

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

CLEZIO RODRIGUES DE CARVALHO ABREU

**EXPOSIÇÃO A DESREGULADORES ENDÓCRINOS E SÍNDROME DOS
OVÁRIOS POLICÍSTICOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

BRASÍLIA 2017

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

CLEZIO RODRIGUES DE CARVALHO ABREU

**EXPOSIÇÃO A DESREGULADORES ENDÓCRINOS E SÍNDROME DOS
OVÁRIOS POLICÍSTICOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Orientadora: Angélica Amorim Amato

BRASÍLIA 2017

AGRADECIMENTOS

O Deus, que me deu coragem, saúde e a certeza de que toda conquista é mérito de quem a busca. Louvado seja o Teu Nome.

A Nossa Senhora Maria mãe de Jesus e minha mãe, que nunca me abandonou e sempre intercedeu por mim.

A minha esposa Juliana e minhas filhas Anna Clara e Alice que sempre me deram força e é o motivo de tudo isso.

Aos meus pais, Raimundo Abreu Raulino e Maria Rodrigues de Carvalho Abreu, por serem os meus pilares e exemplos de honestidade e trabalho.

A minha orientadora, Professora Angélica Amorim Amato, por ser exemplo de humanidade, paciência e carinho com o próximo. E por ter acreditado em mim.

Aos meus irmãos, que me apoiaram em todas as minhas empreitadas rumo ao conhecimento.

Aos meus irmãos e irmãs em Cristo, que sempre intercederam por mim junto a Jesus.

Ao meu eterno amigo, Beto que me mostrou o poder do conhecimento e foi o maior incentivador no início da minha jornada acadêmica.

**"O preço de qualquer coisa é a quantidade de vida que você troca por
isso."**

(Henry David Thoreau)

RESUMO

Introdução: A síndrome dos ovários policísticos (SOPC) tem grande importância clínica, uma vez que sua prevalência vem aumentando e que apresenta implicações clínicas significativas, incluindo reprodutivas, metabólicas e psicológicas. Sua etiologia é complexa e multifatorial, e envolve fatores genéticos, ambientais e comportamentais. Dados de alguns estudos observacionais sugerem a associação entre a exposição a desreguladores endócrinos (DEs) e sua ocorrência. **Objetivo:** Analisar, por meio de revisão sistemática de estudos observacionais em humanos, se há associação entre a exposição a DEs e a ocorrência de SOPC. **Método:** Foi realizada busca, nas bases de dados PubMed/Medline, Web of Science, Scopus, Lilacs e Biblioteca Cochrane, de estudos observacionais em humanos que analisaram a associação entre a exposição a DEs e a ocorrência de SOPC, e publicados até maio de 2017, sem restrição de língua. A busca foi efetuada pela combinação de termos relacionados aos DEs e à SOPC. A qualidade metodológica dos estudos foi avaliada com a utilização da escala de Newcastle-Ottawa. **Resultados:** Foram identificados 145 artigos que atenderam aos critérios de busca; destes, 7 estudos atenderam aos critérios de inclusão. Estes estudos, de corte transversal ou caso-controle, incluídos nessa revisão, investigaram a relação entre a exposição ao bisfenol A, compostos organoclorados (bifenilas policloradas e pesticidas organoclorados), compostos perfluorado, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e ftalatos e a ocorrência de SOPC. Em geral, houve uma associação positiva entre a exposição a estes DEs e a ocorrência da síndrome, e os estudos foram considerados de qualidade metodológica média a elevada. **Conclusão:** Os dados da presente revisão sugerem a associação entre a exposição a DEs e a ocorrência de SOPC. Entretanto, todos os estudos incluídos foram observacionais e transversais, não sendo possível estabelecer relação de causalidade entre a exposição a DEs e a SOPC.

Palavras-chave: síndrome dos ovários policísticos; desreguladores endócrinos; revisão sistemática.

ABSTRACT

Background: Polycystic ovarian syndrome (PCOS) is of major clinical importance due to its increasing prevalence and its implications, including reproductive, metabolic, and psychological disturbances. Its etiology is complex and multifactorial, involving genetic, environmental and behavioral aspects. Data from observational studies suggest an association between exposure to endocrine disruptors (EDs) and the occurrence of PCOS. **Objective:** To systematically review human observational studies addressing the association between the exposure to EDs and PCOS. **Methods:** We searched Pubmed/Medline, Web of Science, Scopus, Lilacs and Cochrane Library for studies addressing the association between EDs and PCOS from inception until May 2017, with no language restriction. The searched was performed by combining search terms related to EDs and PCOS. The methodological quality of studies was assessed using the Newcastle-Ottawa scale. **Results:** We identified 145 citations and 7 met our inclusion criteria. The studies were cross-sectional or case-control studies and investigated the association between bisphenol A, organochlorine compounds (polychlorinated bisphenyls and organochloride pesticides), polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalates and PCOS occurrence. Overall, the studies indicated a positive association between exposure to EDs and PCOS. Most studies were considered of medium or high methodological quality. **Conclusion:** This systematic review indicates an association between exposure to EDs and the occurrence of PCOS. However, their cross-sectional design precludes establishing causality between EDs and PCOS.

Keywords: polycystic ovarian syndrome; endocrine disruptors; systematic review.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo dos sistemas endócrinos visados por DEs.....	17
Figura 2. Estrutura química dos principais DEs e suas rotas de exposição...23	
Figura 3. Via esteroidogênica.....	28
Figura 4. Vias esteroidogênicas que levam à biossíntese de estradiol.....	29
Figura 5. Sistema de Ferriman-Gallwey de pontuação do hirsutismo.....	32
Figura 6. Imagem do ovário policístico obtida por equipamento de ultrassom.....	34
Figura 7. Fisiopatologia da SOPC - um círculo vicioso.....	37
Figura 8. O comprometimento da gonadotrofina.....	39
Figura 9. Foliculogênese normal e defeito folicular na SOPC.....	41
Figura 10. Fluxo de seleção dos artigos da revisão sistemática.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Funções relacionadas aos receptores nucleares humanos.....26

Tabela 2. Escala de avaliação da qualidade metodológica.....45

Tabela 3. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática.....60

Tabela 4. Avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos na revisão sistemática, utilizando a escala de Newcastle-Ottawa.....56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

17OHP - 17 hidroxiprogesterona
5 α R – 5-alfa-redutase
AA - alopecia androgênica
AES - Androgen Excess Society
AMH - hormônio inibidor Mulleriano
AUCGLU - área sob a curva de glicose
AUCINAS - área sob a curva de insulina
BPA - bisfenol A
C - controle
CRP - proteína C-reativa
CSMC - Centro Médico Cedars-Sinai
CV - cardiovascular
DHEAS - Sulfato de dehidroepiandrosterona
DHT - 5-alfa-dihidrotestosterona
E2 - 17-beta-estradiol
EPA - Environmental Protection Agency
FAI - índice de androgênios livres
FG - Ferriman-Gallwey
HoMA-IR - modelo de avaliação homeostática, resistência à insulina
HS - número de indivíduos com esteatose hepática
IL-6 - interleucina-6.
IMC - índice de massa corporal
LH - hormônio luteinizante
MAP2K1 = proteína quinase 1 ativada por mitógeno
MetS - síndrome metabólica
MS - espectrometria de massa
NIH - Instituto Nacional de Saúde
OCP - contraceptivo oral
OW - excesso de peso
PBDEs - ésteres polibrominados difenílicos
PCB - bifenilas policloradas
PCOM - morfologia do ovário policístico

PI3K - 3-quinase de fosfoinosítídeo

RIA - radioimunoensaio

SHBG - globulina de ligação hormonal sexual

SLD - diâmetro longitudinal do baço

SOPC - síndrome dos ovários policísticos

T - testosterona

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	9
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 DESREGULADORES ENDÓCRINOS.....	16
2.1.1 Bisfenol A.....	17
2.1.2 Bifenilas policloradas e ésteres difenílicos polibromados.....	18
2.1.3 Ftalatos.....	20
2.1.4 Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos.....	21
2.1.5 Pesticidas organoclorados.....	22
2.2 DESREGULADORES ENDÓCRINO E A REPRODUÇÃO FEMININA.....	24
2.2.1 Ovário.....	24
2.2.2 Receptores de esteroides sexuais.....	25
2.2.3 Esteroidogênese no ovariana.....	27
2.3 SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS.....	29
2.3.1 Definição.....	29
2.3.2 Critérios diagnósticos.....	29
2.3.3 Avaliação das características da síndrome dos ovários policísticos	31
2.3.3.1 Hiperandrogenismo clínico.....	31
2.3.3.2 Hiperandrogenismo Bioquímico.....	32
2.3.4 Ovários Policísticos.....	33
2.3.5 Oligo-anovulação.....	34
2.4 Fatores relacionados à síndrome dos ovários policísticos.....	35
2.4.1 Obesidade.....	35

2.4.2 Nutrição/Exercício físico.....	36
2.4.3 Etnia/Raça.....	36
2.4.4 Produtos químicos desreguladores endócrino.....	36
2.5 UMA VISÃO GERAL DA FISIOPATOLOGIA E DEFEITOS MOLECULARES NA SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS.....	36
2.5.1 Hiperandrogenismo Ovariano.....	38
2.5.2 Gonadotrofinas.....	39
2.5.3 Insulina.....	39
2.5.4 Hiperandrogenismo Adrenal.....	40
2.5.5 Disfunção Ovariana.....	40
3 OBJETIVOS.....	42
3.1 Objetivo geral.....	42
3.2 Objetivos específicos	42
3.2.1	42
3.2.2	42
4 MÉTODOS	43
4.1 ELEGIBILIDADE.....	43
4.2 BUSCA DOS ESTUDOS.....	43
4.3 SELEÇÃO DOS ESTUDOS.....	44
4.4 COLETA DE DADOS.....	44
4.5 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA.....	45
5 RESULTADOS	47
5.1 Seleção dos Estudos.....	47
5.2 Característica dos Estudos.....	48
5.3 Resultados dos Estudos Individuais.....	53
5.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO.....	55
5.5 Limitações dos Estudos Incluídos na Revisão.....	56
6. DISCUSSÃO.....	57
6.1 LIMITAÇÕES.....	59
6.2 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59

7 CONCLUSÃO.....	61
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

1 INTRODUÇÃO

A síndrome dos ovários policísticos (SOPC) é um distúrbio crônico com impacto nas funções reprodutivas e metabólicas das mulheres acometidas. Afeta de 6 a 10% das mulheres em idade reprodutiva. As influências ambientais, anormalidades da esteroidogênese ovariana e do desenvolvimento folicular contribuem para a produção excessiva de androgênio ovariano e disfunção ovulatória. Isso torna essa doença complexa e poligênica. Conforme definido pelos critérios de diagnóstico de Rotterdam de 2003, a SOPC é caracterizada por hiperandrogenismo, disfunção ovulatória e imagem de ovário policístico. O fenótipo pode variar por raça e etnia e é exacerbado pela obesidade, além de ser muito difícil de ser definido no período da perimenarca e perimenopausa.^{1, 2}

Esta síndrome tem uma grande importância clínica. Ao longo dos anos, essa patologia vem se tornando muito comum entre as mulheres em todo mundo, além de apresentar implicações significativas e diversas, incluindo reprodutivas (infertilidade, hiperandrogenismo, hirsutismo), metabólicas (resistência à insulina, tolerância à glicose diminuída, diabetes mellitus tipo 2 e aumento do risco cardiovascular), psicológicas (ansiedade e depressão) e piora da qualidade de vida, além de gerar um impacto muito grande na economia mundial. Por exemplo, para avaliar e fornecer cuidados às mulheres com SOPC nos Estados Unidos, são gastos em média US\$ 4,36 bilhões ao ano.^{3, 4, 5}

Estabelecer um diagnóstico de SOPC em adolescentes e mulheres na menopausa mostra-se difícil e problemático. É central a apresentação do hiperandrogenismo para adolescentes, enquanto que não há fenótipo consistente em mulheres pós-menopausa.⁴ A avaliação de mulheres com SOPC deve excluir distúrbios alternativos de excesso androgênicos e anovulação, como tumores ovarianos ou adrenais, hipercortisolismo, hiperplasia adrenal congênita, hiperprolactinemia e hipotireoidismo. Deve, também, incluir avaliação de fatores de risco cardiovascular e distúrbios do humor.^{6, 7}

Vários compostos químicos, considerados desreguladores endócrinos (DEs) têm a capacidade de alterar a síntese, transporte e o metabolismo dos hormônios sexuais femininos. Com isso, podem comprometer processos básicos no ovário e levar a resultados adversos como anovulação, infertilidade, deficiência de estrogênio e insuficiência ovariana prematura, entre outros. Esses conhecimentos

são originados de estudos com modelos animais experimentais e estudos epidemiológicos que indicam a associação entre a exposição humana a DEs e a ocorrência de SOPC. De acordo com a Agência de Proteção Ambiental (*Environmental Protection Agency, EPA*) norte-americana, um DE é um composto químico exógeno que interfere na síntese, secreção, transporte, metabolismo, ação, ligação e eliminação de hormônios endógenos (andrógenos, estrógenos e progestágenos). Considerando que estes hormônios são responsáveis pela homeostase, reprodução e processos de desenvolvimento, a ação dos DEs representa grande preocupação.^{8, 9}

Dados de estudos recentes indicam o papel do ambiente na patogênese da SOPC (comer fruta com pericarpo, morar próximo de lixões, trabalha em uma plantação e ambientes com ventiladores). Os fatores ambientais podem levar à alteração da função ovariana por meio de mudanças na sinalização endócrina no ovário.¹⁰ Entre os fatores ambientais, destacam-se os DEs, por sua interferência na função endócrina. Considerando estes aspectos e o impacto epidemiológico e clínico da SOPC, o presente estudo teve como objetivo revisar sistematicamente a literatura com respeito à associação entre a exposição a DE e a ocorrência de SOPC.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DESREGULADORES ENDÓCRINOS

O processo progressivo de urbanização, industrialização e o aumento do consumismo por parte da população mundial têm gerado um aumento da poluição ambiental. Neste cenário, encontram-se os DEs, que têm afetado os animais selvagens e também a saúde humana. O número destes produtos cresce a cada ano e são identificados por diversas agências de controle ambiental, tornando-os um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. Embora possa haver centenas ou mais substâncias químicas ambientais com atividade desreguladora endócrina, algumas classes são mais comumente estudadas.⁹

Os DEs interferem com a produção, secreção, metabolismo, transporte e ação periférica de hormônios endógenos. Sua interferência com a ação hormonal deve-se, sobretudo à ligação a receptores hormonais e, por meio desta ação, podem desencadear dois tipos de resposta, representadas pelo efeito agonista, que mimetiza a ação hormonal, ou pelo efeito antagonista, que impede a ligação do hormônio natural ao seu sítio de ação.¹¹

Considerando a grande diversidade de mecanismos envolvidos nas disfunções endócrinas resultantes da ação dos DE, EPA propôs uma definição mais ampla para estes compostos. A agência descreve um DE como uma substância exógena ou mistura que altera uma ou mais funções do sistema endócrino, bem como a sua estrutura (Figura 1), causando efeitos adversos tanto no organismo exposto como na sua prole. Muitos desses DEs podem interagir com o sistema reprodutivo feminino e levar a alterações endócrinas no ovário, com impacto na função reprodutiva. Entretanto, diversos aspectos da ação dos DEs sobre o sistema reprodutivo carecem de esclarecimentos.^{8, 9, 12}

