

# **TESIS DOCTORAL**

**Síndrome del ovario poliquístico y factores de riesgo cardiovascular asociados. Modificación de los mismos tras el tratamiento con un sensibilizador de insulina, la metformina, o una combinación de etinilestradiol más acetato de ciproterona (Diane<sup>35</sup> Diario) e influencia de la presencia de obesidad.**

**Doctorando:** Manuel Luque Ramírez.

**Director de tesis:** Héctor F. Escobar-Morreale.

**Departamento de Medicina.**

**Universidad de Alcalá.**

**Madrid**

**2008**



El presente trabajo ha dado lugar hasta la fecha a las siguientes publicaciones que se recogen en el ANEXO:

- **Luque-Ramírez M, Álvarez-Blasco F, Mendieta-Azcona C, Botella-Carretero JI, Escobar-Morreale HF.** 2007 *Obesity is the major determinant of the abnormalities in blood pressure found in young women with the polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 92: 2141-2148.
- **Luque-Ramírez M, Álvarez-Blasco F, Botella-Carretero, J.I., Martínez-Bermejo E, Lasunción MA, Escobar-Morreale HF.** 2007 *Comparison of ethinyl-estradiol plus cyproterone acetate versus metformin effects on classic metabolic cardiovascular risk factors in women with the polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 92: 2136-2140.
- **Luque-Ramírez M, Alvarez-Blasco F, Botella-Carretero JI, Sanchón R, San Millán JL, Escobar-Morreale HF.** 2007 *The increased body iron stores of obese women with polycystic ovary syndrome are a consequence of insulin resistance and hyperinsulinism, and do not result from reduced menstrual losses.* Diabetes Care 30: 2309-2313.
- **Luque-Ramírez M, Mendieta-Azcona C, Álvarez-Blasco F, Escobar-Morreale HF.** 2007 *Androgen excess is associated with the increased carotid intima-media thickness observed in young women with polycystic ovary syndrome.* Hum Reprod 22: 3197-3203.
- **Luque-Ramírez M, Álvarez-Blasco F, Uriol Rivera M, Escobar-Morreale HF.** 2008 *Serum uric acid concentration as non-classic cardiovascular risk factor in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): effect of treatment with ethinyl-estradiol plus cyproterone acetate versus metformin.* Hum Reprod Mar 27; [Epub ahead of print]
- **Luque-Ramírez M, Mendieta-Azcona C, Álvarez-Blasco F, Escobar-Morreale HF.** 2008 *Effects of metformin versus ethinyl-estradiol plus cyproterone acetate on ambulatory blood pressure monitoring and carotid intima-media thickness in women with the polycystic ovary syndrome.* Fertil Steril (in press).

### **Agradecimientos**

No sería justo no agradecer el apoyo en ocasiones humano, y en otras ocasiones técnico o material, sin el cual hubiera sido impensable e imposible completar este trabajo. Gracias al personal de Enfermería y Técnicos de Laboratorio del Hospital Ramón y Cajal. Gracias a Begoña, Diana y Soledad. Gracias a Carmen. Gracias a Marta. Gracias a Paco, Nacho y Héctor. Gracias a mis padres y hermanos.

**ENGLISH ABSTRACT****Background.**

The polycystic ovary syndrome (PCOS) is a common and etiologically complex endocrine disorder of women. PCOS is characterized by hyperandrogenism and ovulatory dysfunction and, in a significant proportion of patients, by the presence of insulin resistance and obesity. Cardiovascular risk factors and subclinical atherosclerosis cluster in PCOS patients. The relative contribution of hyperandrogenism, insulin resistance and/or obesity, to the metabolic and cardiovascular abnormalities present in these women is still matter of intense debate. On the one hand, we have here aimed to delineate the metabolic and cardiovascular risk profile of PCOS women and, on the other hand, we have compared the effects of an antiandrogenic contraceptive pill with those of the insulin sensitizer drug metformin, on several biochemical markers and tests of cardiovascular performance.

**Objectives.**

1) To determine the presence of classic and non-classic cardiovascular risk markers, as well as endothelial dysfunction and subclinical atherosclerosis, in PCOS patients compared with non-hyperandrogenic control women, while evaluating the impact of obesity, insulin resistance and hyperandrogenism on the associations observed.

2) To confirm the influence of insulin resistance and hyperandrogenism on these cardiovascular risk factors by antagonizing their effects by administering an insulin sensitizer drug, metformin, or an antiandrogenic contraceptive pill containing ethinyl estradiol plus cyproterone acetate, while evaluating the possible interference of obesity on the response to both drugs.

**Material and methods.**

**Cross-sectional study:** Forty unselected hyperandrogenic PCOS patients (age  $25.6 \pm 6.0$  yr, 15 – 42 yr; body mass index  $29.4 \pm 6.3$ , range 18.8 – 47.5 kg/m<sup>2</sup>) diagnosed on the basis of the presence of clinical and/or biochemical hyperandrogenism, oligo-ovulation and exclusion of secondary aetiologies, were recruited. PCOS patients were compared with a control group composed by non-hyperandrogenic women (age  $25.6 \pm 6.0$  yr, 13-38 yr; body mass index  $29.4 \pm 6.9$ , range 19.8 – 49.2 kg/m<sup>2</sup>) who had regular menstrual cycles every 26 – 34 days,

and who were selected in order to be similar in terms of age and body mass index with the patients. Patients and controls were submitted to a complete evaluation that included anthropometrical, laboratory and hormonal measurements, a 75g oral glucose tolerance test with measurement of serum insulin and plasma glucose every 30 minutes for 2 hours, an ambulatory monitoring of blood pressure during 24 hours, and Doppler sonography evaluation of endothelial dysfunction and of carotid intima-media thickness as a marker of subclinical atherosclerosis.

**Clinical Trial:** Thirty-four of the 40 PCOS patients included in the case-control study agreed to participate in a randomized controlled clinical trial addressing the effects of treatment with an antiandrogenic oral contraceptive compared with the insulin sensitizer metformin on many classic and non-classic cardiovascular risk factors evaluated in the former study. Patients were randomized to receive 35 µg of ethinyl-estradiol plus 2 mg of cyproterone acetate (Diane<sup>35</sup> Diario) or 850 mg of metformin twice a day for 24 weeks, and were instructed to maintain a diet containing 25 – 30 Kcal per kg of body weight and day and moderate physical activity throughout the trial. The evaluation performed at baseline was repeated after 12 and 24 weeks of treatment. Results were evaluated by a repeated-measures general lineal model, introducing the changes observed along the study as within-subjects effect, and the arm of treatment as between-subjects effects.

## **Results.**

**Cross-sectional study:** In our young PCOS women, obesity was the main determinant of abnormalities in glucose metabolism, dyslipidemia, hyperuricemia, and abnormalities of blood pressure, whereas the increased carotid intima-media thickness observed in PCOS women, which correlates with cardiovascular events in healthy general population, was directly related to androgen excess suggesting that hyperandrogenism also contributes to atherosclerosis and cardiovascular risk in these women. Patients were less insulin sensitive compared with non-hyperandrogenic controls, and had specific abnormalities in the physiological nocturnal decrease of blood pressure and laboratory findings suggestive of a subclinical proinflammatory and prothrombotic state. Nevertheless, all these abnormalities were boosted by the presence of obesity.

**Clinical trial:** Diane<sup>35</sup> Diario appears to be superior to metformin for the control of cutaneous signs and menstrual dysfunction independently of the grade of obesity. The tolerance of

Diane<sup>35</sup> Diario was excellent showing a safe cardiovascular profile; although it showed a minimal impact on glucose metabolism, Diane<sup>35</sup> Diario improved the lipid profile, decreased serum uric acid levels, increased serum adiponectin concentrations, and even induced a small decrease in the carotid intima-media thickness of PCOS patients. Nevertheless, Diane<sup>35</sup> Diario resulted in a mild increase of daytime blood pressure parameters and worsened several clotting tests. These facts should be considered when we prescribe contraceptive pills to these women.

The administration of metformin induced only a mild improvement of hirsutism and restored menstrual regularity in less than 50% of patients yet this drug clearly outperforms Diane<sup>35</sup> Diario in improving insulin resistance. Tolerance of metformin was poor. Of note, metformin resulted in a mild decrease of inflammation markers such as IL-6 and C-reactive protein in obese PCOS women, improved blood pressure parameters during daytime, and induced a significant reduction of ferritin concentrations. These beneficial effects should favour the use of metformin in PCOS patients who present with a personal or family history of abnormalities of glucose metabolism, high ferritin levels and /or hypertension.

### **Conclusion.**

The cardiovascular risk associated with PCOS has a multifactorial origin, where obesity, insulin resistance and hyperandrogenemia contribute, some times in an independent manner, to the clustering of cardiovascular risk factors and markers of subclinical atherosclerosis present in PCOS women. Therefore, both antiandrogenic contraceptive pills and insulin sensitizers could be used in these women, and the choice of antiandrogenic oral contraceptives or insulin sensitizer must be tailored to meet the expectations of the individual PCOS patient, and her particular clinical characteristics.



## ABREVIATURAS

*ACO*, anticonceptivo oral; *ACTH*, hormona adrenocorticotrofa; *ADA*, *American Diabetes Association*; *ADMA*, dietilamino arginina; *AES*, *Androgen Excess Society*; *AGE*, producto derivado de la glucosilación no enzimática; *ARN*, ácido ribonucleico; *ATI*, receptor de angiotensina I; *AUC*, área bajo la curva; *cols*, colaboradores; *Ang II*, angiotensina II; *CFR*, reserva de flujo coronaria; *Cr*, creatinina; *CT*, colesterol total; *DE*, desviación estándar; *DHEA*, dehidroepiandrosterona; *DHEA-S*, dehidroepiandrosterona sulfato; *DM*, diabetes mellitus; *DM2*, diabetes mellitus tipo 2; *D4*, androstendiona; *EBCT*, *electrom beam computed tomography*; *EDTA*, ácido etilendiaminotetraacético; *EEM*, error estándar de la media; *eNOS*, óxido nítrico sintasa endotelial; *ET*, endotelina; *FC*, frecuencia cardíaca; *FFA*, ácidos grasos libres; *FMD*, dilatación mediada por flujo; *FSH*, hormona folículo-estimulante; *GBA*, glucemia basal alterada; *GGT*, gamma glutamil transpeptidasa; *GH*, hormona del crecimiento; *GLUT*, transportador de glucosa; *GMPc*, guanilatomonofosfato ciclasa; *GOT*, glutámico oxalacética transaminasa; *GTP*, glutamato-piruvato transaminasa; *hCG*, gonadotropina coriónica humana; *HDL*, lipoproteína de alta densidad; *HTA*, hipertensión arterial; *H6PD*, hexosa-6-fosfato deshidrogenasa; *IAL*, índice androgénico libre; *IC*, intervalo de confianza; *ICAM*, molécula de adhesión intercelular, *ICC*, índice cintura-cadera; *IGF*, factor de crecimiento insulínico; *IGFBP*, proteína ligadora del factor de crecimiento insulínico; *IAM*, infarto agudo de miocardio; *IMC*, índice de masa corporal; *ISI*, índice de sensibilidad insulínica; *HOMA*, *homeostasis model assessment*; *IL*, interleuquina; *IMT*, grosor intimomedial carotídeo; *IRS*, sustrato del receptor de insulina; *LDL*, lipoproteína de baja densidad; *LH*, hormona luteinizante; *LVM*, masa ventrículo izquierdo; *MAPA*, monitorización ambulatoria de la presión arterial; *MAPK*, *mitogen activated protein kinase*; *MCR*, aclaramiento metabólico de la insulina; *MMP*, metaloproteinasas de la matriz; *NADPH*, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato; *N-ANP*, fragmento N-terminal del péptido natriurético auricular; *NAPH*, nicotinamida fosfato; *NEFA*, ácidos grasos no esterificados; *NFκB*, factor nuclear κB; *NICHD*, *National Institute of Child Health and Human Development*; *NIH*, *National Institute of Health*; *NTG*, vasodilatación independiente de endotelio; *OR*, *odds ratio*; *PA*, presión arterial; *PAD*, presión arterial diastólica; *PAS*, presión arterial sistólica; *PAI*, inhibidor del activador del plasminógeno; *PCR*, proteína C reactiva; *PKB*, protein kinasa B; *NO*, óxido nítrico; *PPAR*, receptor activado de la proliferación de

peroxisomas; *SOG*, sobrecarga oral de glucosa; *PI-3K*, fosfatidil inositol 3-kinasa; *QUICKI*, *quantitative insulin-sensitivity check index*, *RMN*, resonancia magnética nuclear, *ROS*, especies reactivas del oxígeno; *SHBG*, proteína transportadora de hormonas sexuales; *SOP*, síndrome del ovario poliquístico; *SRAA*, sistema renina-angiotensina-aldosterona; *TNF*, factor de necrosis tumoral; *TSH*, tirotropina; *TVP*, trombosis venosa profunda; *TZD*, tiazolidinediona; *VCAM*, molécula de adhesión vascular; *11-βHSD1*, 11-betahidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1.

**ÍNDICE**

Agradecimientos.....	4
English abstract.....	5
Abreviaturas.....	9
Tablas.....	15
Figuras.....	17
INTRODUCCIÓN.....	21
• Bases históricas.....	23
• Definición del síndrome del ovario poliquístico.....	24
• Prevalencia.....	26
• Etiopatogenia del SOP.....	28
- Hiperandrogenismo.....	28
- Disfunción hipotálamo-hipofisaria.....	30
- Resistencia a la insulina. Hiperinsulinismo.....	30
- Estado inflamatorio crónico.....	32
- Obesidad.....	34
- Programación fetal y teoría evolutiva.....	37
• Consecuencias metabólicas y cardiovasculares del SOP.....	39
- Alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono.....	39
- Dislipidemia.....	43
- Síndrome metabólico.....	45
- Hipertensión arterial.....	46
- Nuevos marcadores de enfermedad cardiovascular.....	49
- Disfunción endotelial.....	53
- Estudios ecocardiográficos.....	60
- Capacidad funcional cardiopulmonar.....	62
- Marcadores de aterosclerosis en el SOP.....	62
- Eventos cardiovasculares.....	66
• Manejo terapéutico del SOP. Modificación de los factores de riesgo cardiovascular asociados al síndrome.....	68
- Modificación del estilo de vida. Dieta y actividad física.....	68
- Sensibilizadores a la insulina.....	69

* Metformina.....	69
* Tiazolidinedionas.....	73
- Anticonceptivos orales y acetato de ciproterona.....	74
- Otros antiandrógenos.....	77
- Estudios comparativos entre metformina y Diane <sup>35</sup> .....	78
OBJETIVOS.....	83
MATERIAL Y MÉTODOS.....	87
• Población a estudio.....	89
• Protocolo de estudio.....	91
• Determinaciones de laboratorio.....	93
• Determinaciones de presión arterial.....	96
• Estudio ecográfico.....	98
1) Disfunción endotelial.....	98
2) Grosor intimomedial carotídeo.....	99
• Análisis estadístico.....	100
RESULTADOS.....	103
• Población final seleccionada.....	105
• Resultados estudio casos-contróles.....	105
- Exploración física, antecedentes personales y familiares.....	105
- Perfil bioquímico general, perfil tiroideo y prolactinemia.....	108
- Perfil androgénico.....	110
- Metabolismo de los hidratos de carbono.....	110
- Perfil lipídico.....	114
- Parámetros de inflamación y hemostasia.....	115
- Determinación de la presión arterial en consulta y monitorización ambulatoria.....	115
- Parámetros ecográficos.....	117
- Análisis según grado de obesidad.....	118
• Evaluación a las 12 y 24 semanas en ambas ramas de tratamiento. Ensayo clínico.....	140

- Efectos del tratamiento sobre las características clínicas y perfil androgénico.....	141
- Efectos del tratamiento sobre el patrón menstrual.....	142
- Efectos del tratamiento sobre el metabolismo de los hidratos de carbono e índices de sensibilidad insulínica.....	142
- Efectos del tratamiento sobre el perfil lipídico.....	145
- Cambios en la frecuencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono y dislipidemia a lo largo del estudio.....	148
- Efectos del tratamiento sobre los depósitos titulares de hierro.....	149
- Efectos del tratamiento sobre el ácido úrico.....	151
- Efectos del tratamiento sobre parámetros inflamatorios, adiponectina y leptina.....	152
- Efectos del tratamiento sobre la hemostasia.....	155
- Efectos del tratamiento sobre los parámetros de la monitorización ambulatoria de la presión arterial.....	160
- Efectos del tratamiento sobre los parámetros ecográficos: Función endotelial y grosor intimomedial carotídeo.....	164
DISCUSIÓN.....	167
• El modelo experimental.....	169
- Estudio casos-controles.....	169
- Ensayo clínico.....	171
• Consecución de los objetivos.....	174
• Punto 1º de los objetivos.....	174
A. Factores de riesgo cardiovascular clásicos.....	174
A.1. Metabolismo de los hidratos de carbono.....	174
A.2. Perfil lipídico.....	175
A.3. Presión arterial.....	176
B. Factores de riesgo cardiovascular no clásicos.....	178
B.1. Hiperferritinemia.....	178
B.2. Uricemia.....	179
B.3. Marcadores de inflamación sistémica de bajo grado.....	180
B.4. Parámetros de hemostasia.....	181

C. Parámetros ecográficos de disfunción endotelial.....	182
D. Marcadores precoces de aterosclerosis: Grosor intimomedial carotídeo.....	185
• Punto 2º de los objetivos.....	185
A. Factores de riesgo cardiovascular clásicos.....	185
A.1. Metabolismo de los hidratos de carbono y perfil lipídico.....	185
A.2. Monitorización ambulatoria de la presión arterial.....	187
B. Factores de riesgo cardiovascular no clásicos.....	189
B.1. Hiperferritinemia.....	189
B.2. Concentraciones séricas de ácido úrico.....	191
B.3. Marcadores de inflamación, adiponectina y leptina.....	192
B.3. Parámetros de hemostasia.....	196
C. Marcadores ecográficos de disfunción endotelial.....	198
D. Marcadores precoces de aterosclerosis: Grosor intimomedial carotídeo.....	199
CONCLUSIONES.....	201
a. Estudio casos-contróles.....	203
b. Ensayo clínico.....	203
c. Conclusión final.....	204
BIBLIOGRAFÍA.....	205
ANEXO (PUBLICACIONES).....	241

**TABLAS**

1. Criterios diagnósticos del SOP.....	27
2. Mecanismos relacionados con la síntesis y acción de los andrógenos mediados por insulina.....	33
3. Posibles interacciones entre el incremento del tejido adiposo y el fenotipo de las pacientes con SOP.....	35
4. Resultados de los estudios de monitorización ambulatoria de la presión arterial en mujeres con SOP.....	47
5. Trabajos sobre disfunción endotelial en SOP.....	61
6. Estudios ecográficos del IMT en mujeres con SOP.....	65
7. Efectos de la metformina sobre el metabolismo de los hidratos de carbono.....	71
8. Modificaciones en parámetros hormonales y metabólicos asociadas al tratamiento con metformina en el SOP.....	72
9. Mecanismo de acción principal y efectos sobre el SOP de otros fármacos relacionados con el metabolismo de los hidratos de carbono.....	74
10. Acción antiandrogénica de los anticonceptivos orales.....	76
11. Mecanismo de acción y efectos sobre el SOP de la espironolactona, flutamida y finasteride.....	77
12. Valores normativos de la presión arterial en consulta.....	97
13. Valores normativos de presión arterial en la monitorización ambulatoria de 24 horas en mujeres.....	97
14. Valores de normalidad del IMT en mujeres españolas.....	100
15. Exploración física. Pacientes vs. controles. Evaluación basal.....	107
16. Antecedentes personales y familiares. Pacientes vs. control. Evaluación basal.....	108
17. Perfil bioquímico general, función tiroidea y prolactinemia. Pacientes vs. controles. Evaluación basal.....	109
18. Perfil androgénico de pacientes y control en la visita basal.....	110
19. Metabolismo de los hidratos de carbono.....	119
20. Prevalencia de las alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono I.....	120
21. Prevalencia de las alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono II.....	121
22. Perfil lipídico.....	114
23. Frecuencia de anomalías en el perfil lipídico.....	114
24. Parámetros de inflamación y hemostasia.....	115

25. Presión arterial en consulta y monitorización ambulatoria de la presión arterial de 24 horas .....	116
26. Parámetros ecográficos. Estudio casos control.....	117
27. Distribución de pacientes y controles en función del grado de obesidad.....	118
28. Exploración física de pacientes y controles en función del grado de obesidad.....	119
29. Perfil bioquímico, tiroideo y prolactinemia de pacientes y controles en función del grado de obesidad.....	120
30. Parámetros de acción insulínica en pacientes y controles en función del grado de obesidad.....	125
31. Frecuencia de anomalías en el perfil lipídico según el grado de obesidad entre pacientes y controles.....	130
32. Frecuencia de anomalías en la presión arterial en las pacientes y controles en función del grado de obesidad.....	138
33. Parámetros ecográficos de disfunción endotelial en pacientes y controles según el grado de obesidad.....	138
34. Características basales de las pacientes randomizadas en cada rama de tratamiento, de aquellas que finalizaron el protocolo y de las pérdidas de seguimiento en el grupo de tratamiento con metformina.....	140
35. Frecuencia de las alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono de acuerdo a criterios de la ADA y ATP-III.....	148
36. Frecuencia de alteraciones en la presión arterial a lo largo del estudio.....	163
37. Cambios en la vasodilatación dependiente e independiente de endotelio a nivel de la arteria braquial a lo largo de las 24 semanas de tratamiento con Diane <sup>35</sup> Diario o metformina.....	166

**FIGURAS**

1. Escala de Ferriman-Gallwey modificada.....	25
2. Regulación de la esteroidogénesis ovárica.....	31
3. Etiopatogenia del SOP.....	42
4. SOP desde un punto de vista evolutivo.....	43
5. Mecanismos etiopatogénicos en la HTA asociada al SOP.....	50
6. Regulación de la producción de NO y función endotelial.....	55
7. Efectos de las adipocitoquinas sobre las rutas de señalización de la insulina en el endotelio.....	57
8. Protocolo de estudio.....	95
9. Flujo del estudio.....	106
10. Distribución de las alteraciones en el ciclo menstrual entre las pacientes.....	109
11. Perfil androgénico de pacientes y controles. Evaluación basal.....	111
12. Glucemia e insulinemia a lo largo de la SOG en pacientes y controles.....	113
13. IMT carotídeo en pacientes y controles.....	118
14. GPT y GGT en pacientes y controles según grado de obesidad.....	121
15. Fosfatasa alcalina en pacientes y controles según grado de obesidad.....	121
16. Perfil androgénico según el grado de obesidad.....	122
17. Valores de glucosa y AUC a lo largo de la SOG en pacientes y controles en función del grado de obesidad.....	123
18. Insulinemia según grado de obesidad en pacientes y controles.....	126
19. 1ª y 2ª fases de secreción de insulina en pacientes y controles según el grado de obesidad.....	127
20. Índice de sensibilidad insulínica en pacientes y controles según el grado de obesidad.....	128
21. Prevalencia de las alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono según el grado de obesidad en el grupo de pacientes y controles en conjunto.....	128
22. Perfil lipídico en pacientes y controles según el grado de obesidad.....	129
23. Recuento leucocitario y neutrófilos en pacientes y controles según el grado de obesidad.....	131
25a. Uricemia y ferritina en pacientes y controles según el grado de obesidad.....	132
25b. Concentraciones séricas de proteína C reactiva en pacientes y controles según el grado de obesidad.....	133

26. Parámetros de coagulación en pacientes y controles según el grado de obesidad.....	135
27. Presión arterial en consulta y tras MAPA en pacientes y controles en función del grado de obesidad.....	136
28. Descenso nocturno en la presión arterial en pacientes y controles en función de la presencia de obesidad.....	137
29. IMT carotídeo en pacientes y controles según el grado de obesidad.....	139
30. Cambios en las variables clínicas y perfil androgénico en las pacientes, en la rama de tratamiento con Diane <sup>35</sup> Diario y metformina a lo largo de las 24 semanas de seguimiento.....	143
31. Cambios en el perímetro abdominal durante el tratamiento con Diane <sup>35</sup> Diario o metformina en función del grado de obesidad.....	143
32. Cambios en la disfunción menstrual durante el tratamiento con Diane <sup>35</sup> Diario o metformina en las pacientes que completaron el estudio.....	145
33. Cambios en los índices del metabolismo de los hidratos de carbono y sensibilidad a la insulina a lo largo de las 24 semanas de tratamiento.....	146
34. Cambios en el perfil lipídico a las 12 y 24 semanas de tratamiento.....	147
35. Cambios en la ferritina, hemoglobina plasmática y volumen corpuscular medio durante el tratamiento en aquellos pacientes que completaron el estudio.....	150
36. Cambios en las concentraciones séricas de ácido úrico (A) y tasa de filtración glomerular (B) a lo largo del estudio.....	152
37. Cambios en los parámetros inflamatorios a lo largo del ensayo clínico.....	153
38. Cambios en las concentraciones séricas de proteína C reactiva durante el tratamiento con Diane <sup>35</sup> Diario o metformina en función del grado de obesidad.....	156
39. Cambios en las concentraciones de adiponectina, leptina y ratio adiponectina / leptina, durante el tratamiento con Diane <sup>35</sup> Diario o metformina en función de la presencia de obesidad.....	157
40. Cambios en los parámetros de hemostasia a las 12 y 24 semanas de tratamiento.....	158
41. Cambios en la concentración plasmática de fibrinógeno durante el tratamiento con Diane <sup>35</sup> Diario o metformina en función del grado de obesidad.....	159
42. Cambios en los diferentes parámetros de la MAPA a lo largo del seguimiento en ambas ramas de tratamiento.....	160

43. Cambios en la carga de presión sistólica y diastólica durante los periodos diurno y nocturno entre la visita basal y tras 24 semanas de seguimiento en ambas ramas de tratamiento.....	161
44. Cambios en la carga de presión diastólica nocturna durante el tratamiento con Diane <sup>35</sup> Diario o metformina en función del grado de obesidad.....	162
45. Cambios en el patrón de descenso nocturno de la presión arterial sistólica durante el tratamiento con Diane <sup>35</sup> Diario o metformina en función del grado de obesidad.....	163
46. Cambios en el grosor intimomedial carotídeo a lo largo del periodo de tratamiento.....	165



# INTRODUCCIÓN.-



## Bases históricas.

En 1935, *Stein y Leventhal*, describen en 7 mujeres un cuadro clínico consistente en la presencia de obesidad, hiperandrogenismo, amenorrea y quistes ováricos bilaterales que denominaron síndrome del ovario poliquístico (SOP) (1). Este síndrome es un complejo sintomático de etiología mal definida caracterizado por la presencia de hiperandrogenismo clínico y / o bioquímico, oligomenorrea o amenorrea consecuencia de la oligoanovulación, y en aproximadamente un 70 % de las mujeres que lo padecen, morfología poliquística de los ovarios (2-5), constituyendo la patología endocrina más frecuente en las mujeres en edad fértil (6).

La preocupación por las diferentes manifestaciones del hiperandrogenismo en la mujer es recogida en numerosas reseñas históricas desde la antigüedad. La primera descripción de hirsutismo conocida data de la antigua Grecia dónde *Hipocrates* señala en sus escritos la presencia de hirsutismo facial en 2 mujeres de la isla de Cos (7). En la sección *Enfermedades de la Mujer* de su famoso *Aforismos*, relaciona la obesidad con la esterilidad. Posteriormente otro autor griego, *Soranus*, refiere como la amenorrea suele ocurrir en mujeres de apariencia masculina (8).

La presencia de hirsutismo y características masculinas en la mujer también ha llamado la atención del mundo del arte a lo largo de la historia. En una representación del *Baño de Afrodita* incluido en un fresco de la ciudad de Pompeya, previo a la erupción del Vesubio en el año 79 D.C., se puede observar a una mujer con barba. Así podemos encontrar representaciones posteriores en la pintura como “*La mujer con dos barbas*” de *Willen Keys* en el siglo XVI o la famosa mujer barbuda del retrato de *Magdalena Ventura* por *José de Ribera* “*El Españolito*” en el siglo XVII (**Figura de portada**), que es probablemente la primera descripción clínica deliberada de una mujer con hiperandrogenismo (9); o en la literatura como en este pasaje de *Don Quijote de La Mancha* en dónde *Miguel de Cervantes*, en voz de Sancho, describe a una pastora como “...una moza rolliza, zahareña y tiraba algo a hombruna, porque tenía unos pocos bigotes...” (10).

En 1865, *De Creccio* describe por primera vez la hiperplasia suprarrenal congénita (11). *Chereau y Rokitansky* en 1884 (12, 13), identifican por primera vez la presencia de morfología poliquística ovárica. En 1921, *Achard y Thyers* comunican la asociación de hiperandrogenismo y anomalías del metabolismo de la glucosa con el sugestivo título de “*Diabète des femmes a barbe*”, subrayando la presencia de morfología poliquística ovárica en

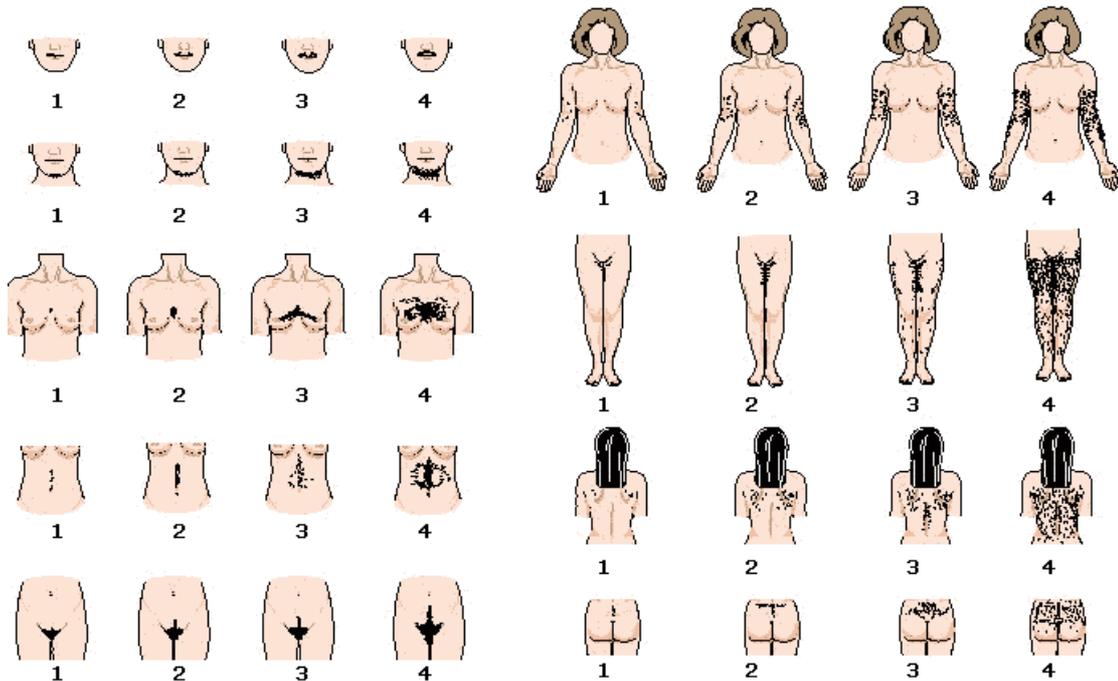
una de sus pacientes (14). Posteriormente, los ya mencionados *Stein y Leventhal* relacionan la presencia de ésta con el hirsutismo y la amenorrea (1). En los años 70 se describe un perfil alterado en la secreción de gonadotrofinas en estas pacientes (15), y a comienzos de los 80 se describe su relación con la resistencia a la insulina (16), iniciando la consideración de este proceso como una enfermedad con entidad propia y compleja, interesando desde entonces a numerosos investigadores a nivel mundial.

### **Definición del SOP (Tabla 1).**

El SOP es una entidad compleja que no ha contado con una definición uniforme a lo largo del tiempo (17). No es hasta 1990 (18), cuando se establece un primer acuerdo sobre los criterios diagnósticos, que sin llegar a la categoría de consenso permitió disminuir la heterogeneidad clínica de las pacientes incluidas en los diferentes trabajos de investigación realizados al respecto. En este año, en una reunión auspiciada por el *National Institute of Child Health and Human Development* (NICHD), se establecieron como criterios diagnósticos la presencia de hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico, y oligomenorrea o amenorrea secundaria a oligoanovulación, descartadas otras causas, principalmente la hiperprolactinemia, alteraciones tiroideas, hiperplasia suprarrenal congénita, síndrome de *Cushing*, tumores y fármacos virilizantes (**Tabla 1**).

Las manifestaciones clínicas del hiperandrogenismo son fundamentalmente el hirsutismo, definido como la presencia en una mujer de pelo terminal en zonas androgénicas, el cual se cuantifica clínicamente mediante la escala de *Ferriman-Gallwey* modificada (**Figura 1**). Esta escala valora de forma subjetiva la presencia de pelo terminal en 9 áreas dependientes de andrógenos, bigote, barbilla, torso, región dorsal superior e inferior, línea media supra- e infraumbilical, brazos y muslos. Cada zona recibe una puntuación de 0 (ausencia de pelo terminal) a 4 (afectación masiva), considerándose habitualmente como hirsutas a aquellas pacientes con una puntuación superior a 7 (19).

Otros signos clínicos del hiperandrogenismo, relativamente infrecuentes en el SOP, son la presencia de acné, que se considera sólo patológica más allá de la segunda década de la vida, la alopecia androgénica y la dermatitis seborreica, mientras que los signos de virilización son muy raros y deben hacer sospechar otra etiología.



**Figura 1. Escala de Ferriman-Gallwey modificada.**  
Adaptado de referencia (19).

Como oligomenorrea se define la presencia de ciclos menstruales de 35 o más días, durante al menos 6 meses en el último año, y como amenorrea, la ausencia de menstruación durante al menos 3 meses consecutivos (20).

La presencia de morfología poliquística ovárica no se estableció como necesaria para el diagnóstico según los criterios NICHD, dada la elevada prevalencia de quistes ováricos en mujeres sin alteraciones menstruales ni hiperandrogenismo (21).

Pese a este intento de unificación, numerosos grupos de investigación de los países de la *Commonwealth* y del norte de Europa siguieron basando el diagnóstico en la presencia de hiperandrogenismo y morfología poliquística ovárica (22). La *European Society for Human Reproduction and Embryology* y la *American Society for Reproductive Medicine* organizaron una nueva conferencia de consenso que se celebró en *Rotterdam* en 2003 (23, 24). Los investigadores invitados a esta conferencia consideraron como diagnósticos de SOP la presencia de al menos dos de los tres criterios siguientes: hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico, oligomenorrea o amenorrea secundaria a oligoanovulación, y presencia de morfología poliquística ovárica, manteniendo el requisito de excluir otras causas de alteraciones menstruales e hiperandrogenismo (**Tabla 1**).

Además establecieron criterios claros para definir la morfología poliquística del ovario: presencia de 12 o más folículos de situación periférica, de entre 2 y 9 mm de diámetro junto con incremento del estroma superior al 25% del volumen ovárico, o bien un volumen ovárico mayor de 10 cm<sup>3</sup>. La presencia de estos hallazgos en uno de los dos ovarios es suficiente para el diagnóstico, pero si existe un quiste de 10 o más milímetros, o bien, un quiste folicular, la ecografía debe repetirse en el siguiente ciclo menstrual ya que la medición del volumen ovárico queda invalidada. La ecografía, preferentemente transvaginal, debe realizarse en fase folicular temprana (3° al 5° día del ciclo menstrual) tras una menstruación espontánea o tras deprivación de progestágenos. En las pacientes en amenorrea ésta puede realizarse en un día cualquiera (25).

La implementación de los nuevos criterios añade dos nuevos grupos de mujeres no recogidas en las definiciones previas; aquellas que cursan con hiperandrogenismo y morfología poliquística ovárica pero sin disfunción ovulatoria, y otro grupo con oligoanovulación y morfología poliquística ovárica, pero sin hiperandrogenismo clínico ni hiperandrogenemia.

Si bien existen estudios que indican que las pacientes con hiperandrogenismo y morfología poliquística ovárica presentan características metabólicas similares a las mujeres con SOP clásico (26, 27), las evidencias a este respecto en las mujeres con morfología poliquística ovárica y anovulación sin datos de hiperandrogenismo son escasas (28) manteniendo la controversia acerca de la definición del SOP (29, 30).

Por este motivo, la *Androgen Excess Society* (AES) publicó en 2006 los resultados de un grupo de trabajo encargado de establecer una definición del SOP basado en la evidencia científica disponible hasta la fecha (31). De acuerdo a esta última definición, el SOP es una entidad cuya característica clínica y etiopatogénica fundamental es el hiperandrogenismo, el cual, se acompaña de disfunción ovulatoria en forma de oligo-anovulación y/o de morfología poliquística ovárica, integrando las definiciones anteriores (**Tabla 1**).

