasis: implications for obesity, cachexia, and other associated diseases. *Cell Metab.* 2018; 28(3): 353-368.

15. Bootcov M, Bauskin A, Valenzuela S et al. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF- β superfamily. *PNAS*. 1997; 94(21): 11514-11519.
16. May B, Pimentel M, Zimmerman L et al. GDF-15 como Biomarcador em Doenças Cardiovasculares. *Arq Bras Cardiol*. 2021; 116(3): 494-500.
17. Adela R, Banerjee S. GDF-15 as a target and biomarker for diabetes and cardiovascular diseases: a translational prospective. *J Diabetes Res*. 2015; 2015: 490842.
18. L Z, GUO Y. Metformin and Its Benefits for Various Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020; 11: 191.
19. Udhane S. Combined transcriptome and metabolome analyses of metformin effects reveal novel links between metabolic networks in steroidogenic systems. *Sci Rep*. 2017; 7: 8652.
20. Xiao Q, He Q, Zeng J et al. GDF-15, a future therapeutic target of glucolipid metabolic disorders and cardiovascular disease. *Biomedic & Pharmacother*. 2022; 146: 112582.
21. Coll A, Chen M, Taskar P et al. GDF15 mediates the effects of metformin on body weight and energy balance. *Nature*. 2020; 578(7795): 444-448.
22. Carvalho M, Colaço A, Fortes Z. Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006; 50: 304-312.
23. Zhang S, Bruce K, Danaei Z. Metformin triggers a kidney GDF15-dependent area postrema axis to regulate food intake and body weight. *Cell Metab*. 2023; 35(5):875-886.e5.
24. Au Yeung S, Luo S, Schooling C. The impact of GDF-15, a biomarker for metformin, on the risk of coronary artery disease, breast and colorectal cancer, and type 2 diabetes and metabolic traits: a Mendelian randomisation study. *Diabetologia*. 2019; 62(9):1638-1646.
25. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004; 81: 19–25
26. Oliveira F, Mamede M, Bizzi M et al. Effects of short term metformin treatment on brown adipose tissue activity and plasma irisin levels in women with polycystic ovary syndrome: A randomized controlled trial. *Horm Metab Res*. 2020; 52(10): 718-723.
27. Berberoglu Z, Aktas A, Fidan Y et al. Plasma GDF-15 levels and their association with hormonal and metabolic status in women with polycystic ovary syndrome aged 25-35. *Minerva Endocrinol*. 2014; 39(2): 89-97.

28. Ma Y, Zheng L, Wang Y et al. Arachidonic Acid in Follicular Fluid of PCOS Induces Oxidative Stress in a Human Ovarian Granulosa Tumor Cell Line (KGN) and Upregulates GDF15 Expression as a Response. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 11; 13:865748.
29. Jerobin J, Ramanjaneya M, Bettahi I et al. Regulation of circulating CTRP-2/CTRP-9 and GDF-8/GDF-15 by intralipids and insulin in healthy control and polycystic ovary syndrome women following chronic exercise training. *Lipids Health Dis*. 2021; 19;20(1):34.
30. Berberoglu Z, Aktas A, Fidan Y et al. Association of plasma GDF-9 or GDF-15 levels with bone parameters in polycystic ovary syndrome. *J Bone Miner Metab*. 2015; 33(1):101-8.
31. De Zegher F, Díaz M, Villarroya J et al. The relative deficit of GDF15 in adolescent girls with PCOS can be changed into an abundance that reduces liver fat. *Sci Rep*. 2021; 29;11(1):7018.
32. Wang D, Day E, Townsend L et al. GDF15: emerging biology and therapeutic applications for obesity and cardiometabolic disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2021; 17(10): 592-607.
33. Day E, Ford R, Smith B et al. Metformin-induced increases in GDF15 are important for suppressing appetite and promoting weight loss. *Nat Metab*. 2019; 1(12):1202-1208.
34. Luan H, Wang A, Hilliard B et al. GDF15 Is an Inflammation-Induced Central Mediator of Tissue Tolerance. *Cell*. 2019; 178(5):1231-1244.e11.
35. Gerstein H, Pare G, Hess S et al. Growth differentiation factor 15 as a novel biomarker for metformin. *Diabetes Care*. 2017; 40(2): 280-283.
36. Al-Kuraishy H, Al-Gareeb A, Alexiou A et al. Metformin and growth differentiation factor 15 (GDF15) in type 2 diabetes mellitus: A hidden treasure. *J Diabetes*. 2022; 14(12): 806-814.
37. Faubion L, White T, Peterson B et al. Effect of menopausal hormone therapy on proteins associated with senescence and inflammation. *Physiol Rep*. 2020; 8(16): e14535.
38. Souček K, Malenovská A, Kahounová Z et al. Presence of growth/differentiation factor-15 cytokine in human follicular fluid, granulosa cells, and oocytes. *J Assist Reprod Genet*. 2018; 35(8): 1407-1417.
39. Slieker R, Donnelly L, Akalestou E et al. Identification of biomarkers for glycaemic deterioration in type 2 diabetes. *Nat Commun*. 2023; 14(1): 2533.
40. Jung S, Choi M, Ryu D et al. Reduced oxidative capacity in macrophages results in systemic insulin resistance. *Nat Commun*. 2018; 9(1):1551.