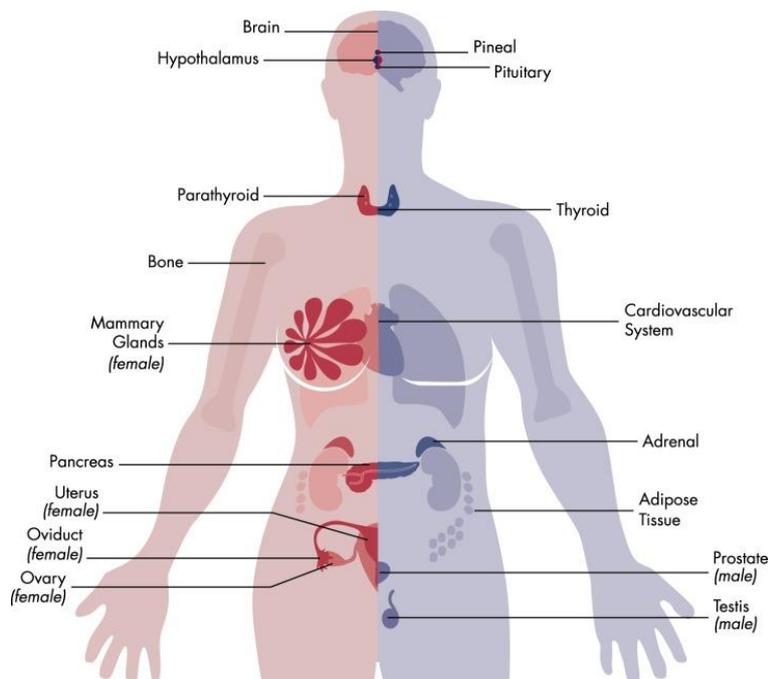


Figura 1. Modelo do sistemas endócrino visado por DEs. Esta figura ilustra que todos os principais órgãos endócrinos são vulneráveis à perturbação endócrina, incluindo o eixo HPA, os órgãos reprodutivos, o pâncreas e a glândula tireoide. Sabe-se também que DEs afetam sistemas metabólicos dependentes de hormônios e função cerebral.⁹

2.1.1 Bisfenol A

O Bisfenol A (BPA) foi sintetizado pela primeira vez em 1891 e sua ação estrogênica foi descoberta em 1936. Anualmente, o BPA é produzido mais que qualquer outro produto químico, devido à sua utilização em uma ampla variedade de produtos, como na fabricação de embalagens de alimentos (revestimentos em forma de resinas), brinquedos e outras aplicações.¹⁴ Com essa ampla utilização, praticamente todos, humanos e outros animais, são expostos a ele continuamente. Sob calor elevado, manipulação física ou uso repetitivo, os produtos com BPA em sua composição podem liberá-lo na água e nos alimentos. Estudos mostram que 93% dos americanos têm uma quantidade mensurável de BPA na sua urina¹⁵, o que reforça a exposição contínua a este composto de ocorrência ubíqua no ambiente.^{15, 21}

A via de exposição mais comum ao BPA é a oral/digestiva. Na circulação, é encontrado predominantemente conjugado ao ácido glicurônico e é excretado por via urinária. É detectado em diversos tecidos, especialmente no tecido adiposo, mas também em estruturas e produtos secretórios relacionados ao trato reprodutivo, como tecido mamário, leite materno, líquido amniótico e líquido folicular ovariano. A

eliminação da contaminação com BPA tem se revelado muito difícil.^{16, 17, 18}

Vários estudos documentam os efeitos do BPA nos sistemas orgânicos de mamíferos em níveis considerados na faixa de segurança ou mesmo abaixo destes. Embora a exposição a essas substâncias continue sendo uma questão crítica ainda não resolvida é importante notar que variações individuais no metabolismo e susceptibilidade a estes compostos devem ser levadas em consideração. Atualmente, segundo a EPA, o nível de segurança de exposição ao BPA é fixado em 50 µg/kg/d, enquanto que a dose diária tolerável recomendada pela Autoridade Europeia de Segurança de Alimentos foi recentemente reduzida para 4 µg/kg/d.^{9, 19}

Os mecanismos de ação desreguladora endócrina do BPA são diversos. Ele é um difenilmetano formado por dois anéis de fenol ligados a dois grupos metila (Figura 2). Esta estrutura fenólica possivelmente justifica a interação do BPA, e também de seus metabólitos, com os receptores de estrogênio (ER) e o aumento da expressão dos ER alfa e beta (ER α e ER β) em diversos tecidos, incluindo o útero. De fato, ensaios bioquímicos confirmaram a atividade do BPA via ER, embora sua afinidade pelo receptor seja muito inferior à do 17 β -estradiol (E2).^{20, 21} O BPA pode, ainda, inibir a atividade de estrogênios endógenos.^{9; 22; 23} Há evidências do impacto negativo do BPA sobre o crescimento folicular e esteroidogênese ovariana.^{20, 21} Além disso, dados de estudos epidemiológicos indicam que a concentração sérica de BPA é significativamente mais elevada em mulheres com SOPC quando comparadas àquelas sem esta condição. Desde janeiro de 2012, feita por meio da Resolução RDC n. 41/2011. Alguns países, inclusive o Brasil, optaram por proibir a importação e fabricação de mamadeiras que contenham Bisfenol A, considerando a maior exposição e susceptibilidade dos indivíduos usuários deste produto.²⁵

2.1.2 Bifenilas policloradas e ésteres difenílicos polibromados

As bifenilas policloradas (PCBs) são uma classe de produtos químicos industriais existentes em várias formas e denominadas também de congêneres de PCB. Os ésteres difenílicos polibromados (PBDEs) são estruturalmente relacionados às PCBs e utilizados como retardantes de chama. Os PCBs foram produzidos em massa a partir do final da década de 1920 e a produção comercial de PBDEs começou no final da década de 1970. As PCBs, especificamente, podem ser encontradas na alimentação, devida a contaminação da água e do solo, e são

compostos orgânicos amplamente utilizados em fluidos dielétricos, como aqueles em transformadores, condensadores, refrigeradores, solventes e lubrificantes na indústria. Por estarem envolvidos na interrupção de processos hormonais e diminuição de parâmetros fisiológicos importantes para a saúde humana, foram banidos em 1979. A principal característica dessas substâncias são os anéis fenólicos emparelhados e os graus variáveis de cloração (Figura 2).

Essas misturas são usadas em uma ampla variedade de aplicações, incluindo plásticos, borracha, resinas, papel, adesivos, retardadores de chamas, produtos de estofados, colchões, roupas e tintas. A natureza variada do seu uso resultou em contaminação ambiental generalizada, incluindo edifícios e escolas. Estes poluentes orgânicos persistentes (POPs) têm potencial de bioacumulação e são armazenados na gordura corporal, motivo dos efeitos adversos contínuos para a saúde.²⁴

As PCBs podem interromper a esteroidogênese folicular imitando hormônios naturais. Estudos *in vitro* evidenciam que estas substâncias diminuem o crescimento normal dos oócitos e diminuem também a síntese de progesterona.²⁵ Os mecanismos implicados nestes efeitos são diversos e incluem efeitos sobre os receptores de esteroides sexuais e sobre a atividade das enzimas envolvidas na biossíntese destes hormônios.²⁶

Estudos observacionais indicam que os norte-americanos apresentam as concentrações sanguíneas mais elevadas de PBDEs, em comparação com aqueles que vivem em outras regiões do mundo.¹⁵ Os PBDE consistem em predominantemente três misturas de congêneres, pentaBDE, octaBDE e decaBDE. Os dois primeiros foram proibidos na Europa e na Ásia, mas as misturas de decaBDE continuam a ser amplamente utilizadas em nível mundial. Dos 209 congêneres possíveis, os cinco que representam mais de 90% da carga corporal nos tecidos humanos são tetra BDE47, penta BDE99, -100, 153; e deca BDE209.²⁶

27

Para avaliar a atividade das PCBs como DEs no ovário, vários estudos usaram diferentes espécies e modelos experimentais. Nas células lúteas bovinas, as PCB não alteraram a esteroidogênese basal, mas, foram capazes de diminuir a secreção de progesterona estimulada por LH. Testes em suínos com uma exposição de 2 dias à PCB 153 (50 e 100 ng/mL) mostraram diminuição da secreção de progesterona e testosterona por células foliculares de ovário. Com uma exposição mais longa, foi observado aumento da secreção de progesterona acompanhado pela diminuição da secreção de testosterona e estradiol. Nas células

lúteas de suínos, a PCB 126 (5-100 ng/mL) diminuiu a secreção de progesterona, enquanto o efeito da PCB 153 foi dependente do tempo de exposição.⁹ Vários estudos têm descrito a capacidade das PCBs em alterar a esteroidogênese no ovário e sua possível associação a SOPC.^{8, 28}

2.1.3 Ftalatos

Ftalatos e ésteres de ftalatos são um grande grupo de compostos utilizados como plastificantes e também com outras finalidades, encontrados em uma ampla gama de produtos. Plásticos, revestimentos, cosméticos, tubos de ensaio, cloreto de polivinila (PVC), estofados, panos de mesa, cortinas de chuveiro, pesticidas, solventes e brinquedos para bebês são alguns destes produtos. São, ainda, reconhecidos por sua atividade desregulador endócrina. Os ftalatos são utilizados, em grande parte, para conferir flexibilidade aos plásticos e, devido às suas ligações não covalentes com o material plástico, acabam sendo liberados no ambiente (Figura 2).^{29, 30} Os ftalatos também podem ser encontrados no ar, sedimentos, solo agrícola e urbano, águas residuais e copos plásticos. O di-(2-etilhexil)ftalato (DEHP) é o plastificante mais comumente usado em dispositivos médicos como tubos, sacos de sangue e equipamento de diálise. O nível de exposição humana a diferentes ftalatos e seus metabólitos é variável. Por exemplo, é de 0,71 a 4,6 µg/kg/dia para o DEHP, 0,84 a 5,22 µg/kg/dia para o dibutilftalato (DBP), 0,26 a 0,88 µg/kg/dia para o benzilbutilftalato (BBP) e 2,32 a 12 µg/kg/dia para o dietilftalato.^{9, 29, 31}

Estudos em animais mostraram que a exposição aos ftalatos pode acelerar o recrutamento de folículos primordiais e alterar e prejudicar o seu desenvolvimento, crescimento e funcionalidade. A exposição específica ao DEHP (20 µg a 750 mg/kg/dia) *in vivo* durante 10 a 30 dias acelera o recrutamento de folículos primordiais através de um mecanismo que envolve a via da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), um efeito mediado por seu metabólito monoetilhexilftalato (MEHP). Coletivamente, diversos estudos fornecem evidências de que a exposição a certos ftalatos afeta a foliculogênese ovariana.^{9, 29}

Foi demonstrado que o MEHP afeta a saúde do folículo ao induzir o estresse oxidativo. O aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio interrompe a expressão e atividade fatores com atividade antioxidante, como a enzima superóxido dismutase 1 (SOD1) e glutatona peroxidase (GPX). Além disso, a

exposição ao MEHP (0,1 a 10 µg/mL) diminuiu a secreção de testosterona e estrona, provavelmente devido à capacidade deste metabólito em inibir a expressão de enzimas da via esteroidogênica.^{8, 32, 33}

Além disso, estudos epidemiológicos ligaram o MEHP e um metabólito de diisononilftalato (DiNP) com diminuição da produção de testosterona em homens e a soma de DEHP e DiNP com puberdade tardia em mulheres. Isso demonstra a atividade desreguladora endócrina de ftalatos em homens e mulheres e sua relação com a SOPC.^{33; 34}

2.1.4 Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) são compostos orgânicos compostos por vários anéis aromáticos. Podem ser formados durante a combustão incompleta de substâncias que contêm carbono, como madeira, carvão, tabaco, de erupções vulcânicas, queima de combustíveis fósseis, produtos de petróleo durante a produção industrial, processamento de alimentos, operação de máquinas, incluindo automóveis, aviões e navios.³ Os HAP são reconhecidos por sua capacidade de se ligar ao receptor de aril hidrocarboneto (AhR), que controla uma variedade de eventos de desenvolvimento e fisiológicos. Este receptor é um fator de transcrição nuclear ativado por ligante presente nos tecidos ovarianos, incluindo células de oócitos, granulosa e teca. Regula eventos como a neurogênese traqueal e salivar, formação de ductos, metabolismo de toxinas, ritmos circadianos e resposta à hipóxia. Desempenha, ainda, um papel fundamental na regulação do crescimento folicular ovariano e esteroidogênese.³⁵

Foi observado que a exposição, na vida intrauterina, a HAP resultou em perda significativa de células germinativas. Esta evidência indica que os HAPs podem reduzir o número de oócitos e estimular a apoptose do folículo através da via AhR, além de induzir a insuficiência ovariana prematura e até a infertilidade. A ação do HAP está implicada também na redução da expressão de ERα e diminuição dos níveis de estradiol e progesterona.^{8, 9}

2.1.5 Pesticidas organoclorados

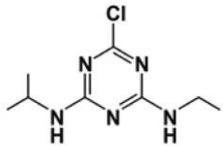
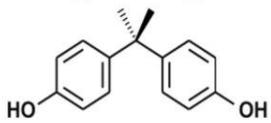
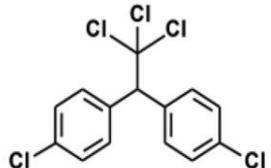
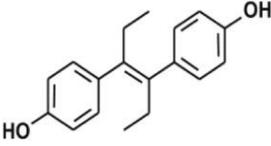
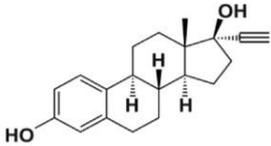
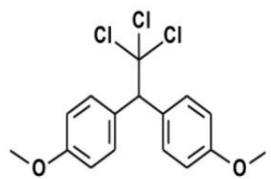
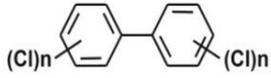
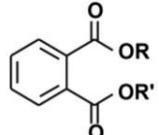
Os pesticidas são um grupo de agentes utilizados como inseticidas, fungicidas, herbicidas e rodenticidas. São classificados, com base em sua estrutura química, em organoclorados (por exemplo: diclorodifeniltricloroetano – DDT –, lindano, endossulfam, aldrina, dieldrina, clordano e metoxicloro), organofosfatos (por exemplo: paratiana, malatiana, diaznon, e glifosato), carbamatos (por exemplo: carbaril, carbofurano e aminocarbe), piretróides (por exemplo: permetrina, cipermetrina, deltametrina) e triazinas (por exemplo: atrazina). Podem influenciar uma variedade de tecidos do sistema reprodutivo e impactar negativamente a reprodução (Figura 2).⁴³

O DDT é um inseticida industrial e doméstico que tem característica de contaminante ambiental.³ A sua natureza sintética, características farmacocinéticas (lipofílico, meia vida longa) e uso extensivo o tornaram um contaminante proeminente, ainda que tenha trazido alguns benefícios com a sua utilização. Em alguns países, o seu uso foi proibido, ou controlado, devido aos efeitos sobre o meio ambiente e potenciais efeitos sobre a saúde humana. Várias doenças têm sido associadas aos DDT e seus metabólitos. Tumores testiculares, câncer de endométrio, câncer de pâncreas, *diabetes mellitus* tipo 2 foram associados ao diclorodifenil-cloroetileno (DDE) e diclorodifenil-dicloroetano (DDD), que são altamente lipofílicos e se acumulam na cadeia alimentar e no tecido adiposo. Este depósito de armazenamento pode conter um grande reservatório desses DEs que são liberados para o sangue, especialmente durante os períodos de perda de peso.⁹

A SOPC, especificamente, tem sido associada à exposição aos pesticidas, especificamente *p,p'*-DDE. Estudos em animais indicam que essa substância pode afetar a produção de esteroides sexuais, por meio da inibição da expressão da enzima de clivagem de cadeia lateral do colesterol (P450scc).^{36, 37, 38}

O mecanismo de ação clássico do estrogênio, um esteroide sexual, é a sua ligação aos ERs. Esses receptores se ligam às sequências de elementos de resposta de estrogênio ou a uma série de outros sítios de elementos de respostas adjacentes aos genes diretamente responsivos aos estrogênios. Alguns pesticidas organoclorados e seus metabólitos se ligam a ERs, iniciando uma cascata molecular que, em última instância, modifica a expressão gênica. Estudos demonstraram que a tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD), um pesticida organoclorado, pode afetar

negativamente os ovários adultos. A exposição à TCDD causou redução do peso do ovário, inibição da produção de estradiol e redução da maturação folicular e ovulação em roedores. Além disso, alterou a expressão de várias enzimas e receptores hormonais envolvidos na via de esteroidogênese ovariana em estudos em animais e humanos. ^{39, 40}