### **Prevalencia.**

El SOP constituye probablemente la patología endocrina más frecuente en las mujeres en edad fértil (6), como demuestran los diferentes estudios de prevalencia a nivel mundial. En

**Tabla 1. Criterios diagnósticos del SOP.**

Criterios del NICHHD (18)	Criterios ecográficos (22)	Criterios de <i>Rotterdam</i> (23, 24)	Criterios AES (31)
1) Hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico.	1) Morfología poliquística ovárica.	1) Oligo- y/o anovulación.	1) Hiperandrogenismo: Hirsutismo y/o hiperandrogenemia.
2) Oligovulación.	2) Hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico.	2) Hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico.	2) Disfunción ovárica: Oligo-anovulación y/o morfología poliquística ovárica.
		3) Morfología poliquística ovárica.	
Requiere la exclusión de otras causas de alteraciones menstruales e hiperandrogenismo como la hiperprolactinemia, alteraciones funcionales tiroideas, hiperplasia suprarrenal congénita, síndrome de <i>Cushing</i> , tumores y fármacos virilizantes.			
Los criterios 1 y 2 deben estar presentes para el diagnóstico según las definiciones del NICHHD, ecográfica y AES. La definición de <i>Rotterdam</i> requiere para el diagnóstico de 2 de los 3 criterios.			

el estado americano de *Alabama*, sudeste de los Estados Unidos, se ha comunicado una prevalencia de SOP (criterios NICHHD) del 6% entre mujeres premenopáusicas no seleccionadas (32). En Grecia, en población no seleccionada de la isla de *Lesbos*, se ha reportado una prevalencia del 6,8% (criterios NICHHD) (33). En población americana de origen mejicano con antecedentes familiares de enfermedad coronaria se ha comunicado una prevalencia del 13% utilizando para el diagnóstico un cuestionario de síntomas validado, en el que se recogen la presencia de clínica de hiperandrogenismo y alteraciones menstruales (34), aunque estos datos están siendo cuestionados por datos científicamente más sólidos obtenidos recientemente en Méjico que demuestran una prevalencia del 6,4% también en esta población (35).

En Reino Unido se ha comunicado una prevalencia de SOP (criterios NICHHD) del 8% (36). En nuestro medio, hemos comunicado una prevalencia de SOP (criterios NICHHD), del 6,5% en una población de 154 mujeres en edad fértil que habían acudido de forma espontánea a un banco de sangre como donantes (37). Estos estudios y otros de Australia e India con resultados similares (38, 39), sitúan la prevalencia global del SOP entre un 5 y 10% de las mujeres premenopáusicas en edad fértil.

El SOP es con mucho el trastorno más frecuente entre las mujeres adultas que consultan por signos y síntomas compatibles con exceso de andrógenos (70-80% de los casos), a gran distancia de otras causas como la hiperplasia suprarrenal congénita (alrededor del 2-4% de los casos) (40) o de los tumores productores de andrógenos (0,2%) (27, 41).

En relación con las alteraciones metabólicas asociadas al SOP, fundamentalmente la resistencia a la insulina (42), se ha evaluado la prevalencia del síndrome en pacientes con DM. Nuestro grupo ha comunicado una prevalencia de SOP en diabéticas tipo 1 (criterios NICHD), del 18,8% (43). Paralelamente, ha esta comunicación se ha reportado una prevalencia de SOP en mujeres premenopáusicas con DM2 (criterios NICHD) del 26,7% (44).

### **Etiopatogenia del SOP.**

#### **Hiperandrogenismo.**

El SOP es un proceso de herencia compleja, con un importante componente de agregación familiar, en el que pequeñas alteraciones en diversos genes relacionados con la síntesis, regulación y transporte androgénico, síntesis, regulación y acción insulínica, y genes relacionados con mecanismos inflamatorios, en interacción con desencadenantes o favorecedores ambientales, dan lugar al fenotipo característico de estas pacientes (45).

El evento fisiopatológico primario es un incremento de la síntesis androgénica de origen ovárico (46), que en aproximadamente un 20-30% de las pacientes cuenta además con participación suprarrenal (47). Este incremento de la actividad esteroidogénica es un evento intrínseco a las células tecales, en las que se ha podido demostrar una hiperactividad de varias de las enzimas implicadas en la síntesis androgénica incluso tras varios pases en cultivo celular primario (48), descartando la influencia del ambiente hormonal de estas mujeres en la hipersecreción androgénica.

La síntesis esteroidogénica a nivel ovárico se resume en la **Figura 2**. Los genes que codifican para la enzima escisora de la cadena lateral del colesterol (*CYP11A*),  $17\alpha$ -hidroxilasa y  $17,20$ -desmolasa (*CYP17*),  $17\beta$ -reductasa (*HSD17\beta3*), aromatasa (*CYP19*) y  $5\alpha$ -reductasa (*SRD5A*), han sido explorados en busca de mutaciones y polimorfismos que influyan sobre su actividad en el SOP con resultados controvertidos (45, 49). La P450c17 $\alpha$ , enzima con actividades  $17\alpha$ -hidroxilasa y  $17,20$ -desmolasa, cataliza el paso de progesterona y

pregnenolona a 17-hidroxipregnenolona y 17-hidroxiprogesterona, y de éstos en dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstendiona (D4).

En los cultivos de células tecales de pacientes con SOP mencionados anteriormente se ha encontrado un aumento de la expresión del gen que codifica para esta enzima, *CYP17*, y una mayor estabilidad de su ARNm (48, 50). En estos trabajos se ha demostrado una alteración en la fosforilización de la ruta de señalización MAPK intracelular que se relaciona con un aumento de los niveles de ARNm del *CYP17* junto con una activación del promotor del gen que se asocia a elevación de las concentraciones de andrógenos independiente de insulina (51). Otro mecanismo implicado en el aumento de actividad enzimática se relaciona con la disminución de la represión ejercida en el promotor del gen mediada por el factor nuclear-1C, en relación con la presencia de mutaciones en la secuencia de dicho represor (52).

También se ha especulado sobre un aumento de actividad enzimática relacionado con un incremento de la fosforilación de los residuos de serina (53, 54). Se ha comunicado un incremento de la expresión del gen *CYP17* y del gen que regula para la proteína StAR, encargada de introducir el colesterol en el interior celular, en respuesta a derivados del ácido retinoico, en células tecales de pacientes con SOP, sugiriendo un nuevo papel de los retinoides en la etiopatogenia del síndrome (55).

En relación con la participación suprarrenal en el fenotipo de las pacientes con SOP, se ha investigado el papel de la 11 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (11 $\beta$ HSD1) y la hexosa-6-fosfato deshidrogenasa (H6PDH), encargadas de la inactivación del cortisol en cortisona, la primera de ellas catalizando dicha conversión directamente, y la segunda regenerando el NADP reducido en el retículo endoplásmico, influyendo en la dirección de la actividad oxorreductasa de la enzima (56). Se ha descrito un modelo de herencia trialélico en la deficiencia de cortisona reductasa, que consiste en una mutación en homocigosis en el exón 5 del gen *H6PD* y otra en heterocigosis en el intrón 3 del gen que codifica la 11 $\beta$ HSD1 (56), que no se ha podido reproducir en otro trabajo con un amplio número de pacientes (57).

Considerando que el fenotipo de esta deficiencia es similar al SOP, nuestro grupo investigó el papel de estas variantes alélicas en el síndrome, no encontrando relación entre la mutación en la 11 $\beta$ HSD1 y el SOP. Sin embargo, la variante polimórfica R453Q del gen *H6PD* se ha relacionado con el síndrome y con una activación de la esteroidogénesis suprarrenal (58). Cambios en la actividad 11 $\beta$ HSD1 en el tejido adiposo podrían aumentar la concentración local de cortisol en el mismo favoreciendo la resistencia insulínica y el

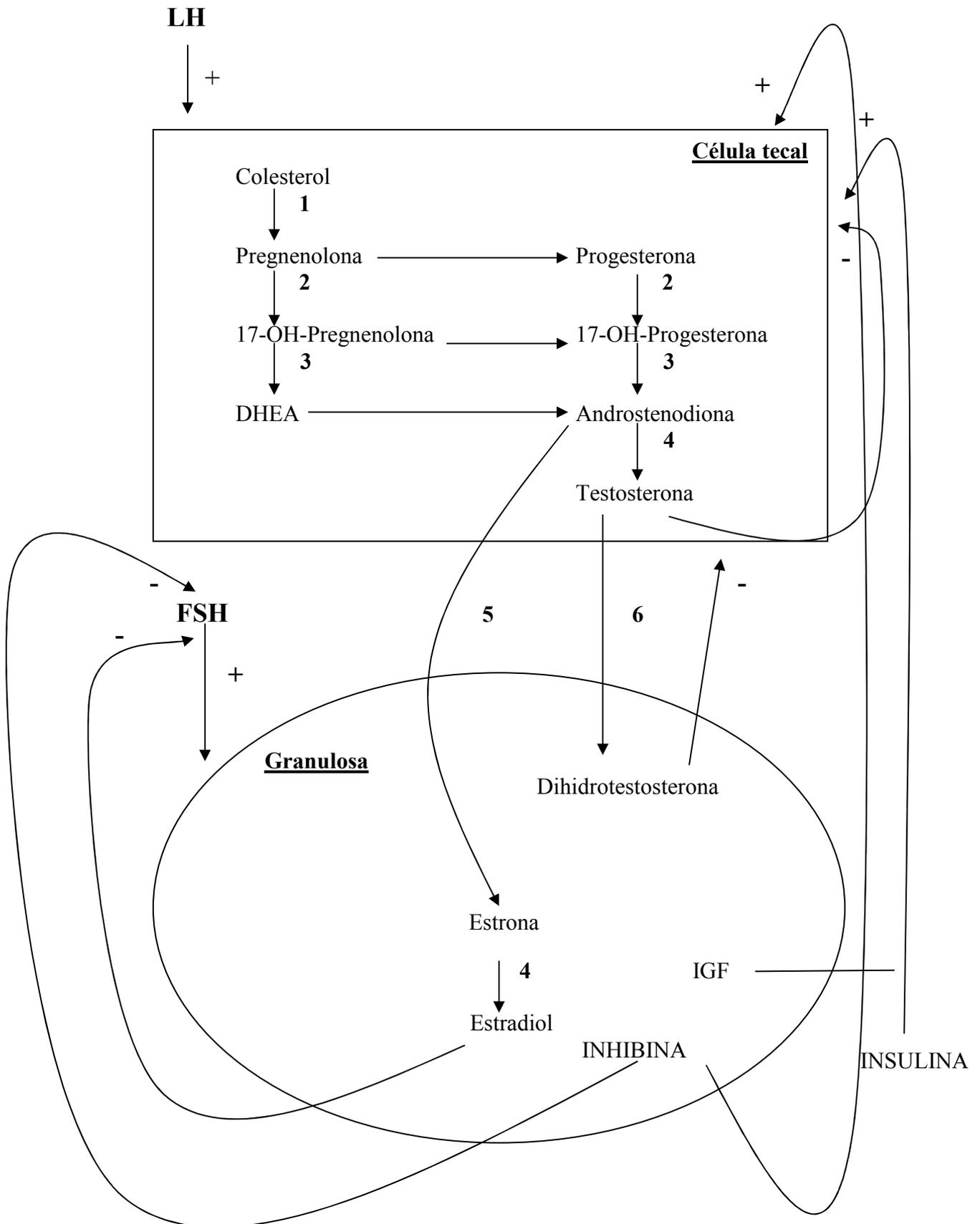
hiperandrogenismo. Por último, en pacientes con SOP se ha descrito un incremento de la actividad periférica de la  $5\alpha$ -reductasa que facilitaría la conversión de testosterona de dihidrotestosterona (59), más afín que la primera en su unión al receptor de andrógenos.

### **Disfunción hipotálamo-hipofisaria.**

Otro evento fundamental en la fisiopatología del SOP es la disfunción hipotalámica, con un aumento de la amplitud y frecuencia de los pulsos de LH y una disminución de la secreción de FSH, favoreciendo la síntesis tecal de andrógenos (60). Este patrón de secreción de gonadotrofinas es consecuencia de un aumento de la secreción pulsátil a nivel hipotalámico (61). Esta alteración parece consecuencia de una respuesta anómala a la retroalimentación que se ejerce a nivel central por diversos estímulos periféricos (leptina, inhibina B, estrógenos, andrógenos,...), aunque existe controversia al respecto (61). El incremento de la amplitud pero no la frecuencia se ve favorecido por la adiposidad (62). Este patrón de secreción gonadotrófico es favorecido por la anovulación al no aumentar las concentraciones de progesterona durante la segunda fase del ciclo menstrual, alterando aún más la amplitud y frecuencia de los picos de LH (2). En conclusión, este patrón de secreción favorece la síntesis androgénica, estimulando la expresión de las enzimas esteroideogénicas en las células tecales, fundamentalmente en las pacientes delgadas, ya que en las mujeres con obesidad parece primordial el papel del hiperinsulinismo en el incremento de andrógenos tecal y en la anovulación (63, 64). Junto a ello, la actividad de la aromatasa esta regulada por la concentración de FSH, por lo que en estas pacientes existe una menor tasa de conversión de andrógenos en estrógenos, al reducirse la actividad de esta enzima (2).

### **Resistencia a la insulina e hiperinsulinismo.**

La resistencia a la insulina y el hiperinsulinismo resultante (65), son un hallazgo muy frecuente en las pacientes con SOP (66), independiente del peso, constituyéndose en un defecto intrínseco del síndrome puesto que la resistencia a la insulina es mayor en las pacientes que en controles sanos pareados por índice de masa corporal y edad (67, 68). Se ha especulado sobre la existencia de un incremento en la fosforilación de los residuos de serina del dominio tirosin kinasa del receptor que disminuiría su actividad, similar al observado en la enzima P450c17 $\alpha$  (69, 70). La unión de la insulina a su receptor promueve



**Figura 2. Regulación de la esteroidogénesis ovárica.** Abreviaturas, DHEA, dehidroepiandrosterona; IGF, insulin growth factor; 1, Cholesterol side-chain cleavage enzyme; 2, P450c17 $\alpha$ : 17 $\alpha$ -hidroxilasa; 3, P450c17 $\alpha$ : 17,20-desmolasa; 4, 17 $\beta$ -reductasa; 5, aromatasa; 6, 5 $\alpha$ -reductasa. Adaptado de referencia (46).

su actividad tirosin kinasa produciéndose la fosforilación de los sustratos del receptor de insulina 1 y 2 (IRS-1 y 2). En algunas pacientes con SOP existe un defecto en la señalización del receptor de insulina, con un descenso en la actividad fosfatidilinositol 3-kinasa (PI-3K) asociada al ISR-1 (70). Esta alteración favorecería la ruta metabólica mediada por IRS-2, implicada en la formación de múltiples quistes atrésicos subcapsulares (71).

Otro aspecto de interés es que la resistencia insulínica podría ser selectiva en el SOP. La acción de la insulina a través de su receptor se ejerce a través de tres rutas metabólicas: la de PI-3K encargada de los efectos metabólicos, la MAPK encargada de los efectos mitógenos, y la de la protein kinasa C, que también puede ser activada por vía de la proteína G de la fosfolipasa C (72).

En el SOP existe una alteración selectiva de la ruta PI-3K, ruta antiaterogénica, que disminuiría la expresión celular del transportador de glucosa GLUT-4, y por lo tanto, la captación periférica de glucosa (73), favoreciendo la activación de las rutas mitógenas y aterogénicas (74). Por otro lado, existe un defecto en la secreción de insulina por parte de la célula  $\beta$  (75, 76), con un incremento en la secreción de insulina basal y una respuesta atenuada postprandial similar a la observada en la DM2, que parece tener un componente hereditario (77, 78).

La relación entre el hiperinsulinismo y el aumento de los andrógenos se ejerce a través de numerosos mecanismos (**Tabla 2**). Además de favorecer directamente los efectos de LH y ACTH, la insulina disminuye la síntesis hepática de IGFBP-1, aumentando la biodisponibilidad del IGF-I, lo que a nivel tecal estimula la síntesis de andrógenos actuando sinérgicamente con la LH sobre estas células (79). El IGF-I actúa a nivel hipotalámico regulando al alza la expresión y liberación de GnRH, contribuyendo a la disfunción hipotalámica del SOP (79).

### **Estado inflamatorio crónico.**

Otro pilar básico en la etiopatogenia del síndrome es la existencia de un estado de inflamación crónica que se relaciona estrechamente tanto con el hiperandrogenismo como con la resistencia a la acción de la insulina (80-82). La inflamación crónica se encuentra en la base patogénica de la resistencia a la insulina (83) y de la enfermedad cardiovascular (84), siendo

---

Incremento de la síntesis y pulsatibilidad de la LH.  
Incremento de la sensibilidad suprarrenal a la ACTH.  
Incremento de la sensibilidad de las células tecaes a LH.  
Incremento de la actividad suprarrenal y ovárica de la P450c17 $\alpha$ .  
Reducción de los niveles de IGFBP-1.  
Regulación al alza de los receptores de IGF-I a nivel ovárico.  
Acción sinérgica junto a LH y  $\beta$ hCG favoreciendo el crecimiento ovárico y formación de quistes ováricos.  
Inhibición de la síntesis hepática de SHBG.

---

**Tabla 2. Mecanismos relacionados con la síntesis y acción de los andrógenos mediados por insulina (49).**

el tejido adiposo y las células inflamatorias relacionadas con el mismo el origen principal de la producción de citoquinas en estas entidades (85). En el SOP se ha demostrado un incremento en la producción de radicales libres por las células mononucleares en respuesta a hiperglucemia (86) así como una disminución de la capacidad antioxidante, con el consecuente incremento del estrés oxidativo (87).

Este estrés oxidativo induce la expresión de enzimas esteroideogénicas implicadas en la síntesis de andrógenos en modelos animales (88), e incrementa la expresión del factor nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B), cuya activación se ha visto alterada en células mononucleares de pacientes con SOP tras hiperglucemia (89), favoreciendo su migración al tejido adiposo donde inducen la liberación de TNF- $\alpha$  por el adipocito. Esta citoquina favorece la resistencia a la insulina a través de su acción sobre la actividad tirosin kinasa del receptor de insulina mediada por IRS-1, disminuyendo la expresión del transportador de glucosa GLUT-4 (90, 91), alteración descrita en las pacientes con SOP (73).

El TNF- $\alpha$  regula el eje gonadotropo incrementando la proliferación y esteroideogénesis de las células tecaes en modelos animales (92, 93), y favorece la apoptosis folicular y anovulación (94). Se ha comunicado un aumento de los niveles plasmáticos de TNF- $\alpha$  en mujeres delgadas con SOP (95), inherente al propio síndrome, si bien la elevación constatada en mujeres obesas parece relacionada con la adiposidad (95, 96).

En estudios de genético-moleculares hemos constatado la presencia de una variante alélica en el gen de TNF- $\alpha$  que modula al alza la producción suprarrenal de andrógenos en el SOP (97), así como un polimorfismo en el gen de receptor soluble de tipo 2 de esta citoquina, relacionado con la presencia de SOP e hiperandrogenismo ovárico (98).

El TNF- $\alpha$  estimula la producción de IL-6 por el adipocito, y esta citoquina ha sido relacionada también con la inducción de resistencia a la insulina (83, 99). Aunque, no se han encontrado concentraciones elevadas en pacientes con SOP (96), algunos investigadores, y nuestro grupo, hemos comunicado la presencia de variantes alélicas protectoras frente al desarrollo del SOP e hiperandrogenismo tanto en el gen que codifica para dicha interleuquina (100, 101) como en su receptor (102).

Otra citoquina implicada en el SOP es la IL-18, entre cuyas acciones se encuentra el incremento de la producción de TNF- $\alpha$ , que hemos relacionado tanto con el hiperandrogenismo como con la obesidad (103).

### **Obesidad.**

Un factor clave en el desarrollo del SOP es la obesidad, y sobre todo la adiposidad abdominal (104). La prevalencia de obesidad en el SOP es muy elevada (27, 105). Así mismo, la prevalencia de SOP en las pacientes con sobrepeso y obesidad alcanza el 28%, como recientemente hemos comunicado (106). El papel de la obesidad en el fenotipo del SOP es fundamental, como se deriva del hecho de que pacientes con obesidad mórbida diagnosticadas de SOP, sometidas a cirugía bariátrica, y que logran una pérdida de peso importante y mantenida a un año de seguimiento, reinstauran menstruaciones regulares y normalizan las concentraciones de andrógenos y parámetros de resistencia a la insulina (107). Es más, la obesidad parece ser el principal efector del estado de inflamación crónica asociado al SOP (96, 101, 108). Así, la obesidad actúa a diversos niveles desenmascarando o empeorando el cuadro clínico de las pacientes con SOP (**Tabla 3**)

Las pacientes con SOP presentan un incremento del depósito adiposo abdominal, que condiciona un incremento en las citoquinas inflamatorias circulantes e índices de resistencia a la acción de la insulina (108). Se ha comunicado como la administración de flutamida - un antiandrógeno puro no esteroideo - a mujeres con SOP disminuye el depósito adiposo visceral, apoyando el papel del hiperandrogenismo sobre el depósito graso intraabdominal en estas pacientes (109).

En paralelo a estos hallazgos se ha descrito una alteración primaria de la lipólisis en el SOP, tanto a nivel de tejido adiposo subcutáneo como visceral. En adipocitos de tejido celular subcutáneo abdominal de pacientes no obesas existe un descenso de la capacidad lipolítica inducida por catecolaminas, en relación con un descenso de la densidad de receptores  $\beta$ 2-adre

<b>Efectos de la adiposidad</b>	<b>Consecuencias en el SOP</b>
Incremento NEFA en circulación portal	Resistencia a la insulina Hiperinsulinismo
Producción de citoquinas inflamatorias	Resistencia a la insulina Hiperandrogenismo
Incremento de la conversión de precursores de andrógenos	Hiperandrogenismo
Alteraciones en la secreción hipotalámica de gonadotrofinas	Hiperandrogenismo
Alteración del metabolismo del cortisol	Incremento de la producción suprarrenal de andrógenos
Hiperleptinemia?	Anovulación

**Tabla 3. Posibles interacciones entre el incremento del tejido adiposo y el fenotipo de las pacientes con SOP (110-113).**

nérgicos y una alteración en la acción de la lipasa sensible a hormonas, similar al defecto descrito en pacientes con resistencia a la insulina sin SOP o en el síndrome metabólico (114). La disminución que ejerce la testosterona sobre la expresión de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en el tejido graso subcutáneo y sobre la lipasa sensible a hormonas es conocido (115). El tamaño de los adipocitos subcutáneos de estas pacientes es mayor que el de las controles pareadas por edad y sexo, por lo que este defecto favorecería el desarrollo de obesidad abdominal y la conversión periférica de D4 en testosterona (116, 117).

Sin embargo, a nivel visceral las pacientes con SOP presentan un incremento de la actividad lipolítica, favoreciendo el flujo de ácidos grasos libres y glicerol al hígado por vía portal, que desemboca en resistencia a la insulina e hiperinsulinemia, alteración del metabolismo de los hidratos de carbono y dislipidemia (111).

Los avances en el estudio del tejido adiposo han llevado a su definición como un tejido endocrino complejo (118), que presenta una síntesis y secreción de citoquinas y otros péptidos, denominados adipoquinas, que ejercen una acción autocrina, paracrina y endocrina a nivel sistémico. Uno de estos polipéptidos es la leptina, implicada en la homeostasis energética, mediante el control del apetito y gasto energético basal, y en la regulación del eje gonadal (118, 119). En la obesidad existe un estado de hiperleptinemia, con una situación de

resistencia a la leptina mediada por defectos de señalización o transporte a través de la barrera hematoencefálica (120, 121). Así mismo, la leptina inactiva el eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal, y regula al alza los ejes gonadal y tiroideo (122, 123). Parece claro que la hiperleptinemia presente en pacientes con hiperandrogenismo y SOP no es inherente al síndrome, sino secundaria a la adiposidad e hiperinsulinismo presente en un gran número de estas mujeres (124, 125).

Otra adipoquina implicada en la obesidad y sensibilidad a la insulina es la adiponectina. Existe una relación inversa entre las concentraciones de adiponectina circulantes y la obesidad, marcadores de resistencia a la insulina e inflamación, siendo considerada como una hormona sensibilizadora a la insulina, antiaterogénica y antiinflamatoria (126). Hemos comunicado un descenso de las concentraciones de adiponectina en estas pacientes frente a controles sanos pareados por edad e IMC, dependiente de obesidad abdominal y concentración de testosterona, sugiriendo una contribución de esta adipoquina en la resistencia a la insulina presente en el SOP (127).

La resistina es un polipéptido sintetizado en el adipocito con efecto sobre la acción de la insulina, relacionando la obesidad con la resistencia a la insulina (128). En el SOP se ha descrito un incremento de la concentración de resistina circulante independiente de obesidad (129), aunque existen resultados discordantes al respecto (127), que correlacionaría con la androgenemia y potenciando la estimulación de la insulina sobre la actividad de la 17 $\alpha$ -hidroxilasa en células tecaes del ovario (129). Se ha descrito un incremento de la expresión de la resistina a nivel del adipocito, relacionado con un descenso en la expresión del receptor de insulina, la PI3K y el transportador de membrana GLUT-4, modulando por tanto la resistencia a la insulina a nivel del tejido adiposo (130).

Otras proteínas y citoquinas segregadas por el tejido adiposo son la angiotensina II, TNF- $\alpha$ , IL-6, PAI-1 y enzimas implicadas en el metabolismo de los glucocorticoides (118), cuyo papel ya se ha comentado anteriormente.

La alta prevalencia de obesidad en el SOP, y la dificultad para el mantenimiento de la pérdida de peso en estas pacientes (131) ha llevado al estudio de una hipotética alteración en la regulación de la ingesta. La Ghrelina, péptido producido en las células neuroendocrinas del estómago, es un potente estimulador de la secreción de GH mediante unión a receptor hipotálamo-hipofisario (132). Es un regulador de los mecanismos de ingesta y saciedad, incrementando su concentración en situaciones de ayuno y disminuyéndola tras la ingesta

(133). Se ha comunicado un papel de esta hormona en la regulación de la esteroidogénesis en modelos animales (134), y se han encontrado receptores a nivel ovárico (135).

Los estudios en mujeres con SOP son escasos, pero parecen confirmar una concentración disminuida en mujeres obesas con SOP frente a controles obesos, y un menor descenso tras la ingesta (136-138), aunque su correlación con una menor sensación de saciedad está en controversia (136-138). Se ha comunicado también una relación inversa con la concentración de D4 cuyo significado fisiopatológico permanece por elucidar (136). Una mayor sensación de hambre y menor saciedad tras la ingesta en relación con una concentración menor de Ghrelina serían un factor añadido que podría colaborar al desarrollo de obesidad en el SOP.

### **Programación fetal y teoría evolutiva.**

Una serie de experimentos en un modelo animal, el mono *rhesus*, en los que fetos femeninos fueron expuestos a concentraciones masculinas de testosterona, han demostrado como dichas hembras en la edad adulta generan un fenotipo que cumple todos los criterios diagnósticos del SOP en el humano, desarrollando hiperandrogenismo de origen ovárico (139), elevación de la concentración de andrógenos de origen suprarrenal, tanto basalmente como tras estímulo (140), disfunción ovulatoria (141), y finalmente, morfología poliquística ovárica (141). Se ha observado en este modelo como la exposición a andrógenos en momentos tempranos de la gestación conduce a la presencia de una hipersecreción de LH, similar a la encontrada en algunas pacientes con SOP (142).

Además, la exposición prenatal a testosterona en este modelo animal conduce a un fenotipo metabólico similar al de las mujeres con SOP, con acúmulo predominantemente visceral del tejido adiposo (143), y resistencia a la insulina, o alteración en la secreción de la misma, dependiendo del momento de la exposición (144). En observaciones clínicas en mujeres con concentraciones elevadas de andrógenos en el momento de la gestación, pacientes con hiperplasia suprarrenal congénita o tumores virilizantes congénitos, se ha constatado el desarrollo posterior de un fenotipo similar al SOP con anovulación, hiperandrogenismo ovárico, morfología poliquística ovárica e insulinoresistencia (145, 146). La exposición a los andrógenos de las hijas de mujeres con SOP no puede ser justificada por el hiperandrogenismo materno, ya que la aromatasas placentaria transforma rápidamente dichos andrógenos en estrógenos. Si es posible, que mutaciones o polimorfismos en enzimas

implicadas en la esteroidogénesis pudieran mantener una concentración suprafisiológica de andrógenos en el ambiente fetal (45, 49, 104).

Por otro lado, las mujeres con SOP presentan un mayor número de nacimientos con bajo peso para la edad gestacional, y se ha especulado con un origen común de este hecho y el hiperandrogenismo posterior en la vida adulta (147, 148). Este bajo peso gestacional se ha relacionado con la aparición durante la infancia y adolescencia de adrenarquia precoz, hiperandrogenismo ovárico e insulinoresistencia (147, 149), como predecesores del SOP, y con la aparición posterior en el adulto de resistencia a la insulina, hipertensión, obesidad central y DM2 (150, 151). Por lo tanto, nos encontramos en un escenario en el que el hiperandrogenismo bien de origen materno, o lo que es más probable, de origen fetal provocado por un genotipo alterado, desencadena una exposición intrauterina a concentraciones elevadas de andrógenos que reprogramarían al feto a nivel hipotálamo-hipofisario, ovárico, suprarrenal, adiposo y vascular, desarrollando posteriormente en la vida adulta el fenotipo característico del SOP. Otras alteraciones metabólicas maternas como la resistencia a la insulina, hipertensión, resistencia vascular, obesidad, diabetes gestacional..., colaborarían en este ambiente fetal hostil favoreciendo el retraso del crecimiento y la resistencia a la acción de la insulina en su vida posterior (**Figura 3**).

Otro aspecto a destacar del SOP es el porqué una entidad con influencia patológica sobre las pacientes, se ha seleccionado evolutivamente, presentando tan alta prevalencia en la actualidad. Un fenotipo perjudicial o patológico, y el SOP lo es sin duda actualmente, debería haber evolucionado a la baja a lo largo del proceso de selección natural, y hoy en día, si persistiera, debería ser una entidad marginal. Pero bien al contrario, al igual que ocurre con otras enfermedades metabólicas como la DM, se han convertido en procesos cada vez más prevalentes. Esta aparente contradicción ha llevado a pensar que en el pasado, lo que hoy se ha convertido en enfermedad, podría haber representado una ventaja evolutiva (152).

Evolutivamente, en el pasado el acceso del ser humano a los alimentos ha sido esporádico, y la agresividad, un mayor estado de alerta ante agresiones externas y un incremento de la capacidad muscular han sido imprescindibles para la supervivencia. En este ambiente, los problemas asociados con el embarazo y parto han sido la primera causa de mortalidad materno-fetal. El hiperandrogenismo femenino disminuye la tasa de embarazos, aumenta los periodos entre gestaciones y provocaría que éstos se produjeran en mujeres de mayor edad, favoreciendo la supervivencia materna e infantil en estas épocas de carestía (153-155). La presencia de un fenotipo insulinoresistente-inflamatorio favorece la acumulación de

nutrientes en situaciones de ayuno, el aporte de glucosa al cerebro, aumenta el tono simpático y provoca disfunción endotelial incrementando las cifras tensionales (156), a la vez que un estado procoagulatorio podría proteger frente al trauma y hemorragia (157-159). Además, el estado inflamatorio y la liberación de citoquinas actuarían como defensa ante la infección. Por lo tanto, no parece sorprende que estas variantes genómicas asociadas con hiperandrogenismo, insulinoresistencia e inflamación, que han favorecido la supervivencia durante millones de años, se hayan seleccionado a lo largo de la evolución, y que, en el escenario actual de los países desarrollados, en el que disponemos de libre acceso a los nutrientes, alimentación hipercalórica y un estilo de vida sedentario, siendo la infección y el trauma grave infrecuentes, se conviertan en una desventaja favoreciendo la alta prevalencia de este síndrome, la obesidad, el síndrome metabólico y la enfermedad cardiovascular arteriosclerótica en las sociedades desarrolladas (45, 49) (**Figura 4**).

### **Consecuencias metabólicas y cardiovasculares del SOP.**

La obesidad y resistencia a la insulina presentes en el SOP, condujeron tempranamente a la observación de que estas mujeres agrupaban un alto número de alteraciones metabólicas y factores de riesgo cardiovascular, que podían desembocar en un riesgo aumentado de sufrir un evento cardiovascular a medio-largo plazo. En estudios observacionales se ha comunicado un incremento de prevalencia de diferentes factores de riesgo, aunque un aumento en la tasa de eventos y mortalidad de origen cardiovascular, permanece aún por confirmar. A continuación, se hace una revisión de los trabajos relacionados con presencia de factores de riesgo vascular en pacientes con SOP, los relacionados con eventos cardiovasculares y se discuten los diferentes mecanismos implicados en estas alteraciones metabólicas y vasculares.

### **Alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono.**

Se ha comentado extensamente la presencia de resistencia a la insulina e hiperinsulinismo en pacientes con SOP (72). También se ha hecho referencia a la comunicación de una alteración primaria de la función de la célula  $\beta$  que parece tener un componente hereditario (78). No es de extrañar que las pacientes con SOP presenten una elevada incidencia de alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono, que se traducen en un riesgo aumentado de padecer DM. En el año 1999, se publicaron 2 estudios

que evaluaban la prevalencia y el riesgo de presentar DM2 en pacientes con SOP (160, 161). *Legro* y cols. (161), en un estudio con 254 mujeres con SOP, con un grupo control de 80 mujeres sanas pareadas por edad e IMC, comunican una prevalencia de intolerancia a los hidratos de carbono del 31% y de DM del 8% en el grupo de pacientes obesas (frente al 16% y 0% del grupo control), y del 10% y 2%, respectivamente, en el grupo de pacientes no obesas, utilizando para el diagnóstico la sobrecarga oral de glucosa (SOG), según recomendaba en ese momento la OMS. Los datos de prevalencia hacen referencia al grupo de mujeres con SOP sin antecedentes familiares de DM2. Si se incluía este grupo de pacientes en el análisis, la prevalencia de intolerancia a los hidratos de carbono alcanzaba el 55%. La presencia de intolerancia a los hidratos de carbono y DM2 se empezaba a detectar de forma importante a partir de la 2ª década de la vida y se incrementaba a medida que aumentaba el IMC de las pacientes. Los principales determinantes de la presencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono fueron la glucemia basal, la presencia de SOP, el IMC y el índice cintura-cadera en el modelo de regresión logística (161). Para detectar estas alteraciones fue necesaria la realización de una SOG, diagnosticándose un 4,3% más de pacientes que con criterios de glucemia basal (161). *Ehrmann* y cols. (160), en un estudio prospectivo con 122 mujeres con SOP, comunican una prevalencia de glucemia basal alterada (GBA) del 9%, intolerancia a los hidratos de carbono del 35% y de DM2 del 10% antes de la 4ª década de la vida. Destaca de nuevo que para el diagnóstico del total de pacientes con DM2 fue necesaria la realización de una SOG, ya que la determinación de una glucemia basal no habría diagnosticado a muchas de estas mujeres diabéticas. La presencia de antecedentes familiares de primer grado con diabetes fue del 83% entre las pacientes con DM2 (160). Las pacientes con GBA e intolerancia a hidratos de carbono presentaron una tasa de conversión a DM2 muy elevada en los años posteriores de seguimiento (160). Posteriormente, *Cibula* y cols. (162), han comunicado una prevalencia de DM2 del 32% en mujeres perimenopáusicas con historia de SOP, frente al 8% de población sana de la misma edad e IMC.

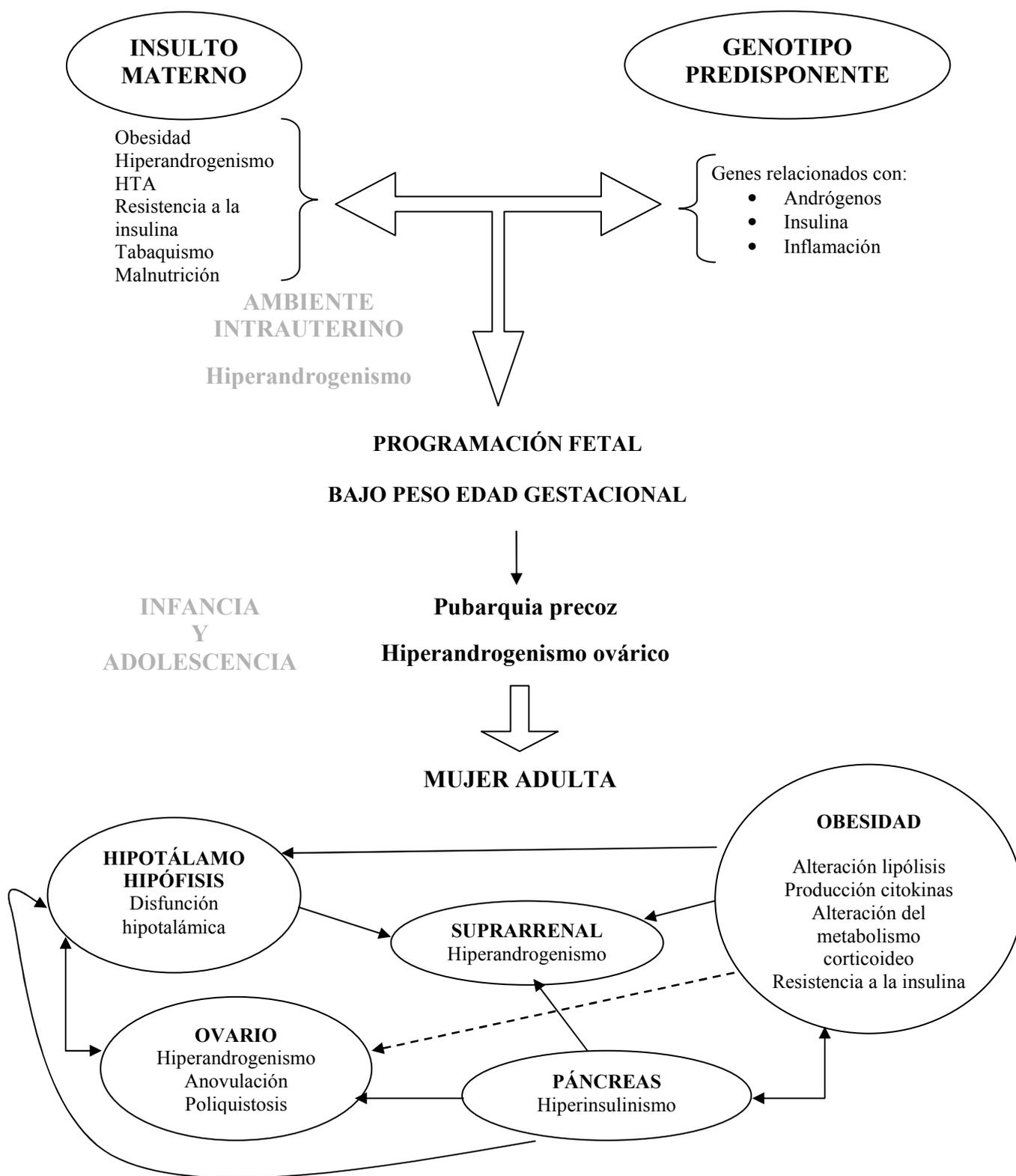
La elevada tasa de conversión de las pacientes con SOP en intolerantes a los hidratos de carbono y DM2 ha sido evaluada de forma prospectiva, estableciéndose una tasa anual de conversión en intolerantes a los hidratos de carbono del 16%, y de intolerantes en DM2 del 2% (163). Las pacientes obesas con SOP tienen un riesgo 5 veces superior a las mujeres obesas sin SOP, indicando la fuerte interacción entre la adiposidad y el SOP sobre el riesgo de desarrollar DM2 (164). Un reciente meta-análisis analiza los datos de 720 pacientes y 4.505 controles sobre el pronóstico de las mujeres embarazadas con SOP, comunicando una *odds*

*ratio* de presentar diabetes gestacional del 2,94 (1,7-5,08) confirmando las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono asociadas al SOP (165).