41. Lee S, Kang S, Choi M. et al. Growth Differentiation Factor 15 Mediates Systemic Glucose Regulatory Action of T-Helper Type 2 Cytokines. *Diabetes*. 2017; 66(11):2774-2788.
42. Chen J, Peng H, Chen C et al. NAG-1/GDF15 inhibits diabetic nephropathy via inhibiting AGE/RAGE-mediated inflammation signaling pathways in C57BL/6 mice and HK-2 cells. *Life Sci*. 2022; 311:121142.
43. Parvaneh R, Vajdi M, Shiraz A et al. Prognostic value of circulating macrophage inhibitory cytokine 1-growth differentiation factor 15 (MIC-1/GDF15) in obesity: Relation with vascular endothelial growth factor (VEGF) and markers of oxidative stress. *Nutr Health* 2022; 13: 2601060221099716.
44. Xie B, Murali A, Vandevender A et al. Hepatocyte-derived GDF15 suppresses feeding and improves insulin sensitivity in obese mice. *iScience*. 2022; 25(12): 105569.
45. Kralisch S, Hoffmann A, Estrada-Kunz J et al. Increased Growth Differentiation Factor 15 in Patients with Hypoleptinemia-Associated Lipodystrophy. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(19): 7214.
46. Aguilar-Recarte D, Barroso E, Zhang M et al. A positive feedback loop between AMPK and GDF15 promotes metformin antidiabetic effects. *Pharmacol Res* 2023; 187:106578.

Table 1. Clinical and laboratory variables in control and PCOS groups

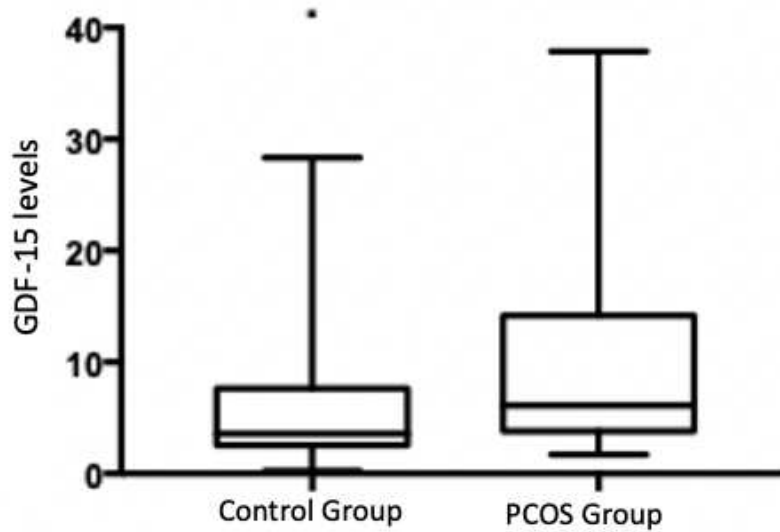
	PCOS Group	Control Group	P value
	N= 35	N=32	
Age (years)	31.00 (5.00)	30.50 (14.00)	0.984
BMI (kg/m²)	33.25 (9.54)	22.94 (5.38)	<0.001
AC (cm)	106.29 ± 17.85	82.79 ± 14.74	<0.001
LAP	65.49 (58.71)	6.13 (32.42)	<0.001
Glucose (mmol/L)	85.00 (14.0)	87.00 (13.80)	0.591
HOMA-IR	2.90 (3.49)	1.54 (1.04)	<0.001

Insulin (uUI/mL)	14.80 (17.38)	7.30 (7.82)	<0.001
TC (mmol/L)	193.31 ± 32.71	183.95 ± 42.48	0.499
HDL-c (mmol/L)	49.05 ± 14.70	57.00 ± 11.31	0.134
LDL-c (mmol/L)	114.50 (32,55)	97.00 (55.75)	0.251
VLDL-c (mmol/L)	21.40 (15.55)	18.50 (10.10)	0.540
TG (mmol/L)	106.00 (77.75)	91.00 (49.50)	0.555
Total testosterone (ng/dL)	61.00 (80.13)	28.50 (26.75)	0.033
CRP (mg/dL)	11.00 (12.25)	4.50 (2.00)	<0.001