EDC	General Chemical Structure	Group	Introduction date	Restricted/ Ban Date	Route of Exposure	Sources	Half-Life	Effects/Body Burden
ATR		Chlorotriazine herbicide	1959	European Union ban 2004	Ingestion, inhalation	Pesticide/ herbicide, contaminated water and soil	10–12 h	Endocrine, respiratory and nervous system targets, liver damage
BPA		Bisphenols	1960s	Restricted 2012	Ingestion, inhalation, dermal absorption	Polycarbonate plastics, epoxy resins, plastic toys and bottles, lining of food cans	4–5 h	Estrogenic, obesogenic, neurological effects, adverse thyroid hormone action, reproductive and developmental effects
DDT		Organochloride	1940s	Banned 1972	Ingestion, inhalation, dermal absorption	Contaminated water, soil crops, fish	6–10 yr	Carcinogen, central nervous system, kidney, liver and peripheral nervous system effects
DES		Non-steroidal synthetic estrogen	1941–1947	Restricted 1971–1975	Ingestion, injection, vaginal suppository	Pharmaceutical	2–3 days	Transplacental carcinogen, teratogen
EE2		Synthetic derivative of 17β-estradiol	1943		Oral	Oral contraceptives, contaminated water	13–27 h	Cardiovascular disease, cerebrovascular disease, thromboembolic disease, gallbladder disease, carcinogenic
MXC		Organochlorine insecticide	1948	United States 2003 banned use as pesticide	Ingestion, inhalation, dermal absorption	Contaminated soil, water, and food	Aerobic soil >100 days	Central nervous system depression, damage to liver and kidney, developmental and reproductive effects in animals, transgenerational kidney and ovary disease, obesogen
PCBs		Organochloride	1927	Banned 1979	Ingestion, inhalation, dermal absorption	Contaminated air and food, skin contact with old electrical equipment	12 days to 16 yr	Carcinogen, chloracne, stomach and liver damage, reproductive and nervous system effects and thyroid injury
Phthalates		Plasticizers	1920s	Restricted 2009	Ingestion, inhalation, dermal absorption	Contaminated food, PVC plastics and flooring, personal care products, medical devices and tubing	~12 h	Carcinogen, liver damage, reproductive and developmental effects, asthma, obesogen

(Continued)

Figura 2. Estrutura química dos principais DEs e suas rotas de exposição. ²

2.2 DESREGULADORES ENDÓCRINOS E A REPRODUÇÃO FEMININA

2.2.1 Ovário

O ovário é uma importante parte do sistema reprodutor feminino. Assim como os testículos no homem, o ovário é uma estrutura glandular relacionada com a produção de hormônios e com a formação de células reprodutivas femininas chamadas de oócitos. Sua atividade é regulada pelo hipotálamo e pela hipófise, compondo o eixo hipotálamo-hipófise-ovário. A atividade do hipotálamo sobre a hipófise é mediada pelo hormônio liberador das gonadotrofinas. Este estimula a secreção gonadotrofinas, o hormônio folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH) pelos gonadotrofos que, por sua vez, atuam nos ovários.²

Vários estudos indicam que os DEs podem afetar negativamente a produção de esteroides sexuais femininos pelo ovário, produção das gonadotrofinas pela hipófise e a ação dos esteroides em diversos tecidos. Isto, por sua vez, tem sido associado a distúrbios reprodutivos, como a puberdade precoce, a infertilidade, falência ovariana prematura / menopausa, endometriose, fibromas e desfechos adversos da gravidez.^{9, 13}

O ovário possui duas zonas distintas: o córtex e a medula. No córtex é possível observar folículos em diferentes estágios de desenvolvimento e, após a ovulação, um ou mais corpo lúteo dependendo da espécie. A medula ocupa uma região central e fornece células intersticiais que formam a teca dos folículos. A foliculogênese é o processo pelo qual os folículos mais imaturos (primordiais) se tornam folículos pré-ovulatórios. O único oócito dos folículos primordiais, que existem em um número finito, é cercado por uma única camada de células somáticas achatadas conhecidas como células da granulosa.⁸ As células da granulosa se ativam, adquirem morfologia cuboide e proliferam formando múltiplas camadas ao redor do oócito, durante foliculogênese. A ativação folicular é independente de gonadotrofina e é regulada por fatores de crescimento e citocinas produzidos localmente. Além disso, durante este processo, o oócito cresce e as células somáticas adicionais conhecidas como células da teca são recrutadas para a estrutura folicular. Durante a progressão desse processo de desenvolvimento folicular, as células somáticas desses folículos tornam-se dependentes de gonadotrofinas. O FSH é a principal gonadotrofina requerida por estes folículos e suas ações na gônada são controladas pela ativina, que promove as ações do FSH,

bem como pela inibina e folistatina, que as inibem. O antro é formado ao final da foliculogênese, quando o folículo se encontra cheio de líquido é conhecido como folículo antral. Após a estimulação adequada pelo LH, os folículos antrais são a principal fonte de esteroides ovarianos.³² Após a ovulação ou a expulsão do oócito do folículo, as células restantes da granulosa e da teca sofrem um processo de diferenciação conhecido como luteinização. As células da granulosa e da teca tornam-se células lúteas e a antiga estrutura folicular é agora conhecida como corpo lúteo. Um corpo lúteo funcional produz progesterona, o hormônio necessário para implantação bem sucedida e manutenção da gravidez. Se a fertilização não ocorrer, o corpo lúteo sofrerá um processo de morte celular conhecido como luteólise ou regressão do corpo lúteo. A interrupção do processo de foliculogênese e de formação do corpo lúteo podem levar a desfechos reprodutivos adversos, tais como anovulação, infertilidade, diminuição da fecundidade, deficiência de estrogênio e insuficiência ovariana prematura.^{8, 41}

2.2.2 Receptores de esteroides sexuais

Os receptores de hormônios ovarianos (estrogênios, progestágenos e androgênios), bem como receptores órfãos, o AhR e os receptores de gonadotrofina, que se ligam LH e FSH, desempenham papéis importantes na reprodução feminina. As funções biológicas dos estrogênios são principalmente mediadas por dois receptores: ER α ou ESR1 e ER β ou ESR2. Os dois subtipos ER apresentam padrões distintos de expressão tecidual, especificidades de ligantes e funções.⁴² O ER α é expresso principalmente nas células intersticiais e sua principal função é de regular a esteroidogênese nas células da teca no ovário. Em contraste, ER β é predominantemente expresso em células da granulosa, tendo como principais funções a diferenciação de células de granulosa, maturação folicular e ovulação. O receptor de androgênios (AR) é expresso em cada um dos 3 tipos de células do ovário: células intersticiais da teca onde são produzidos androgênios, células granulosas onde a testosterona é convertida em estrogênios, e as células germinativas, os oócitos.⁴³

Um número crescente de contaminantes ambientais que são considerados DEs podem influenciar a fisiologia do ovário. A maior parte dos estudos com o objetivo de investigar essa influência concentrou-nos efeitos de DEs sobre os ERs,

AhR e AR. O AhR e o seu translocador nuclear associado (ARNT) estão presentes em vários tipos de células ovarianas (oócitos, células de granulosa e células de teca) tanto em roedores, primatas não humanos e humanos. Em geral, os DEs se ligam ao AhR desencadeando a translocação nuclear e a formação de heterodímeros AHR-ARNT. O complexo ativo AHR-ARNT liga-se ao elemento responsivo na região promotora de genes regulados por AhR e, portanto, altera sua transcrição. A ativação do AhR resulta em diminuição dos níveis de estradiol e progesterona através da regulação negativa da expressão do ER α nos tecidos ovarianos e do receptor de progesterona em células da granulosa folicular.^{35; 44}

Muitos DEs também interferem na função reprodutiva feminina ativando ou antagonizando ER e outros receptores nucleares que podem apresentar efeitos sobre a função ovariana,^{20, 42, 45} como apresentado na Tabela 1.

RECEPTORES	ABREVIÇÃO	FUNÇÃO FISIOLÓGICA	LIGANTE ENDÓGENO	DESREGULADORES ENDÓCRINOS
Andrógenos	AR	Desenvolvimento sexual masculino	Testosterona	Pesticidas Ftalatos Plastificantes Compostos polialogenados
Estrógenos	ER α , β GPR30 (não nuclear)	Desenvolvimento sexual feminino	Estradiol	BPA Dioxinas Furanos Hidrocarbonetos halogenados Metais pesados
Hormônios da tireóide	TR α , β	Metabolismo e frequência cardíaca	Hormônio da Tireóide	BPA Dioxinas Furanos PBDEs PCB Pesticidas Ftalatos Perclorados Fitoestrogênios
Progesterona	PR	Desenvolvimento sexual feminino	Progesterona	BPC Fungicidas Herbicidas Inseticidas
Receptor de hidrocarboneto arilo	AhR	Ritmo circadiano Metabolismo Neurogênese Desenvolvimento dos órgãos Resposta ao estresse	Desconhecido	Dioxinas Pesticidas Herbicidas Flavonoides PCBs
PPAR gama	PPAR α , β , γ	Homeostase lipídica	Lípídeos e ácidos graxos	Organoestâneos BPA
Glicocorticoide	GR α , β	Desenvolvimento Metabolismo Resposta ao estresse	Cortisol	Ftalatos BPA Arsênio

Tabela 1. Funções relacionadas aos receptores nucleares humanos.¹³

2.2.3 Esteroidogênese no ovário

O folículo antral e o corpo lúteo são glândulas esteroidogênicas. Dentro do folículo, a esteroidogênese requer uma cooperação mútua entre as células da teca e da granulosa. As células da teca respondem à sinalização do LH, que é liberado pela hipófise, com aumento da transcrição de genes que codificam as enzimas necessárias para a conversão de colesterol em androgênios (androstenediona e testosterona). As células de granulosa respondem à sinalização de FSH aumentando a expressão de enzimas necessárias para a conversão de androgênios derivados da teca em estrogênios (17 β -estradiol e estrona). Todo esse processo é dependente de colesterol, pois várias enzimas participam desse processo, como observado na Figura 3. Na célula da teca, o colesterol é internalizado por receptores de lipoproteínas ou sintetizado *de novo*. Uma vez no citoplasma, o colesterol é transportado para a mitocôndria pela proteína reguladora esteroidogênica aguda (STAR). Nas mitocôndrias, o colesterol é convertido em pregnenolona pela clivagem da cadeia lateral de colesterol pelo citocromo P450 (CYP450_{scc}, CYP11A1). A pregnenolona difunde-se da mitocôndria para o retículo endoplasmático liso, onde pode ser convertida em progesterona pela 3 β -hidroxiesteroide desidrogenase (HSD3B), ou para DHEA por 17 α -hidroxilase-17,20-desmolase (CYP17A e CYP17A1). Tanto HSD3B como a CYP17A1 catalisam a conversão de DHEA e progesterona em androstenediona, respectivamente. A androstenediona pode ser convertida em testosterona pela 17 β -hidroxiesteroide desidrogenase (HSD17B) dentro da célula da teca ou difundida na célula granulosa. Na célula de granulosa, a aromatase (CYP450_{arom}; CYP19A1) pode converter androstenediona em estrona e a testosterona, em E2. Além disso, as células da granulosa podem converter estrona em E2 através da ação de HSD17B. O E2 é a forma mais potente de estrogênio na reprodução feminina. Contudo, após a sua síntese, E2 pode ser ainda metabolizado em 2-hidroxiestradiol pela CYP1A1/2 e CYP3A4, ou a 4-hidroxiestradiol pela CYP1B1. Essas modificações levam à inativação de E2.^{8, 33, 35}

A figura 3 apresenta esquematicamente a esteroidogênese ovariana.

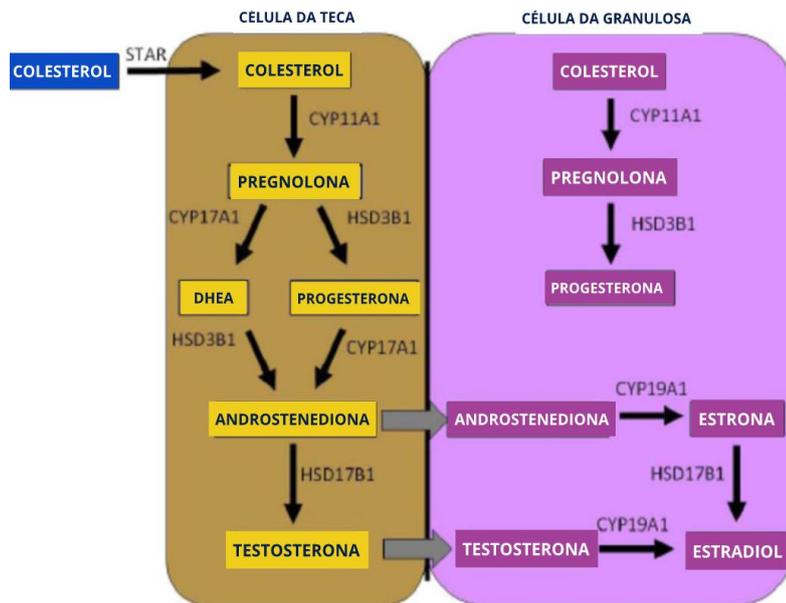


Figura 3. Via esteroidogênica. Dentro do folículo, a esteroidogênese requer uma cooperação mútua entre as células da teca e da granulosa. As células da teca contêm receptores de LH, que é liberado pela hipófise. As células da granulosa respondem a sinalização do FSH liberado pela mesma glândula. O metabolismo do colesterol no 17- β -estradiol e outros hormônios esteroides sexuais necessários, é feito por enzimas esteroidogênicas presentes nestas células.³³

Na Figura 4 é possível observar as etapas da esteroidogênese ovariana já identificadas como alvo dos DEs. Estes efeitos dos DEs podem levar à redução da fertilidade ou a uma variedade de outros problemas. Níveis normais de esteroides sexuais são necessários para a fisiologia óssea, cerebral e cardiovascular. Níveis alterados, por sua vez, estão relacionados ao desenvolvimento de doenças, como a SOPC.^{9, 46}

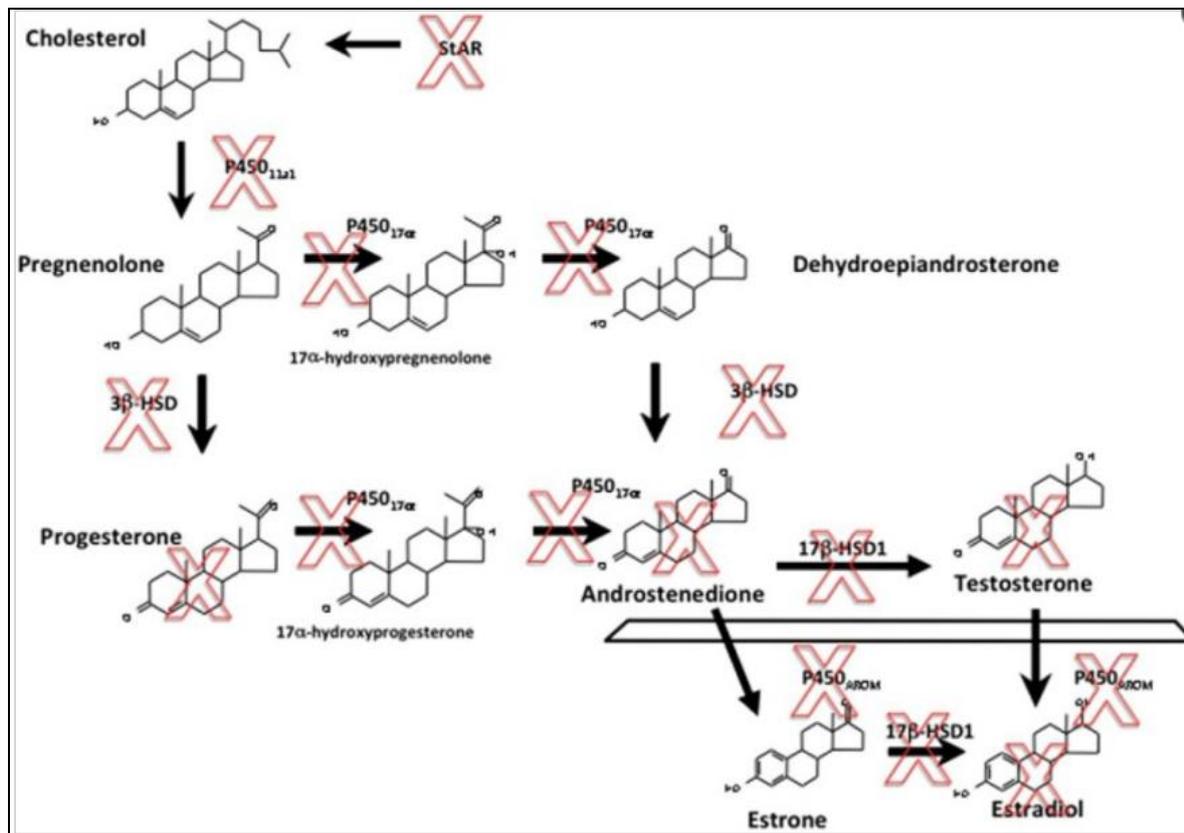


Figura 4. Caminhos esteroidogênicos que levam à biossíntese de estradiol. Os "X" vermelhos indicam os hormônios ou enzimas caracterizados como alvos dos DEs.⁹