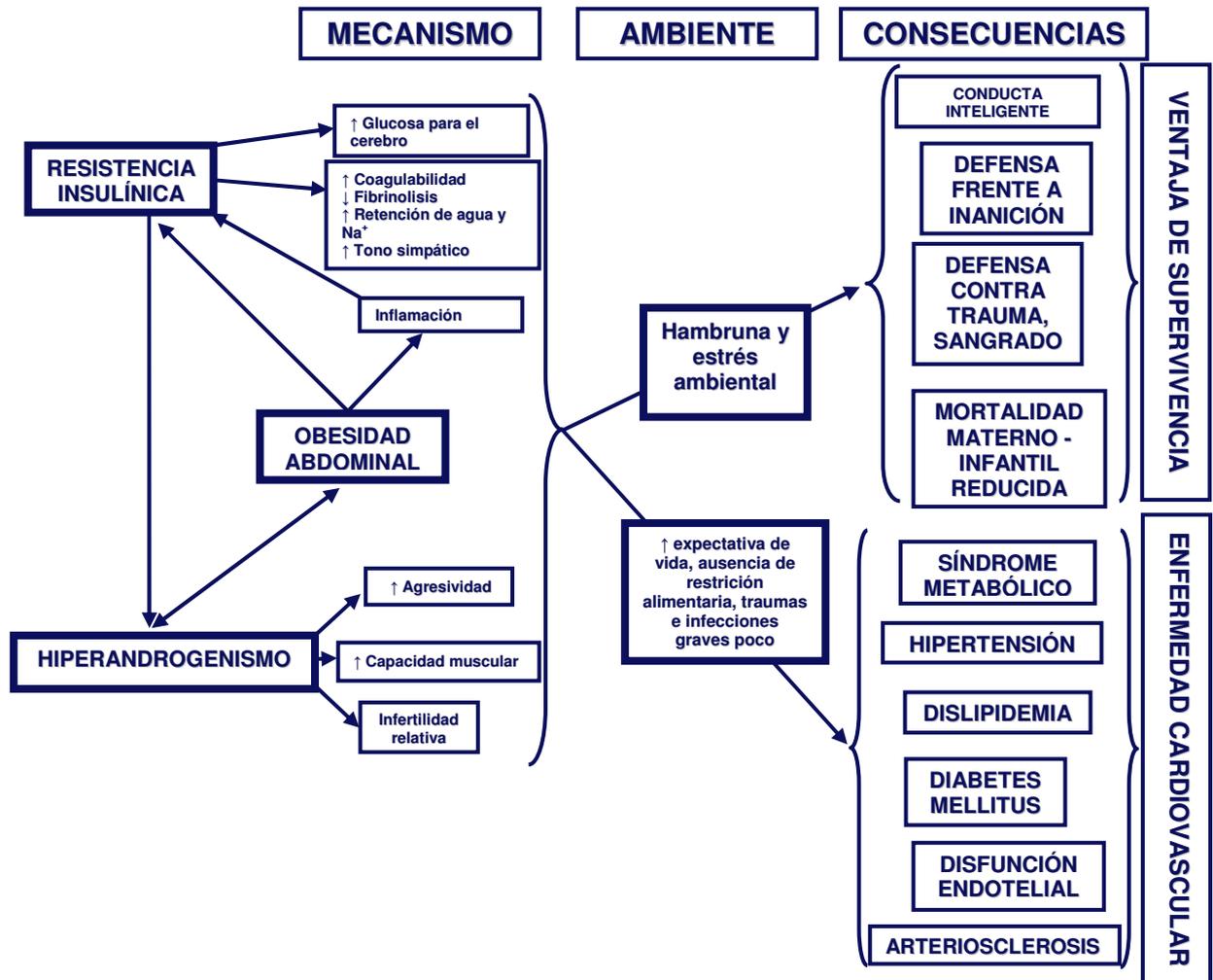
Las mujeres con SOP presentan polimorfismos y variantes alélicas relacionadas con la resistencia a la insulina y la DM2 (45, 166, 167). Su patrón de secreción de insulina es similar al que precede al desarrollo de DM2 en la población general, con una secreción basal aumentada y una respuesta atenuada ante el incremento de la glucemia postprandial (75, 168). Esta respuesta anómala es consecuencia tanto del profundo grado de resistencia a la insulina que presenta una parte importante de las pacientes como de defectos primarios en la célula  $\beta$ . Se ha demostrado que los familiares de primer grado de las pacientes presentan una prevalencia elevada de alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono y un patrón insulinoresistente (169, 170).

Hay que añadir el papel que juega la obesidad tanto en el síndrome como en el desarrollo de DM2, dónde es un factor de riesgo bien conocido (110, 171). En relación con la base fisiopatológica de las alteraciones de los hidratos de carbono en el SOP, hemos publicado el papel de la ferritina en asociación con estas anomalías (172). El incremento de los depósitos de hierro contribuye a la insulinoresistencia y al desarrollo de DM2 (173, 174). Las pacientes con SOP con sobrepeso y obesidad, presentan concentraciones aumentadas de ferritina, y la hiperferritinemia se asocia con la presencia de intolerancia a los hidratos de carbono y DM2 en nuestro grupo de mujeres españolas (172). Este incremento de la concentración de ferritina podría ser debido a la menor frecuencia de menstruaciones de nuestras pacientes oligomenorreicas y amenorreicas, pero se puede ver amplificado por una mayor absorción de hierro a nivel intestinal como consecuencia del hiperinsulinismo (175), cerrando este círculo vicioso que desencadenaría en la aparición de DM2.

De estos estudios se deriva que las pacientes con SOP presentan una prevalencia elevada de alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono y DM2, y que estas alteraciones aparecen desde edades tempranas de la vida. La prevalencia de intolerancia a los hidratos de carbono y DM2, se ve influida por el IMC y la historia familiar de DM2. La base etiológica de estas alteraciones se encuentra en la obesidad abdominal y la resistencia a la insulina inherente al síndrome, actuando sobre un genotipo predisponente. Las limitaciones que presenta la glucemia basal para el diagnóstico de las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono en las mujeres con SOP recomiendan la realización de una SOG para un



**Figura 3. Etiopatogenia del SOP.** La presencia de un genotipo predisponente y factores externos maternos darían lugar a un ambiente intrauterino hiperandrogénico con la consiguiente programación fetal que en la vida adulta dará lugar al hiperandrogenismo de origen ovárico, la disfunción hipotalámica con aumento de la secreción de LH, y la distribución androgénica del tejido adiposo e insulinoresistencia. El genotipo y esta insulinoresistencia junto con probables alteraciones de la regulación del apetito y la lipólisis, y factores externos como el sedentarismo, dieta no equilibrada, ..., favorecen el depósito adiposo con el consiguiente aumento de la resistencia insulínica, hiperinsulinismo, producción de citoquinas inflamatorias y alteración del metabolismo corticoideo, que favorecen el hiperandrogenismo tanto ovárico como suprarrenal, la disfunción hipotalámica, la anovulación y conducen al fenotipo metabólico presente en las pacientes con SOP.



**Figura 4. SOP desde un punto de vista evolutivo.** Genotipos que predisponen a la resistencia a la insulina, inflamación e hiperandrogenismo, se han seleccionado al constituir una ventaja evolutiva, que posteriormente se ha tornado en una base genética que produce un fenotipo de riesgo cardiovascular en el medio ambiente actual. Adaptado de referencia (45).

de una SOG para un correcto manejo y estratificación del riesgo cardiovascular de estas pacientes (176). La importancia de la elevada incidencia de diabetes en esta población estriba en la estrecha relación que existe con el desarrollo de eventos cardiovasculares en la población general (177).

### Dislipidemia.

Los trabajos que evalúan el perfil lipídico de las pacientes con SOP han mostrado a menudo resultados contradictorios, en probable relación con la heterogeneidad de las

poblaciones estudiadas y de los criterios empleados para el diagnóstico. Cabría esperar que las pacientes con SOP, que presentan un patrón de resistencia a la insulina similar al encontrado en la DM2, contarían con un perfil lipídico aterogénico similar al definido como dislipemia diabética, con una concentración elevada de triglicéridos, descenso de las cifras de HDL-colesterol y aumento de las partículas densas de LDL (178, 179); este patrón ha sido demostrado por algunos autores (180) aunque, sin embargo, diferentes trabajos no han podido corroborar esta afirmación de forma homogénea en todas las poblaciones.

*Talbott* y cols. (181), en un estudio de casos-control, destacan como principales hallazgos en el grupo de pacientes el descenso de las cifras totales de HDL-colesterol, y un discreto incremento de las concentraciones de triglicéridos y LDL-colesterol, dependiente del SOP tras ajustar por IMC e insulinemia. Estos hallazgos han sido confirmados recientemente en un amplio estudio caso-control en población holandesa (criterios *Rotterdam*), junto con un descenso de Apo A-I dependiente del IMC, androgenemia y concentraciones de estrógenos (182). *Legro* y cols. (183), en otro trabajo controlado incluyendo un número importante de pacientes (criterios NICHHD), concluyen que la única anomalía en el perfil lipídico de las mujeres con SOP es la elevación de LDL-colesterol y HDL-colesterol, alteraciones influenciadas por la edad, IMC y propio SOP, concluyendo que la elevación de las concentraciones de HDL-colesterol podría ejercer un efector protector sobre el desarrollo de eventos cardiovasculares. La prevalencia de hipercolesterolemia se situó alrededor del 50% de las pacientes obesas, frente al 20% de los controles obesos, y la de hipertrigliceridemia en torno al 30% frente al 10% de los controles con obesidad (183). Las pacientes delgadas también presentaron una elevada prevalencia de hipercolesterolemia, en torno al 30%, pero un porcentaje escaso de hipertrigliceridemia (183).

Se ha comunicado un patrón de LDL colesterol con aumento de las partículas pequeñas y densas, más aterogénicas, en pacientes con SOP (180, 184, 185). *Rajkhowa* y cols. (186), siguiendo criterios del NICHHD para el diagnóstico de las pacientes, reportan un descenso de la concentración de colesterol unido a HDL en el grupo de mujeres con SOP y obesidad frente a controles, pero no en las pacientes delgadas. De interés es señalar el efecto de la edad sobre el patrón de dislipidemia asociado al SOP. *Talbott* y cols. (181), en su cohorte de pacientes con determinaciones periódicas del perfil lipídico, han comunicado una elevación de las partículas de LDL-colesterol que alcanza un *plateau*, no experimentando empeoramiento a lo largo de los años, e incluso es superada por la población control a partir

de los 45 años, mientras que el descenso de HDL-colesterol se hace más pronunciado a medida que las pacientes aumentan de edad (181).

Pese a la falta de uniformidad en los hallazgos comunicados hasta la fecha, parece existir consenso acerca de la existencia de un perfil lipídico anormal en estas mujeres. Existen varios mecanismos fisiopatológicos en el SOP que apoyan esta afirmación. La elevada prevalencia de obesidad abdominal y resistencia a la insulina de las pacientes, se asocia en la población general con dislipemia, tanto con incremento de LDL-colesterol y triglicéridos, como con descenso de las cifras de HDL (187, 188). La resistencia a la insulina activa la lipasa hepática y la proteína transferidora de fosfolípidos (186, 189), lo que favorece la liberación de ácidos grasos libres, la elevación de los triglicéridos, el descenso de la concentración de HDL colesterol, y la formación de partículas de LDL pequeñas y densas a partir de la hidrólisis de las partículas ricas en triglicéridos (190). Además las pacientes con SOP presentan un incremento primario en la lipólisis del tejido adiposo visceral, que favorece el flujo de ácidos grasos libres no esterificados y glicerol al hígado (111). Aunque el hiperandrogenismo parece presentar un efecto sexo dependiente, la testosterona modifica la actividad de la lipasa hepática (191), la proteína transferidora de fosfolípidos (192) y la lipasa sensible a hormonas (115), pudiendo jugar un papel en las alteraciones lipídicas del SOP. Diferentes trabajos con preparados antiandrogénicos y anticonceptivos orales han comunicado una mejora del perfil lipídico, fundamentalmente un descenso de las cifras de LDL colesterol, en pacientes con hiperandrogenismo y SOP (193-195).

Por lo tanto, parecen existir dos anomalías en el perfil lipídico de las pacientes con SOP. Por un lado un incremento de la concentración de LDL-colesterol que dependería fundamentalmente de la hiperandrogenemia, y que presenta agregación familiar (196), y por otro lado, un descenso de HDL-colesterol y un aumento de los triglicéridos, dependiente de la obesidad y la resistencia a la insulina.

### **Síndrome metabólico.**

El síndrome metabólico fue definido por primera vez por *Reaven* en 1988 (178), como una constelación de factores de riesgo cardiovascular con un mecanismo etiopatogénico común, la resistencia a la insulina y el hiperinsulinismo. En el momento actual existen varias definiciones del mismo, con diferentes criterios diagnósticos entre los que se incluyen el IMC, perímetro abdominal, alteraciones lipídicas, la hipertensión arterial, la resistencia a la insulina,

alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono y la presencia de microalbuminuria (197, 198). Pese a que se ha atribuido a la presencia del síndrome metabólico un riesgo aumentado de eventos cardiovasculares y desarrollo de DM2 (198), en la actualidad existe controversia acerca tanto de los criterios diagnósticos, como de si ese riesgo cardiovascular es inherente al propio síndrome o no es más que una suma del riesgo de cada uno de sus componentes por separado (197).

Considerando que tanto el SOP como el síndrome metabólico tendrían una base etiopatogénica común en la resistencia a la insulina y la adiposidad abdominal, no es de extrañar que la prevalencia de este último se encuentre elevada en las pacientes con SOP. Este aspecto ha sido evaluado en dos grandes series de pacientes. *Apridonidze* y cols. (199) y *Ehrmann* y cols. (200), comunican una prevalencia de síndrome metabólico entre el 30 y 40% de las mujeres americanas con SOP en la 3ª y 4ª décadas de la vida, claramente superior a la de la población general de la misma edad y sexo (199), que se mantiene tras corregir por IMC y edad, aunque muestra una clara relación con los percentiles superiores de peso (199, 200). Se encuentra una asociación entre los percentiles superiores de testosterona libre y la presencia de síndrome metabólico, reflejando el papel que ejerce el hiperinsulinismo disminuyendo la síntesis de SHBG a nivel hepático (199).

### **Hipertensión arterial.**

A pesar, de que las pacientes con SOP agrupan una serie de factores que favorecen la presencia de hipertensión arterial (**Figura 5**), hasta el momento no se ha aclarado si la hipertensión arterial se asocia de forma característica al SOP. *Cibula* y cols.(162) y *Vribíková* y cols. (201), en dos estudios independientes en población checa comunican resultados contrapuestos, no encontrando más prevalencia de hipertensión arterial en un pequeño grupo de pacientes con SOP pre- y postmenopáusicas, frente a un grupo control amplio en el primero de los casos (162), y comunicando una prevalencia del 22% de HTA (frente al 2% de los controles) en un grupo de pacientes SOP en el segundo de los casos, si bien el grupo de mujeres no hiperandrogénicas presentaba un IMC y edad menor que las pacientes (201).

En un estudio en población holandesa en el año 2001 (42), con 341 pacientes SOP diagnosticadas por la presencia de oligomenorrea y/o amenorrea junto con elevación de la LH se comunica una prevalencia de HTA del 9% en el grupo de edad de los 30 a 55 años, mayor que la de la población control de referencia, de la cual no se disponía de la determinación del

IMC. En Finlandia, en una cohorte amplia de pacientes con síntomas hiperandrogénicos autorreportados, no se encuentran diferencias significativas entre los valores de presión arterial sistólica ni diastólica frente a un grupo control de mujeres sin síntomas (202).

Sin embargo, *Lo y cols.* (203), en un estudio poblacional reciente con de más de 11.000 pacientes y 55.000 controles en el norte de California han comunicado una prevalencia de HTA del 27% entre mujeres con SOP premenopáusicas, frente al 11% en el grupo control, confiriendo al SOP una OR de presentar HTA, ajustando por IMC, del 1,41 (1,31-1,51). Estas mujeres también parecen presentar un riesgo aumentado de hipertensión inducida por el embarazo y pre-eclampsia (165).

<b>Autores</b>	<b>Hallazgos</b>
<i>Zimmermann y cols.</i> (204)	No diferencias en ningún parámetro de PA frente a controles.
<i>Sampson y cols.</i> (205)	No diferencias en ningún parámetro de PA frente a controles.
<i>Holte y cols.</i> (206)	Incremento de los parámetros de PA y FC durante el periodo diurno.
<i>Orbetzova y cols.</i> (207)	Alta prevalencia de HTA y alteraciones en el descenso fisiológico nocturno de PAS y PAD.
<i>Meyer y cols.</i> (208)	No diferencias en ningún parámetro de PA frente a controles.

**Tabla 4. Resultados de los estudios de monitorización ambulatoria de la presión arterial (MAPA) en mujeres con SOP.** *Abreviaturas, PA, presión arterial; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; FC, frecuencia cardiaca.*

Los trabajos que han utilizado monitorización ambulatoria de la presión arterial (MAPA) en este grupo de mujeres son escasos y también ofrecen resultados controvertidos (**Tabla 4**). *Zimmermann y cols.* (204), en un pequeño estudio con mujeres con SOP obesas (14 pacientes), no encuentran diferencias en ningún parámetro de la monitorización ambulatoria ni en la presión en la consulta frente a un grupo control. *Sampson y cols.* (205), estudian un grupo de mujeres de peso normal con criterios ecográficos de morfología poliquística ovárica y oligomenorrea o amenorrea, no encontrando diferencias en ningún parámetro de la presión arterial ambulatoria frente a mujeres con morfología poliquística

ovárica y ciclos menstruales regulares, ni frente a mujeres sin alteraciones ováricas ni menstruales.

Sin embargo, *Holte* y cols. (206), comunican una elevación en los parámetros de presión arterial durante el día en un pequeño grupo de pacientes con morfología poliquística ovárica y alteraciones menstruales frente a controles, así como, un incremento más pronunciado de la frecuencia cardíaca durante el periodo diurno. Confirmando estos resultados, *Orbetzova* y cols. (207), comunican una elevada prevalencia de HTA (26%), y alteraciones en el descenso nocturno de las cifras de presión arterial sistólica y diastólica, en un grupo de 35 mujeres obesas con SOP. Recientemente, añadiendo controversia a los trabajos previos, *Meyer* y cols. (208), no encuentran diferencias en ningún parámetro de presión arterial ambulatoria en mujeres obesas con SOP frente a un grupo control.

Pese a estos resultados las pacientes con SOP presentan factores de riesgo conocidos para el desarrollo de HTA. El impacto de la obesidad sobre la hipertensión arterial ha sido evaluado recientemente en una población amplia de sujetos. *Kotsis* y cols. (209), en un estudio poblacional con 3.216 pacientes han comunicado una prevalencia de hipertensión en la obesidad, tanto en consulta como tras monitorización ambulatoria, del 44%, frente a un 33% en el grupo de sobrepeso y del 23% en el grupo de normopeso. En este trabajo se comunica una presencia de patrón nocturno no descendedor de la presión arterial del 65% en el grupo de sujetos obesos, que se ha asociado con un riesgo incrementado de enfermedad cardiovascular incluso en pacientes normotensos (210). Entre los mecanismos por los que la obesidad predispone al padecimiento de HTA la activación simpática y la resistencia a la insulina juegan un papel central (211), a través de diversos mecanismos entre los que se encuentran la producción de citoquinas inflamatorias, vasoconstricción, activación del SRAA, retención de sodio y agua. También se ha especulado sobre la existencia de una alteración microvascular inherente a la obesidad que contribuiría tanto a la resistencia a la insulina como a la HTA (212).

La obesidad y la resistencia a la insulina se encuentran en las bases etiopatogénicas del SOP. Se ha demostrado un incremento de la actividad catecolaminérgica tanto en modelos animales de SOP (213) como en humanos (214). Apoyando la influencia de la hiperactividad simpática en el SOP, existen una serie de elegantes trabajos en un modelo animal de SOP, conseguido mediante la administración de valerato de estradiol en ratas, que han demostrado un incremento de la actividad noradrenérgica a nivel ovárico e hipotalámico que podría estar involucrada en la etiopatogenia del síndrome (215, 216).

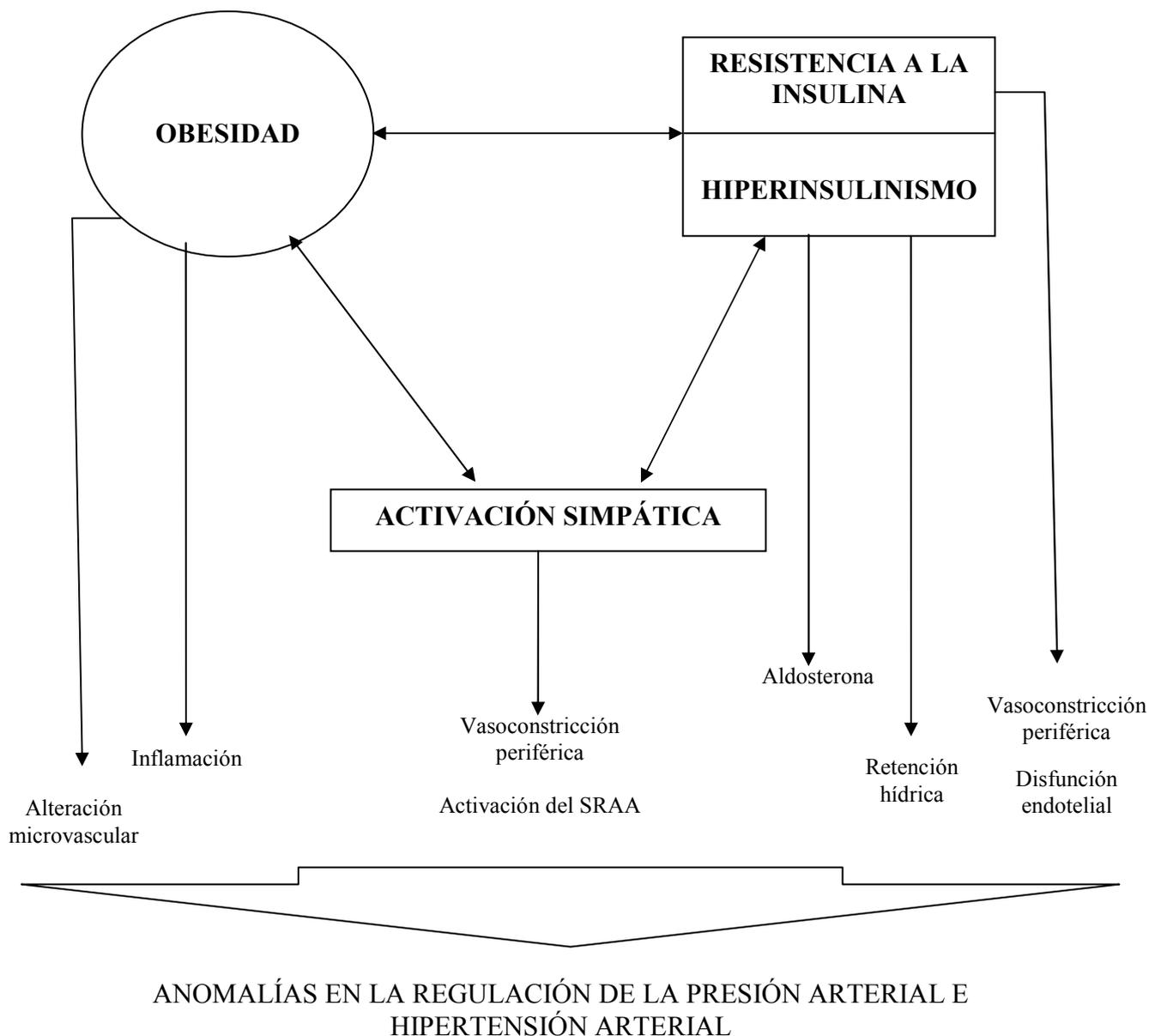
En relación con esta hiperactividad simpática, recientemente se ha comunicado un incremento de la actividad cardíaca en mujeres con SOP (criterios NICHD) valorada por el análisis de la variabilidad en la frecuencia cardíaca (217), así como una disfunción autonómica del sistema cardiovascular en respuesta a la actividad física (218). Por lo tanto, los mecanismos favorecedores de las alteraciones de la presión arterial en el SOP están bien fundamentados, y los resultados contradictorios podrían explicarse por el escaso tamaño muestral de algunos de los estudios, la edad de las pacientes, que en la mayoría de los casos es relativamente joven, factores de confusión como la obesidad, y la falta de sensibilidad de las determinaciones de presión arterial en consulta para detectar anomalías en la regulación de la presión arterial.

### **Nuevos marcadores de enfermedad cardiovascular.**

La relación entre marcadores de inflamación y enfermedad cardiovascular, y el conocimiento de la importante implicación de los procesos de inflamación local en los eventos cardiovasculares agudos han hecho considerar a la enfermedad cardiovascular desde la perspectiva de un proceso de inflamación crónica de bajo grado (219), cuya implicación en la etiopatogenia del SOP ya se ha mencionado anteriormente.

La proteína C reactiva (PCR), de síntesis hepática, pertenece a la familia de la pentraxina, y es considerada como un reactante de fase aguda, implicada en procesos de reconocimiento antigénico de la inmunidad innata (220). Uno de los inductores de su síntesis es la IL-6, regulada a nivel local por TNF- $\alpha$  (83). En estudios poblacionales amplios se ha demostrado como la elevación de sus concentraciones plasmáticas es un factor predictor de eventos cardiovasculares (221, 222), incluso tras ajustar el riesgo por factores clásicos, como la obesidad, hipertensión arterial, hipercolesterolemia o tabaquismo. Como ocurre con otros marcadores de inflamación en la enfermedad cardiovascular, queda por aclarar si es un agente causal dentro del proceso aterosclerótico o sólo refleja el estado de inflamación subclínica inherente al proceso (83).

Los estudios en pacientes con SOP en relación con la elevación de este marcador no son concluyentes. Aunque inicialmente se comunicó un incremento de la concentración de PCR en pacientes frente a grupos control, estos estudios no ajustaban adecuadamente para la influencia de la obesidad (80), o no estaban diseñados con el propósito de evaluar esta asociación (87).



**Figura 5. Mecanismos etiopatogénicos favorecedores de la hipertensión arterial en el SOP.** Las mujeres con SOP agrupan una serie de factores relacionados con la aparición de anomalías en la regulación de la presión arterial. Junto con la obesidad y la resistencia a la insulina, 2 de los pilares etiopatogénicos del síndrome, estas pacientes presentan en relación con la propia obesidad o de forma inherente al síndrome una situación de hiperactividad simpática que favorece estas alteraciones (ver texto).

Nuestro grupo ha estudiado la influencia de un amplio grupo de marcadores de inflamación sobre el SOP y la obesidad (96), delimitando claramente que el principal determinante de la elevación de los niveles de PCR es la obesidad, con una pequeña influencia de los índices de resistencia a la insulina, pero no del SOP, en concordancia con los resultados de otros autores (101). En un trabajo posterior con una muestra más amplia de

sujetos, diseñado para evaluar la concentración de ferritina y las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado en pacientes con SOP, comunicamos de nuevo como la PCR mostraba una relación directa con el IMC independiente de la presencia de SOP (172).

Corroborando nuestros resultados, *Talbott y cols* (223), en un estudio diseñado para determinar la posible influencia de la PCR en el incremento del grosor intimomedial carotídeo (IMT) asociado al SOP, comunican como la correlación entre la concentración de PCR y el IMT desaparece en los modelos multivariantes cuando se ajusta por el IMC. Sin embargo, recientemente *Nasiek y cols.* (224) han comunicado un incremento de este marcador, en las pacientes independiente del grado de obesidad. *Moran y cols.* (225) han reportado como la concentración de PCR sin ser superior en pacientes obesas con SOP, si disminuye menos en estas pacientes tras pérdida de peso frente a lo observado en mujeres sin SOP, sugiriendo de nuevo un estado inflamatorio inherente al síndrome.

Un marcador inflamatorio que confiere un riesgo cardiovascular aumentado (226) implicado en el proceso de aterosclerosis (227), y recientemente evaluado por nuestro grupo en pacientes con SOP es la IL-18 (228). La IL-18 es un mediador que interviene en los estadios iniciales de la respuesta inflamatoria regulando la producción de TNF- $\alpha$ . Su concentración se encuentra elevada en nuestra población en relación con la obesidad y el propio SOP, mostrando un incremento inherente al grupo de pacientes que depende del tejido adiposo abdominal asociado al síndrome (228). Corroborando estos resultados, se ha comunicado una asociación entre la elevación de IL-18 en mujeres con SOP y la insulinoresistencia independiente de IMC estableciendo un nuevo nexo de unión entre la inflamación, la resistencia a la insulina y el síndrome (229).

La homocisteína es un intermediario del metabolismo del aminoácido metionina, cuya concentración circulante se ve modificada por factores nutricionales, étnicos, tabaquismo, actividad física, inflamación crónica e insulinemia. Esta última correlaciona directamente con las concentraciones de homocisteína al inhibir la actividad hepática de la cistationina  $\beta$  sintasa (230). El incremento de homocisteína se ha asociado con un aumento del estrés oxidativo, una disminución del flujo vascular y un estado protrombótico, que conduce al aceleramiento del proceso de aterosclerosis (231-233). Estudios en pacientes con SOP han mostrado un incremento de la concentración de homocisteína (230, 234), relacionado con el hiperinsulinismo y parámetros de resistencia a la insulina (230). Se ha constatado una disminución de homocisteína tras tratamiento con pioglitazona (235) y acetato de ciproterona

(236), en relación con una mejoría en los parámetros de insulinoresistencia, pero no así con la metformina (235, 237), debido al déficit de absorción de vitamina B12 asociado a este fármaco (237).

El ácido úrico ejerce acciones proinflamatorias, prooxidantes y proliferativas a nivel endotelial que pueden incrementar el riesgo cardiovascular (238, 239). El aumento de las concentraciones de ácido úrico está relacionado con eventos cardiovasculares en sujetos de alto riesgo (240, 241), aunque esta relación es menos clara en la población general (242-245), debatiéndose actualmente si el ácido úrico es realmente un agente causal, o un mero marcador de riesgo cardiovascular. A favor de un papel causal, el descenso de la concentración de ácido úrico en pacientes de alto riesgo mediante el bloqueo de la xantina oxidasa con alopurinol provoca una mejoría de la función endotelial (246, 247), y una reducción de eventos cardiovasculares (248, 249). Aún más, el descenso de las concentraciones de ácido úrico observado durante el tratamiento con el bloqueante del receptor de angiotensina II losartan (250), y con atorvastatina (251) ha sido interpretado como un factor asociado a la disminución de eventos cardiovasculares con ambos fármacos.

En el SOP la adiposidad abdominal, obesidad, resistencia a la insulina, la inflamación crónica y el incremento del estrés oxidativo pueden influir sobre las concentraciones de ácido úrico. Sin embargo, los estudios que han evaluado las concentraciones de ácido úrico en las pacientes con SOP hasta la fecha son escasos, y muestran resultados contradictorios (252-254).

La aldosterona es un marcador de riesgo cardiovascular (255) asociado con un incremento de mortalidad. Podría facilitar la fibrosis cardíaca y vascular mediante la activación de un estado inflamatorio perivascular, caracterizado por un incremento del estrés oxidativo y un fenotipo profibrótico (256). Existe una estrecha relación entre la aldosterona y la resistencia a la insulina, relacionándose el incremento de la concentración de aldosterona con un aumento de la incidencia de intolerancia a los hidratos de carbono (257). Estas alteraciones cardiovasculares se producen ya dentro del rango de normalidad establecido para la aldosterona. Pues bien, recientemente se ha comunicado un incremento de la concentración de aldosterona en pacientes con SOP del sur de Italia (258). La concentración de aldosterona correlacionó con parámetros de inflamación y marcadores de aterosclerosis subclínica y fueron determinados por la resistencia a la insulina e hiperinsulinismo (258).

Las mujeres con SOP presentan un descenso de la capacidad fibrinolítica (259, 260), relacionada con un incremento de la tasa de abortos en el primer trimestre del embarazo

(261), y la posibilidad de un incremento del riesgo cardiovascular a largo plazo (259, 262). La alteración más estudiada es un incremento en la función del inhibidor de la activación del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), que es regulado al alza por la insulina (263). Se ha comunicado un incremento de sus niveles en el SOP con una elevada tasa de abortos en el primer trimestre de embarazo junto con un polimorfismo en el gen que codifica para este factor induciendo un aumento de su síntesis (264), describiéndose una disminución en la tasa de abortos con metformina no asociado a una disminución en la concentración ni funcionalidad del PAI-1 (264, 265). Este polimorfismo también se ha descrito en pacientes sin antecedentes de abortos de repetición en un estudio en mujeres griegas (266), aunque los resultados en población no seleccionada no son uniformes y se discute que la elevación de PAI-1 sea un hecho inherente al SOP (267). Se ha comunicado una mejora de la fibrinólisis, con descenso de la concentración y funcionalidad del PAI-1, tras la administración de troglitazona, que correlacionó con el descenso de la insulinemia tras el tratamiento (268).

Las metaloproteinasas de la matriz (MMP, del inglés *matrix metalloproteinases*) son una familia de enzimas proteolíticas implicadas en el remodelado de la matriz extracelular, y la ruptura de la zona vulnerable de las placas de aterosclerosis, cuyas concentraciones circulantes se encuentran elevados en síndromes coronarios agudos y en la isquemia cerebral (269). En el ovario están relacionadas con la ruptura folicular y la liberación del ovocito. Por otro lado, se consideran reactantes de fase aguda que se elevan en situaciones de incremento del estrés oxidativo y en respuesta a citoquinas inflamatorias (269). Una de sus variantes, la MMP-9, se ha relacionado con un incremento de eventos cardiovasculares (270). En mujeres obesas con SOP se han comunicado concentraciones aumentadas de los subtipos MMP-2 y 9, de forma inherente al síndrome, que se mantienen tras ajustar por edad, IMC, ICC y testosterona, estableciendo un nuevo nexo de unión entre el SOP, la inflamación y la enfermedad cardiovascular (271).

### **Disfunción endotelial.**

El endotelio presenta multitud de funciones regulando el tono vascular, adhesión celular y plaquetaria, y la proliferación de la capa muscular lisa subyacente. Se define como disfunción endotelial a la pérdida del equilibrio en esta regulación que antecede al proceso de arteriosclerosis y se encuentra en la base de los eventos cardiovasculares (272, 273).

La regulación del tono vascular por parte del endotelio se realiza a través de un fino equilibrio entre el efecto ejercido por agentes vasodilatadores y vasoconstrictores. Existen tres agentes vasodilatadores fundamentales, el óxido nítrico (NO), la prostaciclina y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio. El NO es una molécula ubicua a nivel del organismo con función vasodilatadora a nivel vascular, antiagregante, antiadherente, antiproliferativa a nivel de las células musculares lisas y antiinflamatoria a nivel subendotelial.