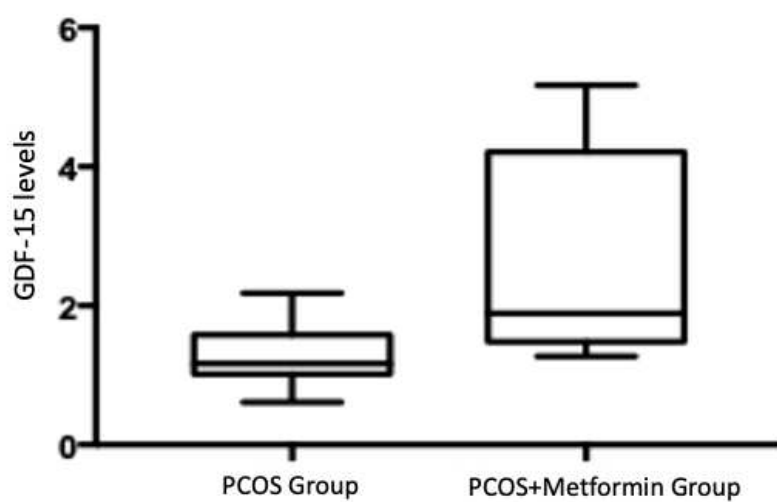
BMI: body mass index. CA: abdominal circumference. LAP: Lipid Accumulation Product. TC: total cholesterol. HDL-c: high-density lipoprotein. LDL-c: low-density lipoprotein. VLDL-c: very-low-density lipoproteins. TG: triglycerides. CRP: C-reactive protein. Significant: p<0.05.

Figure 1. GDF-15 levels (ng/mL) in PCOS group.

A



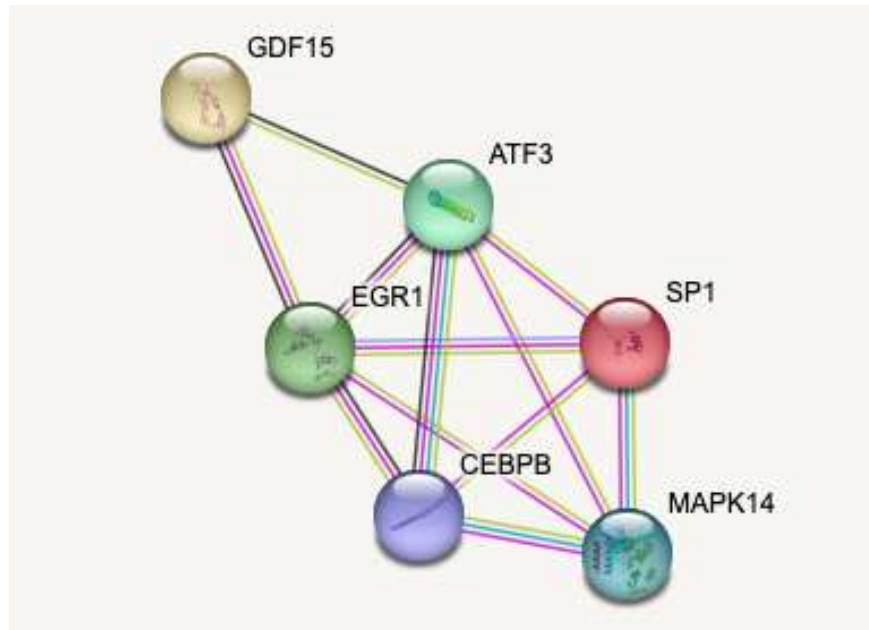
B



A) GDF-15 levels comparing PCOS and control group; B) GDF-15 levels comparing PCOS treated with metformin and PCOS without metformin.

Figure 2. Protein interaction with GDF-15.





Protein-protein interactions. Each node represents a protein and each line refers to an interaction. Lines: blue – known interaction of selected databases; pink – known interaction determined experimentally; green – textmining; black – co-expression. There are 12 potential protein-protein interactions. Enrichment p value: $1.14e^{-11}$.

5. CONCLUSÕES

A SOP é considerada a condição endócrina mais comum em mulheres em idade fértil, podendo ocasionar manifestações obstétricas resultantes das disfunções metabólicas, uma vez que a ausência de ovulação e/ou ciclo menstrual desregulado impedem a fertilização e a concepção, tornando a gravidez difícil. Por ser uma síndrome bastante heterogênea, além do acometimento obstétrico e metabólico, a SOP também pode estar associada a doenças cardiovasculares e psicológicas. Tem sido associada ainda à inflamação crônica de baixo grau e aumento do tecido adiposo, principalmente na região abdominal, sendo uma consequência direta do hiperandrogenismo e da resistência insulínica. Entretanto, a patogênese da SOP não é totalmente esclarecida, por ser uma condição complexa e multifatorial, incluindo fatores genéticos, ambientais e transgeracionais.

O fator de crescimento e diferenciação 15 (GDF-15) é uma citocina associada com a inflamação e sua produção é induzida por estresse. Estudos recentes têm explorado sua relação com a inflamação em diferentes contextos, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, doenças renais e distúrbios metabólicos, como por exemplo, obesidade, RI e DM2. O GDF-15 pode atuar na sinalização anti-inflamatória e pró-inflamatória em diferentes complicações cardiovasculares, e também como um regulador metabólico nos lipídios e glicose, aumentando a sensibilidade à insulina e protegendo da inflamação crônica do tecido adiposo. A relação entre os níveis de GDF-15 e os efeitos da metformina vem sendo estudada nos últimos anos, uma vez que a utilização do fármaco aumenta os níveis de GDF-15 com subsequente atenuação do ganho de peso e controle glicêmico.