2.3 SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS

2.3.1 Definição

A síndrome dos ovários policísticos é uma doença heterogênea e complexa com importantes repercussões reprodutivas e metabólicas para as mulheres acometidas. Oligo-anovulação, hiperandrogenismo e a presença de ovários policísticos são alguns dos critérios usados para diagnosticar essa síndrome que afeta de 6 a 10% das mulheres em idade reprodutiva. As influências ambientais, anormalidades da esteroidogênese ovariana e do desenvolvimento folicular, e alteração do padrão de secreção de gonadotrofinas contribuem para a produção excessiva de androgênios ovarianos e disfunção ovulatória. Seu fenótipo pode variar de acordo com a raça e a etnia e é difícil definir sua presença no período perimenarca e perimenopausa, além de poder ser exacerbado pela presença de obesidade.^{1, 2, 3}

2.3.2 Critérios diagnósticos

Em 1990, o Instituto Nacional de Saúde (NIH) patrocinou um grupo de clínicos e pesquisadores para elaborar um consenso para diagnóstico da SOPC. Este grupo de estudo definiu a SOPC como uma síndrome caracterizada por hiperandrogenismo clínico ou hiperandrogenemia, com oligo-anovulação, na ausência comprovada de outras endocrinopatias que cursam com estas alterações (hiperplasia adrenal congênita, tumores secretores de androgênios, síndrome de Cushing, uso ou abuso de drogas androgênicas, disfunção da tireóide, hiperprolactinemia).⁴⁷

Um outro consenso, publicado em 2003 e conhecido como consenso de Rotterdam (elaborado por pesquisadores principalmente europeus e americanos) expandiu os critérios de diagnóstico para incluir pelo menos duas das seguintes características: (i) hiperandrogenismo clínico ou bioquímico; (ii) oligo-anovulação; (iii) imagem de ovários policísticos, excluindo as mesmas endocrinopatias relacionadas no consenso anterior.⁷ Uma junta de peritos em SOPC recomendou que os clínicos utilizassem os critérios de Rotterdam, mais recentes, para o diagnóstico. Essa recomendação fez com que a prevalência de SOPC passasse de 6 para 10%. Este aumento é devido à expansão da síndrome para incluir mulheres sem disfunção ovulatória documentada ou hiperandrogenismo, mas que possuem imagem de ovários policísticos. Ainda segundo estes consensos, as mulheres com SOPC apresentam maior risco de desenvolver anormalidades reprodutivas e metabólicas que pode incluir infertilidade e *diabetes mellitus* do tipo 2.^{2, 48}

A presença de outras endocrinopatias, que acabam imitando a SOPC, deve ser excluída, para o correto diagnóstico dessa síndrome. Esses distúrbios incluem hiperplasia adrenal não clássica, síndrome de Cushing, tumores produtores de androgênios e androgênios exógenos. Além disso, deve-se excluir a disfunção ovulatória de outras causas, incluindo disfunção da tireóide e hiperprolactinemia, bem como a gravidez em mulheres em idade reprodutiva.^{2, 47}

2.3.3 Avaliação das características da síndrome dos ovários policísticos

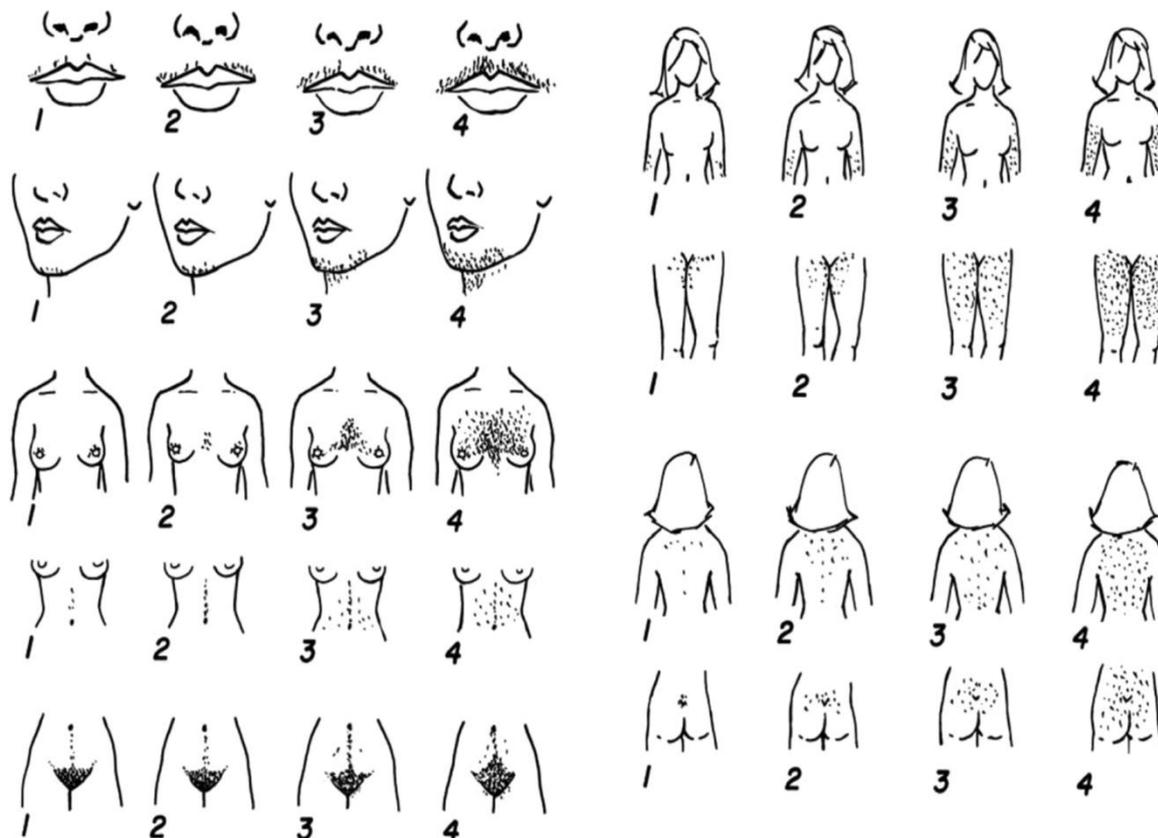
O hiperandrogenismo pode ser clínico (hirsutismo), bioquímico (concentrações séricas elevadas de androgênios) ou ambos.

2.3.3.1 Hiperandrogenismo clínico

O hirsutismo, caracterizado pela presença de pelos terminais em excesso em áreas dependentes de androgênios, é uma das principais características do hiperandrogenismo clínico. É muito importante distingui-lo da hipertricose, que é um aumento difuso dos folículos capilares, com crescimento de pelos não terminais, em áreas também não dependentes de androgênios.⁴⁹

O crescimento do cabelo sexual feminino e masculino é inteiramente dependente das concentrações de andrógenos. Altas concentrações de andrógeno, especificamente a testosterona, exacerba a conversão de testosterona em diidrotestosterona pela 5 α -redutase na unidade pilo sebácea. Com isso, ativação dos receptores de androgênios na unidade pila sebácea leva à transformação de pelos finos em pelos terminais. A presença de um número substancial de pelos terminais no queixo, pescoço e região inferior da face, indica a presença de excesso de androgênios. Da mesma forma, o crescimento excessivo na região lombar, esterno, abdômen, ombros, nádegas, área perineal e face medial das coxas são consideradas excesso androgênico.^{2, 49}

Em mulheres com SOPC, os fatores raciais que afetam a densidade inicial das unidades pilosebáceas e sua capacidade de resposta aos androgênios e outros hormônios podem resultar em diferenças na distribuição e densidade dos pelos. As mulheres de ascendência europeia com SOPC tendem a ter um hirsutismo da linha média mais marcado do que as mulheres de ascendência do Leste Asiático, mas uma quantidade similar à dos afro-americanos. Conseqüentemente, as escalas da avaliação do hirsutismo, como a escala modificada de Ferriman-Gallwey (Figura 5), terão diferentes pontos de corte para diagnóstico do hirsutismo dependendo da raça.^{2, 50, 51}



R. Hatch *et al.*: *Am J Obstet Gynecol* 140: 815-830, 1981

Figura 5. Sistema de pontuação do hirsutismo de Ferriman-Gallwey. A cada uma das nove áreas do corpo mais sensíveis aos androgênios é atribuída uma pontuação de 0 (sem cabelo) a 4 (francamente viril), de acordo com a quantidade de pelos, e essas pontuações separadas são somadas para fornecer um escore de hirsutismo hormonal. Valores acima de 8 são considerados diagnósticos de hirsutismo.⁴⁹

2.3.3.2 Hiperandrogenismo bioquímico

As mulheres com SOPC também podem ser identificadas pelas concentrações circulantes aumentadas de androgênios, principalmente quando estão associados à disfunção menstrual, obesidade ou clitoromegalia, ou quando o hirsutismo é grave, de início súbito e rapidamente progressivo. Os métodos mais sensíveis para a medida mais precisa são os que incluem a extração de fosfolípidios interferentes por cromatografia líquida e espectrometria de massa em tandem (MS/MS), imunoluminescência ou radioimunoensaio.^{49, 50}

2.3.4 Ovários policísticos

A sinalização do eixo hipotálamo-hipófise-ovário resulta na ovulação. O crescimento dos folículos primordiais é independente da gonadotrofina. Os receptores LH são expressos, no estágio pré-antral, levando à secreção de androgênios pelas células tecais estimuladas por LH, que fornece um substrato para a produção de estradiol nas células da granulosa. A ovulação é o resultado da coordenação e interação da ação do LH, FSH, insulina, IGF-1, fator inibidor Mulleriano, função enzimática esteroidogênica e outros fatores. Em mulheres com SOPC, este processo é dificultado pelo desenvolvimento folicular anormal e a falha aparente na seleção de um folículo dominante, que resulta em anovulação. Estudos sugerem um defeito precoce na foliculogênese em mulheres com SOPC, que precede o recrutamento folicular. A disfunção ovulatória na síndrome caracteriza-se pelo aumento da ativação folicular, mas o crescimento destes folículos é comprometido antes de seu amadurecimento. Assim, as mulheres com SOPC têm uma proporção aumentada de folículos primordiais e um aumento correspondente dos folículos de crescimento ativado (primário).^{52, 53}

A morfologia e o tamanho dos ovários podem ser avaliados por ultrassom; com esta avaliação, a morfologia ovariana policística é definida pela presença de 10 ou mais folículos com o diâmetro de 2-8 mm, em torno de um núcleo denso de estroma dispostos periféricamente ou espalhados. (Figura 6). Estes critérios morfológicos foram atualizados em 2004 para a presença de 12 ou mais folículos em cada ovário com 2-9 mm de diâmetro e / ou aumento do volume de ovário (> 10 mL) em pelo menos um ovário. O número de folículos de 2 a 5 mm correlaciona-se positivamente com as concentrações séricas de androgênios, enquanto que o número de folículos de 6 a 9 mm correlaciona-se negativamente com a insulinemia de jejum e a concentração sérica de testosterona.^{2, 54}

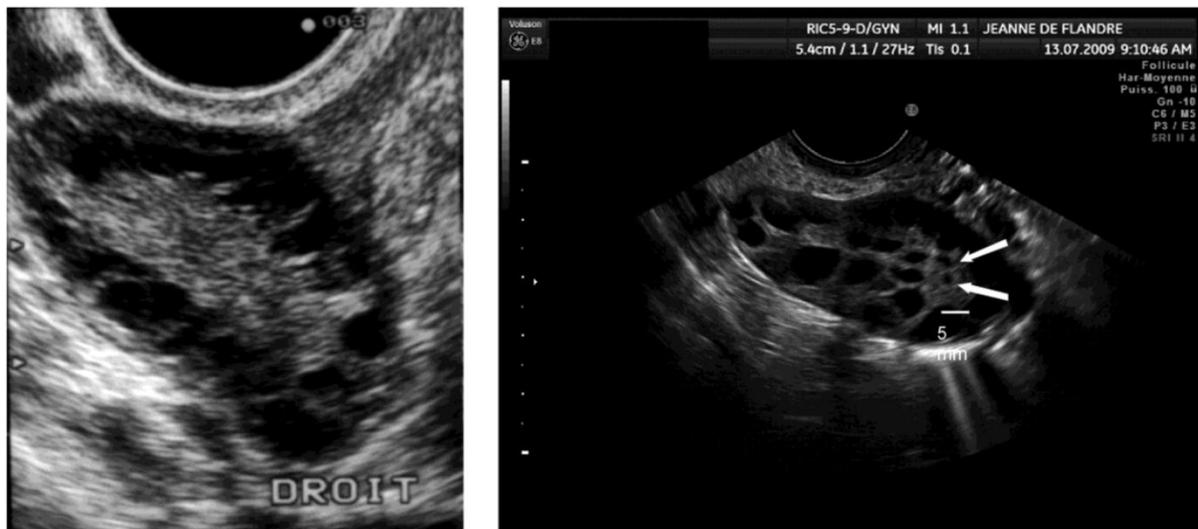


Figura 6. Imagem do PCO obtida com o equipamento de ultrassom antigo (2001, painel esquerdo) e novo (painel direito de 2009). Pequenos folículos ≤ 2 mm de diâmetro (setas) podem ser visualizados e contados com o novo equipamento.⁵⁴

Com o desenvolvimento de novas tecnologias de imagem, há tendência de modificação dos critérios para definir a presença de ovários policísticos. Muitos acreditam que este valor do limiar do número do folículo deva ser aumentado, com o resultado de uma melhor imagem do ovário. Especialistas recomendam uma média de ≥ 25 folículos por ovário para diagnosticar a presença de ovário policístico. Alguns autores argumentam, usando a análise de componentes principais, que o número do folículo por ovário se correlaciona bem com hiperandrogenismo e, portanto, é um bom marcador de substituição para o hiperandrogenismo ovariano. Os ovários multifolliculares, vale ressaltar, podem ser um estágio normal de desenvolvimento na adolescência e a fase adulta precoce.^{2, 54}

2.3.5 Oligo-anovulação

A SOPC é frequentemente, mas não exclusivamente, caracterizada por disfunção ovulatória que resulta em oligo ou amenorreia, de acordo com o consenso de Rotterdam de 2003.⁷ De acordo com o relatório da Força tarefa da Sociedade de Androgênios, cerca de 85% das mulheres com SOPC apresentam evidência clínica de irregularidades menstruais. As pacientes com oligomenorreia possuem intervalo entre períodos menstruais ≥ 35 dias e < 6 meses. A amenorreia, por sua vez, é a ausência de sangramento vaginal durante pelo menos 6 meses. As mulheres com oligo-ovulação podem apresentar sintomas mais leves e um fenótipo menos grave em comparação com mulheres anovulatórias. A anovulação é presumida pela concentração sérica de progesterona inferior a 3 a 4 ng/mL, na fase

lútea do ciclo menstrual.^{7, 52, 55}

As características clínicas da síndrome podem mudar ao longo do ciclo de vida, desde a adolescência até a pós-menopausa. Em adolescentes, oligomenorreia, hirsutismo e obesidade estão entre os problemas clínicos mais comuns. Para as mulheres em idade reprodutiva, a infertilidade anovulatória é uma queixa principal. Para a mulher madura, a obesidade, a dislipidemia, a tolerância à glicose prejudicada e o *diabetes mellitus* tipo 2 são problemas comuns relacionados à SOPC.⁵⁶

2.4 Fatores relacionados à síndrome dos ovários policísticos

2.4.1 Obesidade

A Organização Mundial da Saúde define excesso de peso e obesidade como "acúmulo de gordura anormal ou excessivo que apresenta um risco para a saúde" e classifica as pessoas com peso normal, excesso de peso e obesidade pelo índice de massa corporal (IMC). O IMC é calculado pela razão entre massa corporal de um indivíduo e o quadrado de sua altura (kg/m^2). Para adultos, o IMC entre 18,5 e 24,9 é considerado indicador de peso normal; entre 25 e 29,9, de excesso de peso; de 30 ou superior, de obesidade.⁵⁶