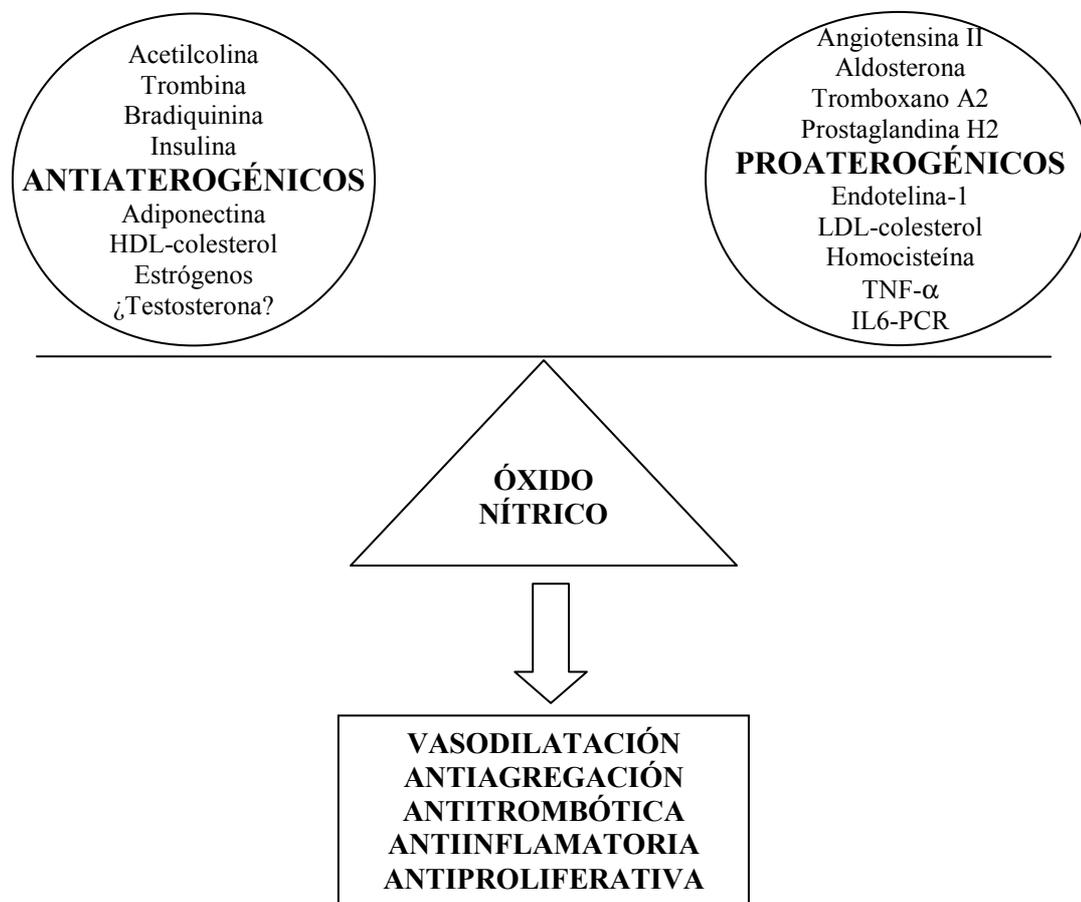
El NO se sintetiza en la célula endotelial a partir de la L-arginina gracias a la NO sintasa endotelial, (eNOS) (272). La eNOS inducible se expresa en situaciones de inflamación crónica, y puede conducir a una desensibilización parcial del endotelio a su efecto vasodilatador. El NO a través de la activación de una guanilato ciclasa conduce a la producción de GMPc, disminuyendo la concentración de calcio intracelular en la célula muscular lisa e hiperpolarizando la membrana gracias a la entrada de potasio lo que conduce a la relajación arterial. El NO estimula la síntesis del factor I-κB, inhibidor del factor nuclear NF-κB (273), e inhibe la expresión de moléculas de adhesión como la ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina que facilitan la fijación de los monocitos al endotelio y su migración subendotelial.

Las sustancias implicadas en la producción de NO se muestran en la **Figura 6**. Actuando en contraposición a estos estímulos existen una serie de factores, que en condiciones fisiológicas se encuentran en equilibrio con el NO, favoreciendo la vasoconstricción arterial, la adhesividad de la superficie endotelial y los mecanismos proliferativos, como son la prostaglandina H<sub>2</sub>, la endotelina-1 (ET-1) y la angiotensina II (A-II).

La A-II ejerce sus efectos a través del receptor AT1 que induce la vasoconstricción de la célula muscular lisa, además de incrementar la producción del anión superóxido (273). Éste y otras ROS inhiben la síntesis de NO, debido a la estimulación de la NADPH oxidasa y al desacoplamiento de la fosforilación oxidativa mitocondrial, incrementándose la producción del agente prooxidante peroxinitrito.

A este respecto cabe destacar como en el SOP se ha descrito un incremento del estrés oxidativo (87) y de los productos finales derivados de la glucosilación no enzimática (AGEs), que aumentan la producción de ROS. Otra de las acciones de la AII es incrementar la producción de ET-1, facilitar la acción vasoconstrictora de las catecolaminas e inducir la

proliferación de las células musculares lisas subendoteliales, mediante la expresión de receptores de factores de crecimiento, activando la vía de la MAPK implicada en los mecanis-



**Figura 6. Regulación de la producción de NO y función endotelial.** El NO es el principal regulador de la función endotelial gracias a su acción vasodilatadora, antiagregante, antitrombótica, antiinflamatoria y antiproliferativa. Sobre la propia síntesis de NO y la función endotelial actúan multitud de factores, dependiendo el correcto funcionamiento del mismo del mantenimiento de un equilibrio entre los factores proaterogénicos y antiaterogénicos.

mos proliferativos y a través de un aumento en la expresión del factor TNF- $\beta$ 1. Las partículas LDL-oxidadas disminuyen la expresión de eNOS y promueven el traslado de las moléculas de NO de la membrana al interior celular, lo que favorece la migración de dichas partículas al espacio subendotelial y su fagocitación por parte de los macrófagos. Las HDL-colesterol unidas a estradiol inducen la síntesis y liberación de NO. Los estrógenos inducen la expresión de eNOS, disminuyen la adhesión leucocitaria a la superficie endotelial, la migración y proliferación de las células musculares lisas e incrementan la producción de prostaciclina (274). El efecto de la testosterona en la mujer es más controvertido (275). La exposición arterial a dosis suprafisiológicas de testosterona produce un efecto vasodilatador agudo no

mediado genómicamente, y que probablemente se relaciona con una regulación directa de los canales iónicos (275). La testosterona induce la expresión de la eNOS y consecuentemente aumenta la concentración de NO a nivel local. Se ha comunicado como la administración de testosterona a mujeres postmenopáusicas mejora la dilatación arterial dependiente de la producción de óxido nítrico (276). Además, recientemente se ha reportado como la dihidrotestosterona disminuye en cultivos de células endoteliales la expresión de TNF- $\alpha$  y moléculas de adhesión regulando la función del NF- $\kappa$ B (277). Pese a estos resultados, los varones presentan en todos los estudios de función endotelial una peor respuesta que las mujeres premenopáusicas, por lo que es posible que otras alteraciones estén actuando en las diferencias entre géneros (278).

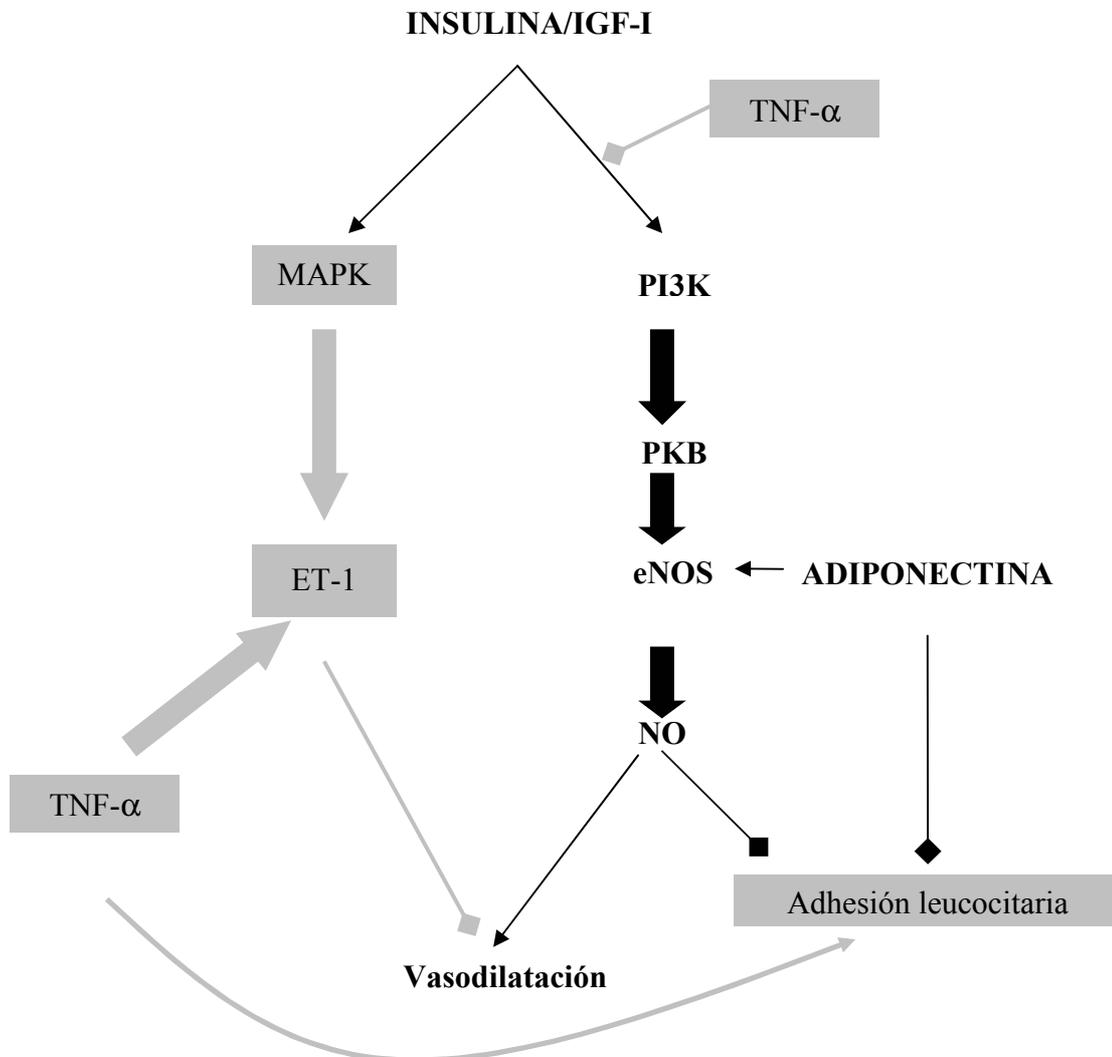
Otras hormonas que regulan la función endotelial son la insulina e IGF-I (279) (**Figura 7**). La insulina induce de forma directa la expresión de eNOS a través de la vía de la PI-3K y tiene un efecto vasodilatador neto, a la vez que favorece la proliferación de la célula muscular lisa y la producción de ET-1 a través de un efecto mediado por MAPK.

En condiciones fisiológicas prevalece la producción de NO por lo que se le puede considerar una molécula vasodilatadora y antiinflamatoria, mientras que en situaciones de resistencia a la insulina, que conllevan un hiperinsulinismo secundario, parece verse afectada la ruta de la PI-3K, favoreciéndose la vasoconstricción y la proliferación celular.

El incremento de los ácidos grasos libres característico de la resistencia a la insulina incrementa el potencial redox debido al acúmulo de NAPH, y la deficiencia en tetradihidrobioterina contribuiría al desacoplamiento de la eNOS sintasa, con disminución del NO y aumento del peroxinitrito (280).

Estas alteraciones se ven favorecidas por numerosos mediadores que se producen a nivel del tejido adiposo, como TNF- $\alpha$  (281). Esta citoquina disminuye las concentraciones de NO, incrementa la producción de ET-1 y aumenta la expresión de moléculas de adhesión. La IL-6, directamente o a través de su marcador fisiológico la PCR, altera la relajación arterial mediada por NO y estimula la proliferación endotelial y angiogénesis, incrementando la expresión de moléculas de adhesión (281). Por el contrario, la adiponectina incrementa la síntesis de NO, induciendo la expresión de la eNOS, disminuye la expresión de moléculas de adhesión y disminuye la captación de LDL-oxidadas y la formación de células espumosas (281). Los agonistas del receptor PPAR $\gamma$  mejoran la función endotelial por un mecanismo independiente del descenso en la resistencia a la insulina, incrementando la expresión de la

eNOS sintasa (282). La hiperhomocisteinemia a corto plazo incrementa la producción de NO, pero la exposición crónica ejerce un efecto deletéreo disminuyendo su síntesis, y favoreciendo mecanismos de inflamación local, aterotrombosis y agregación plaquetaria (232).



**Figura 7. Efectos de las adipocitoquinas sobre las rutas de señalización de la insulina en el endotelio.** La insulina actúa en el endotelio estimulando tanto la síntesis de NO, siguiendo la ruta PI3K/PKB/eNOS, como la producción de ET-1 por la ruta de la MAPK. Adiponectina y TNF- $\alpha$  interactúan por rutas en el endotelio. La ruta antiaterogénica y antiinflamatoria están dibujadas en negro y las rutas proaterogénicas en gris. Adaptado de referencia (281). *Abreviaturas*, MAPK, *mitogen-activated protein kinase*; PI3K, *fosfatidilinositol-3-kinasa*; PKB, *proteín quinasa B*; eNOS, *óxido nítrico sintasa endotelial*; ET-1, *endotelina-1*; TNF- $\alpha$ , *factor de necrosis tumoral  $\alpha$* .

La presencia de disfunción endotelial se puede determinar por las concentraciones circulantes de factores implicados en la regulación endotelial, o bien, podemos llevar a cabo pruebas funcionales que valoran la respuesta vascular a estímulos vasodilatadores, y

consecuentemente, la integridad de la función endotelial (273). Entre estos últimos se encuentran las técnicas de pletismografía que evalúan la función endotelial microvascular en arterias de resistencia, la tomografía por emisión de positrones, o las pruebas ecográficas que por su facilidad y correlación con disfunción endotelial a nivel coronario y la presencia de aterosclerosis, se han generalizado para el estudio de la función endotelial macrovascular en arterias de conductancia.

En estas pruebas, se somete a una arteria periférica, generalmente la arteria braquial, a un periodo de isquemia mediante la compresión externa con un manguito de presión arterial, valorando la respuesta vasodilatadora del endotelio mediada por el incremento de flujo (FMD) sobre la superficie endotelial tras la retirada del manguito, que va a depender de la producción de NO. Posteriormente, se administra externamente un nitrato donante de NO, y se valora la respuesta vasodilatadora que en este caso es independiente del endotelio (NTG).

Este método fue ideado por *Celermeyer* y cols. (283) a principios de los 90, y ha demostrado ser un método sencillo y fácil de repetir, que correlaciona directamente con la presencia de disfunción endotelial a nivel de las arterias coronarias (284), aunque su reproducibilidad depende de aspectos ambientales y técnicos que se deben tener en cuenta (285), siendo el principal determinante del resultado final el diámetro basal de la arteria, debiendo ajustarse el análisis final a este parámetro (285).

Los estudios acerca de la presencia de disfunción endotelial en el SOP no son concluyentes. *Mather* y cols. (286) en el año 2000 estudian a 18 mujeres obesas con SOP (criterios NICHHD), de  $32,7 \pm 1,9$  años de media, frente a 19 controles pareados por edad, pero más delgadas que las pacientes, no encontrando diferencias en la FMD ni NTG. *Paradisi* y cols. (287) comunican poco después el hallazgo de una alteración en la vasodilatación dependiente de endotelio en arterias de resistencia en respuesta a metacolina e insulina, mediante técnica de pletismografía sobre la arteria femoral, en el estudio de 12 pacientes obesas (criterios NICHHD) y 13 controles pareados por edad e IMC. En este trabajo los principales determinantes de la presencia de disfunción endotelial fueron las concentraciones de testosterona libre y el IMC. Los mismos autores comunican posteriormente la restauración de una respuesta vasodilatadora normal determinada con la misma técnica tras el tratamiento con troglitazona (288).

*Kelly* y cols. (289), comunican en un estudio *ex vivo* que pacientes obesas con SOP presentan una dilatación dependiente de endotelio microvascular equiparable a los controles, valorada mediante la administración de acetilcolina en arteriolas de resistencia extraídas de

biopsia glútea, aunque si reportan un incremento de la presión de pulso en la arteria braquial, que se relaciona con un incremento de la rigidez arterial, y una respuesta vasodilatadora atenuada frente a insulina en arterias de resistencia. Las mujeres de su grupo control, aunque pareadas por IMC, eran significativamente mayores que las pacientes.

En pacientes jóvenes con normopeso, *Orio* y cols. (290) han comunicado un descenso de la FMD frente a un grupo control pareado por edad e IMC, aunque las pacientes presentaban un diámetro basal mayor que las pacientes no ajustándose por este parámetro. En este mismo estudio se comunica un incremento de la concentración de ET-1, que corrobora los resultados de *Diamanti-Kandarakis* y cols. (291), que reportaron un incremento de su concentración tanto en pacientes obesas como con normopeso, así como un descenso de la misma, y mejoría en la FMD (292), tras tratamiento con metformina. Estos mismos autores, comunican posteriormente en un estudio no controlado como la administración de metformina durante 6 meses incrementa la FMD y desciende la concentración de ET-1 en un grupo de 30 pacientes jóvenes con normopeso (293). En una serie ampliada posterior comunican de nuevo un descenso de la FMD en pacientes con normopeso y sobrepeso, pero no en el grupo de pacientes obesas (294), siendo uno de los determinantes de la dilatación arterial la hiperinsulinemia y el descenso de adiponectina. *Meyer* y cols., en 2 estudios consecutivos han comunicado un descenso del FMD en pacientes obesas con SOP (criterios *Rotterdam*) que correlaciona con parámetros de hiperinsulinismo (208, 295). Esta relación con la insulina confirma los resultados de otros autores, que además han asociado esta disfunción endotelial del SOP con un marcador de inflamación crónica como es la PCR, pero no con la testosterona (296). Esta asociación ha sido recientemente contrastada por *Diamanti-Kandarakis* y cols. (297).

Sin embargo, *Kravariti* y cols. (298) relacionan la presencia de disfunción endotelial tanto con el hiperinsulinismo, como con las concentraciones de testosterona y colesterol, en un estudio con un pequeño grupo control no ajustado por el diámetro basal de la arteria (criterios *Rotterdam*). Recientemente, se ha comunicado una relación inversa entre la disfunción endotelial determinada por pletismografía de arterias de resistencia y la concentración de DHEAS en mujeres con SOP (299). Las alteraciones pletismográficas no han podido ser confirmadas en otros trabajos en población griega (300) e inglesa (301). Para continuar con la controversia acerca de la disfunción endotelial en mujeres con SOP, 4 estudios recientes han mostrado resultados contradictorios. *Nácul* y cols. (302) no encuentran diferencias entre las concentraciones de metabolitos del óxido nítrico en mujeres con SOP

frente a un grupo control. *Franks* y cols. (303) llevan a cabo un estudio en población inglesa con 14 mujeres que cumplían tanto los criterios diagnósticos del NICHD como de *Rotterdam*, y 13 mujeres control, en el que evalúan los cambios en el diámetro basal de la arteria braquial en fase de hiperemia y tras administración de nitratos mediante RMN, comunicando la presencia de un menor FMD en las pacientes tanto en fase folicular como lútea tardía, sin diferencias en la vasodilatación independiente de endotelio. Simultáneamente, *Brinkwoth* y cols. (304), en un trabajo con 12 mujeres (criterios *Rotterdam*) frente a 10 controles, todas ellas con sobrepeso y obesidad, evaluadas mediante ecografía doppler de la arteria braquial no consiguen demostrar diferencias en la vasodilatación dependiente de endotelio. *Dokras* y cols. (305), en 24 mujeres (criterios NICHD) frente a 22 controles, evaluadas mediante técnica de pletismografía no encuentran diferencias en la vasodilatación dependiente ni independiente de endotelio de la arteria braquial, aunque si una menor respuesta tanto dependiente como independiente de endotelio en las pacientes obesas frente a las pacientes con normopeso. Recientemente, se ha comunicado como las pacientes con SOP no presentan disfunción endotelial cuando se comparan con controles sanos al contrario de las alteraciones mostradas por las mujeres con DM2, sugiriendo un efecto diferencial dependiente de la fisiopatología relacionada con la resistencia a la insulina sobre el endotelio (306).

En conclusión, los estudios sobre arterias de resistencia parecen demostrar la presencia de esta disfunción en el SOP. Los trabajos en arterias de conductancia realizados con ecografía doppler, no son concluyentes ni muestran resultados homogéneos (**Tabla 5**). Es más, parece existir una relación directa entre los niveles de insulina y la capacidad de dilatación arterial dependiente de la producción de NO en estas pacientes. Por lo tanto, el papel exacto del hiperinsulinismo, andrógenos y factores de inflamación sobre el endotelio de las pacientes con SOP permanece por elucidar.

### **Estudios ecocardiográficos.**

La masa ventricular izquierda (LVM) depende de la presión arterial media a lo largo de las 24 horas y refleja la respuesta cardiaca a la postcarga. Existe una asociación entre la hipertrofia ventricular izquierda, la resistencia a la insulina (307) y la obesidad abdominal (308). Aunque inicialmente no se encontró un incremento de la LVM en un pequeño estudio en pacientes con SOP (204), trabajos posteriores han reportado un incremento de ésta (309), y fundamentalmente de forma bastante homogénea, una alteración de la relajación ventricular

Autores	Características basales			Técnica	Resultados		Correlación	P
	Pacientes	Controles			Pacientes	Controles		
Mather y cols. (286)	N: 18 (NIH); Edad: 32,7 ± 1,9 ; IMC: 31,9 ± 2,5.	N: 19; Edad: 32,4 ± 1,4; IMC: 23,3 ± 0,8.	FMD* NTG*	8,7 ± 0,8 23,9 ± 1,9	9,0 ± 0,7 23,0 ± 1,2	- HbA1c	No No	
Paradisi y cols. (287)	N: 12 (NIH) †; Edad: 29,1 ± 1,8; IMC: 36,7 ± 1,6.	N: 13; Edad: 35,0 ± 2,2; IMC: 35,8 ± 1,7.	LBF femoral LVR femoral	29,5 ± 14,8 224 ± 18	58,6 ± 15,5 279 ± 27	- IMC - FT	Si Si	
Kelly y cols. (289)	N: 19 (NIH + Rotterdam); Edad: 26,0 ± 5,8; IMC: 33,2 ± 7,0.	N: 12; Edad: 34,0 ± 5,4; IMC: 32,7 ± 7,6.	PWV braquial Miografía glútea	9,1 (8,3-11,2) † 88,0 ± 4,2	8,27 (7,5-9,0) † 86,0 ± 5,1	No realizadas	Si No	
Orio y cols. (290)	N: 30 (NIH); Edad: 22,2 ± 2,5; IMC: 22,4 ± 2,1.	N: 30; Edad: 22,6 ± 2,3; IMC: 22,1 ± 1,8.	FMD ET-1	14,3 ± 1,9 1,1 ± 0,4	18,1 ± 2,0 0,5 ± 0,2	+ AUC glu / AUC ins - Idem / + SBP	Si Si	
Carmina y cols. (294)	N: 50 (NIH); Edad: 25,2 ± 1; IMC: 28,7 ± 0,8	N: 50; Edad: 25,1 ± 0,7; IMC: 28,5 ± 0,5.	FMD	15,6 ± 0,6	18,2 ± 0,8	+ insulina y - adiponectina en controles	Si	
Tarkum y cols. (296)	N: 37 (Rotterdam); Edad: 23,5 ± 4,3; IMC: 23,9 ± 3,3.	N: 25; Edad: 24,4 ± 4,1; IMC: 22,9 ± 3,0.	FMD* NTG*	9,9 ± 3,0 17,1 ± 4,3	14,6 ± 5,2 21,7 ± 8,7	- QUICKI y PCR (FMD)	Si Si	
Meyer y cols. (207, 295)	N: 100 (NIH); Edad: 32,7 ± 1,8; IMC: 37,3 ± 2,4.	N: 20; Edad: 33,2 ± 2,3; IMC: 36,7 ± 1,3.	FMD PWVAofemoral	9,8 ± 0,4 7,4 ± 0,1	13,3 ± 0,9 6,6 ± 0,2	- Insulina, HOMA y ICC; + SHBG	Si No	
Kravaranti y col. (298)	N: 62 (Rotterdam); Edad: 22,7 ± 4,0; IMC: 27,6 ± 5,4.	N: 17; Edad: 24,8 ± 5,7; IMC: 25,0 ± 4,3.	FMD NTG	4,1 ± 2,7 18,3 ± 5,9	9,1 ± 4,0 24,5 ± 6,0	- AUC ins, CT y TT (FMD)	Si Si	
Dagre y cols. (299)	N: 27 (NIH); Edad: 25,6 ± 5,8; IMC: 28,4 ± 6,6.	N: 13; Edad: 25,7 ± 5,6; IMC: 23,2 ± 2,7.	Pletismografía braquial (RH)	63,8 ± 13,3	113,2 ± 20,9	+ E2 y DHEAS	Si	
Diamanti-Kandarakis y cols. (297)	N: 25 (NIH); Edad: 25,6 ± 0,9; IMC: 29,1 ± 1,4.	N: 25; Edad: 27,5 ± 1,0; IMC: 26,2 ± 1,2.	FMD NTG ET-1	3,5 ± 0,8 29,1 ± 1,4 6,9 ± 0,6	9,3 ± 1,0 26,2 ± 1,2 5,1 ± 0,6	- PCR	Si No	
Sorensen y cols. (303)	N: 14 (NIH); Edad: 33,4 ± 3,6; IMC: 25,1 ± 3,8.	N: 13; Edad: 32,7 ± 5,7; IMC: 24,7 ± 3,9.	FMD NTG	2,5 ± 4,7 44,2 ± 8,9	11,5 ± 5,7 44,0 ± 19,0	PCOS	Si No	
Brinkworth y cols. (304)	N: 12 (Rotterdam); Edad: 31,9 ± 1,8; IMC: 36,2 ± 1,7.	N: 10; Edad: 37,2 ± 1,7; IMC: 34,4 ± 1,5.	FMD*	6,1 ± 1,2	5,6 ± 1		No	
Dokras y cols. (305)	N: 24 (NIH); Edad: 26,7 ± 4,3; IMC: 29,7 ± 4,6.	N: 22; Edad: 30,2 ± 6,4; IMC: 28,9 ± 5,3.	Pletismografía braquial ACh/Bk NTG/Verapamil			+ BMI	No No	

**Tabla 5. Trabajos sobre disfunción endotelial en SOP.** \* Resultados ajustados por diámetro basal arterial. † No se descartan causas secundarias de hiperandrogenismo. Edad e IMC se expresan en medias de años y kg/m<sup>2</sup> ± DE. ‡ Mediana (valor mínimo-valor máximo). Abreviaturas, *ACh*, acetil colina; *Bk*, bradiquinina; *NTG*, nitroprusiato; *NIH*, criterios diagnósticos del *National Institute of Health*; *FMD*, dilatación mediada por flujo (dependiente de endotelio); *NTG*, dilatación independiente de endotelio; *LBF*: flujo sanguíneo femoral tras metacolina e insulina; *LVR*, resistencia vascular femoral; *PWV*, presión de la onda de pulso; *ET-1*, endotelina-1; *FT*, testosterona libre; *TT*, testosterona total; *AUC*, área bajo la curva tras sobrecarga oral de glucosa; *SBP*, presión arterial sistólica; *RH*, hiperemia reactiva. La miografía glútea se refiere a la respuesta de arteriolas de resistencia obtenida tras biopsia glútea a la infusión de vasodilatadores (evalúa dilatación dependiente de endotelio).

compatible con un patrón de disfunción diastólica no restrictiva (254, 309, 310), que se describe desde edades tempranas y se relaciona con parámetros de resistencia a la insulina e hiperinsulinismo. Otro parámetro ecocardiográfico es la reserva de flujo coronaria (CFR) que se define como la capacidad para incrementar el flujo sanguíneo coronario mediante la disminución del tono vasomotor y que se ve comprometida además de por la estenosis de las arterias apicales, cuando la microcirculación se ve alterada por la HTA, DM, hipercolesterolemia y la hipertrofia ventricular izquierda (311). Se ha encontrado una disminución de la CFR en un grupo de pacientes con SOP en relación con la resistencia a la insulina, demostrando una mejoría de este parámetro tras la administración de metformina (311).

### **Capacidad funcional cardiopulmonar.**

El descenso en la capacidad funcional cardiopulmonar se ha mostrado como predictor de mortalidad y eventos cardiovasculares (312, 313). La capacidad funcional ha sido evaluada en mujeres jóvenes con SOP mediante la determinación del consumo máximo de oxígeno, observándose un descenso del mismo junto con una menor capacidad de carga de trabajo (314, 315), lo que se traduce en un descenso de la capacidad funcional que correlaciona directamente con índices de resistencia a la insulina (314, 315), mejorando tras tres meses de entrenamiento físico programado (316).

### **Marcadores de aterosclerosis en el SOP.**

Las lesiones arterioscleróticas se caracterizan microscópicamente por engrosamiento de la pared arterial, con reducción de su elasticidad y estrechamiento de la luz como consecuencia del acúmulo de los macrófagos cargados de lípidos, y en menor medida por la proliferación de las células musculares lisas (317). La determinación del grosor intimomedial carotídeo (IMT de *intima media thickness*) se ha demostrado como un marcador validado, sensible y específico de aterosclerosis sistémica en estadios precoces, y predice el riesgo de eventos cardiovasculares mayores (318). Su reducción en respuesta a la administración de estatinas se relaciona con una disminución de eventos cardiovasculares (318). Es más, disponemos de valores normalizados en población sana francesa (319) y española (320).

En mujeres sanas, el descenso en los niveles normales de andrógenos asociado a la edad se relaciona con un incremento del IMT (321), relacionándose además de forma directa con la edad, el tabaquismo y el acumulo adiposo abdominal subcutáneo, y de forma inversa con la adiponectina (322). El IMC es un factor potenciador del efecto de la hipertensión arterial sobre el incremento del IMT (323), y la obesidad *per se*, se relaciona con un incremento del IMT desde edades tempranas de la vida (324). El hiperinsulinismo y la resistencia a la insulina se asocian con un incremento del grosor del IMT.

Varios de estos factores de riesgo están presentes en las mujeres con SOP, y por ello, la determinación del IMT se convierte en un marcador adecuado de la presencia de aterosclerosis subclínica en estas mujeres (**Tabla 6**). *Talbott* y cols. (325) evalúan este marcador en el SOP en una muestra grande, y ven como las pacientes mayores de 45 años presentan valores de IMT superiores a las controles de la misma edad, mientras que las pacientes jóvenes presentaron valores similares a los del grupo control. En el análisis de los factores relacionados con este incremento, el principal determinante en las mujeres jóvenes fue la presión arterial sistólica, mientras que en las pacientes mayores la presencia del síndrome junto con los niveles de LDL-colesterol se asociaba con un incremento del IMT independiente de la edad y del IMC. Tras ajustar por los niveles de insulina y el ICC, la relación del SOP con el IMT desaparecía quedando como principal determinante la obesidad (325), subrayando el papel del hiperinsulinismo y depósito adiposo abdominal asociado al síndrome sobre este marcador de aterosclerosis. Dos estudios posteriores en mujeres jóvenes con SOP inglesas diagnosticadas por criterios ecográficos (326) y en pacientes italianas (criterios NIDDM) (290), muestran un incremento del IMT en edades más tempranas que las pacientes de *Talbott* y cols., que se mantiene tras ajustar por factores de riesgo tradicionales, tanto a nivel carotídeo como femoral en las pacientes inglesas, junto a un incremento de la rigidez de la pared arterial carotídea (327), y que se correlaciona en el análisis multivariante con el índice androgénico libre en el estudio italiano.

Se ha reportado un aumento del IMT en pacientes de 18 a 22 años de edad, manteniéndose el propio SOP, junto con el IMC y el descenso de los niveles de SHBG como los determinantes de este incremento de grosor (328). Con el objeto de aclarar la contribución de las alteraciones metabólicas y la hiperandrogenemia al incremento del IMT en esta patología *Vryonidou* y cols. (329), conducen un estudio con 75 pacientes con SOP con una media de 23 años frente a 55 controles sanos pareados por edad e IMC, recogiendo los antecedentes familiares de DM, dislipemia y enfermedad coronaria. Los autores demuestran

de nuevo un incremento del IMT determinado por el SOP, edad, IMC, y la historia parental de enfermedad coronaria, mostrando los niveles de DHEAS una relación inversa con el IMT, y explicando estos factores el 68% de la variabilidad del IMT (329). Al aplicar el modelo al grupo de pacientes, los determinantes del 48,2% de la variabilidad del IMT fueron el DHEAS, D4 y HDL-colesterol, todos ellos como predictores negativos. Añadiendo controversia a estos resultados *Meyer* y cols. (295) y *Alexandraki* y cols. (300), han comunicado que no existen diferencias en el IMT en pacientes australianas con una media de edad de 33 años frente a un grupo control, y pacientes griegas respectivamente, aunque *Carmina* y cols.(294), han reportado recientemente un incremento del IMT en mujeres con SOP jóvenes, tanto en normopeso, sobrepeso como en obesidad, con una relación directa con los niveles de insulina, e inversa con el QUICKI y los niveles de adiponectina, así como una mejoría del IMT tras tratamiento con metformina (293) . Este mismo grupo italiano en un trabajo en el que se evalúa la influencia de la aldosterona en marcadores de inflamación, insulinoresistencia y aterosclerosis subclínica en el SOP comunica un incremento del IMT que correlaciona con los niveles de esta hormona, cuyos principales determinantes a su vez son parámetros de insulinoresistencia e hiperinsulinismo (258).

En conclusión, diferentes trabajos parecen confirmar un incremento de este marcador de aterosclerosis en las pacientes con SOP, aunque los resultados nuevamente no son homogéneos entre las diferentes poblaciones. La contribución de la resistencia a la insulina y el hiperandrogenismo, factor de riesgo o protección, permanecería también por aclarar.

En 1997, *Birdsall* y cols. (330) comunican en mujeres pre- y postmenopáusicas en las que se había realizado una coronariografía diagnóstico-terapéutica una mayor extensión de las lesiones coronarias en presencia de morfología poliquística ovárica, sugiriendo una mayor arteriosclerosis coronaria en este grupo de pacientes. Un método no invasivo de evaluar la enfermedad coronaria es la determinación de la calcificación coronaria, un marcador radiológico de aterosclerosis, mediante EBCT (del inglés *electrón beam computed tomography*) (331). Existen dos trabajos que han empleado esta técnica en mujeres con SOP: *Christian* y cols. (331), comunican una mayor prevalencia (39%) y extensión de calcificación coronaria en este grupo de pacientes, que presentaban una edad media de 38 años y un IMC elevado, frente a un grupo control (21%) y frente a los valores obtenidos de un amplio estudio poblacional (9,9%). No obstante, aunque las edades de los 3 grupos de mujeres eran similares, tanto el grupo control como las mujeres con SOP presentaban IMC superiores a la media del estudio poblacional. En relación con este factor, en el análisis multivariante, el SOP no fue de

Autores	Resultados	Asociación	
		Positiva	Negativa
Talbot y cols.(325)	Incremento del IMT en > 45 años	Obesidad	
Lakhani y cols. (326)	Incremento del IMT carotídeo y femoral	SOP	
Orio y cols. (290)	Incremento del IMT	IAL	
Vural y cols.(328)	Incremento del IMT	SOP IMC	SHBG
Vryonidou y cols. (329)	Incremento del IMT		DHEAS D4 HDL-colesterol
Meyer y cols. (208)	No diferencias frente a controles		
Alexandraki y cols. (300)	No diferencias frente a controles		
Carmina y cols. (294)	Incremento del IMT	Insulina	QUICKI Adiponectina
Casella y cols. (258)	Incremento del IMT	Aldosterona	

**Tabla 6. Estudios ecográficos del IMT en mujeres con SOP.** Abreviaturas, IAL, índice androgénico libre; SHBG, sex hormone binding globulin; DHEAS, dihidroepiandrosterona sulfato.

terminante de estas alteraciones tras ajustar por el IMC, mostrándose como predictoras de calcificación coronaria las alteraciones del perfil lipídico (331). Posteriormente, se ha realizado un estudio prospectivo, en una cohorte de 61 pacientes y 85 controles norteamericanos, seguidos durante 9 años, relacionando la presencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos evaluados al inicio del estudio, con la presencia de calcificación coronaria y aórtica al final del seguimiento determinada por EBCT (332). En el momento de la evaluación final las pacientes y controles presentaron aproximadamente 50 años y presentaban IMC similares, alrededor de 25 kg/m<sup>2</sup>. Pues bien, en este trabajo se nos muestra como las pacientes con SOP presentaban una mayor extensión de calcificación coronaria, y una mayor prevalencia y extensión de calcificaciones aórticas. La prevalencia de calcificación coronaria fue mayor en el grupo de pacientes (45,9% vs 30,6%) rozando la significación estadística ( $P = 0,059$ ) (332). Cuando se analizaron los predictores de estas alteraciones, el SOP se presentaba como un factor de riesgo para la presencia de calcificación coronaria tras ajustar por el IMC, pero esta relación se atenuaba tras introducir en el modelo parámetros lipídicos y la insulina. Sin embargo, la calcificación aórtica se relacionó más con los niveles de testosterona libre que con la propia enfermedad tanto en pacientes como controles (332).

Recientemente, otro nuevo trabajo en población americana joven con SOP (criterios NICHHD) y obesidad confirma una mayor presencia de calcificación coronaria en estas pacientes determinada mediante tomografía computerizada cardiaca (333). En definitiva, estos estudios sugieren un incremento del riesgo de aterosclerosis coronaria en este grupo de mujeres.

### **Eventos cardiovasculares.**

Hasta el momento actual no se ha demostrado un incremento en el número de eventos cardiovasculares ni una edad de presentación más temprana de los mismos en las mujeres con SOP. Entre las posibles explicaciones se encuentran la escasez de estudios prospectivos que evalúen este aspecto, la heterogeneidad en el diagnóstico de los estudios retrospectivos, el factor de confusión de la implementación de medidas terapéuticas como la resección en cuña ovárica sobre la aparición de eventos, o bien, que realmente el SOP no confiera realmente un aumento de riesgo cardiovascular a medio-largo plazo (334).