Neste estudo, as pacientes com SOP apresentaram níveis mais elevados de GDF-15 em comparação com indivíduos saudáveis. O uso de metformina no grupo SOP elevou ainda mais os níveis de GDF-15, proteína que parece estar envolvida em vias biológicas relacionadas à inflamação, metabolismo da glicose, adipogênese e infertilidade, vias que também participam da fisiopatologia da SOP. Como já esperado, as pacientes com SOP também demonstraram aumento dos níveis de insulina, PCR, testosterona, além de maiores valores de IMC, CA, LAP e HOMA-IR.

É demonstrado que a expressão de GDF-15 fornece uma ligação entre o desenvolvimento de diabetes e risco cardiovascular em mulheres com SOP,

desempenhando um papel importante na resposta à insulina e controle da adipogênese e conseqüentemente perda de peso, além de possui um efeito protetor contra inflamação e dano tecidual. Além disso, em um estudo de monitoramento da dose de metformina, o GDF-15 foi sugerido como um novo biomarcador para monitoramento de seu uso.

Sua interação com as proteínas SP1, MAPK14, EGR1, CEBPB e ATF3 nos levou à identificação de vias metabólicas que possuem relação com a SOP, como adipogênese, insulina, estresse oxidativo, infertilidade ovariana e sinalização de citocinas IL-18, IL-4 e TGF-beta. Em relação ao metabolismo da glicose, insulina e adipogênese, é observado que existe uma associação positiva entre GDF-15 e os lipídios séricos, sendo que GDF-15 pode ser considerado um biomarcador prognóstico em distúrbios metabólicos relacionados à obesidade. Para infertilidade, sabe-se que a foliculogênese ovariana é regulada por fatores extra e intra-ovarianos e esta proteína é secretada pelo tecido oocitário, sendo necessários estudos em amostras de fluido folicular para compreensão deste mecanismo. Por fim, já é reconhecido que o GDF-15 está relacionado ao estresse e à inflamação, e junto com outras citocinas, se correlaciona na fisiopatologia de doenças metabólicas como obesidade, resistência insulínica e DM2.

Assim, o GDF-15 tem apontado como sendo uma proteína relacionada às complicações da SOP, podendo ser um potencial alvo terapêutico no tratamento da síndrome.

6. PERSPECTIVAS

- 1) Ampliar o estudo para outras populações
- 2) Avaliar os níveis de GDF-15 segundo a dose de metformina
- 3) Realizar estudos *in silico* de possíveis moléculas que possam mimetizar a ação do GDF-15.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adela R, Banerjee SK. GDF-15 as a target and biomarker for diabetes and cardiovascular diseases: a translational prospective. *J Diabetes Res.* 2015; 2015:490842.
2. Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb A, Alexiou A, et al. Metformin and growth differentiation factor 15 (GDF15) in type 2 diabetes mellitus: A hidden treasure. *J Diabetes.* 2022; 14(12): 806-814.
3. Arie WMY, Fonseca AM, Bagmoli VR, et al. Polycystic ovary syndrome and metformin: evidence- based review. *Femina, São Paulo, Sp.* 2009; 37(11): 586-602.
4. Armanini D, Boscaro M, Bordin L, et al. Controversies in the Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of PCOS: Focus on Insulin Resistance, Inflammation, and Hyperandrogenism. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(8) :4110.
5. Azevedo RCS, Síndrome dos ovários policísticos: O impacto da informação na qualidade de vida, um ensaio clínico randomizado. Tese de mestrado. UFMG. 2016.
6. Azziz R, Carmina E, Chen Z, et al. Polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Dis Primers.* 2016; 2: 16057.
7. Barbieri RL. Induction of ovulation in infertile women with hyperandrogenism and insulin resistance. *Am J Obst Gynecol.* 2000; 183(6): 1412-1418.
8. Baroni M. Silenciamento do gene GDF15 e resposta à radioterapia e ao tratamento com temozolomida em linhagens celulares de glioblastoma. 2014. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
9. Barthelmess EK, Naz RK. Polycystic ovary syndrome: current status and future perspective. *Front Biosci (Elite Ed).* 2014; 6: 104.
10. Bednarska S, Siejka A. The pathogenesis and treatment of polycystic ovary syndrome: What's new?. *Adv Clin Exp Med.* 2017 26(2): 359-367.
11. Bootcov MR, Bauskin AR, Valenzuela SM, et al. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF- β superfamily. *Proc Nat Acad Sci.* 1997; 94(21): 11514-11519.
12. Brassard M, Ainmelk Y, Baillargeon J. Basic infertility including polycystic ovary syndrome. *Med Clin of North Am.* 2008; 92(5): 1163-1192.
13. Brown DA, Breit SN, Buring J, et al. Concentration in plasma of macrophage inhibitory cytokine-1 and risk of cardiovascular events in women: a nested case-control study. *The Lancet.* 2002; 359(9324): 2159-2163.
14. Butterworth J, Deguara J, Borg C. Bariatric surgery, polycystic ovary syndrome, and infertility. *J Obs.* 2016; 2016: 1871594.