A obesidade pode ter um impacto considerável no desenvolvimento da SOPC em mulheres susceptíveis. Está associada ao aumento significativo dos problemas metabólicos e dos fatores de risco para SOPC.⁵⁶ A obesidade está presente em 30-75% das mulheres com SOPC. Estudos sugeriram que as mulheres com SOPC estão em risco de doença hepática gordurosa não alcoólica.⁵⁷ As mulheres que são obesas, com mais frequência, têm hiperandrogenismo grave (hirsutismo, anormalidades menstruais e anovulação) do que as mulheres com peso normal e SOPC. A obesidade está relacionada à resistência a insulina. O aumento da glicose circulante provoca uma hiperinsulinemia rebote, devido ao aumento da glicose circulante. O aumento da sinalização pela insulina interage com o aumento dos níveis de LH para amplificar o defeito esteroideogênico.^{56, 58}

2.4.2 Nutrição e atividade física

Para reduzir a gravidade da expressão fenotípica da SOPC, a perda de peso é provavelmente um elemento importante. Evitando assim o impacto da obesidade nessa síndrome. A modificação da dieta é uma parte importante de qualquer programa de perda de peso, com a maioria dos estudos sugerindo que o exercício isoladamente é inadequado para melhorar os sintomas relacionados ao fenótipo de SOPC.²

2.4.3 Etnia / raça

O SOPC é uma endocrinopatia comum em muitos grupos étnicos e raciais. Dois genes (identificados pela primeira vez em uma associação genômica de mulheres chinesas) foram replicados em mulheres de ascendência europeia. Essa semelhança sugere um antigo traço evolutivo. Um exame da variabilidade racial dessas variantes genéticas entre os bancos de dados genômicos publicamente disponíveis fornece evidências de que as variações étnicas da SOPC são fortemente determinadas pelos antecedentes genéticos em seres humanos.^{2, 59}

2.4.4 Produtos químicos desreguladores endócrinos

Essas substâncias interferem com a produção, secreção, metabolismo, transporte ou ação periférica de hormônios endógenos por meio de sua ligação a receptores hormonais. Entre seus efeitos, estão a alteração da função ovariana por meio de modificações da sinalização endócrina no ovário e no restante dos órgãos reprodutivos.¹¹

2.5. UMA VISÃO GERAL DA FISIOPATOLOGIA E DEFEITOS MOLECULARES NA SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS

A complexidade da fisiopatologia da SOPC reflete as interações entre os fatores genéticos, metabólicos, fetais e ambientais - fatores que podem variar em mulheres afetadas individualmente. Entre estes fatores, a secreção desordenada de

baixo ou baixo e uma frequência persistentemente rápida de secreção de pulsos de GnRH.^{2, 46, 60}

2.5.1 Hiperandrogenismo ovariano

O hiperandrogenismo e a anovulação são conhecidos por interagir com a resistência à insulina na fisiopatologia da SOPC. A hiperinsulinemia parece interferir com defeitos esteroidogênicos ovarianos, bem como mecanismos anovulatórios. Embora a obesidade tenha papel agravante, a resistência à insulina parece ser uma característica integral da SOPC, independentemente de outros fatores.²

O hiperandrogenismo clínico e bioquímico de origem ovariana e/ou adrenal é evidente na maioria dos pacientes com a síndrome (60 a 80%). O hiperandrogenismo ovariano é atribuído principalmente a um defeito esteroidogênico inerente da célula da teca e o aumento da insulinemia parece amplificar a esteroidogênese. Os níveis reduzidos de FSH em relação aos de LH e fatores intra-ovarianos também estão envolvidos (Figura 8).^{56, 60}

A regulação hormonal e defeitos de sinalização intracelular na SOPC contribuem para aumentar a produção de androgênios. A sinalização LH está associada ao aumento da biossíntese de androgênios da teca. O aumento da atividade de PI3K e IPG na sinalização intracelular de insulina também estimula a produção de androgênios na teca. Assim, o aumento da sinalização pela insulina interage com o aumento dos níveis de LH para amplificar o defeito esteroidogênico. A diminuição da ação do FSH reduz a atividade da aromatase em sinergia com o hormônio anti-Mulleriano (AMH), que pode desempenhar esse papel diretamente, ou indiretamente através da supressão do FSH. A atividade da aromatase reduzida dificulta a conversão de androgênios em estrogênio, contribuindo para o excesso de androgênio ovariano. O aumento dos níveis de AMH também pode atuar diretamente nas células da teca para estimular a síntese de androgênios. Por sua vez, o aumento dos níveis de androgênios perpetua a inibição da atividade da aromatase (Figura 8).^{2, 56, 58, 61, 62}

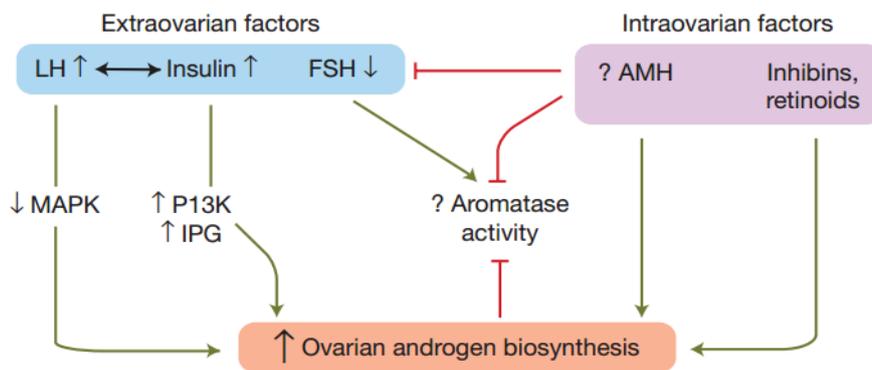


Figura 8. A regulação hormonal intracelular e defeitos de sinalização em SOPC e a contribuição para aumentar da produção de androgênios.⁵⁸

2.5.2 Gonadotrofinas

O comprometimento do padrão de secreção das gonadotrofinas pode contribuir para a produção excessiva de androgênios na SOPC. O aumento da secreção de LH pode aumentar diretamente a síntese de androgênios na teca. No entanto, foi sugerido que os níveis elevados de LH resultam de uma diminuição da retroalimentação negativa sobre a secreção de LH, devido à ação excessiva dos androgênios no eixo hipotálamo-hipófise. A diminuição da estimulação da aromatase pelo FSH, por sua vez, resulta na diminuição da conversão de androgênios para o estrogênio e agrava o excesso de androgênios nos ovários. Os níveis de FSH relativamente reduzidos, em relação aos de LH, podem ter um papel indireto neste processo.^{46, 58}

2.5.3 Insulina

Na SOPC, a insulina parece ser um fator desencadeante e que agrava a desregulação da esteroidogênese celular da teca. Em células do ovário de pacientes com a síndrome, a insulina parece atuar em sinergia com o LH para estimular a síntese de androgênios. Um papel significativo da insulina na produção de androgênios nas células da teca também é sugerido por estudos *in vitro* que mostram que este hormônio estimula a expressão da P450c17 (CYP17A1) e sua atividade enzimática através do seu receptor nas células da teca. Esta ação da insulina é mediada pela via fosfoinositideo-3-quinase (PI3K) / proteína quinase B (PKB), que é ativada em células da teca na SOPC. O aumento da insulinemia pode, assim, ampliar ainda mais a síntese de androgênios.^{46, 54, 62, 63}

2.5.4 Hiperandrogenismo adrenal

Evidências sugerem que o hiperandrogenismo adrenal, por desregulação da CYP17A1, seja um traço geneticamente determinado na SOPC.⁶⁴ O aumento do metabolismo periférico do cortisol também foi proposto para contribuir com o hiperandrogenismo adrenal funcional. Em mulheres normais, as glândulas adrenais e os ovários secretam andrógenos em resposta a ACTH e LH, respectivamente. No hiperandrogenismo em indivíduos não obesos, os ovários e as glândulas suprarrenais provavelmente sejam as principais fontes de produção excessiva de andrógenos em mulheres com SOPC. A atividade de 5 α -redutase no fígado e nos tecidos periféricos (por exemplo, tecido adiposo) também podem aumentar a conversão de testosterona em androgênio biologicamente mais potente, diidrotestosterona (DHT). A atividade da 5 α -redutase foi observada no tecido folicular e estromal, indicando que essa isoenzima são expressa nos ovários humano.⁶⁵ Nesta configuração, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal pode ser estimulado, levando ao aumento da produção de androgênios adrenais na SOPC.⁵⁸

2.5.5 Disfunção ovariana

A oligo-anovulação está presente em 70-80% das pacientes com SOPC e é atribuída aos distúrbios da foliculogênese que caracterizam a síndrome. A anovulação na SOPC é atribuída a distúrbios da foliculogênese que caracterizam a síndrome. O defeito folicular na SOPC consiste em crescimento folicular acelerado e distorção inicial das etapas subsequentes em direção à seleção do folículo dominante. Os androgênios e a insulina têm menor importância durante a foliculogênese. O equilíbrio entre FSH e AMH, regulado pelo relacionamento inverso entre os dois hormônios, pode ser crucial para a atividade da aromatase no momento da seleção do folículo dominante. O aumento da insulinemia induz a expressão do receptor LH e luteinização prematura. A atenuação da capacidade de resposta da FSH e a luteinização prematura da granulosa leva a distorção da seleção do folículo dominante, levando à ao “aprisionamento folicular” (Figura 9).^{24,}

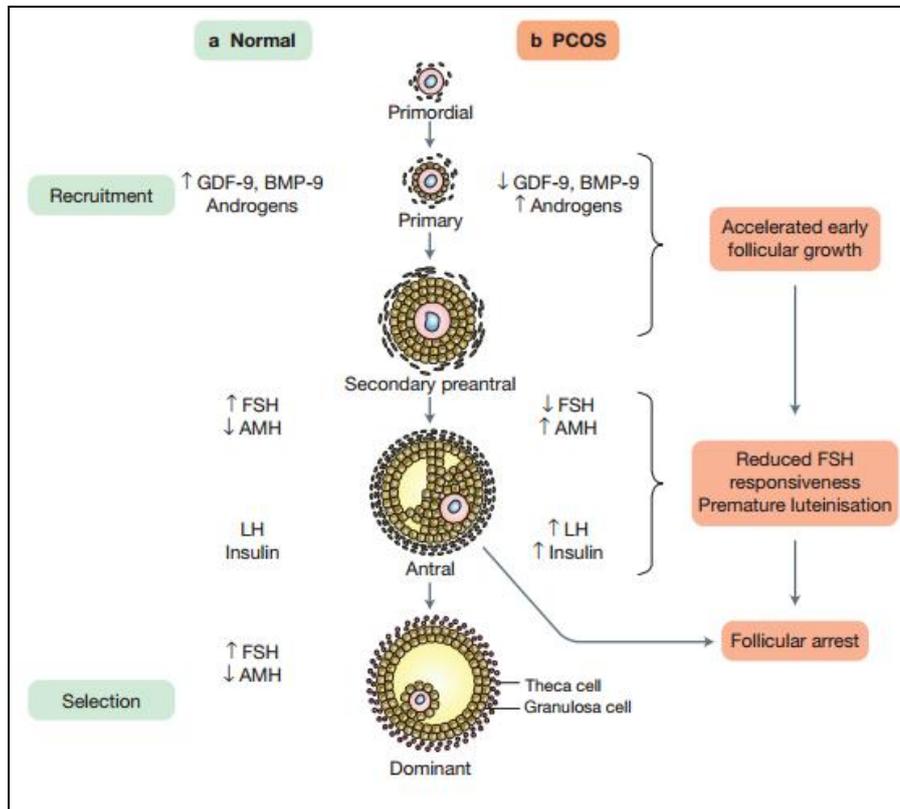


Figura 9. Foliculogênese normal e defeito folicular na síntese de SOPC. **(A)** Os estágios normais do desenvolvimento dos folículos ovários, têm início com a formação de folículos primordiais e seu crescimento em folículos primários, folículos pré-antrais, folículos antrais, folículos pré-ovulatórios e folículo dominante. A seleção do folículo dominante culmina com a ovulação. O recrutamento inicial de folículos primordiais para entrar no crescimento é independente da FSH e é regulado por uma série de fatores de crescimento como GDF-9 e BMP-15. A regulação por parte do FSH acontece nos estágios subsequentes da foliculogênese em direção a seleção do folículo dominante. **(B)** Na SOPC, o excesso de androgênios proporciona o crescimento folicular inicial acelerado e o aumento de folículos pequenos. Os níveis reduzidos de fatores de crescimento, principalmente GDF-9 e BMP-15, ampliam a foliculogênese inicial. O excesso de folículos pequenos leva a níveis aumentados de AMH, interfere com a capacidade de resposta FSH folicular. As setas vermelhas indicam anormalidades foliculares na SOPC O aumento da insulina induz a expressão do receptor LH e Luteinização prematura. **Com a seleção do** folículo dominante prejudicada pode ocorrer a prisão folicular na SOP.⁵⁸

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Investigar, por meio de revisão sistemática da literatura, se a exposição aos desreguladores endócrinos está associada à ocorrência da SOPC em mulheres em idade reprodutiva.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Identificar os países em que foi investigada a associação entre a exposição aos DEs.

3.2.2 Identificar os DEs associados à ocorrência de SOPC.

4 MÉTODOS

4.1 ELEGIBILIDADE

Após ser estabelecida a questão principal da revisão sistemática – “a exposição aos desreguladores endócrinos está associada à ocorrência da SOPC em humanos?”, foi utilizada a estratégia PICOS (população, intervenção, comparação, desfechos e tipo de estudo) para nortear a busca de estudos publicados e estabelecer os critérios de inclusão.

Desta forma, os critérios de inclusão foram:

- (i) População: estudos clínicos (envolvendo humanos);
- (ii) Intervenção (casos): mulheres com SOPC;
- (iii) Comparação: mulheres sem SOPC;
- (iv) Desfecho: concentrações de DEs em amostras biológicas;
- (v) Tipo de estudo: estudos observacionais transversais, tipo caso-controle ou de coorte.

Por meio desta estratégia, foram excluídos estudos envolvendo animais, células ou *in vitro*; estudos que avaliaram outros desfechos ou apenas componentes individuais que compõem os critérios diagnósticos da SOPC (ou seja, apenas oligo-anovulação, hiperandrogenismo ou morfologia de ovários policísticos); revisões de literatura, cartas, relatos de casos, resumos e opiniões pessoais.

4.2. BUSCA DOS ESTUDOS

A pesquisa foi realizada em maio de 2017 nas seguintes bases de dados eletrônicas: Lilacs, MedLine/PubMed, Biblioteca Cochrane, Scopus e Web of Science, por meio da combinação de termos de pesquisa relacionados à **Síndrome dos Ovários Policísticos** ("*Polycystic Ovary Syndrome*" OR "*Ovarian Syndrome, Polycystic*" OR "*Syndrome, Polycystic Ovary*") e **DEs** ("*Endocrine Disruptors*" OR "*Disruptors, Endocrine*" OR "*Endocrine Disrupting Chemicals*" OR "*Chemicals,*

Endocrine Disrupting" OR "Endocrine Disruptor Effect" OR "Effect, Endocrine Disruptor). Os resultados foram exportados para o software de gerenciamento de referência EndNote[®] versão X7 (Thomson Reuters, Nova Iorque, EUA). Não houve restrição de período da publicação ou língua.

4.3 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Os artigos identificados pela estratégia de busca foram avaliados, inicialmente, pelos títulos e resumos, de forma independente, por dois revisores (CRCA e CMR), obedecendo rigorosamente aos critérios da estratégia PICOS descritos anteriormente. Os artigos assim selecionados foram lidos na íntegra (textos completos) pelos dois revisores, com exclusão daqueles que não atendiam aos critérios inclusão, também de forma independente. A inclusão dos artigos por cada um dos revisores foi comparada e, quando havia divergência, um terceiro revisor (AAA) foi convocado para realização de discussões e resolução da divergências.

4.4 COLETA DE DADOS

Os seguintes dados foram extraídos dos estudos elegíveis, seguindo a estratégia PICOS: **dados do artigo** (autor, referência, ano de publicação), **dados da população** (país, período de avaliação/coleta de dados, idade, número amostral, origem dos participantes e critérios de exclusão), **dados da intervenção** (DEs estudados, amostra em que foi mensurado e método de medida), **dados do controle** (não expostos ou menos expostos, definição de controle/como foi avaliada a não exposição ou menor exposição e número de controles), **dados do desfecho** (frequência da SOPC entre expostos e não expostos ou menos expostos, valor da razão de chances ou risco relativo, variáveis de ajuste ou covariáveis), **dados do estudo** (observacional de prevalência, caso-controle ou coorte).