En 1992, en un estudio en población sueca, se estima en un pequeño grupo de mujeres con evidencia histológica de morfología poliquística ovárica, que existe un riesgo relativo de presentar un infarto agudo de miocardio 7,4 veces superior frente a controles pareados por edad, basándose en un modelo de análisis de riesgo en el que se incluyen como factores la edad, hipertensión arterial, DM, obesidad central e hipertrigliceridemia (335). La población estudiada contaba con 33 pacientes con historia previa de resección en cuña ovárica y 132 controles pareados por edad (edad media 50 años), de las cuales un 30% y 56% eran mujeres postmenopáusicas en el grupo de pacientes y controles, respectivamente (335).

En un estudio de cohortes con aproximadamente 800 mujeres diagnosticadas principalmente por hallazgos histológicos tras laparotomía o resección en cuña ovárica, y seguidas durante 30 años en el Reino Unido, se comunica que las pacientes con SOP no presentan un riesgo aumentado de mortalidad por enfermedad coronaria, respecto a los datos de mortalidad estandarizada de la población general ni frente a controles, aunque si un incremento de eventos cerebrovasculares no fatales [OR 3,4 (1,2-9,6) tras ajustar por IMC] y de mortalidad relacionada con la DM [OR 3,6 (1,5-8,4)] (336, 337).

*Birdsall* y cols. (330), como ya se ha comentado, en mujeres con enfermedad coronaria ya diagnosticada comunican una prevalencia de morfología poliquística ovárica del 42% además de una mayor extensión de la estenosis coronaria en las pacientes que presentaban esta característica. *Cibula* y cols. (162), en un grupo de 28 pacientes checas de

51,9 años de media de edad seleccionada tras resección en cuña ovárica entre los años 1960-1971, y que presentaban en el momento del diagnóstico oligomenorrea secundaria a anovulación, hirsutismo y morfología poliquística ovárica, frente a un grupo de 752 controles pareados por edad y sexo, comunican una prevalencia estadísticamente significativa de enfermedad coronaria en las pacientes del 21% frente al 5% de los controles. Estos estudios se basan para el diagnóstico en el hallazgo histológico o ecográfico de quistes ováricos, que no siempre se acompañan de las alteraciones hormonales y metabólicas asociadas al síndrome, además de la realización de una intervención terapéutica como es la resección en cuña, que en muchas ocasiones logra una resolución a largo plazo de la sintomatología (338), introduciendo un sesgo en los resultados finales.

Otra de las características clínicas del SOP, las alteraciones menstruales, han sido relacionadas con un incremento de la enfermedad coronaria fatal y no fatal (339). En un subestudio del *Nurse's Health Study* (339), con una cohorte de aproximadamente 1.400 mujeres se relacionó la irregularidad menstrual con un incremento progresivo del riesgo de presentar un evento isquémico cardíaco, que se mantuvo tras ajustar por factores de confusión, aunque no se caracterizaba la etiología de la amenorrea. *Elting* y cols. (42), en un estudio en población holandesa con 342 mujeres [edad media: 38,7 (rango: 30,3-55,7); IMC: 24,4 (rango: 17,5-55,8)] diagnosticadas de SOP por oligomenorrea y aumento de la LH en presencia de FSH normal, frente a datos estandarizados de población alemana, comunican una mayor prevalencia de hipertensión arterial y DM, pero no de enfermedad cardíaca en ningún grupo de edad.

La presencia de signos clínicos de hiperandrogenismo, como el hirsutismo y acné, se ha descrito en una elevada proporción de mujeres con enfermedad coronaria, asociándose con una mayor severidad de la enfermedad (340), aunque no se ha podido constatar un incremento de los niveles de andrógenos ni en mujeres pre- ni postmenopáusicas que han desarrollado eventos cardiovasculares (341, 342).

Existen datos de morbi-mortalidad cardiovascular de un estudio epidemiológico con una cohorte inicial de más de 200 pacientes y 200 controles de la comunidad, basando el diagnóstico de SOP en la presencia de hiperandrogenismo ovárico y anovulación, con un seguimiento en el momento actual de 10 años realizado por la Universidad de *Pittsburg* (343). En los datos preliminares se ha comunicado entre las pacientes con SOP, 2 IAM, 4 casos de *angor pectoris*, un caso de angioplastia y otro de by-pass coronario, frente a ningún caso entre los controles confirmando a las mujeres con SOP una OR de un evento cardiovascular de 5,9

(IC: 0,7-135,6), que se mantiene tras ajustar por IMC, lípidos, ICC y otros parámetros de riesgo cardiovascular (343).

En conclusión, como he referido los estudios que evalúan la aparición de eventos cardiovasculares, cuentan con una importante disparidad en la selección de sujetos e incluyen sesgos de tratamiento, casi ninguno es prospectivo, y aunque sugieren un ligero incremento en la prevalencia de enfermedad cardiovascular en este grupo de mujeres, la evidencia actual no permite por el momento sostener esta aseveración.

### **Manejo terapéutico del SOP. Modificación de los factores de riesgo cardiovascular asociados al síndrome.**

#### **Modificación del estilo de vida. Dieta y actividad física.**

La pérdida de peso mediante la modificación en el estilo de vida es el primer objetivo terapéutico en las mujeres que padecen el SOP y tienen sobrepeso (344). Pequeñas pérdidas de peso (5-10% respecto al peso inicial) han demostrado disminuir los parámetros de hiperandrogenismo (345), mejorar la sensibilidad a la insulina (346) y el perfil lipídico (347), y recuperar la ovulación (348) incrementando la tasa de gestación espontánea (349).

No debemos olvidar además el importante papel de la pérdida de peso en la prevención del desarrollo de DM2 (350), a la cual están predispuestas muchas mujeres con SOP, mediante los cambios en el estilo de vida que se han demostrado más eficaces que la implementación de tratamiento farmacológico (351).

Se ha evaluado el impacto que la composición de las dietas terapéuticas ejerce sobre el perfil androgénico, la resistencia insulínica y el perfil metabólico de las pacientes con SOP. *Moran* y cols. (352), estudiaron el efecto diferencial de una dieta hipocalórica con alto contenido proteico frente a otra de bajo contenido proteico sobre estos parámetros en mujeres con SOP, ya que se ha sugerido que las dietas de alto contenido proteico se asocian a un mejor cumplimiento y mayor pérdida de peso por el efecto saciante de las proteínas (353) y a una mejoría en la sensibilidad a la insulina (354). Los resultados en cuanto a pérdida de peso, restauración de la sensibilidad insulínica y ovulación fueron similares con ambos tipos de dieta, con una discreta mejoría en los niveles de HDL-colesterol en el grupo de dieta hiperproteica (354).

El papel de la dieta hipocalórica hiperproteica ha sido también estudiado por otros autores no encontrando ventajas frente a una dieta hipocalórica equilibrada estándar en

mujeres con SOP (355). *Douglas* y cols. (356), evaluaron el papel de una dieta pobre en hidratos de carbono, frente a una rica en ácidos grasos monoinsaturados y una dieta estándar, observando que con la dieta pobre en hidratos de carbono se obtenían unos niveles menores de insulinemia basal frente a la rica en ácidos grasos monoinsaturados, unos niveles menores de insulina en respuesta aguda a la glucosa frente a la dieta estándar y un descenso pronunciado de los niveles de colesterol total, aunque con un discreto aumento de los ácidos grasos libres circulantes que no se reflejaron en incremento de los triglicéridos (356).

El papel de la administración de una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados también ha sido evaluada en el SOP (357), comunicándose un incremento de los niveles de glucosa sin respuesta compensadora de insulina, sugiriendo un efecto insulinopénico, junto con un incremento de los niveles de progesterona que no se acompañaron clínicamente de aumento en la tasa de ovulación (357).

Pocos estudios evalúan el papel específico del ejercicio en los cambios en el hábito de vida de estas pacientes. Un trabajo reciente sugiere una mejoría en el perfil metabólico consistente en el descenso de depósito adiposo y el incremento de la VO<sub>2</sub> máxima, y una mejoría del perfil androgénico, con incremento de los niveles de SHBG y descenso de LH, relacionado con una mayor de la actividad física (358). Esta mejoría de la capacidad funcional tras entrenamiento físico ha sido confirmado recientemente en pacientes italianas (316).

Pese a estos resultados iniciales de la modificación dietética sobre parámetros hormonales y metabólicos, las recomendaciones actuales para las pacientes obesas con SOP han de ser las mismas que para cualquier paciente con obesidad (359). Finalmente, es de reseñar el papel de la cirugía bariátrica. Nuestro grupo ha estimado la prevalencia de SOP en mujeres con obesidad mórbida en aproximadamente un 35% de estas pacientes (107). Una pérdida de peso de más de 40 kg a los 12 meses de una intervención de cirugía bariátrica en pacientes con SOP y obesidad mórbida, normaliza los niveles de andrógenos a la vez que mejora los parámetros clínicos de hiperandrogenismo de forma importante, junto con un descenso de la resistencia a la insulina y de las alteraciones del perfil lipídico, consiguiendo en algunos casos resolver la DM2 e HTA de las pacientes (107).

### **Sensibilizadores a la insulina. Metformina.**

La metformina es un sensibilizador de insulina de la familia de las biguanidas, de extendida administración en pacientes con DM2 y que se ha convertido en el fármaco de

primera elección en esta enfermedad (360). En la **Tabla 7** se resumen los efectos de la metformina sobre el metabolismo de los hidratos de carbono.

El empleo de la metformina en el SOP se fundamenta en la mejoría de la sensibilidad insulínica, que resulta principalmente de la reducción de la producción hepática de glucosa y el aumento en la captación periférica de la misma (79), aliviando el hiperinsulinismo. El aflujo de FFA hacia el hígado también se reduce como consecuencia de la disminución de la lipólisis en el tejido adiposo provocada por el fármaco.

Se ha afirmado que parte de los efectos beneficiosos de la metformina sobre la resistencia a la insulina estarían mediados por la reducción de peso, aunque la participación de este efecto es mínima y no universal, ya que un reciente meta-análisis del tratamiento con metformina en el SOP no ha podido demostrar una pérdida de peso significativa asociada al empleo de este fármaco (361).

Aunque la mayoría de los estudios muestran estos resultados positivos, algunos autores reportan un nulo efecto sobre el metabolismo insulínico (362, 363). Se estima que aproximadamente un 50% de las pacientes con SOP no responde o lo hace mínimamente al tratamiento con metformina, probablemente debido a la heterogeneidad etiopatogénica del síndrome. Teóricamente, las pacientes en las que la hiperinsulinemia juega un papel primordial se beneficiarían más de este fármaco, si bien la obesidad grave de las mujeres incluidas en muchos de estos estudios dificultaría el efecto de la metformina y explicaría los resultados poco satisfactorios en algunos casos (79).

Las pacientes que responden al tratamiento con metformina experimentan un descenso de los niveles de andrógenos paralelo a la disminución del hiperinsulinismo (364). Como ya se ha comentado previamente la insulina regula al alza varias de las enzimas implicadas en la esteroidogénesis ovárica y suprarrenal. Se ha especulado sobre un descenso de los niveles de LH asociado a la metformina, pero parece que éste es secundario a la disminución de los niveles de andrógenos y de insulina. El descenso de la insulina se acompaña de un incremento de la producción hepática de IGFBP-1 y SHBG, y por lo tanto de una menor biodisponibilidad de la IGF-I y de la testosterona por los tejidos diana (79).

Pese a esta mejora en el perfil androgénico, el efecto de la metformina sobre las manifestaciones cutáneas del hiperandrogenismo no es muy marcado, con escasa mejoría del acné y del hirsutismo durante el tratamiento, efecto que desaparece tras la suspensión del fármaco.

<b>Producción de glucosa</b>
Inhibición de la gluconeogénesis hepática
Disminución de la liberación de FFA del tejido adiposo
Regulación a la baja de genes implicados en la oxidación de FFA y gluconeogénesis
Regulación al alza de genes implicados en glucolisis
<b>Utilización periférica de glucosa</b>
Incremento del metabolismo oxidativo y no oxidativo de la glucosa
Facilita la traslocación del transportador GLUT hacia la membrana celular
Incremento del transporte de glucosa inducido por insulina en el músculo esquelético
<b>Niveles de insulina y receptor de insulina</b>
Reducción de insulinemia basal en relación con descenso de niveles de glucosa
Estimulación intracelular de la actividad tirosin kinasa de la subunidad $\beta$ del receptor

**Tabla 7. Efectos de la metformina sobre el metabolismo de los hidratos de carbono.** FFA, ácidos grasos libres del inglés *free fatty acids*.

Una de las acciones más comunicadas de la metformina es el incremento en la tasa de ovulación (361). La metformina reinstaura la ovulación regular en aproximadamente un 50% de las pacientes, a la vez que se asocia con un descenso de la tasa de aborto espontáneo en el primer trimestre del embarazo (79, 361, 365). Sin embargo, recientemente se ha demostrado que la metformina es menos eficaz como inductor de ovulación que la administración aislada de acetato de clomifeno, y tampoco mejora la tasa de embarazo y de recién nacidos vivos en combinación con dicho fármaco en mujeres con SOP, pese a lo comunicado inicialmente (79, 361, 366).

El uso de metformina, por el contrario, se ha asociado con un descenso en la incidencia de diabetes gestacional en el SOP (367). En cuanto a los parámetros cardiovasculares, se ha relacionado la metformina con un descenso de la PAS y PAD en mujeres con SOP (361), con descenso de los niveles de LDL-colesterol (367) y, en algún trabajo, de triglicéridos (368), aunque las modificaciones del perfil lipídico suelen ser poco llamativas.

En relación con los parámetros inflamatorios y hemostáticos, la metformina mejora el estado hipofibrinolítico asociado al SOP, y se ha comunicado un descenso de los niveles de PCR asociado a su administración (369).

La metformina se relaciona con un descenso de los niveles de ET-1 (291, 293). Los trabajos que han evaluado la acción de la metformina sobre la disfunción endotelial macrovascular determinada mediante la valoración de la FMD (292, 293) muestran una discreta mejoría de la vasodilatación dependiente de endotelio (293). *Orio* y cols. (293) comunican un descenso medio del 24,5 % en el IMT tras 6 meses de tratamiento con metformina. En la **Tabla 8** se resumen los efectos de la metformina sobre las alteraciones hormonales y metabólicas del SOP.

---

**Resistencia a la insulina**

---

Disminución de la resistencia hepática a la insulina

Aumento de la captación periférica de glucosa

Descenso del hiperinsulinismo

---

**Hiperandrogenemia**

---

Disminución de la producción ovárica y suprarrenal de andrógenos mediada por insulina

Incremento de la producción hepática de SHBG e IGFBP-1

---

**Hiperandrogenismo clínico**

---

Mejoría del acné (leve)

Mejoría del hirsutismo (escasa o inexistente)

Fertilidad

Aumento de la tasa de ovulación y gestación espontánea

Disminución de la tasa de aborto en el primer trimestre del embarazo

---

**Riesgo cardiovascular**

---

Disminución incidencia de diabetes gestacional

Descenso de los niveles de LDL-colesterol y triglicéridos (leve)

Descenso de PAS y PAD

Disminución de los niveles de PCR

Disminución de los niveles de ET-1

Mejora de la disfunción endotelial (aumento de la FMD)

Disminución del IMT carotídeo

---

**Tabla 8. Modificaciones en parámetros hormonales y metabólicos asociadas al tratamiento con metformina en el SOP.**

**Tiazolidinedionas (TZDs).**

Las TZDs son agonistas de un receptor nuclear conocido como PPAR- $\gamma$  (del inglés *peroxisome-proliferator-activated receptor- $\gamma$* ), y se usan en el tratamiento de la DM2 como sensibilizadores a la insulina. La unión del ligando al receptor, que se expresa fundamentalmente en tejido adiposo, músculo esquelético e hígado, modifica la expresión de una serie de genes implicados en la regulación de la acción de la insulina sobre el metabolismo de los hidratos de carbono y de los lípidos, incrementando la captación periférica de glucosa, la expresión de los transportadores GLUT, disminuyendo la producción hepática de glucosa y los niveles de FFA circulantes, a la vez que induce una rediferenciación del adipocito, y disminuye la expresión y liberación de TNF- $\alpha$  por el tejido adiposo (79, 364).

Parte de su efecto sobre la resistencia a la insulina se explica por un incremento en la secreción de adiponectina durante el tratamiento (370). Estudios iniciales con troglitazona mostraron una mejoría de los parámetros de resistencia a la insulina, con disminución de los niveles de glucosa e insulina en el SOP (268, 371). La troglitazona ha demostrado producir un descenso de la síntesis androgénica tanto de origen ovárico como suprarrenal mediante la disminución del estímulo insulínico sobre la esteroidogénesis, así como por una inhibición directa de la biosíntesis de colesterol (372) y de la enzimas CYP17 y 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa (373).

En estudios de fertilidad se han demostrado tasas de ovulación con troglitazona superiores al 40%, así como aumento en la tasa de embarazos (79). Sin embargo, no se han comunicado cambios en la presión arterial durante el tratamiento, y en relación con el perfil lipídico produce descenso del nivel de triglicéridos y aumento tanto de las partículas de LDL como HDL colesterol sin cambios en el cociente LDL/HDL (79). Se ha relacionado con descenso de los niveles de PAI-1 en las mujeres con SOP (268). *Paradisi* y cols. (288), han comunicado una mejoría en la vasodilatación dependiente de endotelio microvascular tras el empleo de troglitazona.

En la actualidad las dos únicas TZDs disponibles en el mercado son la rosiglitazona y pioglitazona. Los estudios con estos dos fármacos han proporcionado resultados similares a los obtenidos con la troglitazona (374, 375). Tanto rosiglitazona como pioglitazona inhiben directamente la producción de andrógenos en cultivos de células ováricas, tanto de forma independiente como mediada por insulina (376). *Tarkum* y cols. (377), han comunicado la

disminución de los niveles de PCR y una mejora en la vasodilatación dependiente de endotelio tras tratamiento con rosiglitazona en mujeres con SOP definido por criterios *Rotterdam*.

Otros fármacos relacionados con el metabolismo de los hidratos de carbono y que se han ensayado en pacientes con SOP, si bien con escasa eficacia o ausencia de resultados definitivos se resumen en la **Tabla 9**.

<b>Fármaco</b>	<b>Mecanismo de acción</b>	<b>Efectos en el SOP</b>
Acarbosa (378)	Reducción absorción intestinal hidratos de carbono	Disminución hiperinsulinismo Disminución hiperandrogenismo Reinstauración menstruación
Diazóxido (379)	Reducción de la secreción de insulina	Disminución hiperinsulinismo Disminución hiperandrogenismo
D-chiroinositol (380)	Incremento de la señalización intracelular tras la unión de la insulina a su receptor	Disminución hiperinsulinismo Disminución hiperandrogenismo Incremento tasa ovulación Descenso presión arterial Descenso triglicéridos
Octreótide (381)	Disminución secreción de insulina ¿Efecto directo ovárico a través del receptor de somatostatina?	Disminución hiperinsulinismo Descenso hiperandrogenemia Disminución niveles IGF-I y GH Incremento IGFBP 1-3 Incremento tasa ovulación

**Tabla 9. Mecanismo de acción principal y efectos sobre el SOP de otros fármacos relacionados con el metabolismo de los hidratos de carbono.**

**Anticonceptivos orales (ACOs) y acetato de ciproterona.**

El empleo de ACOs con una combinación de progestágenos con mínima actividad androgénica o con efecto antiandrogénico (acetato de ciproterona, clormadinona o drospirenona) ha sido considerado como tratamiento de primera elección para el manejo de las manifestaciones clínicas del hiperandrogenismo asociado al SOP (2, 382). El acetato de ciproterona es una molécula esteroidea con actividad progestágena, glucocorticoidea débil, y

actividad antiandrogénica mediada por su unión al receptor de andrógenos. Por su amplio empleo como ACO en combinación con etinilestradiol (Diane<sup>35</sup> Diario), lo incluiremos en la sección de anticoncepción oral donde revisaremos sus efectos metabólicos en el SOP. Los ACOs ejercen su efecto antiandrogénico a través de diferentes mecanismos (**Tabla 10**).

Se ha comunicado una mejoría de los parámetros hormonales y clínicos en las mujeres con SOP tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario a partir de los 3 meses de tratamiento (383), con etinil estradiol + drospirenona (384), y ACOs con progestágenos no androgénicos (194), aunque el efecto de los ACOs sobre la hiperandrogenemia y la clínica hiperandrogénica están influidos por el peso de las pacientes, demostrando las pacientes con obesidad una respuesta menos satisfactoria en la disminución del grado de hirsutismo y descenso de los niveles de andrógenos (385).

Las mujeres con SOP presentan un riesgo aumentado de hiperplasia y cáncer endometrial consecuencia de la oligomenorrea crónica, y del estímulo crónico de los estrógenos sobre el endometrio, fundamentalmente estrona, sin la correspondiente inhibición sobre la proliferación endometrial inducida normalmente por la progesterona tras la ovulación (2, 386). Los ACOs permiten disminuir este riesgo mediante la inducción de la menstruación mensualmente.

La principal controversia acerca del empleo de los ACOs en el SOP se centra en las posibles alteraciones metabólicas relacionadas con el empleo de los mismos, y el hipotético aumento del riesgo cardiovascular asociado a su uso (387) en pacientes fumadoras o con otros factores de riesgo cardiovascular (387, 388).

Los ACOs se han relacionado con un discreto aumento de la aparición de DM2 en la población general (389, 390), y en mujeres con SOP se ha descrito un empeoramiento de la sensibilidad insulínica y perfil glucémico (391), aunque existen resultados contradictorios al respecto (194).

*Cagnacci* y cols. (392), han comunicado una mejoría de los parámetros de resistencia insulínica en mujeres con SOP asociado al empleo de Diane<sup>35</sup> Diario, y un efecto global nulo sobre los mismos con un compuesto de etinilestradiol + desogestrel, un progestágeno no androgenizante. Así mismo, se ha reportado una mejoría de la resistencia a la insulina en pacientes obesas con SOP tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario (393). Otros trabajos (394, 395) no han podido demostrar ningún efecto beneficioso del Diane<sup>35</sup> Diario sobre los parámetros de resistencia a la insulina pese a una importante disminución de los andrógenos. Por lo tanto, el

---

Inhibición de la secreción de LH y por lo tanto de la secreción de andrógenos mediada por LH
Estimulación de la producción hepática de SHBG mediada por el primer paso hepático del componente estrogénico del ACO, con la consiguiente disminución de niveles de testosterona libre
Inhibición de la secreción suprarrenal de andrógenos mediado por el progestágeno
Bloqueo del receptor de andrógenos (acetato de ciproterona/clormadinona/drospirenona)
Aumento del aclaramiento renal de testosterona y dihidrotestosterona mediado por los progestágenos
Inhibición de la 5 $\alpha$ -reductasa mediado por los progestágenos

---

**Tabla 10. Acción antiandrogénica de los anticonceptivos orales (396, 397).**

papel sobre la resistencia a la insulina y el metabolismo de los hidratos de carbono en las mujeres con SOP, y en concreto del preparado que contiene acetato de ciproterona como progestágeno, es controvertido y permanece por elucidar.

Otro de los parámetros relacionados con el aumento del riesgo cardiovascular asociado al empleo de ACOs es la alteración del perfil lipídico. En mujeres sanas el empleo de ACOs se acompaña de un empeoramiento del perfil lipídico con aumento del nivel de triglicéridos y disminución de HDL-colesterol. La administración de ACOs de última generación se acompaña de una mejoría en el perfil lipídico en población sana, y no presenta un efecto deletéreo en el SOP (194, 398). Los datos acerca del acetato de ciproterona son más controvertidos. Mientras que algunos autores han comentado una mejoría en el perfil aterogénico, aunque acompañado de un incremento de los triglicéridos (195, 399, 400), otros reportan un incremento de los niveles de LDL-colesterol, apoB y triglicéridos (383).

La elevación de las cifras de presión arterial y un incremento del riesgo de ictus isquémico se ha relacionado con el empleo de ACOs en la población sana, lo que contraindica su empleo en mujeres con HTA no controlada (401, 402). El papel de los ACOs y la HTA en el SOP ha sido poco estudiado. Dos trabajos en los que se evaluó la presión arterial mediante determinación manual en consulta no demuestran ningún cambio en la PAS y PAD tras el tratamiento prolongado con Diane<sup>35</sup> Diario (400, 403). La influencia de los ACOs sobre los parámetros de presión arterial determinados mediante MAPA no ha sido evaluada.

Otro factor de riesgo cardiovascular relacionado con el SOP es la hiperhomocisteinemia, como se ha comentado previamente. *Cagnacci* y cols. (236) han comunicado una disminución de los niveles de homocisteína asociado a la mejoría de la

sensibilidad insulínica en un grupo de mujeres con SOP tras tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario, pero no tras otro ACO que contenía desogestrel, un progestágeno no androgénico.

Existe un incremento del riesgo de trombosis venosa asociado al empleo de ACOs en la población sana (401). El patrón protrombótico de las pacientes con SOP podría verse empeorado por el empleo de ACOs. Este aspecto del tratamiento ha sido poco evaluado, aunque se ha comunicado un incremento del riesgo de TVP asociado al empleo de Diane<sup>35</sup> Diario frente a ACOs convencionales, en un grupo de mujeres con acné, hirsutismo o diagnosticadas de SOP con criterios ecográficos u hormonales (404). Finalmente, en nuestro conocimiento no existe ningún trabajo que evalúe el papel de los anticonceptivos sobre la disfunción endotelial o marcadores de aterosclerosis en mujeres con SOP.

### **Otros antiandrógenos.**

El mecanismo de acción y los efectos principales sobre las mujeres con SOP de otros fármacos antiandrogénicos se resumen en la **Tabla 11**.

<b>Antiandrógeno</b>	<b>Mecanismo de acción</b>	<b>Efectos en SOP</b>
Flutamida (109)	Bloqueante del receptor de Andrógenos	Disminución del grado de hirsutismo, hiperandrogenismo ovárico y suprarrenal Mejoría en la sensibilidad insulínica Disminución del acúmulo adiposo abdominal subcutáneo y visceral Mejoría del perfil menstrual Disminución de los niveles de LDL-colesterol
Espirinolactona (405, 406)	Bloqueante del receptor de andrógenos Disminuye actividad 5 $\alpha$ -reductasa Incremento del aclaramiento de testosterona Disminución de la producción ovárica y suprarrenal de andrógenos	Disminución del hiperandrogenismo clínico y bioquímico No modificación del patrón insulínico Incremento de HDL
Finasteride (405)	Inhibidor de la 5 $\alpha$ -reductasa tipo 1 y 2	Mejoría del hiperandrogenismo clínico

**Tabla 11. Mecanismo de acción y efectos sobre el SOP de la espirinolactona, flutamida y finasteride.**

Cabe destacar que el empleo de antiandrogénos en el tratamiento del hiperandrogenismo debe realizarse en asociación con ACOs debido a su efecto teratogénico, a menos que se garantice otra forma eficaz de contracepción, reservándose su empleo para los casos de hirsutismo moderado o grave. El fármaco antiandrogénico más empleado en EE.UU., dónde el acetato de ciproterona no está comercializado, es la espironolactona, mientras que en Europa se emplean tanto el acetato de ciproterona como el finasteride y la flutamida, aunque éstos últimos fuera de ficha técnica, mostrando todos ellos una eficacia similar (407, 408).

### **Estudios comparativos entre metformina y Diane<sup>35</sup>.**

Se han publicado 6 estudios que evalúan comparativamente los efectos de metformina y Diane<sup>35</sup> sobre diferentes parámetros hormonales, metabólicos e inflamatorios asociados al SOP. *Morin-Papunen* y cols. (369, 393, 395, 400), en una serie de 4 trabajos estudian el efecto de estos 2 fármacos en pacientes con SOP con normopeso y obesidad. En el primero de sus estudios (393), con criterios ecográficos de SOP (22), randomizan 8 mujeres obesas con SOP (edad:  $29,9 \pm 1,5$  años; IMC:  $32,5 \pm 1,1$  kg/m<sup>2</sup>) a tratamiento con metformina frente a 10 pacientes también obesas (edad:  $29,8 \pm 1$  años; IMC:  $37,2 \pm 1,8$  kg/m<sup>2</sup>) a las que administran Diane<sup>35</sup>, estudiando el papel de estos fármacos sobre el metabolismo de los hidratos de carbono mediante la realización en las mismas de una SOG, clamp euglucémico y calorimetría indirecta, basalmente y tras 3 y 6 meses de tratamiento (393).

Las pacientes tratadas con metformina consiguieron disminuir su IMC e ICC, efecto no conseguido con Diane<sup>35</sup>, con un descenso del hiperinsulinismo, una mejora en la respuesta insulínica inicial durante la SOG, en la extracción hepática de glucosa, y un descenso de los niveles de ácidos grasos libres, consiguiendo un incremento del metabolismo oxidativo de la glucosa y un descenso de la oxidación de ácidos grasos en ayunas. Los niveles de leptina descendieron con el tratamiento sensibilizador mientras que aumentaron tras el tratamiento anticonceptivo. Todos estos hallazgos se resumen en una mejoría de la sensibilidad a la insulina con escaso efecto, e incluso en algún caso deletéreo, de Diane<sup>35</sup> sobre el metabolismo de los hidratos de carbono.

La metformina mostró una mejoría escasa sobre los parámetros de hiperandrogenismo, incluso con un descenso de los niveles de SHBG, frente al claro beneficio del tratamiento con Diane<sup>35</sup>. Los propios autores refieren como existe un grupo de pacientes no respondedoras, aunque no especifican cuántas, que se caracterizaron por ser menos obesas y presentar menor

hiperandrogenemia, aunque sin diferencias en la sensibilidad insulínica y alteraciones del metabolismo de carbono frente a las respondedoras (393).

En el grupo de metformina una paciente con GBA al inicio del tratamiento normalizó el metabolismo de los hidratos de carbono tras 6 meses de tratamiento, mientras que en el grupo tratado con Diane<sup>35</sup> una paciente con GBA desarrolló una DM2 y tres pacientes con niveles de glucemia normales basalmente se tornaron intolerantes a la glucosa al final del estudio (393).

Estos mismos autores publican por separado el estudio en 8 pacientes no obesas tratadas con metformina y 9 pacientes de las mismas características tratadas con Diane<sup>35</sup> (395), confirmando de nuevo el efecto beneficioso de la metformina sobre el depósito adiposo abdominal determinado mediante ICC. Las pacientes tratadas con metformina obtienen una mejoría en el perfil hormonal y lipídico similar al logrado en el grupo de obesidad. En el grupo de obesidad la metformina actúa fundamentalmente sobre la oxidación lipídica y obesidad central, sin afectar el aclaramiento hepático de insulina, mientras que este último mecanismo es la base de su acción en las pacientes delgadas (395). Diane<sup>35</sup> consigue una disminución importante de las manifestaciones clínicas del hiperandrogenismo, acompañado de un descenso de los niveles circulantes de andrógenos, con escasa repercusión en el metabolismo de los hidratos de carbono, y junto con un descenso del cociente LDL/HDL colesterol e incremento de los niveles de triglicéridos (395).

En una comunicación posterior (369), estos autores muestran como la metformina disminuye los niveles de PCR en el grupo de pacientes obesas, mientras que Diane<sup>35</sup> los aumenta tras 6 meses de tratamiento, no consiguiendo demostrar este efecto diferencial en el grupo de pacientes delgadas. Los determinantes del 20% del descenso de los niveles de PCR en las pacientes tratadas con metformina fueron la disminución del perímetro abdominal e ICC (369). Finalmente, en el último de esta serie de trabajos (400), los autores comunican como tanto la metformina como Diane<sup>35</sup> producen en pacientes delgadas y obesas una mejoría del perfil lipídico, incremento de HDL colesterol y descenso del cociente CT/HDL sin modificación sobre los niveles de LDL-colesterol, observándose un incremento de los niveles de triglicéridos (400). El tratamiento con metformina produjo un descenso de los niveles de PAS y PAD determinados en consulta, no observándose ningún efecto sobre estos parámetros con la administración de Diane<sup>35</sup> (400).

El efecto sobre el hirsutismo de estos 2 fármacos ha sido evaluado en un grupo de pacientes escocesas con SOP (criterios *Rotterdam*) y obesidad (403). En este trabajo los

autores comunican un descenso similar de los parámetros clínicos de hirsutismo, así como en el estudio anatómico del grosor capilar con ambos tratamientos. Sin embargo, las pacientes comunican una mayor satisfacción con el tratamiento con Diane<sup>35</sup> en una prueba que evalúa la percepción subjetiva del hirsutismo (403). El descenso del hirsutismo asociado a la metformina se relaciona con una mejoría de los parámetros de insulinoresistencia y descenso del peso, mientras que las pacientes tratadas con Diane<sup>35</sup> experimentan un descenso de la hiperandrogenemia sin deterioro de los niveles de glucosa e insulina (403). Cabe destacar cómo estas últimas pacientes incrementan sus niveles de HDL-colesterol sin ninguna otra modificación del perfil lipídico, mientras que las pacientes a las que se administró metformina no experimentaron cambios en el perfil lipídico, pero paradójicamente incrementaron sus niveles de PAD en consulta (403).

*Meyer y cols.* (409), han publicado recientemente un trabajo con una serie grande de 100 mujeres con SOP (criterios NICHD) en el que estudian el papel de Diane<sup>35</sup> frente al tratamiento con metformina o con un anticonceptivo antiandrogénico de baja dosis estrogénica (20 µg de etinilestradiol + 100 µg de levonorgestrel + 100 mg de espironolactona) sobre parámetros de insulinoresistencia y función endotelial durante un periodo de 6 meses. Comunican un descenso significativo de los niveles de andrógenos con ambos anticonceptivos sin cambios significativos tras el tratamiento con metformina, aunque esta última sí ejerció un discreto efecto beneficioso sobre el grado de hirsutismo (409). Las pacientes en tratamiento con Diane<sup>35</sup> no experimentaron cambios en los niveles de insulina basal ni el índice HOMA aunque sí incrementaron el AUC de insulina. El tratamiento con metformina se asoció a un descenso significativo del HOMA y del AUC de insulina. Las mujeres tratadas con metformina disminuyeron los niveles de HDL-colesterol frente al incremento experimentado tras tratamiento con Diane<sup>35</sup>, que se acompañó de un descenso de los niveles de LDL-colesterol en este último grupo de mujeres (409). Aunque no existieron diferencias entre ambos grupos de tratamiento en cuanto a los niveles de presión arterial ni en el FMD tras 6 meses de tratamiento, las mujeres tratadas con Diane<sup>35</sup> incrementaron la velocidad de onda de pulso determinada mediante ecografía doppler sobre segmentos arteriales aortofemorales, parámetro de rigidez arterial que se ha relacionado con un incremento de mortalidad cardiovascular en la población general (409).

Como hemos podido comprobar los estudios que comparan directamente los efectos de la metformina y Diane<sup>35</sup> en las mujeres con SOP son escasos, utilizan criterios diagnósticos heterogéneos, y ofrecen resultados en ocasiones contrapuestos.



## **OBJETIVOS.-**



**OBJETIVO 1:** Determinar la frecuencia de aparición de factores de riesgo cardiovascular clásicos y no clásicos, así como la presencia de disfunción endotelial y arteriosclerosis subclínica en mujeres con SOP frente a un grupo control de mujeres sanas, así como evaluar la posible influencia de la obesidad, la resistencia a la insulina y el hiperandrogenismo en las asociaciones observadas.

**OBJETIVO 2:** Confirmar la influencia de la resistencia a la insulina y del hiperandrogenismo sobre estos factores de riesgo cardiovascular y parámetros arteriales, antagonizando sus efectos mediante la administración de un sensibilizador de insulina, la metformina, por un lado, o de un anticonceptivo oral con acción antiandrogénica, combinación de etinilestradiol y acetato de ciproterona, por el otro, evaluando la posible influencia de la obesidad en el efecto de estos fármacos sobre los factores de riesgo cardiovascular clásicos y no clásicos presentes en mujeres con SOP.



## MATERIAL Y MÉTODOS.-



### **Población a estudio.**

Reclutamos pacientes con SOP que acudieron de forma consecutiva a nuestras consultas por presentar alteraciones menstruales y / o clínica de hiperandrogenismo.

El diagnóstico de SOP se basó en criterios del NICHD (18), descartándose de forma activa causas secundarias de hiperandrogenismo y / o de alteraciones menstruales como a continuación se describe.

La presencia de hiperprolactinemia se evaluó mediante la determinación de las concentraciones basales de prolactina en 2 tiempos (-15 y 0 min). En aquellos casos que presentaron hiperprolactinemia, se descartó la existencia de macroprolactinemia mediante precipitación del suero con polietilenglicol (410). Las alteraciones de la función tiroidea se evaluaron mediante la determinación de tirotrófina sérica (TSH). Se descartó la presencia de hiperplasia suprarrenal congénita no clásica por déficit de 21-hidroxilasa u 11 $\beta$ -hidroxilasa, mediante la determinación de las concentraciones tanto basales como tras estímulo con cosyntropina (1-24 ACTH) de 17-OH-progesterona y 11-desoxicortisol, respectivamente.

En aquellos casos con clínica sugestiva de hipercortisolismo se descartó su presencia mediante la determinación de la concentración de cortisol libre en una muestra de orina recogida durante 24 horas. Se realizó una anamnesis detallada en la que se descartó el posible empleo de fármacos con efecto androgénico. En aquellas pacientes que presentaron clínica de inicio brusco y rápidamente progresivo, signos de virilización o concentraciones circulantes muy elevadas de andrógenos, se descartó el origen tumoral mediante la realización de pruebas de imagen suprarrenal (tomografía axial computerizada helicoidal) y ovárica (ecografía abdominal y transvaginal).

Como clínica de hiperandrogenismo se consideró la presencia de hirsutismo, definido como una puntuación superior a 7 en la escala de Ferriman-Gallwey modificada (19), la persistencia de acné clínicamente significativo en mujeres mayores de 20 años de edad, la alopecia con patrón androgénico, o la presencia de signos de virilización.