15. Carolo AL, Mendes MC, Silva ACJSR, et al. Nutritional counseling promotes changes in the dietary habits of overweight and obese adolescents with polycystic ovary syndrome. *Rev Bras Ginecol Obst.* 2017; 39(12): 692-696.
16. Carvalho LML, Ferreira CN, Sóter MO, et al. Microparticles: Inflammatory and haemostatic biomarkers in Polycystic Ovary Syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2017; 443: 155-162.
17. Coll AP, Chen M, Taskar P, et al. GDF15 mediates the effects of metformin on body weight and energy balance. *Nature.* 2020; 578(7795): 444-448.
18. Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, et al. Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation.* 2005; 111: 1448–54
19. Ding Qi, Mracek T, Gonzalez-Muniesa P, et al. Identification of macrophage inhibitory cytokine-1 in adipose tissue and its secretion as an adipokine by human adipocytes. *Endocrinology.* 2009; 150(4): 1688-1696.
20. Dostálová I, Roubíček T, Bártlová M, et al. Increased serum concentrations of macrophage inhibitory cytokine-1 in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus: the influence of very low calorie diet. *Eur J Endocrinol.* 2009, 161(3): 397-404.
21. Duleba AJ, Dokras A. Is PCOS an inflammatory process?. *Fertil Steril.* 2012; 97(1): 7-12.
22. Ehrmann DA, Kasza K, Azziz R, et al. Effects of race and family history of type-2 diabetes on metabolic status of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(1): 66-71.
23. Emmerson PJ, Duffin KL, Chintharlapalli S, et al. GDF15 and Growth Control. *Front Physiol.* 2018; 9: 1712.
24. Engmann L, Jin S, Sun F et al. Racial and ethnic differences in the polycystic ovary syndrome metabolic phenotype. *Am J Obstet Gynecol.* 2017. 216(5):493. e1-493.e13.
25. Fernandes LG. Síndrome dos ovários policísticos: uma abordagem epidemiológica. 2013. 153 f. 2017. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado)-Curso de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.
26. Fontes AFS, Reis FM, Cândido AL, et al. Influence of metformin on hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Eur J Clin Pharmacol.* 2023; 79(4): 445–460.
27. Froment P, Plotton I, Giulivi C, et al. At the crossroads of fertility and metabolism: the importance of AMPK-dependent signaling in female infertility associated with hyperandrogenism. *Hum Reprod.* 2022; 37(6): 1207-1228.

28. Ganie MA, Vasudevan V, Wani IA, et al. Epidemiology, pathogenesis, genetics & management of polycystic ovary syndrome in India. *Indian J Med Res.* 2019; 150(4): 333-344.
29. George M, Jena A, Srivatsan V, et al. GDF 15-a novel biomarker in the offspring for heart failure. *Curr Cardiol Rev.* 2016; 12(1): 37-46.
30. Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G. et al , Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol.* 2011; 7(4): 219-231.
31. Haddad-Filho H, Tosatti JAG, Vale FM, et al. Updates in diagnosing polycystic ovary syndrome-related infertility. *Expert Re Mol Diagn.* 2023; 23(2): 1-10.
32. Hoeger KM, Dokras A, Piltonen T. Update on PCOS: consequences, challenges, and guiding treatment. *J of Clin Endocrinol Metab.* 2021; 106(3): e1071-e1083.
33. Hu L, Ma L, Xia X, et al. Efficacy of Bariatric Surgery in the Treatment of Women With Obesity and Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022; 107(8): e3217-e3229.
34. Kelly CC, Lyall H, Petrie JR, et al. Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(6): 2453-5.
35. Kempf T, Eden M, Strelau J, Naguib M, et al. The transforming growth factor-beta superfamily member growth-differentiation factor-15 protects the heart from ischemia/reperfusion injury. *Circ Res.* 2006; 98(3): 351-60.
36. Kumar P, Sait SF, Sharma A, Kumar M. Ovarian hyperstimulation syndrome. *J Hum Reprod Sci.* 2011; 4(2): 70-5.
37. Lancrajan I, Schneider-Stock R, Naschberger E, et al. Absolute quantification of DcR3 and GDF 15 from human serum by LC-ESI MS. *Journal Cell Mol Med.* 2015; 19(7): 1656-1671.
38. Legro RS, Driscoll D, Strauss JF, et al. Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *PNAS.* 1998; 95(25): 14956-14960.
39. Lizneza D, Suturina L, Walker W, et al. Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2016; 106(1): 6-15.
40. Lv Z, Guo Y. Metformin and Its Benefits for Various Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne), China.* 2020; 11(191): 1-10.
41. Manique MÊS, Ferreira AMAP. Polycystic Ovary Syndrome in Adolescence: Challenges in Diagnosis and Management. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2022; 44(4): 425-433.
42. March WA, Moore VM, Willson KJ, et al. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod.* 2010; 25(2): 544-51.