A coleta de dados também foi realizada por dois revisores (CRCA e CMR) de forma independente, os dados coletados comparados e divergências resolvidas por discussão com o terceiro revisor (AAA).

4.5 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA

A avaliação da qualidade dos artigos incluídos neste estudo foi analisada com o uso da escala de Newcastle-Ottawa, desenvolvida para avaliar a qualidade ou risco de viés de estudos observacionais.⁶⁷ Esta escala contém oito itens que analisam três aspectos dos estudos: seleção (definição dos casos, seleção dos casos, definição dos controles e seleção dos controles), comparabilidade e resultado ou desfecho.

Para cada item há uma série de opções em que aquela que reflete melhor a qualidade é pontuada, e quanto maior a quantidade de pontos mais elevada é a qualidade do estudo. No presente trabalho, as questões foram ajustadas para investigar exposição e associação entre DEs e tendo como desfecho a SOPC, de acordo com o item avaliado (Tabela 2). Cada ponto representa um item para classificação de baixo risco de viés (cada ponto são representados por estrelas na tabela de avaliação da qualidade, Tabela 4).

Tabela 2. Itens da avaliação da qualidade metodológica e sua pontuação, com base na escala de Newcastle-Ottawa.

Seleção (máximo 4 pontos)	
Definição dos casos	1 ponto se a presença de SOPC foi definida com base em critérios amplamente aceitos (critérios de Rotterdam ou do Instituto Nacional de Saúde)
Seleção dos casos	1 ponto caso a amostra seja verdadeiramente representativa da média na população alvo (amostragem aleatória) ou de alguma forma representativa (amostragem não aleatória, porém seleção a partir de casos consecutivos de SOPC em determinada unidade de assistência à saúde)
Definição dos controles	1 ponto se foi descrito claramente que os controles não apresentavam histórico de oligo-anovulação/SOPC
Seleção dos controles	1 ponto se foi descrito que os controles foram recrutados a partir de sujeitos da comunidade local
Comparabilidade (máximo 2 pontos)	1 ponto se houve ajuste adequado para idade e 1 ponto se houve ajuste adequado para o índice de massa corporal na seleção dos grupos ou análise estatística
Desfecho (máximo 1 ponto)	1 ponto caso a exposição a DEs tenha sido determinada por um método analítico validado e 1 ponto se foi usado o mesmo método de determinação para casos e controles.

DEs: desreguladores endócrinos; IMC: índice de massa corporal; SOPC: síndrome dos ovários policísticos.

Embora a estratégia de busca dos estudos (estratégia PICOS, descrita acima) tenha definido a intervenção como a exposição aos DEs e o desfecho como a ocorrência de SOPC, foram encontrados apenas estudos que selecionaram mulheres com SOPC (casos) e mulheres saudáveis (controles) e avaliado a exposição a DEs (desfecho). Assim, a escala foi adaptada a estes estudos, ou seja, a seleção de casos e controles considerou a presença de SOPC e a exposição a DEs foi considerada o desfecho (Tabela 2). Estudos com pontuação total de 7 a 8 foram considerados de alta qualidade metodológica ou baixo risco de viés, com pontuação total de 5 a 6 foram considerados de qualidade metodológica média ou risco médio de viés, e com pontuação total de 4 ou menos, de qualidade metodológica baixa ou elevado risco de viés.

5 RESULTADOS

5.1 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Na fase de identificação, foram encontrados 146 artigos. Após a remoção das duplicatas, restaram 89. Somente 12 artigos foram selecionados após a leitura dos títulos e resumos, na primeira etapa. Após a leitura do texto completo dos artigos, foram incluídos 6 artigos (Figura 10). Entre os 6 estudos excluídos, 4 analisaram outro desfecho que não a SOPC⁶⁷⁻⁷⁰ e 2 estimaram a exposição a DEs por meios de métodos não confiáveis e que tiveram uma avaliação da qualidade muito baixa na escala de avaliação.^{39, 71}

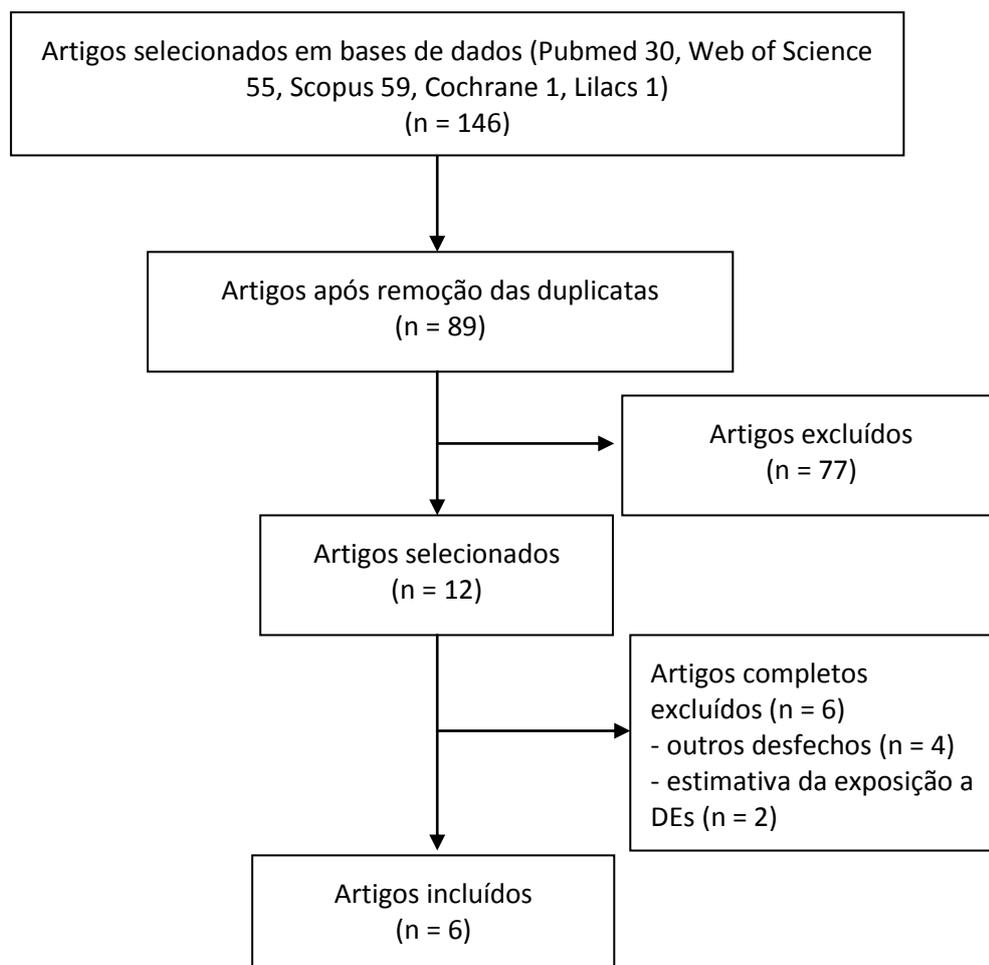


Figura 10. Fluxo de seleção dos artigos da revisão sistemática.

5.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS

Os 6 estudos incluídos totalizaram 520 participantes, entre casos e controles. As características dos estudos incluídos estão descritas na Tabela 3. Dos artigos selecionados, todos foram estudos transversais caso-controle, em que mulheres com menor exposição a DEs foram comparadas àquelas com maior exposição. Quatro estudos definiram a SOPC com base nos critérios de Rotterdam da Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia / Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ESHRE / ASRM).⁷ Dois estudos diagnosticaram a SOPC com base nos critérios do Instituto Nacional de Saúde norte-americano.⁴⁷

Dos estudos selecionados, dois estudos foram realizados na China (Yang et al., 2015 e Xu et al., 2011), um na Itália (Tarantino et al., 2013), um na Grécia (Kandaraki et al., 2011), um na Turquia (Akin et al., 2015) e um nos Estados Unidos da América (Vagi et al., 2014). A média de idade das participantes variou de 13 a 45 anos. Dos seis artigos incluídos na revisão, todos compararam os níveis dos desreguladores endócrinos entre os casos e controles.

Em geral, nos estudos incluídos nesta revisão sistemática, foi observada maior exposição a DEs, determinada pela medida de sua concentração no soro ou urina, em mulheres com SOPC em relação àquelas sem a síndrome.

O BPA foi o DE mais frequentemente investigado, em cinco dos sete estudos, e três deles encontraram associação entre a exposição a este composto e a presença de SOPC.^{68, 10, 23} Nos outros dois, esta associação não foi observada.^{38;}³⁴ As PCBs foram avaliadas em dois estudos selecionados e ambos observaram associação com a SOPC.^{38, 34} Dois estudos analisaram pesticidas organoclorados, PFOA e PFOS, observaram que pacientes com SOPC apresentaram concentrações plasmáticas significativamente maiores dessas substâncias em relação ao grupo controle.^{38, 34} Dois analisaram os ftalatos e seus metabólitos (DEP, DBP e DEHP).^{38, 69} Apenas um analisou os HAP e encontrou associação significativa entre as concentrações séricas destas substâncias e a presença de SOPC.³⁸

Tabela 3. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática.

Autores, ano	País e período de estudo	Desenho do estudo	Objetivo do estudo	População de origem	N, idade	Avaliação da exposição	Diagnóstico dos casos	Variáveis de ajuste	Resultados principais
Yang et al., 2015	China. Agosto a outubro de 2012	Caso-controle	Investigar a associação entre poluentes orgânicos e SOPC	Centro de Reprodução, Terceiro Hospital da Universidade de Pequim	80 (50 casos e 30 controles) Média de idade de $29,7 \pm 3,2$ anos (casos) e $30,6 \pm 2,9$ anos (controles)	Soro Cromatografia gasosa-espectrometria de massa PCBs, pesticidas organoclorados, HAP e metabólitos, DEs fenólicos (incluindo BPA)	Critérios de Rotterdam de 2003	Concentração sérica de colesterol total e triglicérides, idade, educação e ocupação	Associações significativas entre a exposição a DEs e SOPC: <ul style="list-style-type: none"> • Σdl-PCBs = OR de 4,89 (IC de 95% - 1,81-13,2) • ΣPCBs = OR 3,81 (IC95%: 1,45-10,0) • OCPs = OR de 4,89 (95% CI, 1,81-13,2) • DDE = OR de 3,00 (IC 95%, 1,16-7,73) • HAP = 3,00 (IC 95%, 1,16-7,73)
Tarantino et al. 2013	Itália Novembro de 2009 a Outubro de 2011	Caso-controle	Investigar a associação entre a concentração sérica de BPA e inflamação de baixo grau, esteatose e HA em mulheres com SOPC	Hospital Universitario de Nápoles, Itália	60 (40 casos, 20 controles) Média de idade de $26,2 \pm 3,9$ anos (controles) e $27,7 \pm 6,8$ anos (casos)	Soro ELISA BPA	Critérios de Rotterdam de 2003.	-	As concentrações séricas de BPA foram significativamente maiores nos casos (0,7 ng/mL; 0,1 a 6,0) que em controles (0,1 ng/mL; 0,1 a 0,6), $p < 0,0001$

Xu et al. 2011	China, 2010	Caso-controle	Investigar a associação entre a concentração sérica de ésteres de ftalatos e a SOPC	Não informado	34 (18 casos e 16 controles) Média de idade de 25 ± 3,18 anos (casos) e 27,47 ± 3,78 anos (controles)	Soro Cromatografia líquida de alto desempenho DEP, DPB e DEHP	Critérios de Rotterdam de 2003	-	A concentração sérica de DEP foi significativamente maior em mulheres com SOPC (0,45 ± 0,24 µg/mL) que nas mulheres do grupo controle (0,26 ± 0,1 µg/mL, p<0,008) A concentração sérica de DBP foi significativamente maior em mulheres com SOPC (0,53 ± 0,15 µg/mL) que nas mulheres do grupo controle (0,41 ± 0,14 µg/mL, p=0,027)
Kandaraki et al. 2011	Grécia, 2011	Caso-controle	Comparar a concentração sérica de BPA entre mulheres com e sem SOPC	Hospital Universitário de Atenas	171 (71 casos e 100 controles) Média de idade de 28,45 ± 4,80 anos (casos) e 32,43 ± 5,35 anos (controles)	Soro ELISA BPA	Critérios do NIH	-	Concentração sérica de BPA significativamente superior nas mulheres com SOPC que nas mulheres do grupo controle, correlação significativa entre a concentração sérica de BPA e a presença e SOPC, por análise de regressão múltipla (r = 0,497, P <0,05).
Vagi et al. 2014	EUA, março de 2007 a maio de 2008	Caso-controle	Comparar a concentrações de DEs entre mulheres com e sem SOPC	Centro médico acadêmico urbano em Los Angeles, CA.	102 (52 casos e 50 controles) Entre 18 e 45 anos.	Soro (BDPE, PCBs, pesticidas organoclorados, compostos perfluorinados), cromatografia líquida de alto desempenho e espectrometria de massa Urina (BPA e metabólitos de ftalatos), cromatografia gasosa com diluição de isótopo-espectrometria de massa de alta resolução	Critérios do NIH	Idade, IMC, raça	Mulheres com PCOS apresentaram concentração sérica mais elevada que perfluorinados e menor concentração de monobenzilftalato em comparação com mulheres do grupo controle A análise de regressão logística indicou associação entre aumento da concentração sérica de perfluorinados e redução da concentração sérica de ftalatos (monobenzilftalato e mono-n-butilftalato) e a ocorrência de SOPC

Akın et al. 2015	Turquia, janeiro de 2011 a agosto de 2012	Caso-controle	Investigar a associação entre BPA e SOPC.	Clínica de Endocrinologia Pediátrica da Faculdade de Medicina da Universidade de Erciyes	173 (112 casos e 61 controles) 13 a 19 anos de idade	Soro BPA Cromatografia líquida de alto desempenho	Critérios Rotterdam de 2003	Idade, IMC, resistência à insulina, testosterona total	<p>Aumento significativo da concentração sérica de BPA nas adolescentes com SOPC em comparação com as do grupo controle</p> <p>O principal fator que determinou o aumento significativo no bisfenol A foi a presença de SOPC e não a obesidade</p> <p>Na análise de regressão múltipla, a concentração sérica de BPA não se associou à presença de SOPC</p>
-------------------------	---	---------------	---	---	---	--	-----------------------------	--	---

DEs: desreguladores endócrinos; IMC: índice de massa corporal; SOPC: síndrome dos ovários policísticos; OCP: poluente organoclorado; PBDEs: éteres polibrominados difenílicos; PCB: bifenilas policlorada; BPA: Bisfenol A; NIH: Instituto Nacional de Saúde; DEP: dietilftalato; DBP: dibutilftalato; DEHP: dietilhexilftalato; ELISA: ensaio de imunoabsorção enzimática; OR: *odds ratio* ou razão e chances; Σ : somatório.