La hiperandrogenemia se definió como la presencia de una concentración circulante de testosterona total, testosterona libre (calculada a partir de las concentraciones de testosterona total y de SHBG), androstendiona o DHEAS superiores a 2 DS de la media establecida en nuestra población sana de referencia: testosterona total = 70 ng/dl; testosterona libre = 1 ng/dl; androstendiona = 4,5 ng/ml y DHEAS = 3.500 ng/ml.

En aquellas mujeres con hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico con ciclos menstruales regulares y con duración inferior a 35 días se confirmó la presencia de ciclos anovulatorios mediante la presencia de una concentración de progesterona inferior a 4 ng/ml entre los días 21 y 24 del ciclo menstrual. La presencia de embarazo se descartó mediante la determinación de las concentraciones séricas de gonadotropina coriónica.

Las pacientes con oligomenorrea que no presentaban hiperandrogenismo clínico ni bioquímico fueron excluidas del estudio. Aquellas mujeres con hirsutismo pero sin hiperandrogenemia ni oligoanovulación se clasificaron como hirsutismo idiopático y fueron excluidas del estudio. Aquellas pacientes con hiperandrogenismo o hiperandrogenemia y ciclos regulares y ovulatorios fueron también excluidas del estudio.

Como grupo control se seleccionaron voluntarias sanas con ciclos regulares de entre el personal sanitario, estudiantes de medicina y pacientes que acudieron a la Consulta Externa de Endocrinología únicamente para tratamiento de exceso de peso, en las que se realizó el mismo estudio inicial que en el grupo de pacientes descartando fehacientemente la presencia de hiperandrogenismo.

Ninguna de las pacientes ni de las controles había estado en tratamiento con sensibilizadores a la insulina, anticonceptivos, antiandrógenos, antihipertensivos ni hipolipemiantes en los 6 meses previos a su inclusión en el estudio. Ninguna de ellas presentaba hipertensión arterial, alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono, hiperuricemia o dislipemia conocidas, ni antecedentes personales de eventos cardiovasculares.

Tanto las pacientes como las mujeres del grupo control fueron informadas detalladamente, verbalmente y por escrito, del propósito del estudio y de la serie de exploraciones que iban a serles realizadas. Todas contaron con la posibilidad de contactar telefónicamente a lo largo de las 24 horas con el doctorando, con el objeto de comunicar cualquier efecto adverso relacionado con el tratamiento. El protocolo de estudio fue aprobado como Ensayo Clínico de Promoción Interna por la Dirección Médica y por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid y, con código de protocolo ENDOPCOS01/2003, fue autorizado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios del Ministerio de Sanidad y Consumo con fecha del 13/4/2004, e inscrito en el registro de ensayos clínicos del *National Institute of Health* de Estados Unidos (ClinicalTrials.gov) con referencia NCT00428311. El estudio ha seguido en todo momento los preceptos de la Declaración de Helsinki para la investigación médica en humanos.

### **Protocolo de estudio.**

Todas las determinaciones fueron realizadas en fase folicular del ciclo menstrual (5° a 10° día del ciclo menstrual) salvo la determinación de progesterona luteínica (21° a 24° día del ciclo menstrual). En aquellas pacientes que presentaban amenorrea se provocó una menstruación por deprivación tras la administración oral durante 10 días de 10 mg de acetato de medroxiprogesterona (Progevera ®). Tras un mínimo de 10 horas de ayuno nocturno, y tras 72 horas realizando una dieta con 300 g de hidratos de carbono al día, las pacientes acudieron a la Unidad Metabólica del Servicio de Endocrinología procediéndose a las 8:30 horas a la colocación de un acceso antecubital para la extracción de las muestras, permaneciendo las mujeres en una postura relajada en sedestación o decúbito supino, según su preferencia, durante la realización de las pruebas hormonales.

Para evitar la coagulación del acceso venoso, se procedió a la infusión de suero salino 0,9% a ritmo lento durante aquellos momentos en los que no se estaba realizando la extracción de muestras venosas. En los tiempos -15 y 0 min se procedió a la extracción de muestras basales para la determinación de prolactina (en los dos tiempos), glucosa e insulina (en los dos tiempos), concentraciones de andrógenos, 17-OH-progesterona, cortisol y 11-desoxicortisol, ferritina, proteína C reactiva ultrasensible, bioquímica general, hemograma, tiempos de protrombina, cefalina y actividad de protrombina. En el tiempo -15 min se procedió a la extracción de plasma (EDTA y citrato) y suero, los cuales fueron separados inmediatamente mediante centrifugación a 3.000 rpm a temperatura de 4°C y durante 20 minutos, tras lo cual fueron congeladas a -30°C hasta su ulterior utilización. Dos de estas muestras de plasma (EDTA) fueron trasladadas a la Unidad de Bioquímica-Investigación del Hospital Universitario Ramón y Cajal (Dr. Lasunción) para las determinaciones de lípidos.

Inmediatamente a la extracción sanguínea correspondiente al tiempo 0 min se procedió a la administración oral de 75 gramos de glucosa disueltos en agua, realizándose extracciones seriadas cada 30 min para la determinación de glucosa e insulina durante dos horas. Tras la extracción del tiempo correspondiente a los 120 min se procedió a la administración de un bolo intravenoso de 250 µg de cosyntropina (1-24 ACTH) (Synacthen; Ciba-Geisy, Basilea, Suiza) extrayéndose 30 min más tarde una muestra de suero para determinar cortisol, 17-OH-progesterona, 11-desoxicortisol y androstendiona.

Una vez finalizadas las extracciones sanguíneas se procedió a la exploración física de las pacientes, determinando peso en kg, talla en m, perímetro abdominal en cm (a nivel de la línea media localizada entre el reborde costal inferior y las crestas iliacas), perímetro de cadera en cm (a nivel de los trocánteres mayores), cuantificación del hirsutismo, presencia y localización de acantosis nigricans y acné, y porcentaje de grasa corporal respecto al peso corporal total utilizando un monitor de grasa corporal (Omron BF 300, Omron Corp., Kyoto, Japan) validado previamente (411).

Finalizada la exploración física se adiestró a todas las mujeres sobre el manejo del monitor ambulatorio de presión arterial (MAPA), para su colocación posterior domiciliaria durante un periodo de 24 horas en un día de actividad relajada. En una fecha acordada posteriormente se procedió a la retirada del monitor por parte del doctorando, recogiendo posibles incidencias durante el periodo de monitorización. En fase lútea del ciclo menstrual, el mismo día en que se determinaron las concentraciones séricas de progesterona luteínica en aquellas mujeres en que fue necesaria por presentar ciclos menstruales < 35 días, y tras un mínimo de 8 horas de ayuno, se procedió a la realización del estudio ecográfico en la que se determinó el grosor íntimo medial carotídeo, y el estudio de disfunción endotelial mediante ecografía doppler de la arteria braquial determinándose la dilatación dependiente e independiente de endotelio, como se detalla posteriormente.

Una vez confirmado el diagnóstico de SOP, se informó a todas las pacientes de la posibilidad de ser incluidas en un ensayo clínico aleatorizado que evaluaba la influencia de dos fármacos diferentes sobre las manifestaciones del hiperandrogenismo y parámetros de riesgo cardiovascular, tanto verbalmente como por escrito. Aquellas que aceptaron su inclusión en el estudio, fueron distribuidas aleatoriamente a recibir tratamiento con metformina (Merck Farma y Química S.A., Mollet del Vallés, España) o Diane<sup>35</sup> Diario (Schering España S.A., Madrid). Para dicha asignación se utilizó una aleatorización simple en bloques de 10 sobres opacos, 5 asignando a tratamiento con metformina y 5 asignando a tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario. La elección por cada una de las pacientes consecutivas de un sobre hasta agotar los 10 del bloque, y pasando entonces al siguiente bloque de 10 sobres, aseguró la inclusión inicial de al menos 15 pacientes por rama de tratamiento.

Aquellas mujeres asignadas a Diane<sup>35</sup> Diario fueron instruidas en la toma del anticonceptivo, comenzando el primer día del ciclo menstrual, o un día cualquiera en aquellas pacientes en amenorrea tras descartar gestación. El envase contiene 21 grageas que con 35 µg

de etinilestradiol y 2 mg de acetato de ciproterona, seguidas de 7 grageas conteniendo placebo.

Las pacientes asignadas a metformina (50 comprimidos de 850 mg por envase) fueron instruidas para tomar medio comprimido en mitad del desayuno y medio en mitad de la cena durante una semana, incrementando posteriormente la dosis a un comprimido entero con el desayuno y otro con la cena. Estas pacientes fueron avisadas repetidamente de la posibilidad de embarazo, recomendando encarecidamente el empleo de métodos anticonceptivos de barrera durante todo el estudio.

Las mujeres fueron adiestradas en el seguimiento de una dieta equilibrada (55% de la ingesta calórica total en forma de hidratos de carbono, 15% en forma de proteínas y un 30% en forma de lípidos pobres en grasas saturadas), a razón de 25-30 kcal por kg de peso, además de recomendar la realización de actividad física moderada (caminar 30 minutos al día a ritmo moderado durante 6 días a la semana).

Las pacientes incluidas en el ensayo clínico fueron reevaluadas tras 12 semanas mediante anamnesis, exploración física y determinación bioquímica idéntica a la realizada basalmente, y tras 24 semanas repitiendo de forma completa el protocolo inicial (**Figura 9**).

### **Determinaciones de laboratorio.**

Las concentraciones de glucosa sérica fueron determinados mediante el método de la glucosa oxidasa usando un autoanalizador (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA). La insulinemia plasmática fue medida mediante inmunoquimioluminiscencia (Immulite 2000 Insulin, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA) con coeficientes de variación intra- e interensayo del 5,2% y 7,3%, respectivamente. La resistencia insulínica en ayunas fue determinada por HOMA (del inglés *homeostasis model assessment*) según la fórmula:  $[\text{Ins}_0 (\mu\text{U/ml}) \times \text{Glu}_0 (\text{mmol/l})] / 22,5$  (412) y por QUICKI (del inglés *quantitative insulin sensitivity check index*) según la fórmula  $1 / [\text{Log} (\text{Ins}_0) + \text{Log} (\text{Glu}_0)]$  (413), donde  $\text{Ins}_0$  y  $\text{Glu}_0$  son las concentraciones de insulina y glucosa en el tiempo 0 min de la sobrecarga oral de glucosa. El índice de sensibilidad insulínica compuesto fue calculado a partir de las concentraciones circulantes de glucosa e insulina durante la sobrecarga oral de glucosa de acuerdo al método de *Matsuda y DeFronzo* (414). Para el cálculo del área bajo la curva de los niveles de glucosa e insulina durante la sobrecarga oral de glucosa se utilizó la fórmula

descrita por *Tai* (415). La tasa de aclaramiento metabólico de la insulina (MCR), que estima la sensibilidad a la insulina, y la primera y segunda fase de secreción de insulina, parámetros que estiman la función de la célula  $\beta$ , fueron calculadas a partir de los resultados de la sobrecarga oral de glucosa usando el método propuesto por *Stumvoll* y cols. (416).

Las concentraciones de HDL-colesterol y fosfolípidos circulantes fueron determinadas en el sobrenadante tras precipitación del plasma en ácido fosfotúngstico y  $Mg^{2+}$  mediante métodos enzimáticos (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany). Las concentraciones de colesterol total y triglicéridos fueron determinadas mediante métodos enzimáticos (Menarini Diagnostica, Florence, Italy). La concentración de LDL-colesterol fue determinada mediante la fórmula de *Friedewald* (colesterol total – triglicéridos / 5-HDL colesterol) (417). Las concentraciones de Apo AI, Apo B y lipoproteína A fueron determinadas mediante inmunonefelometría cinética (Dade Behring; Deerfield, IL).

La concentración de ácido úrico fue evaluada mediante el método de la uricasa utilizando el autonalizador Abbott Aeroset (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) con un límite de detección inferior de 0,2 mg/dl y coeficientes de variación medios inferiores al 2%.

La tasa de filtración glomerular fue calculada mediante la *MDRD GFR Calculator* (<http://www.mdrd.com>) a partir de la edad y niveles de creatinina de los sujetos.

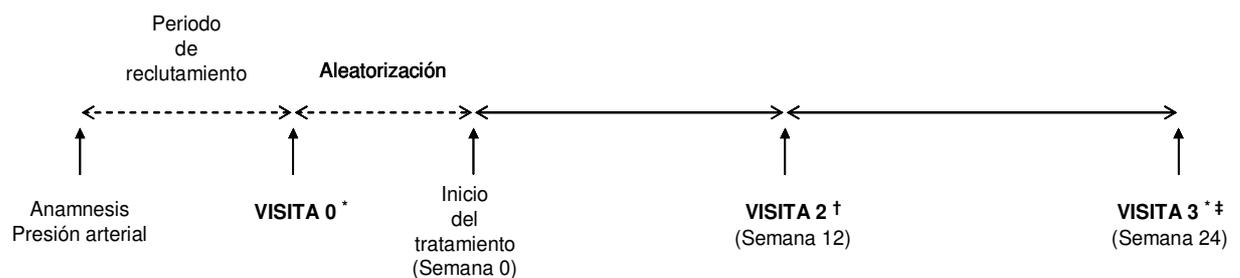
Las concentraciones de ferritina sérica y proteína C reactiva ultrasensible fueron determinadas mediante inmunoquimioluminiscencia (Immulite 2000 Ferritin and High Sensitivity CRP, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA) con un límite de detección inferior de 0,39 ng/ml y 0,1 mg/l, respectivamente, y unos coeficientes de variación intra- e interensayo inferiores al 10%. La concentración de IL-6 fue determinada mediante ELISA ultrasensible (IL-6 US Immunoassay Kit, BioSource Europe S.A., Belgium) con un límite de detección inferior de 104 fg/ml, y unos coeficientes de variación intraensayo e interensayo del 6,2% y 6,7%, respectivamente.

Las concentraciones de adiponectina y leptina sérica fueron determinadas mediante radioinmunoensayo directo (Human Adiponectin RIA Kit and Human Leptin RIA Kit, Linco Research, St. Charles, MO, USA), con una sensibilidad de 1 ng/ml y 0,5 ng/ml para la adiponectina y leptina, respectivamente, y coeficientes de variación intra- e interensayo inferiores al 10% para ambos ensayos.

Para la determinación del recuento y fórmula leucocitaria, recuento y volumen plaquetario se utilizó un autoanalizador (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA). La

concentración de fibrinógeno se determinó mediante un ensayo cuantitativo funcional de acuerdo al método de *Clauss* (418). Los tiempos de coagulación se establecieron mediante un analizador automático integral multiparamétrico para pruebas cronométricas y cromogénicas, con intervalos de referencia para el tiempo de protrombina de 10,7 a 15,5 s, actividad de protrombina del 60 a 130% y tiempo de cefalina de 25 a 39 s.

Las concentraciones de prolactina, androstendiona, DHEAS, SHBG, LH, FSH, estradiol, progesterona y TSH fueron determinadas mediante inmunoquimiluminiscencia (Immulate 2000, Diagnostic Products, Los Angeles, CA) con coeficientes de variación intra- e interensayo de 5,7% y 8,4% para androstendiona, 8,2% y 12,0% para DHEAS, y 6,5% y 8,7% para la SHBG, respectivamente. Los coeficientes de variación intraensayo fueron del 5,7% para la LH, 6,4% para la FSH, 9,3% para el estradiol, 8,2% para la progesterona, y 7,1% para la TSH.



**Figura 8. Protocolo de estudio.**  
 \* - Exploración física.  
 - Analítica.  
 - MAPA.  
 - Estudio ecográfico.  
 † - Exploración física.  
 - Analítica.  
 ‡ Determinación de progesterona en fase luteínica (sólo en pacientes sometidas a tratamiento con metformina)

Las concentraciones de 17-OH-progesterona y 11-desoxicortisol fueron determinadas mediante radioinmunoensayo directo (ImmuChem, MP Biomedicals, Costa Mesa, CA) con coeficientes de variación intraensayo inferiores al 10% y coeficientes de variación interensayo de 11,8% y 12,7%, respectivamente.

La testosterona total fue determinada por radioinmunoensayo directo (Spectria Total Testosterona, Orion Diagnostica, Espoo, Finland) con coeficientes de variación intra- e interensayo de 5,3% y 5,4%, respectivamente. La concentración de testosterona libre fue calculada a partir de las de testosterona total y SHBG, asumiendo una concentración de albúmina sérica de 4,3 g/l, y tomando un valor de  $1 \times 10^9$  l/mol para la constante de

asociación de la SHBG por la testosterona total y un valor de  $3,6 \times 10^4$  l/mol para la constante de asociación de la albumina y testosterona total, según el método descrito por *Vermeulen* y cols. (419).

### **Determinación de la presión arterial.**

La determinación de la presión arterial (mm Hg) se realizó previamente en la consulta durante el periodo de recluta de pacientes mediante la media de dos lecturas manuales realizadas con esfigmomanómetro de mercurio en posición de sedestación tras 5 minutos de reposo. La presión arterial media se calculó utilizando la siguiente fórmula: [presión arterial sistólica + (2 x presión arterial diastólica)] / 3.

La monitorización ambulatoria de la presión arterial de 24 horas fue realizada mediante el dispositivo oscilométrico A&D TM2430EX (A&D Company, Ltd., Tokyo, Japan) el cuál ha superado el protocolo de la “*Association for the Advancement of Medical Instrumentation*”, y ha recibido el grado A para la determinación de la presión arterial sistólica y diastólica en el protocolo de la “*British Society of Hipertensión*”.

El manguito de presión arterial fue colocado en el brazo no dominante de las pacientes, utilizando manguitos de 12 x 22 cm para las pacientes delgadas, y de 14 x 30 cm para las pacientes con sobrepeso u obesidad. Se consideró como periodo diurno desde las 7 a las 23 horas, y desde las 23 horas a las 7 horas como periodo nocturno. La presión arterial sistólica y diastólica, y la frecuencia cardiaca, fueron medidas cada 20 minutos durante el periodo diurno y cada 30 minutos durante el periodo nocturno.

El descenso fisiológico nocturno en la presión arterial sistólica, diastólica y presión arterial media se evaluó mediante la siguiente ecuación: [(presión arterial media diurna – presión arterial media nocturna) / presión arterial media diurna] x 100. Como pacientes no descendedores (*non-dippers*) se definieron aquellos que no mostraron un descenso  $\geq 10\%$  en la presión arterial media nocturna respecto a la diurna.

Para clasificar en normotensas o hipertensas a las mujeres en función de la presión arterial en consulta utilizamos los datos normativos del *Seven Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure* (420) (**Tabla 12**).

Para la MAPA, utilizamos los valores normativos para mujeres de la misma edad derivados del estudio PAMELA, el cuál fue realizado en una amplia muestra de la población

	NORMOTENSIÓN		HIPERTENSIÓN	
	Normal	Prehipertensión	Estadio 1	Estadio 2
<i>PAS (mm Hg)</i>	< 120	120-139	140-159	≥ 160
<i>PAD (mm Hg)</i>	< 80	80-89	90-99	≥ 100

**Tabla 12. Valores normativos de la presión arterial en consulta.** *Abreviaturas, PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica. Modificado de (420).*

general de la ciudad italiana de Monza, ciudad del área mediterránea como Madrid (421). Aquellas mujeres que presentaron niveles de presión arterial sistólica o diastólica ≥ al percentil 95 de dicha población fueron consideradas como hipertensas (**Tabla 13**).

Edad (años)	PAS media (IC)	PAD media (IC)
<i>Periodo diurno</i>		
25-34	129 (126-131)	82 (80-83)
35-44	125 (123-127)	80 (79-81)
<i>Periodo nocturno</i>		
25-34	112 (110-115)	65 (63-67)
35-44	109 (107-111)	65 (64-66)
<i>Periodo de 24 horas</i>		
25-34	123 (121-125)	76 (74-78)
35-44	119 (118-121)	75 (74-76)

**Tabla 13. Valores normativos de presión arterial en la monitorización ambulatoria de 24 horas en mujeres.** Los valores presentan como media e intervalo de confianza del 95 % (IC). Adaptado de (421).

Como hipertensión arterial enmascarada se definió la presencia de hipertensión arterial en la monitorización ambulatoria de 24 horas junto con valores normales de presión arterial en consulta. Como hipertensión arterial de bata blanca se definió la presencia de hipertensión arterial en consulta y valores normales de presión arterial en la monitorización ambulatoria.

## **Estudio ecográfico.**

### **1) *Disfunción endotelial.***

Para evaluar la presencia de disfunción endotelial en nuestro grupo de mujeres utilizamos la técnica descrita por primera vez por *Celermajer* y cols. (283), que en síntesis valora la respuesta vasodilatadora de la arteria braquial ante estímulos mecánicos y químicos. Para la implementación de la técnica nos basamos en las recomendaciones establecidas en las “*Guidelines for the Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilation of the Brachial Artery*” (285) del *American Collage of Cardiology*. Las determinaciones se realizaron tras 8 horas de ayuno y en una habitación tranquila con temperatura controlada. Se instruyó a las mujeres para no consumir caféina ni tabaco en las 4 horas previas al estudio.

El estudio se realizó mediante un ecógrafo doppler/duplex con sonda de 7,5 MHz (Imagepoint-Hx, Hewlett-Packard, Andover, MA). Con la mujer colocada en decúbito supino y el brazo derecho en posición relajada se localizó la arteria braquial derecha por encima (entre 2 y 7 cm) de la fosa antecubital en un plano longitudinal. Se seleccionó un segmento de la misma con una interfase clara entre la luz y la pared vascular tanto en la pared anterior como posterior, realizándose todas las determinaciones en el mismo segmento. Durante la adquisición de imágenes, estructuras anatómicas como las venas y los planos fasciales fueron utilizadas con el objeto de mantener la misma imagen arterial a lo largo del estudio.

En situación basal determinamos el diámetro de la arteria braquial en una sección longitudinal de la arteria, definido como la distancia entre las 2 líneas “m” (interfase media-adventicia) al final de la diástole, así como la velocidad pico sistólica y telediastólica, utilizando un ángulo doppler de 60° con el transductor dirigido hacia el centro de la luz arterial. Con el objetivo de crear un estímulo por medio del flujo arterial en la arteria braquial, se colocó un manguito de presión arterial a nivel del antebrazo procediéndose al inflado del mismo hasta alcanzar y mantener durante 3 min una presión de 250 mmHg. Esta situación provoca una isquemia distal con la consiguiente dilatación de las arterias de resistencia por mecanismos autorreguladores. Posteriormente se procede al desinflado del manguito que induce un estado de alto flujo a través de la arteria braquial (hiperemia reactiva) para acomodar los vasos de resistencia dilatados. La imagen longitudinal de la arteria, con la técnica descrita previamente, y las velocidades pico sistólicas y diastólicas fueron

determinadas 30 s antes del desinflado del manguito y entre 30 y 60 s después. Tras adquirir de nuevo el diámetro arterial de reposo se procedió a la administración de 0,4 mg de nitroglicerina en spray sublingual (Trinispray®, Sanofi-Aventis S.A.U., Alcobendas, Madrid) con el objeto de determinar la máxima respuesta vasodilatadora, determinando de esta manera la vasodilatación independiente de endotelio que refleja la función del músculo liso vascular. A los 4 min de la administración sublingual se procedió a determinar el diámetro arterial y las velocidades pico sistólicas y telediastólicas como se ha descrito previamente. Los resultados se muestran como diámetro basal e incremento neto en la medición realizada posteriormente al desinflado del manguito. La vasodilatación dependiente de endotelio (FMD) se calculo según la siguiente fórmula:  $[(\text{diámetro arterial tras el desinflado} - \text{diámetro arterial basal}) \times 100] / \text{diámetro arterial basal}$ . La vasodilatación independiente de endotelio (NTG) se calculó con la siguiente ecuación:  $[(\text{diámetro arterial tras la administración de nitroglicerina} - \text{diámetro arterial basal}) \times 100] / \text{diámetro arterial basal}$ .

## **2) Grosor íntimo-medial carotídeo.**

Para determinar el grosor íntimo-medial carotídeo, con la paciente en decúbito supino, con la cabeza ligeramente elevada y girada hacia la derecha se procedió a la realización de un mapeo en modo B (usando el mismo equipo ecográfico referido previamente), primero en sentido transversal y posteriormente en sentido longitudinal, de la arteria carótida primitiva común izquierda y de su bifurcación para localizar posibles lesiones ateromatosas que pudiesen interferir las determinaciones.

Posteriormente se procedió a determinar la distancia entre la interfase luz-íntima y la interfase media-adventicia, a una distancia de 20 mm de la bifurcación de la arteria carótida primitiva común izquierda en un plano longitudinal y sobre la pared posterior arterial, tras proceder a la amplificación de la imagen a un tamaño estándar en el que el ancho de la imagen alcanzaba los bordes del campo de imagen, y congelación de la misma, según la técnica habitual (422). Para establecer que pacientes presentaban un IMT normal o elevado se utilizaron los valores de normalidad del grupo control, similares a los publicados por Junyent y cols. (320) en población española del área urbana de Barcelona, cuyos datos para las mujeres del grupo de edad de nuestra población se muestran en la **Tabla 14**.

Todas las determinaciones ecográficas fueron realizadas por la Dra. Covadonga Mendieta Azcona, Médico Adjunto del Servicio de Cirugía Vascular del Hospital Universitario La Paz de Madrid. Su coeficiente de variación intraobservador fue del 10,8%.

IMT (cm)	Grupos de edad (años)	
	≤ 35	36-45
Media ± DE	0,050 ± 0,009	0,057 ± 0,011
Percentil 25	0,043	0,048
Percentil 50	0,050	0,057
Percentil 75	0,055	0,068

**Tabla 14. Valores de normalidad del IMT en mujeres españolas.** Modificado de (320).

#### **Análisis estadístico.**

Los datos se expresan como media ± desviación estándar (DE) o mediana (rango intercuartílico) según fuese la distribución de las variables cuantitativas continuas, y como cuenta numérica y porcentaje en el caso de las variables cualitativas.

Se analizó a las pacientes y controles en conjunto y en función de la presencia de obesidad, utilizando los siguientes grados: normopeso ( $IMC < 25 \text{ kg/m}^2$ ), sobrepeso ( $IMC \geq 25$  y  $< 30 \text{ kg/m}^2$ ) y obesidad ( $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) o bien en sujetos no obesos ( $< 30 \text{ kg/m}^2$ ) y obesas ( $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) según se indica en el texto.

La normalidad en la distribución de las variables continuas fue evaluada mediante la prueba de *Kolmogorov-Smirnov*. Aquellas variables que no se ajustaron a la distribución normal fueron sometidas a transformación logarítmica o raíz cuadrada antes de su análisis mediante pruebas paramétricas. Aquellas que presentaban una distribución no normal incluso después de la transformación matemática fueron analizadas mediante pruebas no paramétricas.

En el análisis estadístico del estudio casos-control y para la comparación entre grupos se utilizó la prueba de la  $\chi^2$  para las variables cualitativas. En aquellas tablas de 2 x 2 en las que no se cumplían los requisitos de esta prueba se aplicó la prueba exacta de *Fisher*. La comparación de las medias de las variables cuantitativas de ambos grupos se realizó mediante

la prueba de la *t* de *Student* o bien análisis de la covarianza, implementando un modelo lineal general, cuando fue necesario ajustar por alguna variable de confusión.

La relación entre el *status* de paciente o control y el grado de obesidad con los diferentes parámetros de presión arterial y vasculares fueron analizados mediante un análisis de la varianza de dos factores implementando de nuevo un modelo lineal general. Las comparaciones entre grupos *a posteriori* se realizaron según el método de *Bonferroni*.

Para analizar la influencia del tratamiento con metformina o etinilestradiol + acetato de ciproterona en los parámetros antropométricos, bioquímicos, de presión arterial y determinaciones ecográficas se realizó se ejecutó un modelo lineal general para medidas repetidas. Dicho análisis se implementó según protocolo en las pacientes que completaron el estudio, y según intención de tratar, adjudicando a los valores perdidos la última determinación disponible en aquellas pacientes que no lo completaron por diversos motivos. El cambio en las frecuencias de anomalías en los parámetros bioquímicos y evaluación cardiovascular se analizó mediante la prueba de la  $\chi^2$  para las comparaciones entre grupos entre visitas, y mediante la prueba de *McNemar* para evaluar el cambio a lo largo del estudio, aplicando una corrección de *Bonferroni a priori* para evitar errores de tipo 1 secundarios a las comparaciones múltiples.

Se realizó un análisis *a priori* de potencia estadística utilizando la calculadora proporcionada *online* por el *Massachusetts General Hospital Mallinckrodt Clinical Research Center* ([http://hedwig.mgh.harvard.edu/sample\\_size/size.html](http://hedwig.mgh.harvard.edu/sample_size/size.html)). Debido al presumible efecto contrario de ambos fármacos sobre la resistencia a la insulina, utilizamos las diferencias en marcadores de insulinoresistencia como objetivo primario a la hora del cálculo del tamaño muestral. Un diseño experimental incluyendo un total de 22 pacientes proporcionaría una potencia estadística por encima de 0,80 a la hora de detectar diferencias en los niveles de insulinemia basal entre ambos tratamientos como los que previamente se habían comunicado en trabajos que contaban con un diseño experimental similar (393, 395).

Todos los análisis estadísticos se realizaron a 2 colas. Se estableció por convenio como estadísticamente significativo la presencia de un valor de  $p < 0,05$  excepto cuando se aplicaron correcciones para comparaciones múltiples. Estos análisis fueron realizados con el software *Statistical Package for Social Sciences*, SPSS 12.0 for windows, SPSS Inc.



## RESULTADOS.-



### **Población final seleccionada.**

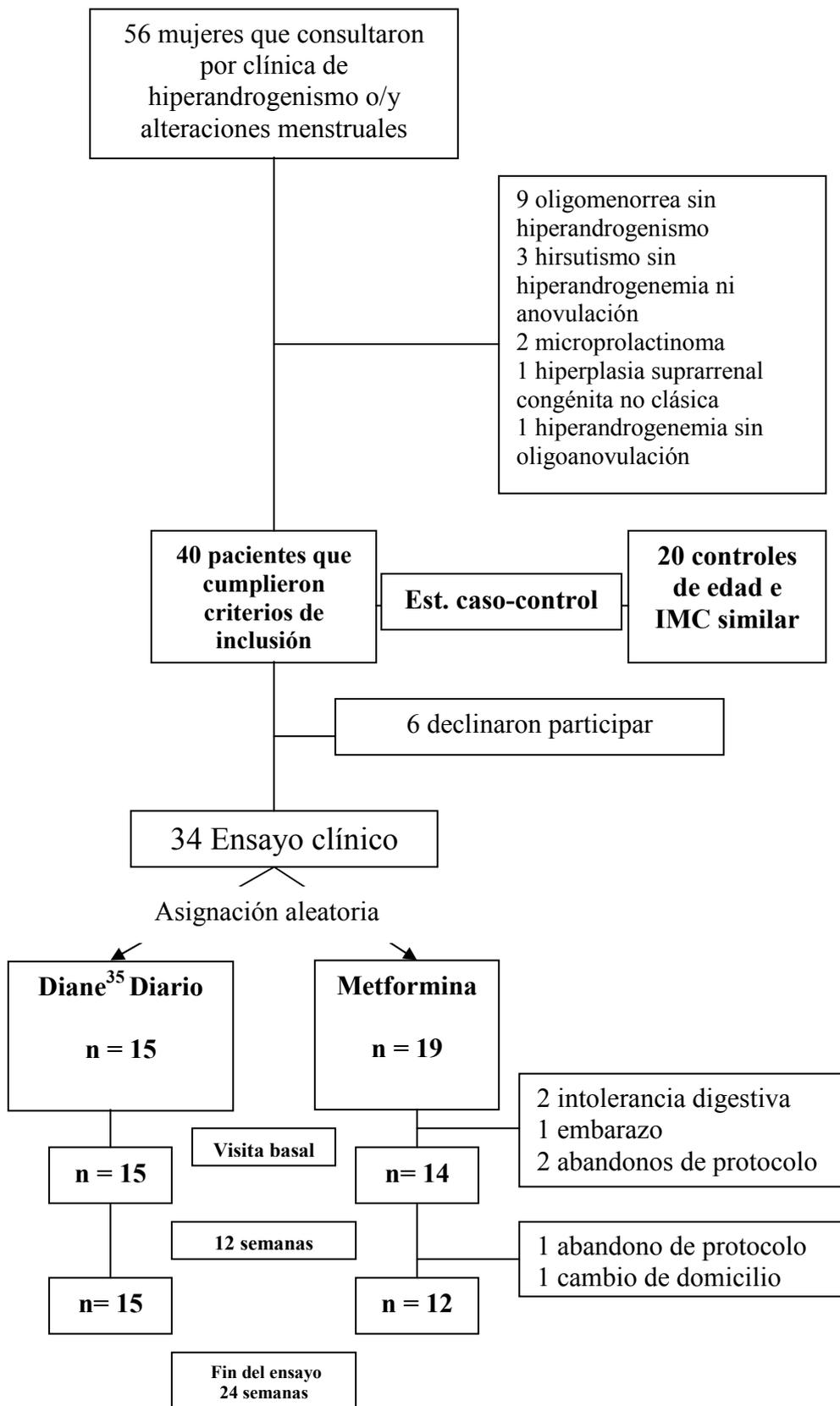
De un total de 56 mujeres consecutivas que consultaron por clínica de hiperandrogenismo o alteraciones menstruales, 16 fueron excluidas del estudio (**Figura 9**). Nueve de ellas presentaban oligomenorrea sin datos clínicos ni bioquímicos de hiperandrogenismo. Tres presentaban hiperandrogenismo clínico (hirsutismo) sin hiperandrogenemia ni oligoanovulación. Dos fueron diagnosticadas de un microprolactinoma, otra de hiperplasia suprarrenal congénita no clásica por déficit de 21-hidroxilasa y otra de hiperandrogenemia con ciclos ovulatorios regulares.

Las 40 pacientes restantes constituyeron la base del estudio caso-control, para el cual se reclutaron de 20 mujeres no hiperandrogénicas con similar edad e IMC. Una vez finalizado el estudio-caso control, de estas 40 pacientes 6 rechazaron participar en el ensayo clínico, 3 incumplieron el protocolo del mismo a lo largo del seguimiento, 2 presentaron intolerancia digestiva a la metformina, 1 desapareció de su número telefónico de contacto y no acudió a las visitas posteriores y 1 se quedó embarazada al mes de iniciar el tratamiento con metformina, por lo que sólo 27 pacientes completaron el ensayo clínico, 15 de las cuáles habían sido aleatorizadas a Diane<sup>35</sup> Diario, y 12 a metformina (**Figura 9**).

### **Resultados del estudio casos-control.**

#### ***Exploración física, antecedentes personales y familiares.***

La exploración física, antecedentes personales y familiares de las pacientes y controles se recogen en las **Tablas 15 y 16**. Las pacientes presentaron inicialmente una puntuación en la escala de *Ferriman-Gallwey* modificada superior a la del grupo control, y una mayor prevalencia de acné. También destacó un menor peso al nacimiento en el grupo de pacientes. No existieron diferencias en los antecedentes familiares de 1º grado de factores de riesgo cardiovascular. En cuanto a la distribución y tipo de alteraciones menstruales en el grupo de pacientes (**Figura 10**), un 15% de las mismas presentaron ciclos regulares anovulatorios, un 33% oligomenorrea, el 45% oligomenorrea con baches amenorreicos, y un 8% amenorrea.



**Figura 9. Flujo del estudio.**

	<b>Pacientes (n = 40)</b>	<b>Controles (n = 20)</b>	<b>P</b>
<i>Edad (años)</i>	25 ± 6	27 ± 7	0,121
<i>Peso (kg)</i>	77,9 ± 15,2	75,2 ± 15,9	0,528
<i>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</i>	29,4 ± 6,3	28,2 ± 6,9	0,526
<i>Grado de obesidad, n (%)</i>			0,498
<i>Normopeso</i>	11 (28)	8 (40)	
<i>Sobrepeso</i>	13 (33)	4 (20)	
<i>Obesidad</i>	16 (40)	8 (40)	
<i>Perímetro abdominal (cm)</i>	86 ± 16	84 ± 14	0,667
<i>Índice cintura / cadera</i>	0,81 ± 0,10	0,78 ± 0,08	0,273
<i>Masa grasa (kg)</i>	26 ± 11	25 ± 12	0,704
<i>Masa grasa (% peso total)</i>	33 ± 8	32 ± 9	0,797
<i>Escala de hirsutismo</i>	11 ± 5	2 ± 2	< 0,001
<i>Acné, n (%)</i>	22 (55)	4 (20)	0,010
<i>Acantosis nigricans, n (%)</i>	9 (23)	3 (15)	0,734

**Tabla 15. Exploración física en pacientes con SOP y controles.**  
 Datos expresados como media ± DE o números crudos (porcentaje).

	<b>Pacientes (n = 40)</b>	<b>Controles (n = 20)</b>	<b>P</b>
<i>Peso al nacimiento (g)</i>	3.265 (495)	3.537 (419)	0,040
<i>Tabaquismo, n (%)</i>	17 (43)	9 (45)	0,854
<i>Antecedentes familiares, n (%)</i>			
<i>Obesidad</i>	21 (54)	9 (45)	0,520
<i>Diabetes mellitus</i>	8 (21)	5 (25)	0,746
<i>Hipertensión arterial</i>	21 (54)	7 (35)	0,170
<i>Hirsutismo</i>	9 (23)	1 (5)	0,141
<i>Alteraciones menstruales</i>	9 (23)	3 (15)	0,734
<i>Enfermedad cardiovascular</i>	8 (21)	3 (15)	0,734

**Tabla 16. Antecedentes personales y familiares en pacientes con SOP y controles.** Datos expresados como números crudos (porcentaje). Los antecedentes familiares se valoraron en padres, hermanos e hijos de las pacientes. Como antecedentes familiares de *diabetes mellitus* e hipertensión arterial se consideró el diagnóstico de ambas patologías en tratamiento dietético o farmacológico. Como antecedentes de hirsutismo se valoró la impresión subjetiva de las pacientes y controles. Como alteraciones menstruales se consideró la presencia de polimenorrea, oligomenorrea o amenorrea. Como antecedentes de enfermedad cardiovascular la presencia de un evento cardiovascular definido como *angor pectoris*, infarto agudo de miocardio, revascularización miocárdica, accidente cardiovascular, estenosis coronaria o revascularización arterial en miembros inferiores, en un familiar de 1º grado.