43. Marcondes RR. Efeitos da exposição neonatal a esteróides sexuais no hipotálamo e ovário de ratas adultas: modelos animais da síndrome dos ovários policísticos. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
44. Ma Y, Zheng L, Wang Y, et al. Arachidonic Acid in Follicular Fluid of PCOS Induces Oxidative Stress in a Human Ovarian Granulosa Tumor Cell Line (KGN) and Upregulates GDF15 Expression as a Response. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 11(13):865748.
45. May BM, Pimentel M, Zimmerman LI, et al. GDF-15 como Biomarcador em Doenças Cardiovasculares. *Arq Bras de Cardiol*. 2021; 116(3): 494-500.
46. McCallie BR, Parks JC, Griffin DK, et al. Infertility diagnosis has a significant impact on the transcriptome of developing blastocysts. *Mol Hum Reprod*. 2017; 23(8): 549-556.
47. MINISTÉRIO DA SAUDE. PORTARIA CONJUNTA Nº 6, DE 2 DE JULHO DE 2019. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Síndrome de Ovários Policísticos.
48. Motta ELA, Domingues TS, Soares JMJ. O uso de sensibilizadores de insulina no tratamento de infertilidade em pacientes com síndrome dos ovários policísticos (SOP). *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2012; 34(3): 99-101.
49. Mujica LKS. Estresse oxidativo e metabolismo ósseo em modelo roedor de síndrome dos ovários policísticos (SOP). 2020. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.
50. Orio FJ, Palomba S, Cascella T, et al. The increase of leukocytes as a new putative marker of low-grade chronic inflammation and early cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90(1): 2-5.
51. Ouyang J, Isnard S, Lin J, Fombuena B, et al. GDF-15 as a Weight Watcher for Diabetic and Non-Diabetic People Treated With Metformin. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020; 11: 581839.
52. Papalou O, Livadas S, Karachalios A, et al. White blood cells levels and PCOS: direct and indirect relationship with obesity and insulin resistance, but not with hyperandrogenemia. *Hormones (Athens)*. 2015; 14(1): 91-100.
53. Patel S. Polycystic ovary syndrome (PCOS), an inflammatory, systemic, lifestyle endocrinopathy. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018; 182:27-36.
54. Reindollar RH, Novak M, Tho SP, et al. Adult-onset amenorrhea: a study of 262 patients. *Am J Obstet Gynecol*. 1986; 155(3): 531-43.
55. Rochette L, Dogon G, Zeller M, et al. GDF15 and cardiac cells: current concepts and new insights. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(16): 8889.

56. Santoso B, Rahmawati NY, Sa'adi A, et al. Elevated peritoneal soluble endoglin and GDF-15 in infertile women with severe endometriosis and pelvic adhesion. *J Reprod Immunol*. 2021; 146: 103343.
57. Silva RC, Pardini DP, Kater CE. Síndrome dos ovários policísticos, síndrome metabólica, risco cardiovascular e o papel dos agentes sensibilizadores da insulina. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006; 50(2): 281-290.
58. Silva RC, Pardini DP, Kater CE. Síndrome dos ovários policísticos, síndrome metabólica, risco cardiovascular e o papel dos agentes sensibilizadores da insulina. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006; 50: 281-290.
59. Sirmans SM, Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol*. 2013; 18(6): 1-13.
60. Soter MO, Ferreira CN, Sales MF, et al. Peripheral blood-derived cytokine gene polymorphisms and metabolic profile in women with polycystic ovary syndrome. *Cytokine*. 2015 ; 76(2):227-35.
61. Spritzer PM. Polycystic ovary syndrome: reviewing diagnosis and management of metabolic disturbances. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014; 58: 182-187.
62. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol*. 1935; 29(2): 181-191.
63. Tasali E, Cauter EV, Ehrmann DA. Polycystic Ovary Syndrome and Obstructive Sleep Apnea. *Sleep Med Clin*. 2008; 3(1): 37–46.
64. Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med*. 2010; 8: 41.
65. Temel YI, Mathyk BA, Aslan Cetin B, et al. Maternal levels of growth differentiation factor-15 in patients with preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2018; 37(4):192-196.
66. Tsai VWW, Husaini Y, Sainsbury A, et al. The MIC-1/GDF15-GFRAL pathway in energy homeostasis: implications for obesity, cachexia, and other associated diseases. *Cell metabolism*. 2018; 28(3): 353-368.
67. Udhane SS, Legeza B, Marti N, et al. Combined transcriptome and metabolome analyses of metformin effects reveal novel links between metabolic networks in steroidogenic systems. *Sci Rep*. 2017; 7(8652): 1-15.
68. Van Hooff MH, Voorhorst FJ, Kaptein MB, et al. Predictive value of menstrual cycle pattern, body mass index, hormone levels and polycystic ovaries at age 15 years for oligo-amenorrhea at age 18 years. *Hum Reprod*. 2004; 19(2): 383-92.
69. Vanky E, Kjøltrød S, Salvesen KA, et al. Clinical, biochemical and ultrasonographic characteristics of Scandinavian women with PCOS. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004; 83(5): 482–6.