5.3 RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS ESTUDOS

O estudo Yang et al. (2015)³⁸, conduzido no norte da China, encontrou associação significativa entre as concentrações séricas de PCBs, pesticidas organoclorados e HAP e a presença de SOPC. Neste estudo, foram investigados outros DEs e, embora não tenham sido encontrados em maior concentração nas participantes com SOPC, cabe destacar que a taxa de detecção destes compostos foi no geral elevada; além de PCBs, pesticidas organoclorados e HAP (e seus metabolitos), foram detectados também DEs fenólicos. A soma de todos os congêneres de PCB (Σ PCBs) e de congêneres semelhantes a dioxina (Σ dI-PCBs), p,p'-DDE, pesticidas organoclorados e a soma de todos os HAP (Σ PAHs) foram maiores nos pacientes com SOPC em comparação com o grupo controle. Neste estudo, foi realizada análise de regressão logística para a associação entre a presença de SOPC e a concentração sérica dos DEs investigados abaixo ou acima da mediana da concentração encontrada nas mulheres estudadas. Esta análise foi ajustada para a concentração sérica de triglicerídeos e colesterol total (no caso de poluentes orgânicos lipossolúveis) e também para idade, nível educacional e ocupação. Nesta análise, foi encontrado, para a soma de PCB, razão de chances de 3,81 (IC 95%, 1,45-10,0; para p,p'-DDE, de 4,89 (IC 95%, 1,81-13,2); para HAPs, de 2,39 (IC 95%, 0,94-6,05).³⁸

Vagi et al. (2014)³⁴ analisaram as amostras de soro e urina de 52 casos (SOPC) e 50 controles. Encontraram em 50% das amostras das participantes a presença de 6 PBDEs, 14 PCBs, 6 OCPs, 11 metabólitos de ftalatos, 4 compostos perfluorados (PFCs) e BPA. Observaram associações entre SOPC e concentrações séricas de sulfato de perfluorooctano (PFOS) e perfluorooctanoato (PFOA), bem como de algumas PCBs. Especificamente, foram encontradas concentrações de PFOA superiores em mulheres com SOPC (média geométrica de 4,1 μ g/L) em relação aos controles (média geométrica de 2,3 μ g/L; $p = 0,001$), e superiores de PFOS nos casos (média geométrica de 8,2 μ g/L) em relação aos controles (4,9 μ g/L; $p = 0,01$). Este mesmo estudo encontrou menores concentrações urinárias de monobenzilftalato (mBzP) nos casos (média geométrica de 7,5 μ g/g de creatinina) que nos controles (média geométrica de 11,7 μ g/g de creatinina; $p = 0,02$). A análise regressão logística, controlando o índice de massa corporal, idade e raça, identificou uma maior probabilidade de SOPC em indivíduos com maiores concentrações

séricas de PFOA e PFOS (razão de chances ajustada de 5,8 e 6,9, respectivamente; $p < 0,05$) e com menor concentração urinária de mBzP e mono-n-butiltalato (razão de chances ajustada de 0,14 e 0,25, respectivamente; $p < 0,05$).

Kandaraki et al. (2011)⁶⁸ mostraram que as concentrações séricas de BPA são significativamente mais elevadas em mulheres com SOPC em comparação com mulheres sem a síndrome (média da concentração sérica de BPA de $1,05 \pm 0,56$ nos casos e $0,72 \pm 0,37$ ng/mL nos controles, $p < 0,0001$). Tanto os casos como os controles foram divididos em dois subgrupos de acordo com o IMC, designados como magras (*lean*, L, $IMC < 25$ kg/m²) e com excesso de peso (*overweight*, OW, $IMC \geq 25$ kg/m²). As pacientes do grupo SOPC-L, bem como SOPC-OW, foram comparáveis em relação a idade e IMC com seus correspondentes grupos de controle, C-L e C-OW, respectivamente. Em mulheres magras com SOP, os valores de BPA foram significativamente maiores em comparação com controles magros ($1,13 \pm 0,63$ vs $0,70 \pm 0,36$ ng/mL, $p < 0,001$). A mesma diferença foi observada nos subgrupos obesos ($0,96 \pm 0,46$ vs $0,72 \pm 0,39$ ng/mL, $p < 0,05$). Quando a análise de regressão múltipla foi realizada no grupo total utilizando BPA como variável dependente, encontrou-se uma correlação significativa com a existência de SOPC ($r = 0,497$, $p < 0,05$).

Akın et al. (2015)¹⁰ verificaram que adolescentes com SOPC apresentaram aumento significativo das concentrações séricas de BPA (média de 1,1 ng/mL; IC 95%: 1,0-1,2) do que os controles (média de 0,8 ng/mL, IC 95%: 0,6-0,9, $p = 0,001$). Os autores realizaram análise de regressão múltipla para investigar a relação entre a concentração sérica de BPA e a idade, IMC, resistência insulínica, concentração sérica de testosterona total e presença de SOPC e observaram que o principal fator que determinou o aumento significativo da concentração de BPA foi a presença de SOPC ($p=0,029$), e não a obesidade. Além disso, observaram que a concentração sérica de BPA foi significativamente correlacionada ($p < 0,05$) com a testosterona total ($r = 0,52$), a testosterona livre ($r = 0,44$), o sulfato de dehidroepiandrosterona ($r = 0,37$) e o a pontuação no escore de Ferriman-Gallwey ($r = 0,43$).

O estudo de Tarantino et al. (2013)²³ teve como objetivo principal descrever a contribuição da concentração sérica de BPA, em mulheres com SOPC, para a inflamação crônica e baixo grau (definida pela concentração sérica de proteína C reativa, PCR, e interleucina-6, IL-6), esteatose hepática (definida por avaliação ultrassonográfica) e hiperandrogenismo (definido pela concentração sérica de testosterona, SHGB e índice de androgênios livres). O estudo foi incluído por ter

comparado a concentração sérica de BPA em mulheres com e sem SOPC. Com relação a este aspecto, os resultados indicaram maior concentração de BPA em mulheres com SOPC (mediana de 0,7 ng/mL) em relação às aquelas sem a síndrome (mediana de 0,1 ng/mL, $p < 0,0001$). Entretanto, os autores observaram que as mulheres com SOPC apresentavam IMC significativamente maior que as do grupo controle e também correlacionaram significativa e positivamente a concentração sérica de BPA ao IMC. Descreveram, ainda, que independentemente do peso corporal, concentrações mais elevadas de bisfenol A em mulheres com SOPC foram associadas com maiores níveis de resistência à insulina, esteatose hepática, índice de androgênios livres, inflamação e tamanho do baço. Os autores compararam as principais variáveis do estudo, nas mulheres com SOPC, de acordo com um ponto de corte da concentração sérica de BPA, definida pelo valor do percentil 95 da concentração de BPA apresentada pelas mulheres no grupo controle. Assim, pacientes com SOPC e BPA sérico abaixo do percentil 95 foram definidas como BPA- e aquelas com SOPC e BPA sérico acima do p95, como BPA+. Foi observado que as mulheres com SOPC BPA+ apresentaram maior resistência à insulina, hiperandrogenismo, aumento da prevalência de esteatose hepática, maior PCR, IL-6 e tamanho do baço do que as com SOPC BPA-.²³

Xu et al. (2011)⁶⁹ mostraram que entre as mulheres com SOPC, as concentrações de DEP e DBP foram marcadamente superiores em relação às observadas no grupo controle, mas nenhuma diferença foi observada em relação à concentração de DEHP.

5.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO

O resultado da avaliação da qualidade metodológica dos estudos indicou que a maioria apresentava baixo risco de viés (Tabela 4).

Tabela 4. Avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos na revisão sistemática, utilizando a escala de Newcastle-Ottawa.

ARTIGO	SELEÇÃO	COMPARABILIDADE	EXPOSIÇÃO/DESFECHO	TOTAL DE PONTOS
Akın et al. 2015	****	**	**	8 pontos (boa qualidade)
Tarantino et al. 2013	****	**	**	8 pontos (boa qualidade)
Xu et al. 2011	****	*	**	7 pontos (boa qualidade)
Kandaraki et al. 2011	****	*	**	7 pontos (boa qualidade)
Vagi et al. 2014	****	**	**	8 pontos (boa qualidade)
Akın et al. 2015	****	**	**	8 pontos (boa qualidade)

5.5 LIMITAÇÕES DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO

Entre as limitações apresentadas pelos estudos, destacadas pelos autores, encontram-se o tamanho amostral reduzido, ^{11,25,36,40} a ausência de ajuste para variáveis que podem influenciar a exposição aos DEs, como padrão de alimentação ⁴⁰ e renda ⁴⁰, o espectro limitado de DEs analisado ^{11,40}, e a avaliação da exposição aos DEs por sua medida em amostra biológica em único período de tempo. ^{25,72}

Com relação ao tamanho da amostra, Vagi et al. (2014) ³⁶ destacaram que a associação entre a exposição a DE e desfechos metabólicos pode apresentar relação dose-resposta não monotônica, e a análise de pequeno número de sujeitos pode não permitir a observação de associações desta natureza. Destaca-se, ainda, que o desenho dos estudos incluídos, observacional e transversal, limita determinar relação de causalidade nas associações encontradas.

6 DISCUSSÃO

A presente revisão sistemática de estudos observacionais em humanos sugere que há associação entre a exposição a DEs e a presença de SOPC. Esta síndrome tem grande importância clínica e de saúde pública devido a sua elevada prevalência e consequências para a saúde. Afeta uma em cada cinco mulheres em idade reprodutiva e está associada a distúrbios reprodutivos, metabólicos e psicológicos.^{3,4}

Considerando a grande diversidade de mecanismos envolvidos na atividade de DEs, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) propôs uma definição mais ampla para essas substâncias.⁹ A agência descreve um DE como uma substância exógena ou mistura que altera uma ou mais funções do sistema endócrino, bem como a sua estrutura, com efeitos adversos tanto no organismo exposto como na sua prole. Muitos desses DEs podem interagir com o sistema reprodutivo feminino e pode levar a alterações endócrinas no ovário.^{8,9, 12}

Os estudos incluídos nesta revisão indicam associação de DEs diversos e a presença de SOPC, especificamente BPA, PCBs, pesticidas organoclorados, os perfluorados, HAP e os ftalatos.^{10, 23, 34, 37, 38, 47, 68, 69}

O BPA, analisado em quase todos os artigos, é usado para uma ampla variedade de finalidades, como fabricação de embalagens de alimentos, brinquedos e outras. Assim, praticamente todos são expostos continuamente a estes DEs.²² Estudos epidemiológicos têm mostrado a interação dessa substância com o trato reprodutivo feminino. O BPA tem atividade estrogênica e liga-se aos receptores ER α e, em menor grau, ER β , *in vitro* e *in vivo*.²² Assim, pode mimetizar ou inibir a atividade de estrogênios endógenos. Outro ponto muito interessante que conecta o BPA com SOPC é a observação de que ele pode estimular a hiperandrogenemia no ovário. Estudos com células de roedores mostram que o BPA é capaz de aumentar a síntese de testosterona.^{9,20, 21, 22}

Os PCBs interferem com o crescimento normal de células de oócito, diminuem os níveis de progesterona e estradiol e prolongam a atresia folicular. Essas descobertas sustentam uma associação entre PCBs e SOPC.²⁶ Eles tem a capacidade de se acumular no ambiente, assim como na gordura corporal. Por terem ações tireoidogênicas, estrogênicas e anti-androgênicas, são considerados

DEs. Do ponto de vista epidemiológico, este grupo de poluentes representa um fator de risco significativo para a saúde reprodutiva feminina.^{9, 34}

Presente nos tecidos ovarianos de células de oócitos granulosa e teca, os receptores aril de hidrocarbonetos (AhR) são fatores de transcrição ativados por ligantes. Esses receptores desempenham um papel fundamental na regulação do crescimento folicular ovariano e esteroidogênese.⁸ Eles têm a capacidade de diminuir os níveis de estradiol e progesterona através da regulação negativa da expressão do ER α nos tecidos ovarianos e do receptor de progesterona em células de granulosa folicular. Os HAPs estão entre os compostos ativos conhecidos por afetar o desenvolvimento reprodutivo feminino ao se ligarem aos receptores AhR, o que foi observado em roedores e humanos. A ativação do AhR no ovário fetal humano *in vitro* reduz significativamente a proliferação de células germinativas.⁷⁰ Após a exposição aos HAP, na vida intrauterina, foi observada uma perda significativa de células germinativas de ovário de ovócitos. Esta evidência indica que os HAPs podem reduzir o número de oócitos e estimular a apoptose do folículo através da via de sinalização pelo AhR, além de induzir a insuficiência ovariana prematura e até a infertilidade.^{35, 44}

Os pesticidas organoclorados, especialmente o p,p'-DDE, no sistema reprodutivo feminino, modificam a secreção de estrogênio e progesterona induzida por FSH e regulam a expressão de enzimas esteroidogênicas, como CYP11A1, em células do ovário. Os PAH, por sua vez, exercem efeitos de regulação negativa sobre CYP11A1 e CYP19A1 em células da granulosa em luteinização. Essas enzimas estão envolvidas no metabolismo de esteroides, o que poderia explicar a esteroidogênese anormal (excesso de androgênio ou fenótipo de hiperandrogenemia), observado em mulheres SOPC.^{9, 45}

Os ftalatos são um grande grupo de compostos utilizados como plastificantes líquidos encontrados em uma ampla gama de produtos, incluindo plásticos, revestimentos, cosméticos e tubos de ensaios.⁹ Os DEP, DBP e DEHP são análogos de estrogênio e têm efeitos semelhantes. São dotados de grupos aromáticos na sua estrutura e sua atividade estrogênica pode sensibilizar a hipófise à ação do GnRH secretado pelo hipotálamo, resultando, assim, em aumento do LH, entre outras ações.^{9, 69}

Cinco artigos pesquisaram a relação do BPA com a SOPC, e três encontraram associação entre este DE e a presença de SOPC.^{11,24,25} Tarantino et al. (2013)²³, entretanto, não ajustaram a comparação entre a concentração sérica de

BPA em mulheres com e sem SOPC para o IMC, e este ajuste seria importante uma vez que no estudo as mulheres com SOPC apresentaram IMC significativamente maior que as do grupo controle e que a concentração de BPA foi associada significativamente ao IMC. Kandaraki et al. (2011)⁶⁸, no entanto, observaram que a associação entre a concentração sérica e a presença de SOPC ocorreu independentemente do IMC, ou seja, foi observada tanto em mulheres com SOPC e IMC normal quanto em mulheres com SOPC e sobrepeso. Além disso, observaram associação positiva entre o BPA e a presença de SOPC por análise de regressão múltipla. Akin et al. (2015)¹⁰ reproduziram os achados anteriores, porém entre mulheres mais jovens (adolescentes).

Dois estudos não observaram diferenças nas concentrações séricas de BPA entre mulheres com e sem SOPC.^{38,34} Os resultados diferentes podem ser devidos às características dos participantes e níveis de exposição ao BPA nas duas populações. Além disso, devido à sua meia-vida curta, o BPA sérico não é considerado um bom marcador de exposição. Por isso, a concentração sérica, avaliada em um estudo caso-controle, pode não refletir a exposição a este poluente durante o desenvolvimento da SOPC.

6.1 LIMITAÇÕES

A extensa pesquisa bibliográfica é o que dá força a essa revisão sistemática. Usando uma estratégia de pesquisa abrangente em cinco bases de dados populares (Lilacs, MedLine/PubMed, Biblioteca Cochrane, Scopus e Web of Science), foram identificados, no entanto, somente 6 estudos que atenderam os critérios de inclusão estabelecidos. Assim, este número reduzido de estudos limita conclusões definitivas a respeito da associação entre os DEs e a SOPC. Apesar de uma estratégia de pesquisa completa, podem existir estudos até então indisponíveis que não foram incluídos nessa revisão sistemática.

O desenho dos estudos incluídos (observacional e transversal) não permite estabelecer relação de causalidade para as associações encontradas. Embora a condução de ensaios clínicos a este respeito seja inviável por razões éticas claras, estudos prospectivos, que analisem o nível de exposição e acompanhem as participantes para investigar o aparecimento de SOPC, poderiam contribuir para definir esta questão.

Não se pode deixar de mencionar, ainda, as limitações da medida da concentração de DEs em amostras biológicas como marcador da exposição a estes compostos. A avaliação de sua concentração, no soro ou urina, em um único momento, pode não refletir adequadamente a exposição, em razão de sua curta meia-vida nestes líquidos biológicos. Além disso, os humanos estão expostos simultaneamente a muitos DEs, com fontes em comum e com atividade aditiva, sinérgica ou antagônica. Desta forma, a medida de um único DE pode não ser significado direto da associação do DE medido com o desfecho estudado.

6.2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o número de estudos que avaliou a associação entre exposição a DEs seja limitado e não permita estabelecer, em definitivo, uma associação entre estes compostos e a SOPC, eles fundamentam a recomendação de reduzir a exposição humana a estes compostos.