***Perfil bioquímico general, función tiroidea y prolactinemia (Tabla 17).***

Los resultados de la analítica bioquímica general no mostraron diferencias entre las pacientes y controles, salvo una tendencia a niveles mayores de GPT, GGT y fosfatasa alcalina en el grupo de pacientes frente a controles.

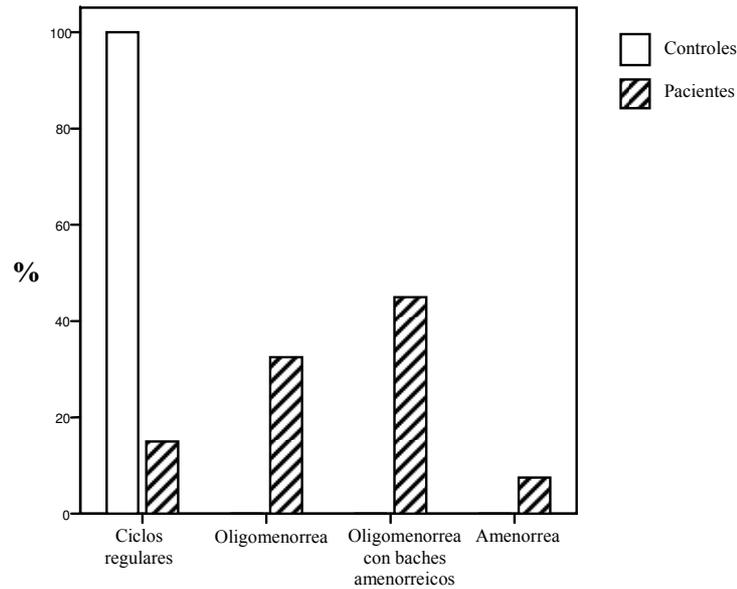


Figura 10. Distribución de las alteraciones en el ciclo menstrual en las pacientes.

	Pacientes (n = 40)	Controles (n = 20)	P
$Na^+$ (mEq/l)*	140 (2)	140 (1)	0,908
$K^+$ (mEq/l)	4,0 ± 0,2	3,9 ± 0,4	0,321
Cr (mg/dl)	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,721
Bilirrubina total (mg/dl)	0,5 ± 0,3	0,5 ± 0,2	0,755
GOT (U/l)	17 ± 5	16 ± 4	0,751
GPT (U/l)	20 ± 11	15 ± 5	0,063
GGT (U/l)	19 ± 8	16 ± 5	0,073
Fosfatasa alcalina (U/l)	73 ± 20	63 ± 20	0,075
Calcio total (mg/dl)	9,3 ± 0,4	9,4 ± 0,3	0,211
Proteínas totales (g/dl)	7,1 ± 0,4	6,8 ± 0,5	0,110
Calcio corregido (mg/dl)	9,4 ± 0,4	9,4 ± 0,3	0,858
TSH ( $\mu$ UI/ml)	2,037 ± 1,211	1,818 ± 0,978	0,485
Prolactina (ng/ml)	11,6 ± 6,0	11,0 ± 4,2	0,668

Tabla 17. Perfil bioquímico general, función tiroidea y prolactinemia en pacientes con SOP y controles. Datos expresados como media ± DE.

\* Datos expresados como mediana (rango intercuartílico).

**Perfil androgénico (Tabla 18 y Figura 11).**

Como grupo, las pacientes presentaron niveles superiores de testosterona total, testosterona libre, androstendiona, dehidroepiandrosterona y 17-OH-progesterona, junto con una tendencia a unos niveles menores de SHBG, que las controles. No existieron diferencias en los niveles de LH y FSH determinados durante la fase folicular del ciclo menstrual.

	<b>Paciente (n = 40)</b>	<b>Control (n = 20)</b>	<b>P</b>
<i>LH (mUI/ml)*</i>	5,4 (4,6)	4,2 (2,3)	0,364
<i>FSH (mUI/ml)</i>	5,4 ± 1,4	5,4 ± 1,7	0,904
<i>LH/FSH</i>	1,3 ± 0,8	1,1 ± 0,7	0,310
<i>Estradiol (pg/ml)*</i>	40 (27)	49 (43)	0,110
<i>Testosterona total (ng/dl)</i>	59 ± 20	35 ± 11	< 0,001
<i>SHBG (µg/ml)</i>	3,6 ± 1,9	4,5 ± 1,9	0,073
<i>Testosterona libre (ng/dl)</i>	1,2 ± 0,6	0,6 ± 0,2	< 0,001
<i>Androstendiona (ng/ml)</i>	3,7 ± 1,0	2,1 ± 0,6	< 0,001
<i>DHEAS (ng/ml)</i>	2.422 ± 979	1.479 ± 610	< 0,001
<i>17-OH-progesterona (ng/ml)</i>	1,0 ± 0,5	0,6 ± 0,3	0,008
<i>11-desoxicortisol (ng/ml)</i>	2,1 ± 1,0	2,0 ± 1,4	0,931

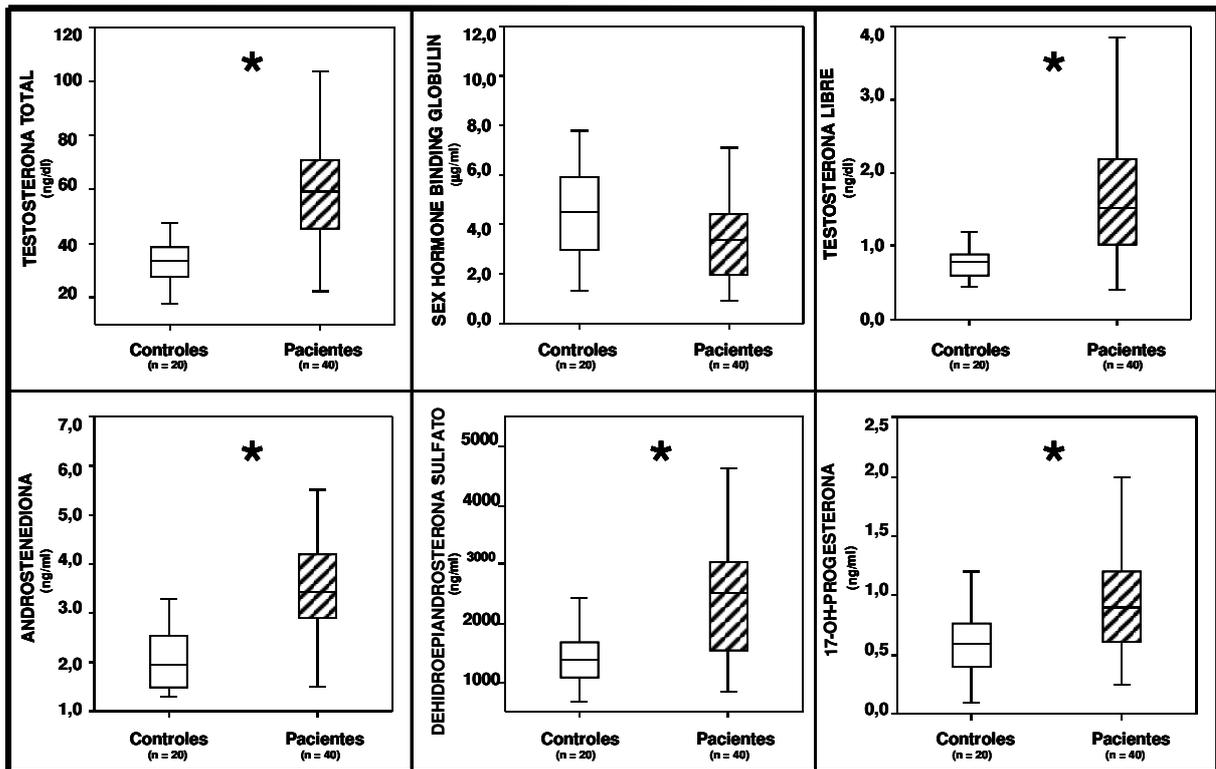
**Tabla 18. Perfil androgénico de pacientes con SOP y controles.**

Datos expresados como media ± DE.

\* Datos expresados como mediana (rango intercuartílico).

**Metabolismo de los hidratos de carbono (Tabla 19).**

Las determinaciones de glucemia plasmática fueron similares en todos los tiempos a lo largo de la SOG entre pacientes y controles. Las pacientes presentaron una secreción de insulina mayor tanto en la primera como segunda fase, con una tasa de aclaramiento de insulina similar, para conseguir los mismos niveles de glucemia (**Figura 12**).



**Figura 11. Perfil androgénico de pacientes y controles. Evaluación basal.** Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

\* *Diferencia significativa entre pacientes y controles.*

En las **Tablas 20 y 21** se analiza la prevalencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono en pacientes y controles, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de mujeres.

**Anticonceptivos versus metformina y riesgo cardiovascular en el SOP**

	<b>Pacientes (n = 40)</b>	<b>Controles (n = 20)</b>	<b>P</b>
<i>SOG</i>			
<i>Glucemia (mg/dl)</i>			
-15 min	91 ± 8	92 ± 8	0,683
0 min	92 ± 8	93 ± 8	0,628
30 min	143 ± 27	139 ± 19	0,513
60 min	141 ± 21	139 ± 33	0,833
90 min	122 ± 35	124 ± 27	0,826
120 min	114 ± 30	112 ± 24	0,846
<i>Insulinemia (μUI/ml)</i>			
-15 min *	10 (10)	4 (6)	0,001
0 min *	15 (13)	6 (4)	<0,001
30 min	84 ± 50	40 ± 19	<0,001
60 min	96 ± 66	50 ± 22	<0,001
90 min	92 ± 65	51 ± 27	0,001
120 min	90 ± 74	46 ± 22	0,001
<i>Índice de sensibilidad insulínica</i>	4,7 ± 3,7	8,7 ± 4,7	0,001
<i>HOMA*</i>	3,5 (3,2)	1,3 (1,1)	<0,001
<i>QUICKI</i>	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,001
<i>MCR (mg/kg/min)</i>	6,1 ± 4,0	7,5 ± 2,9	0,196
<i>1ª Fase de secreción de insulina (μUI)</i>	244 ± 132	128 ± 48	<0,001
<i>2ª Fase de secreción de insulina (μUI)</i>	62 ± 31	35 ± 11	<0,001
<i>AUC glucosa (mg/dl * 120 min)</i>	15.253 ± 3.240	15.168 ± 2.431	0,918
<i>AUC insulina (μUI/ml * 120 min)</i>	9.727 ± 5.613	5016 ± 2.103	<0,001
<i>AUC insulina / AUC glucosa</i>	0,6 ± 0,3	0,3 ± 0,1	<0,001
<i>HbA1c (%)</i>	5,3 ± 0,6	5,3 ± 0,3	0,805

**Tabla 19. Metabolismo de los hidratos de carbono.**

Datos expresados como media ± DE.

\* Datos expresados como mediana y rango intercuartílico.

Sobrecarga oral de glucosa

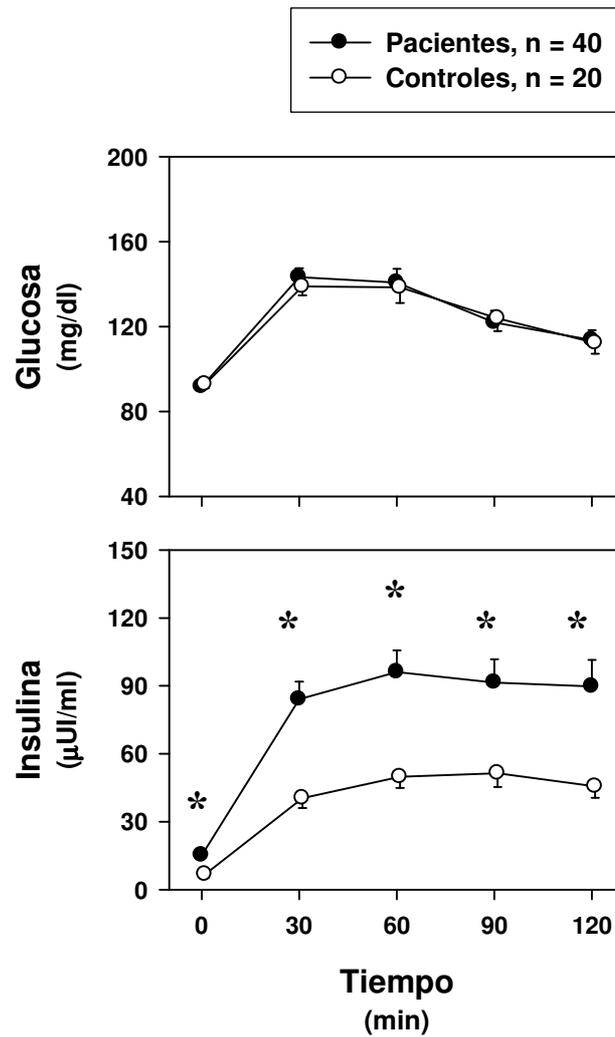


Figura 12. Glucemia e insulinemia a lo largo de la SOG en pacientes y controles.

Los datos se presentan como media ± EEM.

\* Diferencias estadísticamente significativas entre pacientes y controles.

	Normoglucemia	Glucemia basal alterada	Intolerancia a los hidratos de carbono	Diabetes mellitus
Pacientes, n (%)	30 (75)	4 (10)	5 (13)	1 (3)
Controles, n (%)	14 (70)	4 (20)	2 (10)	0 (0)

Tabla 20. Prevalencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono I.

Datos presentados como números crudos (porcentaje).

	<b>Normal</b>	<b>Alterado</b>
<i>Pacientes, n (%)</i>	30 (75)	10 (25)
<i>Controles, n (%)</i>	14 (70)	6 (30)

**Tabla 21. Prevalencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono II.**

Datos presentados como números crudos (porcentaje).

$\chi^2 = 0,170$ ;  $P = 0,680$ .

**Perfil lipídico (Tabla 22).**

No existieron diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes y controles en ninguno de los parámetros lipídicos analizados.

	<b>Pacientes (n = 40)</b>	<b>Controles (n = 20)</b>	<b>P</b>
<i>Colesterol total (mg/dl)</i>	158 ± 25	160 ± 32	0,805
<i>HDL-fosfolípido (mg/dl)</i>	106 ± 21	110 ± 22	0,418
<i>HDL-colesterol (mg/dl)</i>	41 ± 13	43 ± 10	0,494
<i>LDL-colesterol (mg/dl)</i>	99 ± 24	102 ± 29	0,618
<i>Triglicéridos* (mg/dl)</i>	78 (52)	66 (34)	0,282
<i>Apo AI (mg/dl)</i>	128 ± 19	130 ± 19	0,683
<i>Apo B (mg/dl)</i>	79 ± 20	78 ± 20	0,849
<i>Lipoproteína (a) (mg/dl)</i>	27 ± 32	16 ± 23	0,181
<i>Colesterol no HDL (mg/dl)</i>	117 ± 28	117 ± 32	0,955
<i>Colesterol total / HDL</i>	4,2 ± 1,6	3,9 ± 1,1	0,339

**Tabla 22. Perfil lipídico.**

Datos expresados como media ± DE

\* Datos expresados como mediana (rango intercuartílico).

	<b>Pacientes (n = 40)</b>	<b>Controles (n = 20)</b>	<b>P</b>
↑ <i>Colesterol total, n (%)</i>	0 (0)	1 (5)	0,333
↑ <i>LDL-colesterol, n (%)</i>	1 (3)	1 (5)	1,000
↓ <i>HDL-colesterol, n (%)</i>	21 (53)	8 (40)	0,361
↑ <i>Triglicéridos, n (%)</i>	3 (8)	0 (0)	0,544
<i>Dislipidemia, n (%)</i>	21 (52)	9 (45)	0,584

**Tabla 23. Frecuencia de anomalías en el perfil lipídico.**

Datos presentados como números crudos (porcentaje).

**Parámetros de inflamación y hemostasia (Tabla 24).**

Las pacientes tendieron a presentar un recuento leucocitario y de neutrófilos totales superior a los controles. Sin embargo, no presentaron diferencias en cuanto a los niveles de proteína C reactiva, ácido úrico ni niveles de ferritina. En relación con los parámetros de coagulación, las pacientes mostraron una tendencia a presentar un menor tiempo de protrombina junto con un recuento plaquetario mayor.

	<b>Pacientes (n = 40)</b>	<b>Controles (n = 20)</b>	<b>P</b>
<i>Recuento leucocitario (células/<math>\mu</math>l)</i>	7.051 $\pm$ 2.089	6.076 $\pm$ 1.586	0,071
<i>Neutrófilos (%)</i>	58,2 $\pm$ 8,2	55,3 $\pm$ 6,9	0,196
<i>Neutrófilos totales (células/<math>\mu</math>l)</i>	4.155 $\pm$ 1.582	3.386 $\pm$ 1.078	0,055
<i>Proteína C reactiva (mg/l)*</i>	0,13 (0,41)	0,05 (0,28)	0,284
<i>Uricemia (mg/dl)</i>	4,3 $\pm$ 1,1	3,9 $\pm$ 1,2	0,191
<i>T° Protrombina (s)</i>	12 $\pm$ 1	13 $\pm$ 2	0,082
<i>Actividad de protrombina (%)</i>	100 $\pm$ 11	96 $\pm$ 18	0,290
<i>T° Cefalina (s)</i>	31 $\pm$ 4	31 $\pm$ 3	0,921
<i>Fibrinógeno (mg/dl)</i>	315 $\pm$ 72	287 $\pm$ 64	0,155
<i>Volumen plaquetario (fl)</i>	9,0 $\pm$ 0,9	9,3 $\pm$ 0,9	0,241
<i>Recuento plaquetario (<math>10^3</math> / <math>\mu</math>l)</i>	268 $\pm$ 54	240 $\pm$ 52	0,070
<i>Ferritina (ng/ml)</i>	24 $\pm$ 19	20 $\pm$ 15	0,420

**Tabla 24. Parámetros de inflamación y hemostasia.**

Datos expresados como media  $\pm$  DE.

\* Datos expresados como mediana (rango intercuartílico).

**Determinación de la presión arterial en consulta y monitorización ambulatoria.**

En 4 de las 40 pacientes los datos de la presión arterial en consulta no estaban disponibles. El análisis de la presión arterial en consulta y las comparativas con la monitorización de la presión arterial ambulatoria de las 24 horas se restringen a los 20 controles y 36 pacientes que contaron con ambos resultados.

Ni en la presión arterial en consulta ni en los parámetros de la monitorización ambulatoria de la presión arterial de 24 horas (**Tabla 25**) existieron diferencias entre pacientes y controles en cuanto a la PAS, PAD, PAM y FC, durante el periodo diurno, nocturno, ni a lo largo de las 24 horas. Las pacientes presentaron un menor descenso fisiológico entre el periodo diurno y nocturno en las cifras de presión arterial media, y una tendencia hacia un descenso reducido en la presión arterial sistólica y diastólica.

	<b>Pacientes (n = 36)</b>	<b>Controles (n = 20)</b>	<b>P</b>
Edad (años)	24 ± 6	27 ± 7	0,161
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	29 ± 6	28 ± 7	0,551
Presión arterial sistólica en consulta (mm Hg)	115 ± 16	109 ± 16	0,142
Presión arterial diastólica en consulta (mm Hg)	68 ± 10	69 ± 10	0,937
Presión arterial media en consulta (mm Hg)	84 ± 11	82 ± 12	0,509
Presión arterial sistólica diurna MAPA (mm Hg)	117 ± 10	118 ± 10	0,668
Presión arterial diastólica nocturna MAPA (mm Hg)	71 ± 7	74 ± 8	0,161
Presión arterial media diurna MAPA (mm Hg)	86 ± 8	88 ± 8	0,287
Frecuencia cardiaca diurna MAPA (lpm)	78 ± 8	78 ± 10	0,794
Presión arterial sistólica nocturna MAPA (mm Hg)	106 ± 12	102 ± 11	0,225
Presión arterial diastólica nocturna MAPA (mm Hg)	61 ± 7	60 ± 8	0,692
Presión arterial media nocturna MAPA (mm Hg)	75 ± 8	74 ± 9	0,426
Frecuencia cardiaca nocturna MAPA (lpm)	68 ± 10	68 ± 9	0,853
Presión arterial sistólica 24h MAPA (mm Hg)	113 ± 10	113 ± 10	0,881
Presión arterial diastólica 24h MAPA (mm Hg)	68 ± 6	70 ± 7	0,177
Presión arterial media 24h MAPA (mm Hg)	82 ± 7	84 ± 8	0,415
Frecuencia cardiaca 24h MAPA (lpm)	75 ± 8	75 ± 9	0,731
Descenso nocturno presión arterial sistólica (%)	10 ± 9	13 ± 8	0,070
Descenso nocturno presión arterial diastólica (%)	14 ± 9	18 ± 11	0,056
Descenso nocturno presión arterial media (%)	12 ± 9	17 ± 10	0,038

**Tabla 25. Presión arterial en consulta y monitorización ambulatoria de la presión arterial de 24 horas.**

Datos presentados como media ± DE.

De acuerdo a las determinaciones en consulta, 4 de las 36 pacientes con SOP y 3 de los 20 controles presentaron hipertensión grado 1 (11% y 15%, respectivamente,  $\chi^2 = 0,178$ ;  $P = 0,691$ ).

Se utilizó la MAPA para explorar la presencia de anomalías en la presión arterial entre pacientes y controles. Dos de las 4 pacientes con SOP que presentaban hipertensión arterial en consulta tuvieron parámetros de presión arterial normales en la MAPA, lo que sugiere la presencia de hipertensión arterial de bata blanca en estas mujeres. Sin embargo, la MAPA confirmó la hipertensión en otras 2 pacientes que presentaron hipertensión arterial en la

consulta, y diagnóstico de hipertensión arterial enmascarada a otras 10, elevando la prevalencia global de hipertensión a 12 de 36 (33%) de las mujeres con SOP.

En los controles, la MAPA confirmó la presencia de hipertensión en 3 de las mujeres que se diagnosticaron de hipertensión arterial en la consulta y reveló la presencia de hipertensión arterial enmascarada en otras 5 mujeres, por lo que la prevalencia global de hipertensión en este grupo fue de 8 de 20 (40%) ( $\chi^2 = 0,249$ ;  $P = 0,618$  para la comparación entre pacientes y controles). Destacar como el incremento de los valores de presión arterial únicamente durante el periodo nocturno fue el responsable de la presencia de hipertensión arterial enmascarada en 9 de 10 pacientes con SOP y en 3 de 5 de los controles que presentaron esta alteración.

Finalmente, 14 pacientes con SOP y 5 controles presentaron un patrón nocturno no descendedor de la presión arterial (39% y 25%, respectivamente,  $\chi^2 = 1,106$ ;  $P = 0,293$ ).

**Parámetros ecográficos (Tabla 26).**

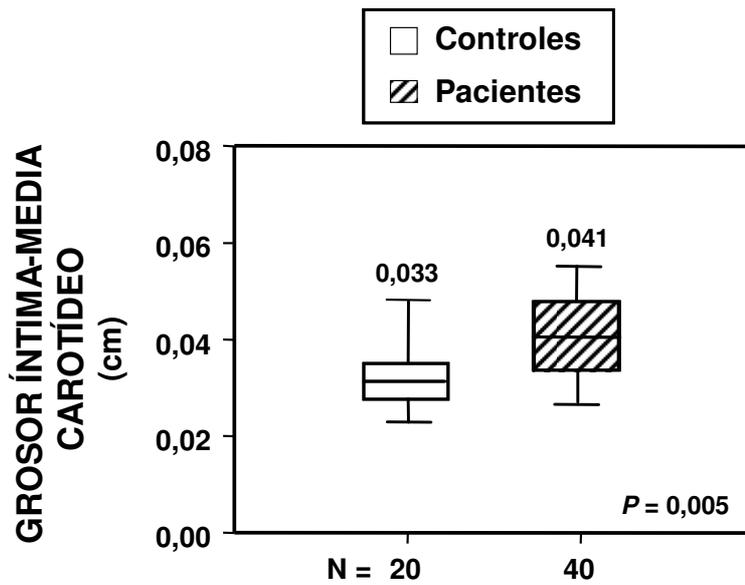
Las pacientes presentaron un mayor grosor intimomedial de la arteria carótida común izquierda frente a las controles (**Figura 13**). Cinco de las mujeres presentaron un IMT en el percentil 75 o por encima del mismo (4 pacientes) según los valores de normalidad en población femenina española, frente a ninguna de las controles. Al considerar como valores anormales aquellos  $> 2$  DE del grupo control ( $> 0,049$  cm), 9 (23%) pacientes presentaron IMT incrementados. No existieron diferencias en los parámetros de disfunción endotelial (FMD & NTG).

	<b>Pacientes (n = 40)</b>	<b>Controles (n = 20)</b>	<b>P</b>
<i>IMT carotídeo (cm)</i>	0,041 ± 0,011	0,033 ± 0,008	0,005
<i>Arteria braquial</i>			
<i>Diámetro basal (cm)</i>	0,349 ± 0,047	0,368 ± 0,040	0,115
<i>Incremento neto (cm)</i>	0,027 ± 0,032	0,019 ± 0,024	0,217
<i>FMD (%)*</i>	8,4 ± 10,2	5,5 ± 7,8	0,696
<i>NTG (%)*</i>	24,1 ± 9,2	19,5 ± 10,3	0,291

**Tabla 26. Parámetros ecográficos estudio casos-control.**

Datos presentados como media ± DE.

\* Datos ajustados por diámetro basal de la arteria braquial.



**Figura 13. IMT carotídeo en pacientes y controles.**

Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

**Análisis según grado de obesidad.**

La distribución de las pacientes en función del grado de obesidad, edad y exploración física se muestran en las **Tablas 27 y 28**.

	Normopeso	Sobrepeso	Obesidad
<i>Pacientes, n (%)</i>	11 (28)	13 (33)	16 (40)
<i>Controles, n (%)</i>	8 (40)	4 (20)	8 (40)

**Tabla 27. Distribución de pacientes y controles en función del grado de obesidad.**

Datos presentados como números crudos (porcentaje).

En el perfil bioquímico general no existieron diferencias entre pacientes y controles según el grado de obesidad en los niveles de creatinina, sodio, potasio, bilirrubina ni GOT.

	<b>Normopeso</b>	<b>Sobrepeso</b>	<b>Obesidad</b>
<b>Pacientes</b>	<b>(n = 11)</b>	<b>(n = 13)</b>	<b>(n = 16)</b>
<i>Peso (kg)</i> *	63,4 ± 5,0	73,6 ± 7,2	91,4 ± 13,1
<i>Edad (años)</i>	25 ± 6	29 ± 10	29 ± 6
<i>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</i> *	21,3 ± 1,3	27,3 ± 1,5	35,5 ± 3,2
<i>Perímetro abdominal (cm)</i> *	71 ± 7	80 ± 4	98 ± 8
<i>Escala de hirsutismo</i> †	9 ± 5	12 ± 5	11 ± 5
<i>Masa grasa (%)</i> *	23 ± 4	32 ± 1	41 ± 3
<b>Controles</b>	<b>(n = 8)</b>	<b>(n = 4)</b>	<b>(n = 8)</b>
<i>Peso (kg)</i> *	61,4 ± 4,4	72,3 ± 6,4	90,6 ± 12,7
<i>Edad (años)</i>	23 ± 5	24 ± 5	26 ± 7
<i>IMC(kg/m<sup>2</sup>)</i> *	22,2 ± 2,0	27,5 ± 1,8	35,8 ± 3,9
<i>Perímetro abdominal (cm)</i> *	70 ± 7	81 ± 9	100 ± 13
<i>Escala de hirsutismo</i> †	2 ± 2	0 ± 0	2 ± 2
<i>Masa grasa (%)</i> *	23 ± 5	32 ± 3	33 ± 8

**Tabla 28. Exploración física de pacientes y controles en función del grado de obesidad.**

Datos presentados como media ± DE.

\* Diferencias entre grados de obesidad.

† Diferencias entre pacientes y controles.

Los niveles de GPT y GGT fueron superiores en las mujeres obesas frente a las que presentaron sobrepeso u obesidad (**Figura 14** y **15**). Los niveles de calcio corregido, función tiroidea y niveles de prolactina fueron similares entre pacientes y controles según el grado de obesidad (**Tabla 29**).

El perfil androgénico en función del grado de obesidad se muestra en la **Figura 17**. Los niveles de testosterona total, androstendiona y DHEAS dependieron de la presencia de SOP, mientras que los de SHBG dependieron del grado de obesidad, aunque existió una tendencia a unos niveles menores en el grupo de pacientes independiente del grado de obesidad ( $P = 0,052$ ). Finalmente, los niveles de testosterona libre fueron influenciados tanto por el grado de obesidad como por la presencia de SOP, existiendo una tendencia hacia la significación estadística para la interacción entre ambas variables ( $P = 0,067$ ). No existieron diferencias entre pacientes y controles según el grado de obesidad en los niveles de gonadotrofinas ni estradiol.

<b>Pacientes</b>	<b>Normopeso (n = 11)</b>	<b>Sobrepeso (n = 13)</b>	<b>Obesidad (n = 16)</b>
<i>Na (mEq/l)</i>	140 ± 2	141 ± 1	140 ± 2
<i>K (mEq/l)</i>	4,0 ± 0,3	4,0 ± 0,2	4,0 ± 0,2
<i>Cr (mg/dl)</i>	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1
<i>Bilirrubina total (mg/dl)</i>	0,7 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,4 ± 0,2
<i>GOT (U/l)</i>	16 ± 4	16 ± 3	18 ± 7
<i>GPT (U/l) *</i>	16 ± 7	16 ± 8	25 ± 13
<i>GGT(U/l) * †</i>	16 ± 5	15 ± 7	25 ± 7
<i>Fosfatasa alcalina(U/l) ‡</i>	65 ± 16	79 ± 25	73 ± 17
<i>Calcio corregido (mg/dl)</i>	9,4 ± 0,3	9,4 ± 0,5	9,4 ± 0,2
<i>TSH (μUI/ml)</i>	1,343 ± 0,626	2,320 ± 1,262	2,285 ± 1,339
<i>Prolactina (ng/ml)</i>	12 ± 7	10 ± 2	13 ± 7
<b>Controles</b>	<b>(n = 8)</b>	<b>(n = 4)</b>	<b>(n = 8)</b>
<i>Na (mEq/l)</i>	141 ± 2	140 ± 1	140 ± 1
<i>K (mEq/l)</i>	3,9 ± 0,4	3,7 ± 0,3	4,1 ± 0,4
<i>Cr (mg/dl)</i>	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1
<i>Bilirrubina total (mg/dl)</i>	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,2
<i>GOT (U/l)</i>	15 ± 2	16 ± 1	18 ± 6
<i>GPT (U/l) *</i>	12 ± 2	15 ± 4	18 ± 5
<i>GGT(U/l) * †</i>	13 ± 4	15 ± 3	19 ± 5
<i>Fosfatasa alcalina(U/l) ‡</i>	60 ± 20	50 ± 14	72 ± 18
<i>Calcio corregido (mg/dl)</i>	9,5 ± 0,3	9,7 ± 0,2	9,3 ± 0,2
<i>TSH (μUI/ml)</i>	1,642 ± 0,619	1,329 ± 0,623	2,237 ± 1,293
<i>Prolactina (ng/ml)</i>	10 ± 5	12 ± 5	11 ± 4

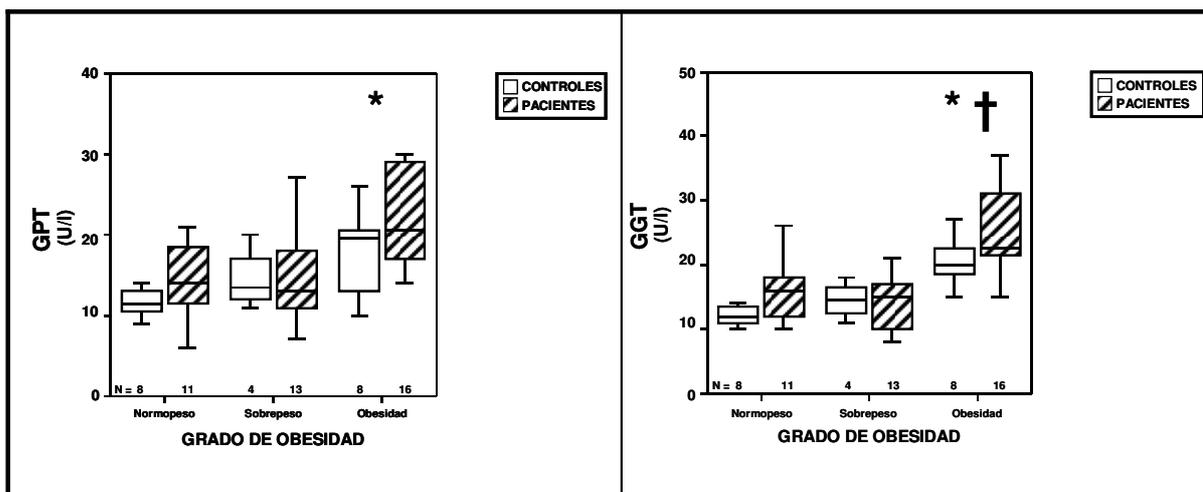
**Tabla 29. Perfil bioquímico, tiroideo y prolactinemia de pacientes y controles en función del grado de obesidad.**

Datos presentados como media ± DE.

\* Diferencias entre grupo de obesidad frente a normopeso.

† Diferencias entre grupo de obesidad frente a sobrepeso.

‡ Diferencias entre pacientes y controles.

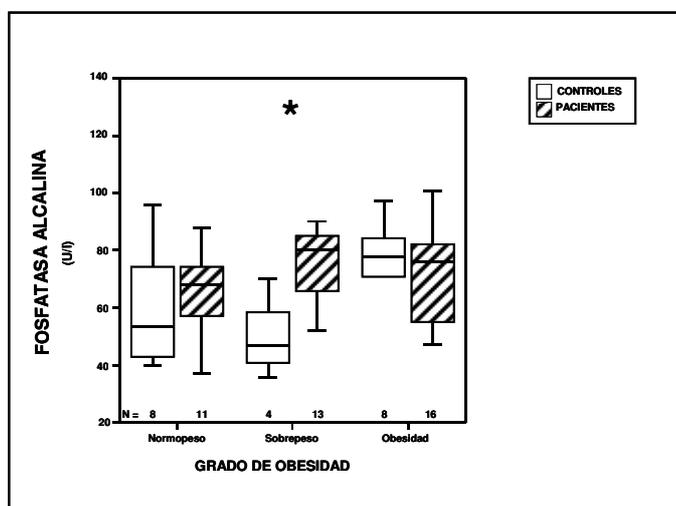


**Figura 14. GPT y GGT en pacientes y controles según grado de obesidad.**

Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

\* Diferencias entre grupo de obesidad frente a normopeso.

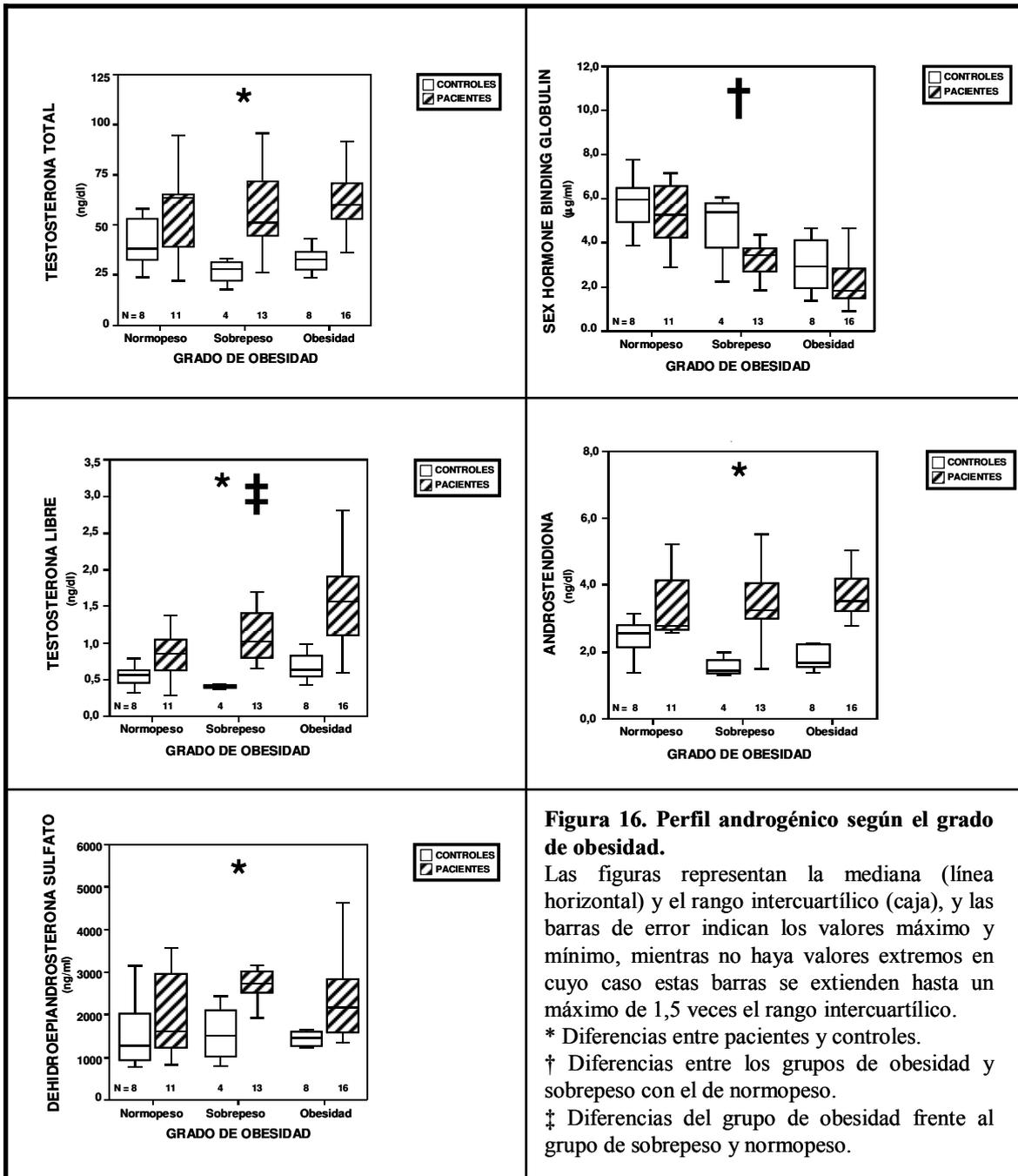
† Diferencias entre grupo de obesidad frente a sobrepeso.