70. Viollet B, Guigas B, Garcia NS, et al. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci*. 2012; 122(6): 253–270.
71. Wischhusen J, Melero I, Fridman WH. Growth/differentiation factor-15 (GDF-15): from biomarker to novel targetable immune checkpoint. *Front Immunol*. 2020; 11: 951.
72. Witchel SF, Oberfield SE, Peña AS. Polycystic Ovary Syndrome: Pathophysiology, Presentation, and Treatment With Emphasis on Adolescent Girls. *J Endocr Soc*. 2019; 3(8): 1545-1573.
73. Wollmann W, Goodman ML, Bhat-Nakshatri P, et al. The macrophage inhibitory cytokine integrates AKT/PKB and MAP kinase signaling pathways in breast cancer cells. *Carcinogenesis*. 2005; 26(5): 900-907.
74. Xiao Q, He Q, Zeng J, et al. GDF-15, a future therapeutic target of glucolipid metabolic disorders and cardiovascular disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022; 146: 112582.

ANEXOS

Anexo A



Certificamos que o trabalho **Correlação entre os níveis de Proteína C Reativa e Dímero D em mulheres com a Síndrome dos Ovários Policísticos** dos autores **Fernanda Medeiros Vale Magalhães; Juliane Albuquerque Carvalho; Ana Lúcia Candido; Fernando Marcos Reis; Claudia Natália Ferreira; Karina Braga Gomes**, foi apresentado na modalidade E-pôster, durante 18º Encontro de Endocrinologia Feminina - Endofeminina, realizado no formato digital, nos dias 25 e 26 de março de 2022.



Profª. Nadine Oliveira Clausell
Diretora-Presidente do Hospital de Clínicas



Profª. Poli Mara Spritzer
Coordenadora do Evento

a autenticidade deste documento pode ser verificada através da URL:
<https://sgce.hcpa.edu.br/sgce/validar/60C69F87>



CERTIFICADO



A Fundação Médica do Rio Grande do Sul certifica que
**Fernanda Medeiros Vale Magalhães, Rodrigo Mendonça Cardoso
Pestana, Ana Lúcia Cândido, Fabio Vasconcellos Comim, Flavia Ribeiro
Oliveira, Cláudia Natália Ferreira, Fernando Marcos dos Reis, Karina
Braga Gomes**

apresentaram o Poster intitulado Análise dos níveis de GDF-15 em pacientes com Síndrome do Ovários Policísticos (SOP) tratadas com metformina. no **Congresso ENDOFEMININA – Encontro de Endocrinologia Feminina**, que ocorreu nos dias 31 de março e 1º de abril de 2023.


Coordenadora
Poli Mara Spritzer


Presidente FundMed
Ana Luiza Maia

CERTIFICADO



A Fundação Médica do Rio Grande, do Sul certifica que
**Daiane Oliveira Simão, Fernanda Medeiros Vale Magalhães, Jéssica
Diniz Pereira, Ana Lúcia Cândido, Fabio Vasconcellos Comim,
Fernando Marcos dos Reis, Jéssica Abdo Gonçalves Tosatti, Karina
Braga Gomes**

apresentaram o Poster e Apresentação Oral intitulado Escala de ansiedade e depressão em
mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos: um estudo caso-controlado no **Congresso
ENDOFEMININA – Encontro de Endocrinologia Feminina**, que ocorreu nos dias 31 de março e 1º
de abril de 2023.


Coordenadora
Polí Mara Spritzer


Presidente FundMed
Ana Luíza Maia

A PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL COMO PROTAGONISTA NO APOIO À DECISÃO NO DIAGNÓSTICO

4 a 7 de outubro 2022 • FLORIANÓPOLIS • SC



54°
CONGRESSO BRASILEIRO
DE PATOLOGIA CLÍNICA
MEDICINA LABORATORIAL
 • EXPOSIÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA •

CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO

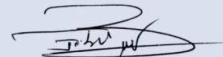
Fernanda Medeiros Vale Magalhaes

Participou na qualidade de autor responsável do tema livre: **Correlação entre os níveis de Proteína C Reativa e Dímero D em mulheres com a Síndrome dos Ovários Policísticos** tendo como co-autores:

Karina Braga Gomes Borges; Ana Lucia Candido; Fernando Marcos Reis; Cláudia Natália Ferreira; Juliane de Carvalho Albuquerque


 Marines Dalla Valle Martino
 Presidente do 54º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial


 Leonardo Vasconcellos
 Coordenador da Comissão Científica do 54º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial


 Fábio Vasconcellos Brazão
 Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial - Biênio 2022/2023

REALIZAÇÃO



AFILIADA



Anexo B

SEI/UFMG - 1889273 - Certificado

https://sei.ufmg.br/sei/controlador.php?acao=documento_imprimir_...