7 CONCLUSÃO

A presente revisão sistemática de 6 estudos caso-controle que investigaram a associação entre a exposição a DEs, por determinação de sua concentração sérica ou urinária, e a presença da SOPC, permite concluir que:

- Há associação positiva entre a presença de SOPC e maiores concentrações séricas e urinárias de DEs
- Os países em que esta associação foi investigada foram China, EUA, Grécia, Itália e Turquia, não sendo possível extrapolar os resultados para outras populações.
- Os DEs investigados foram BPA, PCBs, pesticidas organoclorados, HAP, ftalatos e compostos perfluorinados.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 MARCH, W. A. et al. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. **Hum Reprod**, v. 25, n. 2, p. 544-51, Feb 2010. ISSN 0268-1161.
- 2 DUMESIC, D. A. et al. Scientific Statement on the Diagnostic Criteria, Epidemiology, Pathophysiology, and Molecular Genetics of Polycystic Ovary Syndrome. **Endocr Rev**, v. 36, n. 5, p. 487-525, Oct 2015. ISSN 0163-769x.
- 3 PALIOURA, E.; DIAMANTI-KANDARAKIS, E. Industrial endocrine disruptors and polycystic ovary syndrome. **J Endocrinol Invest**, v. 36, n. 11, p. 1105-11, Dec 2013. ISSN 0391-4097.
- 4 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**, v. 8, p. 41, Jun 30 2010. ISSN 1741-7015.
- 5 AZZIZ, R. et al. Health Care-Related Economic Burden of the Polycystic Ovary Syndrome during the Reproductive Life Span. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 8, p. 4650-4658, 2005. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2005-0628> >.
- 6 LEGRO, R. S. et al. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 98, n. 12, p. 4565-92, Dec 2013. ISSN 0021-972x.
- 7 Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. **Fertil Steril**, v. 81, n. 1, p. 19-25, Jan 2004. ISSN 0015-0282 (Print) 0015-0282.
- 8 CRAIG, Z. R.; WANG, W.; FLAWS, J. A. Endocrine-disrupting chemicals in ovarian function: effects on steroidogenesis, metabolism and nuclear receptor signaling. **Reproduction**, v. 142, n. 5, p. 633-46, Nov 2011. ISSN 1470-1626.
- 9 GORE, A. C. et al. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. **Endocr Rev**, v. 36, n. 6, p. E1-e150, Dec 2015. ISSN 0163-769x.
- 10 AKIN, L. et al. The endocrine disruptor bisphenol A may play a role in the aetiopathogenesis of polycystic ovary syndrome in adolescent girls. **Acta Paediatr**, v. 104, n. 4, p. e171-7, Apr 2015. ISSN 0803-5253.
- 11 COSTA, E. M. et al. Effects of endocrine disruptors in the development of the female reproductive tract. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 58, n. 2, p. 153-61, Mar 2014. ISSN 0004-2730.
- 12 BACHEGA, T. A. et al. The environmental endocrine disruptors must receive the attention of Brazilian endocrinologists. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 55, n. 2, p. 175-176, 2011. ISSN 0004-2730.

- 13 SCHUG, T. T. et al. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 127, n. 3-5, p. 204-15, Nov 2011. ISSN 0960-0760.
- 14 KOCH, H. M.; CALAFAT, A. M. Human body burdens of chemicals used in plastic manufacture. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1526, p. 2063-2078, 2009. ISSN 0962-8436.
- 15 CALAFAT, A. M. et al. Exposure of the US population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. **Environmental health perspectives**, p. 39-44, 2008. ISSN 0091-6765.
- 16 DODDS, E.; LAWSON, W. Synthetic estrogenic agents without the phenanthrene nucleus. **Nature**, v. 137, n. 3476, p. 996, 1936.
- 17 VOM SAAL, F. S.; WELSHONS, W. V. Evidence that bisphenol A (BPA) can be accurately measured without contamination in human serum and urine, and that BPA causes numerous hazards from multiple routes of exposure. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 398, n. 1, p. 101-113, 2014. ISSN 0303-7207.
- 18 MEEKER, J. D.; FERGUSON, K. K. Relationship between urinary phthalate and bisphenol A concentrations and serum thyroid measures in US adults and adolescents from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2007-2008. **Environmental health perspectives**, v. 119, n. 10, p. 1396, 2011. ISSN 0091-6765.
- 19 VEIGA-LOPEZ, A. et al. Impact of gestational bisphenol A on oxidative stress and free fatty acids: human association and interspecies animal testing studies. **Endocrinology**, v. 156, n. 3, p. 911-922, 2015. ISSN 0013-7227.
- 20 RUTKOWSKA, A.; RACHON, D. Bisphenol A (BPA) and its potential role in the pathogenesis of the polycystic ovary syndrome (PCOS). **Gynecol Endocrinol**, v. 30, n. 4, p. 260-5, Apr 2014. ISSN 0951-3590.
- 21 PERETZ, J. et al. Bisphenol A impairs follicle growth, inhibits steroidogenesis, and downregulates rate-limiting enzymes in the estradiol biosynthesis pathway. **Toxicol Sci**, v. 119, n. 1, p. 209-17, Jan 2011. ISSN 1096-0929.
- 22 CASERTA, D. et al. Bisphenol A and the female reproductive tract: an overview of recent laboratory evidence and epidemiological studies. **Reprod Biol Endocrinol**, v. 12, p. 37, May 09 2014. ISSN 1477-7827.
- 23 TARANTINO, G. et al. Bisphenol A in polycystic ovary syndrome and its association with liver-spleen axis. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 78, n. 3, p. 447-53, Mar 2013. ISSN 0300-0664.
- 24 KWINTKIEWICZ, J.; GIUDICE, L. C. The interplay of insulin-like growth factors, gonadotropins, and endocrine disruptors in ovarian follicular development and function. **Semin Reprod Med**, v. 27, n. 1, p. 43-51, Jan 2009. ISSN 1526-4564.
- 25 GREGORASZCZUK, E. L.; PTAK, A. Endocrine-Disrupting Chemicals: Some Actions of POPs on Female Reproduction. 2013; 2013: 828532.

- 26 LAUBY-SECRETAN, B. et al. Carcinogenicity of polychlorinated biphenyls and polybrominated biphenyls. **Lancet Oncology**, v. 14, n. 4, p. 287, 2013. ISSN 1470-2045.
- 27 COSTA, L. G.; GIORDANO, G. Developmental neurotoxicity of polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. **Neurotoxicology**, v. 28, n. 6, p. 1047-1067, 2007. ISSN 0161-813X.
- 28 MLYNARČÍKOVÁ, A. et al. Effects of selected endocrine disruptors on meiotic maturation, cumulus expansion, synthesis of hyaluronan and progesterone by porcine oocyte-cumulus complexes. **Toxicology in vitro**, v. 23, n. 3, p. 371-377, 2009. ISSN 0887-2333.
- 29 HANNON, P. R.; PERETZ, J.; FLAWS, J. A. Daily Exposure to Di (2-ethylhexyl) Phthalate Alters Estrous Cyclicity and Accelerates Primordial Follicle Recruitment Potentially Via Dysregulation of the Phosphatidylinositol 3-Kinase Signaling Pathway in Adult Mice 1. **Biology of reproduction**, v. 90, n. 6, p. Article 136, 1-11, 2014. ISSN 0006-3363.
- 30 BLOUNT, B. C. et al. Quantitative detection of eight phthalate metabolites in human urine using HPLC-APCI-MS/MS. **Analytical chemistry**, v. 72, n. 17, p. 4127-4134, 2000. ISSN 0003-2700.
- 31 BERGÉ, A. et al. Meta-analysis of environmental contamination by phthalates. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 11, p. 8057-8076, 2013. ISSN 0944-1344.
- 32 WANG, W. et al. Mono-(2-ethylhexyl) phthalate induces oxidative stress and inhibits growth of mouse ovarian antral follicles. **Biology of reproduction**, v. 87, n. 6, p. 152, 2012. ISSN 0006-3363.
- 33 PATEL, S. et al. Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals on the Ovary1. **Biology of Reproduction**, v. 93, n. 1, p. 20, 1-9-20, 1-9, 2015. ISSN 0006-3363. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.115.130336> >.
- 34 VAGI, S. J. et al. Exploring the potential association between brominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, perfluorinated compounds, phthalates, and bisphenol A in polycystic ovary syndrome: a case-control study. **BMC Endocr Disord**, v. 14, p. 86, Oct 28 2014. ISSN 1472-6823.
- 35 HERNANDEZ-OCHOA, I. et al. The Ability of the Aryl Hydrocarbon Receptor to Regulate Ovarian Follicle Growth and Estradiol Biosynthesis in Mice Depends on Stage of Sexual Maturity 1. **Biology of reproduction**, v. 83, n. 5, p. 698-706, 2010. ISSN 0006-3363.
- 36 WÓJTOWICZ et al. **DDT- e DDE induzida pela esteroidogênese nos folículos ovarianos ovinos pré-púberes: uma possível interação com as principais enzimas esteroidogênicas eo receptor de estrogênio β .** . 58:873-885. 2007.
- 37 ZHANG, J. et al. Environmental risk factors for women with polycystic ovary syndrome in china: a population-based case-control study. **J Biol Regul Homeost Agents**, v. 28, n. 2, p. 203-11, Apr-Jun 2014. ISSN 0393-974X (Print) 0393-974x.

- 38 YANG, Q. et al. Association of serum levels of typical organic pollutants with polycystic ovary syndrome (PCOS): a case-control study. **Hum Reprod**, v. 30, n. 8, p. 1964-73, Aug 2015. ISSN 0268-1161.
- 39 VANDENBERG, L. N. et al. Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals: Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses. 2012 Jun; 33 (3): 378-455. ISSN 3.
- 40 RATTAN, S. et al. Exposure to endocrine disruptors during adulthood: consequences for female fertility. **Journal of Endocrinology**, v. 233, n. 3, p. R109-R129, 2017. Disponível em: < <http://joe.endocrinology-journals.org/content/233/3/R109.abstract> >.
- 41 OKTEM, O.; URMAN, B. Understanding follicle growth in vivo. **Human Reproduction**, v. 25, n. 12, p. 2944-2954, 2010. ISSN 0268-1161. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/deq275> >.
- 42 POCAR, P. et al. Molecular interactions of the aryl hydrocarbon receptor and its biological and toxicological relevance for reproduction. **Reproduction**, v. 129, n. 4, p. 379-389, 2005. ISSN 1470-1626.
- 43 DRUMMOND, A. E.; FULLER, P. J. The importance of ER β signalling in the ovary. **Journal of Endocrinology**, v. 205, n. 1, p. 15-23, 2010. Disponível em: < <http://joe.endocrinology-journals.org/content/205/1/15.abstract> >.
- 44 CRELLIN, N. et al. Inhibition of basal and stimulated progesterone synthesis by dichlorodiphenyldichloroethylene and methoxychlor in a stable pig granulosa cell line. **Reproduction**, v. 121, n. 3, p. 485-492, 2001. ISSN 1470-1626.
- 45 BALDRIDGE, M. et al. Very low-dose (femtomolar) 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) disrupts steroidogenic enzyme mRNAs and steroid secretion by human luteinizing granulosa cells. **Reproductive Toxicology**, v. 52, p. 57-61, 2015. ISSN 0890-6238.
- 46 AZZIZ, R. et al. Adrenocortical secretion of dehydroepiandrosterone in healthy women: highly variable response to adrenocorticotropin. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 6, p. 2513-7, Jun 2001. ISSN 0021-972X (Print)0021-972x.
- 47 ZAWADZKI J, D. A. **Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach** . 1992.
- 48 ZARATE, A. et al. [Current criterion for diagnosing polycystic ovary syndrome]. **Ginecol Obstet Mex**, v. 72, p. 283-6, Jun 2004. ISSN 0300-9041 (Print) 0300-9041.
- 49 MARTIN, K. A. et al. Evaluation and treatment of hirsutism in premenopausal women: an endocrine society clinical practice guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 93, n. 4, p. 1105-1120, 2008. ISSN 0021-972X.
- 50 DEPLEWSKI, D.; ROSENFELD, R. L. Role of Hormones in Pilosebaceous Unit Development. **Endocrine Reviews**, v. 21, n. 4, p. 363-392, 2000. ISSN 0163-769X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1210/edrv.21.4.0404> >.

- 51 ESCOBAR-MORREALE, H. F. et al. Epidemiology, diagnosis and management of hirsutism: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. **Human Reproduction Update**, v. 18, n. 2, p. 146-170, 2012. ISSN 1355-4786. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmr042> >.
- 52 FRANKS, S.; STARK, J.; HARDY, K. Dinâmica do folículo e anovulação na síndrome dos ovários policísticos. . **Hum Reprod Update** 2008; 14 (4): 367-378. , 2008. ISSN 4.
- 53 JONARD, S.; DEWAILLY, D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra-ovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. **Hum Reprod Update**, v. 10, n. 2, p. 107-17, Mar-Apr 2004. ISSN 1355-4786 (Print) 1355-4786.
- 54 DEWAILLY, D. et al. Definição e significado da morfologia ovariana policística: um relatório da força-tarefa da Sociedade de Síndrome de Ovário e Excesso de Andróides. . **Hum Reprod Update** 2014; 20 (3): 334-352. Doi: 10.1093 / humupd / dmt061, 2014. ISSN 3.
- 55 BURGERS, J. A. et al. Ciclos Oligoovulatórios e Anovulatórios em Mulheres com Síndrome de Ovário Poliquístico (SOP): Qual é a Diferença ? **J Clin Endocrinol Metab** 2010; 95 (12): E485-E489. , 2010. ISSN 12.
- 56 DIAMANTI-KANDARAKIS, E. Role of obesity and adiposity in polycystic ovary syndrome. **Int J Obes (Lond)**, v. 31 Suppl 2, p. S8-13; discussion S31-2, Nov 2007. ISSN 0307-0565 (Print) 0307-0565.
- 57 EHRMANN , D. A. Polycystic Ovary Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 12, p. 1223-1236, 2005. Disponível em: < <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra041536> >.
- 58 NARDO, L. G.; PATCHAVA, S.; LAING, I. Polycystic ovary syndrome: pathophysiology, molecular aspects and clinical implications. **Panminerva Med**, v. 50, n. 4, p. 267-78, Dec 2008. ISSN 0031-0808 (Print) 0031-0808.
- 59 CHEN, Z. J. et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21 and 9q33.3. **Nat Genet**, v. 43, n. 1, p. 55-9, Jan 2011. ISSN 1061-4036.
- 60 BURGER, H. G. Androgen production in women. **Fertil Steril**, v. 77 Suppl 4, p. S3-5, Apr 2002. ISSN 0015-0282 (Print) 0015-0282.
- 61 GOODARZI, M. O. et al. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 7, n. 4, p. 219-231, 2011. ISSN 1759-5029.
- 62 DIAMANTI-KANDARAKIS, E.; PAPAVALASSILOU, A. G. Molecular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. **Trends Mol Med**, v. 12, n. 7, p. 324-32, Jul 2006. ISSN 1471-4914 (Print)1471-4914.
- 63 DIAMANTI-KANDARAKIS, E. et al. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome through life. **Curr Pharm Des**, v. 18, n. 34, p. 5569-76, 2012. ISSN 1381-6128.

- 64 YILDIZ, B. O. et al. Stability of adrenocortical steroidogenesis over time in healthy women and women with polycystic ovary syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 11, p. 5558-62, Nov 2004. ISSN 0021-972X (Print) 0021-972x.
- 65 JAKIMIUK, A. J.; WEITSMAN, S. R.; MAGOFFIN, D. A. 5 α -Reductase Activity in Women with Polycystic Ovary Syndrome1. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 84, n. 7, p. 2414-2418, 1999. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1210/jcem.84.7.5863> >.
- 66 BREMER, A. A. Polycystic Ovary Syndrome in the Pediatric Population. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801USA, v. 8, n. 5, p. 375-394, 2010. ISSN 1540-4196 1557-8518. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3125559/> >.
- 67 BAE, J.-M. A suggestion for quality assessment in systematic reviews of observational studies in nutritional epidemiology. **Epidemiology and Health**, v. 38, p. e2016014, 04/26 03/27/received 04/25/accepted 2016. ISSN 2092-7193. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4877518/> >.
- 68 KANDARAKI, E. et al. Endocrine disruptors and polycystic ovary syndrome (PCOS): elevated serum levels of bisphenol A in women with PCOS. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 3, p. E480-4, Mar 2011. ISSN 0021-972x.
- 69 XU, C. et al. Determination of serum levels of three phthalate esters in patients with polycystic ovary syndrome. **Scientific Research and Essays**, v. 6, n. 5, p. 1057-1062, 2011. Disponível em: < <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-79955636498&partnerID=40&md5=51f4630a74cc22f0247622d26d9a5299> >.
- 70 FOWLER, P. A. et al. In utero exposure to cigarette smoke dysregulates human fetal ovarian developmental signalling. **Human Reproduction**, v. 29, n. 7, p. 1471-1489, 2014. ISSN 0268-1161. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/deu117> >.