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
COLEGIADO DO CURSO DE BIOMEDICINA

CERTIFICADO

CERTIFICAMOS, PARA OS DEVIDOS FINS, QUE **Karina Braga Gomes Borges (orientadora)**, **Fernanda Medeiros Vale Magalhães (examinadora)** participaram como membros da Comissão Examinadora da Monografia de Conclusão de Curso, intitulada "**Análise Dos Atendimentos Realizados Pela Assessoria Científica De Uma Empresa De Diagnóstico In Vitro**", apresentada pelo(a) aluno(a) **Mariana Silva Costa**.

Belo Horizonte, 29 de Novembro de 2022.

Professora Ana Paula Lucas Mota
Menezes
Coordenadora do Colegiado do Curso de Biomedicina
Toxicológicas

Professora Cristiane Alves Silva
Departamento de Análises Clínicas e



Documento assinado eletronicamente por **Ana Paula Lucas Mota, Coordenador(a) de curso**, em 29/11/2022, às 18:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cristiane Alves da Silva Menezes, Subcoordenador(a)**, em 21/12/2022, às 14:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1889273** e o código CRC **9BC82390**.

Referência: Processo nº 23072.264860/2022-45

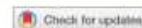
SEI nº 1889273

Anexo C

EXPERT REVIEW OF MOLECULAR DIAGNOSTICS
2023, VOL. 23, NO. 2, 123–132
<https://doi.org/10.1080/14737159.2023.2177536>



REVIEW



Updates in diagnosing polycystic ovary syndrome-related infertility

Hélio Haddad-Filho^{a,b}, Jéssica A. G. Tosatti^c, Fernanda M. Vale^c, Karina B. Gomes^c and Fernando M. Reis^d

^aGraduate Program in Surgery, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil; ^bDepartment of Medicine, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brazil; ^cDepartment of Clinical and Toxicological Analyzes - Faculty of Pharmacy, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil; ^dDivision of Human Reproduction, Department of Obstetrics and Gynecology, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

ABSTRACT

Introduction: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a condition that affects approximately 13% of reproductive age women and is characterized by androgen excess, menstrual irregularity and altered ovarian morphology. PCOS presents a complex etiology and pathophysiology, which still requires a detailed investigation of biochemical signatures to identify the molecules and mechanisms that govern it.

Areas Covered: This narrative review summarizes the main molecular alterations found in the ovarian follicular fluid, endometrium and placenta of women with PCOS, and the genotypes potentially associated with the outcome of infertility treatments in PCOS.

Expert Opinion: PCOS is associated with multiple alterations in growth factors, sex steroid hormones, reactive oxygen species, proinflammatory cytokines and adipokines, which contribute to follicle arrest/anovulation or suboptimal corpus luteum function, and ultimately to menstrual irregularity and hyperandrogenic symptoms. A panel of PCOS biomarkers should include, besides ovarian products, markers of adipose tissue function, insulin resistance, vascular health, and low-grade chronic inflammation. The effects of ovarian stimulation drugs on infertile women with PCOS are likely to be modified by genetic factors, but the available evidence is heterogeneous; therefore, future studies should evaluate standard treatments and pre-specified outcomes of interest to provide more conclusive answers.

ARTICLE HISTORY

Received 12 October 2022
Accepted 3 February 2023

KEYWORDS

PCOS; infertility; diagnosis; follicular fluid; biomarker; polymorphism



Avaliação da epidemiologia e da motivação para realização do teste rápido de antígeno durante a pandemia da COVID-19

Assessment of the epidemiology and motivation for carrying out the rapid antigen test during the COVID-19 pandemic

Letícia C. Dutra¹; Lígia M. O. Guimarães¹; Fernanda M. V. Magalhães²; Paula F. Távora¹; Luara Isabela dos Santos^{1*}

1. Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG, Brasil

2. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG, Brasil

***Autor correspondente:** Luara Isabela dos Santos. ORCID: 0000-0002-6212-2164

Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 275 - Centro, Belo Horizonte - MG, 30130-110

Telefone: (31) 3248-7100. E-mail: luara.santos@cienciasmedicasmg.edu.br

Citar: DUTRA, L.C.; GUIMARÃES, L.M.O.; MAGALHÃES, F.M.V.; TÁVORA, P.F.; SANTOS, L.I. Avaliação da epidemiologia e da motivação para realização do teste rápido de antígeno durante a pandemia da COVID-19. *Brazilian Journal of Health and Pharmacy*, v. 4, n. 3, p. 25-36, 2022. DOI: 10.29327/226760.4.3-3

Data de Submissão: 09/03/2022; Data do Aceite: 30/06/2022