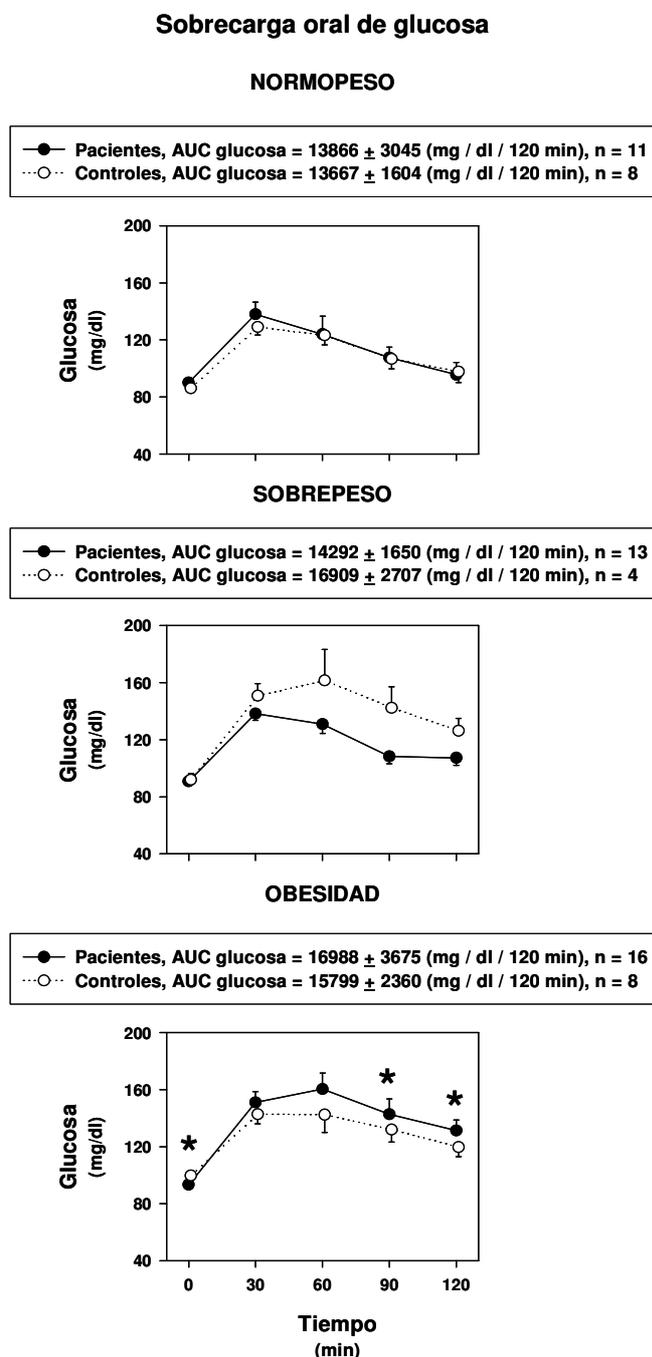
**Figura 15. Fosfatasa alcalina en pacientes y controles según grado de obesidad.**

Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

\* Diferencias entre grupo de pacientes y controles.



En relación con el metabolismo de los hidratos de carbono, los niveles de glucosa venosa a lo largo de la SOG fueron influidos por el grado de obesidad en los tiempos 0, 90 y 120 min, pero no por la presencia de SOP. El AUC glucosa a lo largo de la SOG fue también influido por el grado de obesidad (**Figura 17**).



**Figura 17. Valores de glucosa y AUC a lo largo de la SOG en pacientes y controles en función del grado de obesidad.**

Los datos se presentan como media  $\pm$  DE.

\* Diferencias entre grupo de obesas y mujeres con normopeso independientemente de la presencia de SOP en el AUC glucosa, y los tiempos 0, 90 y 120 min de la SOG.

Los parámetros de acción insulínica y sensibilidad a la insulina en el grupo de pacientes y controles en función del grado de obesidad se muestran en la **Tabla 30** y **Figura 18, 19 y 20**.

Una paciente con normopeso fue diagnosticada de intolerancia a los hidratos de carbono, frente a ninguna mujer control en este subgrupo de peso. Dentro de los subgrupos de sobrepeso y obesidad, 4 pacientes y 4 controles presentaron glucemias basales alteradas, 2 controles y 4 pacientes, intolerancia a los hidratos de carbono, y una paciente fue diagnosticada en la SOG de DM2. No existieron diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono entre las pacientes y controles según el grado de obesidad. Sin embargo, al analizar la población en conjunto, las mujeres con sobrepeso y obesidad presentaron una mayor prevalencia de alteraciones en el metabolismo de carbono (**Figura 21**) (36,6% vs 5,3%;  $\chi^2 = 6,514$ ;  $P = 0,011$ ).

En la **Figura 22** se muestra el perfil lipídico en pacientes y controles según el grado de obesidad. No existieron diferencias entre pacientes y controles por grupos de obesidad, aunque las pacientes con obesidad y sobrepeso, si que mostraron un perfil lipídico alterado con descenso de los niveles de HDL colesterol, y un aumento de triglicéridos, apo B y del colesterol no HDL, especialmente marcado en el subgrupo de mujeres obesas (**Tabla 31**).

En la **Figura 23** se muestra el perfil leucocitario y recuento de neutrófilos. Las mujeres obesas presentaron un mayor recuento leucocitario respecto a los grupos de sobrepeso y normopeso, existiendo una tendencia no estadísticamente significativa hacia un mayor recuento entre las pacientes respecto a las mujeres control ( $P = 0,061$ ). No existieron diferencias en cuanto al porcentaje de neutrófilos, pero si en el recuento total de neutrófilos, presentando las pacientes un recuento superior al grupo control, y las mujeres obesas en conjunto unos niveles superiores a las mujeres con normopeso.

	AUC insulina * † ( $\mu$ UI/ml/120 min)		MCR * (mg/kg/min)		1ª Fase secreción insulínica † ( $\mu$ UI)		2ª Fase secreción insulínica † ( $\mu$ UI)		Índice de sensibilidad a la insulina * †		HOMA * †		QUICKI * †		HbA <sub>1c</sub> (%)	
	Pacientes	Controles	Pacientes	Controles	Pacientes	Controles	Pacientes	Controles	Pacientes	Controles	Pacientes	Controles	Pacientes	Controles	Pacientes	Controles
<i>Normopeso</i> <sup>1</sup>	962± 535	492± 147	9,5± 1,2	9,0± 3,7	195± 108	109± 23	50± 27	30± 5	7,8± 4,8	12,7± 4,1	2,4± 3,8	0,7± 0,4	0,38± 0,06	0,42± 0,04	5,3± 0,5	5,3± 0,3
<i>Sobrepeso</i> <sup>2</sup>	1.069± 439	672± 133	7,7± 1,0	8,3± 0,3	224± 110	103± 55	57± 25	29± 12	5,0± 2,7	9,0± 1,1	2,5± 1,4	0,7± 0,2	0,35± 0,04	0,41± 0,02	5,1± 0,5	5,4± 0,5
<i>Obesidad</i> <sup>3</sup>	1.972± 877	978± 288	2,6± 4,1	5,4± 1,1	294± 152	161± 49	74± 35	43± 11	2,3± 1,0	4,5± 1,6	5,0± 3,2	2,3± 1,0	0,31± 0,02	0,34± 0,03	5,5± 0,6	5,3± 0,2

**Tabla 30. Parámetros de acción insulínica en pacientes y controles en función del grado de obesidad.**

Los datos se presentan como media  $\pm$  DE.

\* Diferencias entre grado de obesidad

† Diferencias entre pacientes y controles

*Distribución de pacientes y controles en función del grado de obesidad*

<sup>1</sup> *Normopeso*: Pacientes, n = 11; controles, n = 8.

<sup>2</sup> *Sobrepeso*: Pacientes, n = 13; controles, n = 4.

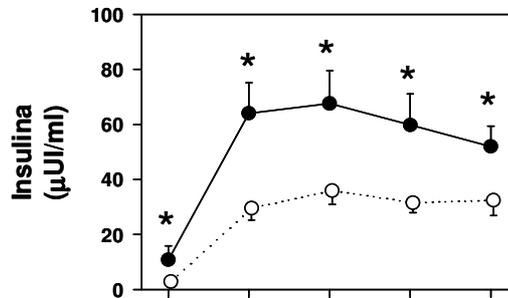
<sup>3</sup> *Obesidad*: Pacientes, n = 16; controles, n = 8.

La secreción integrada de insulina valorada con el AUC de los niveles de insulina a lo largo de la SOG fue mayor en las pacientes y se incrementó según el grado de obesidad. La tasa de aclaramiento metabólico de la insulina (MCR) dependió del grado de obesidad pero no del *status* de enfermedad. La primera y segundas fases de la secreción de insulina fueron mayores en las pacientes que en las controles, mostrando una tendencia a incrementarse según el grado de obesidad ( $P = 0,072$  y  $P = 0,058$ , respectivamente). El índice de sensibilidad a la insulina de *Matsuda y DeFronzo*, HOMA y QUICKI, reflejaron un menor grado de sensibilidad a la insulina en las pacientes, así como una mayor resistencia a la insulina según se incrementaba el grado de obesidad tanto en las pacientes como en los controles. No existieron diferencias entre pacientes y controles ni en función del grado de obesidad en el porcentaje de HbA<sub>1c</sub>.

Sobrecarga oral de glucosa

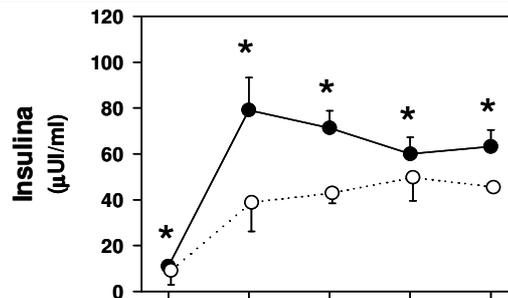
NORMOPESO

—●— Pacientes, AUC insulina =  $6683 \pm 3712$  ( $\mu\text{UI} / \text{ml} / 120 \text{ min}$ ), n = 11  
 ...○... Controles, AUC insulina =  $3417 \pm 1019$  ( $\mu\text{UI} / \text{ml} / 120 \text{ min}$ ), n = 8



SOBREPESO

—●— Pacientes, AUC insulina =  $7422 \pm 3050$  ( $\mu\text{UI} / \text{ml} / 120 \text{ min}$ ), n = 13  
 ...○... Controles, AUC insulina =  $4664 \pm 923$  ( $\mu\text{UI} / \text{ml} / 120 \text{ min}$ ), n = 4



OBESIDAD

—●— Pacientes, AUC insulina =  $13692 \pm 6093$  ( $\mu\text{UI} / \text{ml} / 120 \text{ min}$ ), n = 16  
 ...○... Controles, AUC insulina =  $6790 \pm 2002$  ( $\mu\text{UI} / \text{ml} / 120 \text{ min}$ ), n = 8

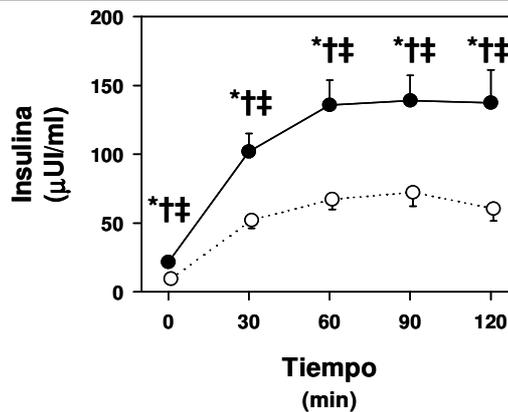


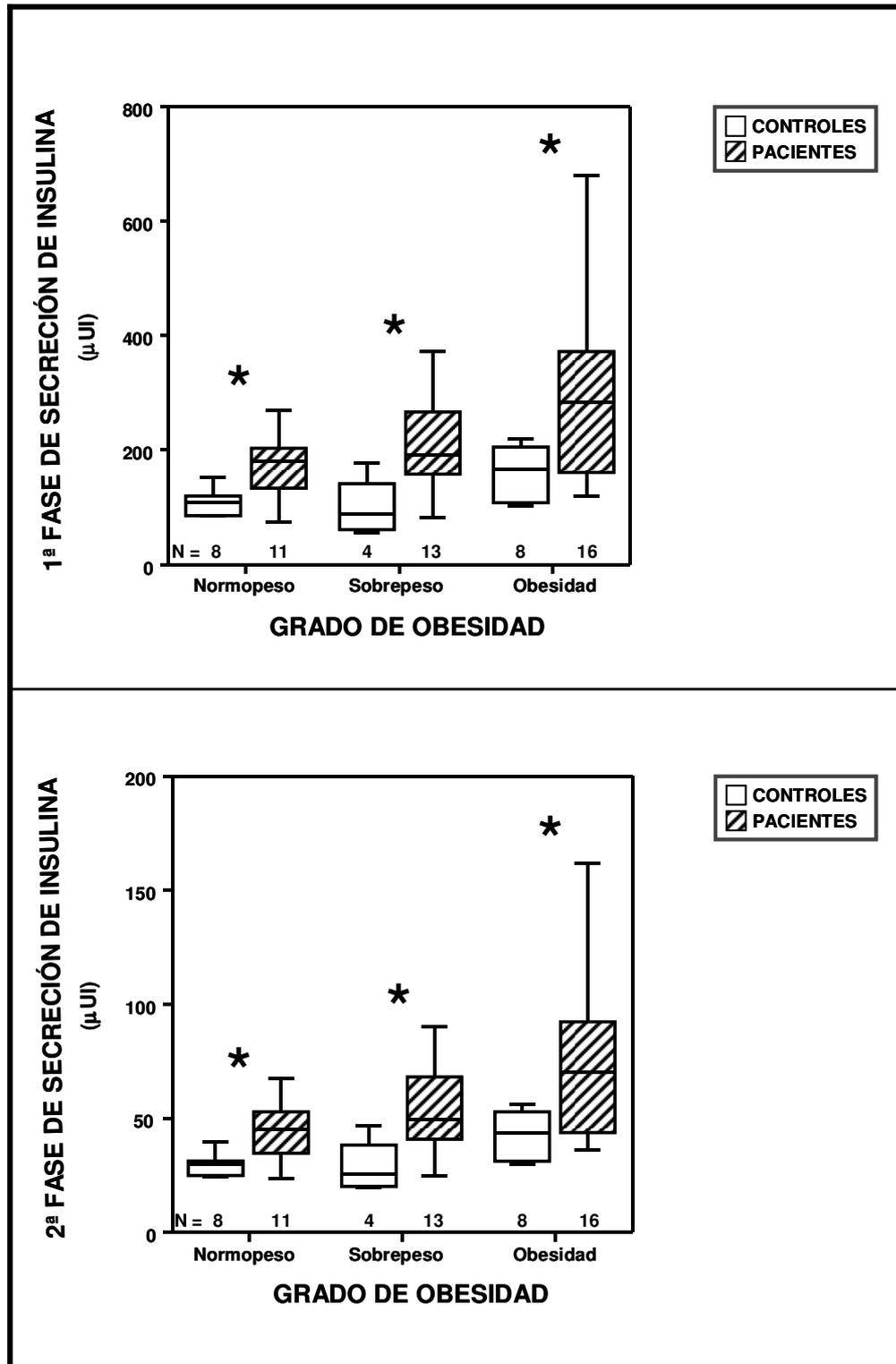
Figura 18. Insulinemia según grado de obesidad en pacientes y controles.

Los datos se presentan como media  $\pm$  DE.

\* Diferencias entre pacientes y controles.

† Diferencias en el AUC insulina entre grupo de mujeres obesas y con sobrepeso.

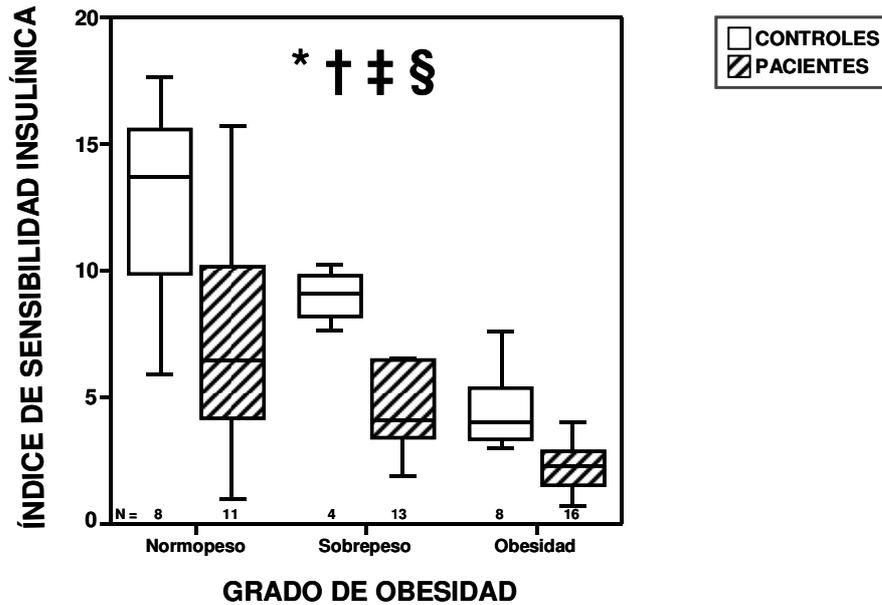
‡ Diferencias en el AUC insulina entre grupo de mujeres obesas y con normopeso.



**Figura 19. 1ª y 2ª fases de secreción de insulina en pacientes y controles según el grado de obesidad.**

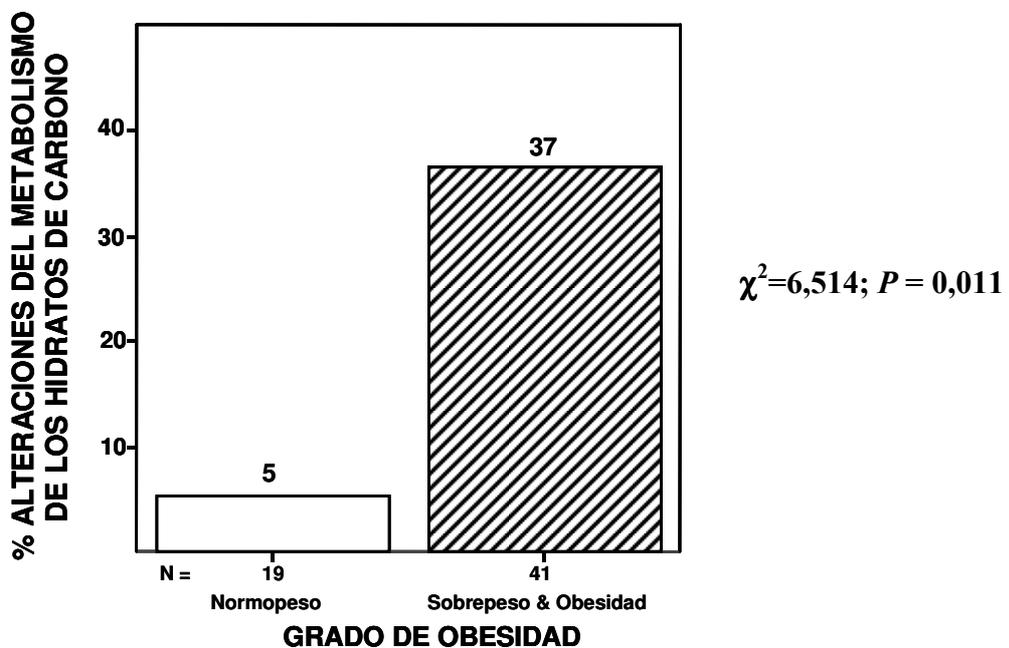
Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

\* Diferencias entre pacientes y controles.

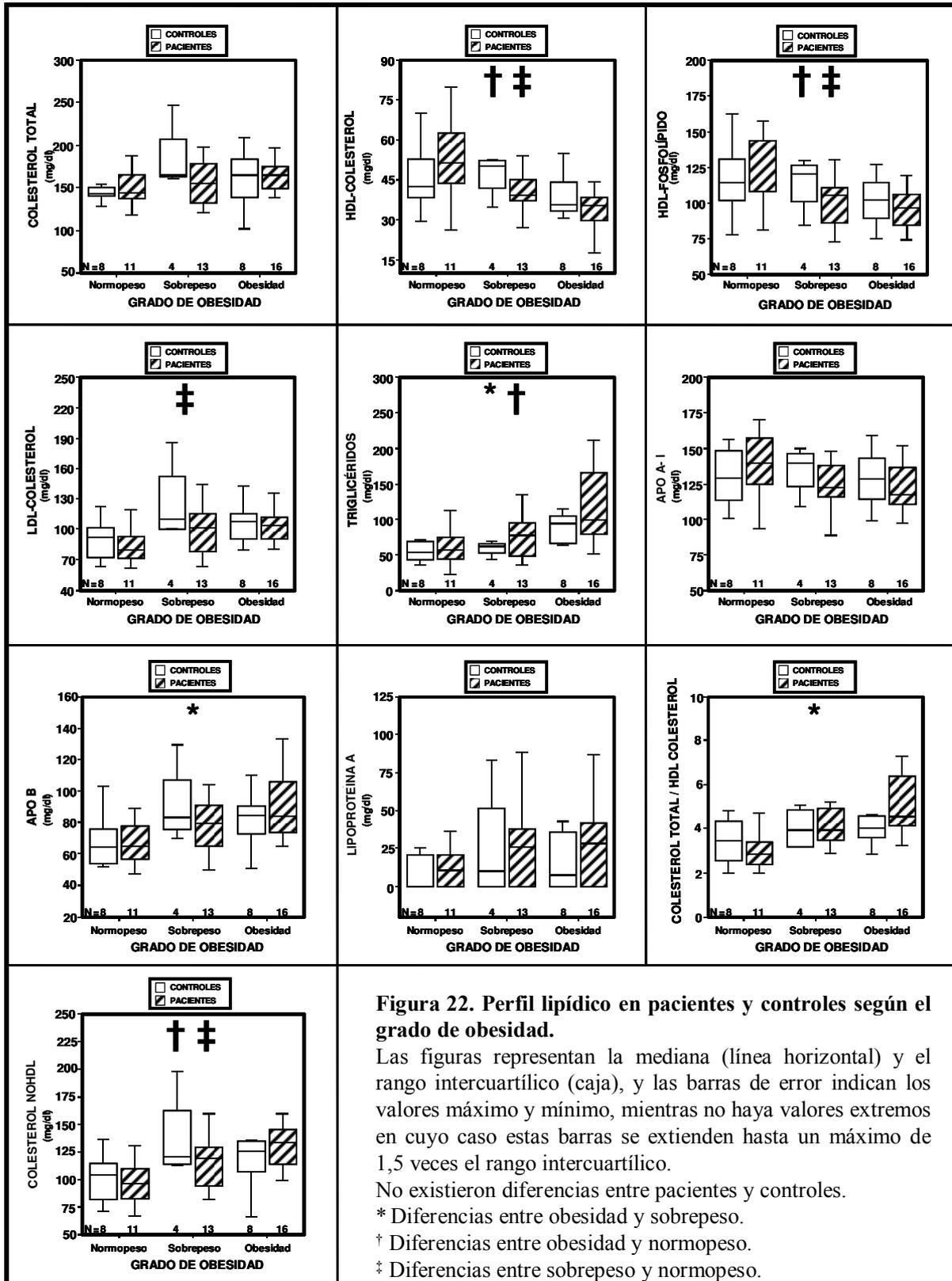


**Figura 20. Índice de sensibilidad insulínica entre pacientes y controles según grado de obesidad.**  
 Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

- \* Diferencias entre pacientes y controles.
- † Diferencias entre grupo de obesidad y normopeso.
- ‡ Diferencias entre grupo de sobrepeso y normopeso.
- § Diferencias entre grupo de obesidad y sobrepeso.



**Figura 21. Prevalencia de las alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono según el grado de obesidad en el grupo de pacientes y controles en conjunto.**

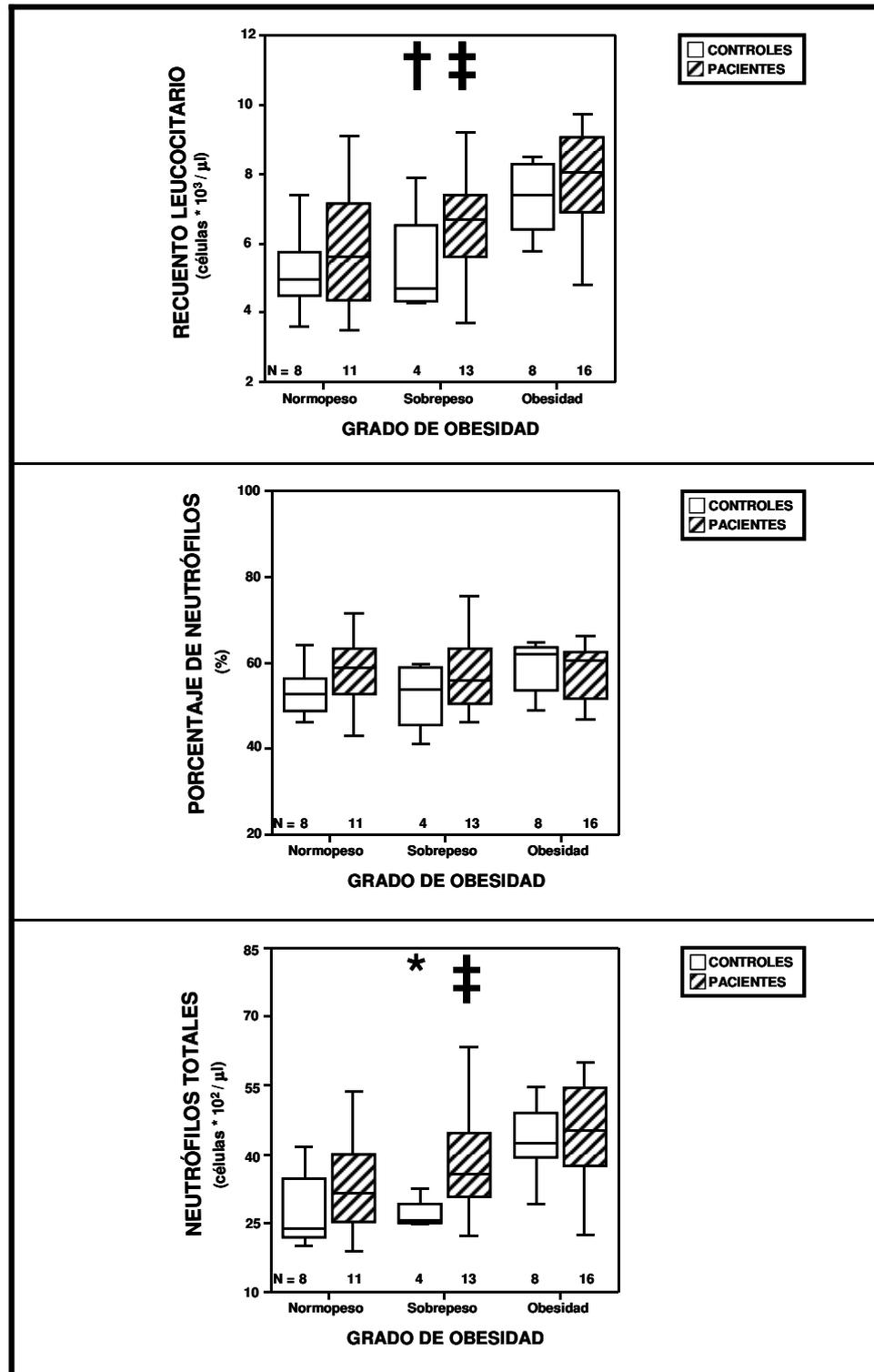


	Normopeso		Sobrepeso		Obesidad	
	Pacientes (n = 11)	Controles (n = 8)	Pacientes (n = 13)	Controles (n = 4)	Pacientes (n = 16)	Controles (n = 8)
↑ <i>Colesterol, n (%)</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	0 (0)
↓ <i>HDL-colesterol, n (%)</i> *	1 (9)	2 (25)	7 (54)	1 (25)	13 (81)	5 (63)
↑ <i>LDL-colesterol, n (%)</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (25)	1 (7)	0 (0)
↑ <i>Triglicéridos, n (%)</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (19)	0 (0)
<i>Dislipidemia, n (%)</i> *	1 (9)	2 (25)	7 (54)	2 (50)	13 (81)	5 (63)

**Tabla 31. Frecuencia de anomalías en el perfil lipídico según el grado de obesidad entre pacientes y controles.**

Datos presentados como números crudos (porcentaje).

\*  $P = 0,001$  para la diferencia en el global de pacientes entre grados de obesidad.

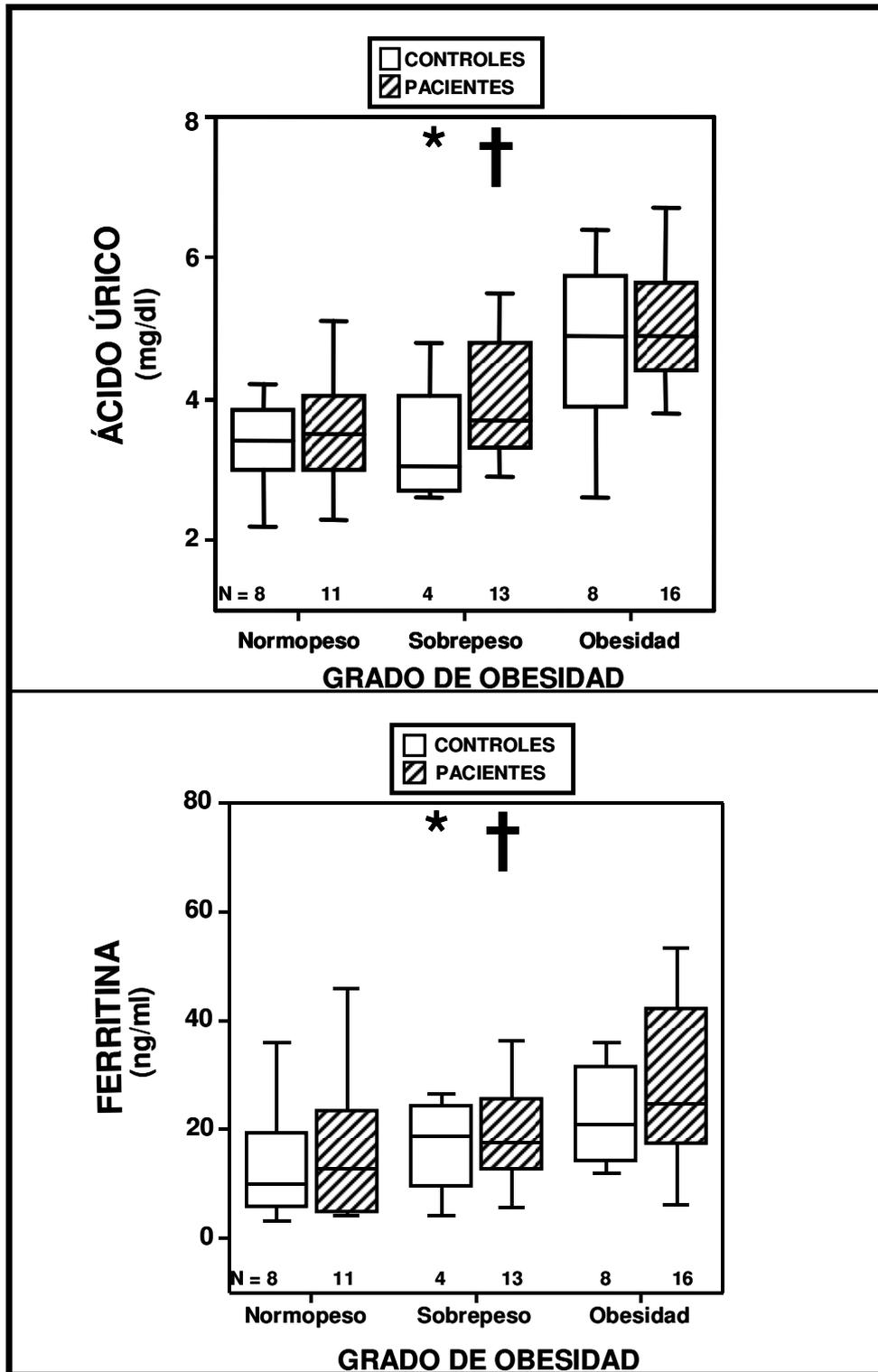


**Figura 23. Recuento leucocitario y neutrófilos en pacientes y controles según el grado de obesidad.** Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

\* Diferencias entre pacientes y controles.

† Diferencias entre obesidad y sobrepeso.

‡ Diferencias entre obesidad y normopeso.

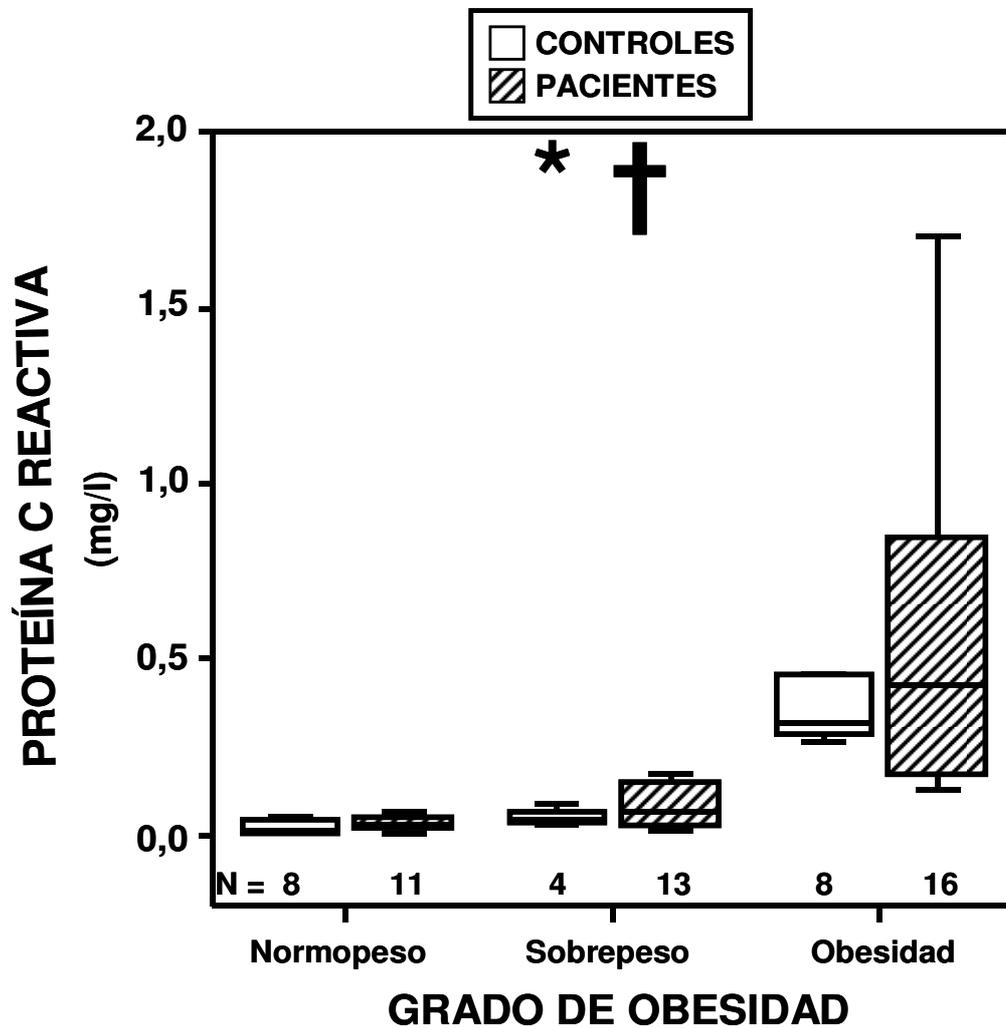


**Figura 24a. Uricemia y ferritina en pacientes y controles según el grado de obesidad.**

Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

\* Diferencias entre obesidad y sobrepeso.

† Diferencias entre obesidad y normopeso.



**Figura 24b.** Concentraciones séricas de proteína C reactiva en pacientes y controles según el grado de obesidad.

Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

\* Diferencias entre obesidad y sobrepeso.

† Diferencias entre obesidad y normopeso.

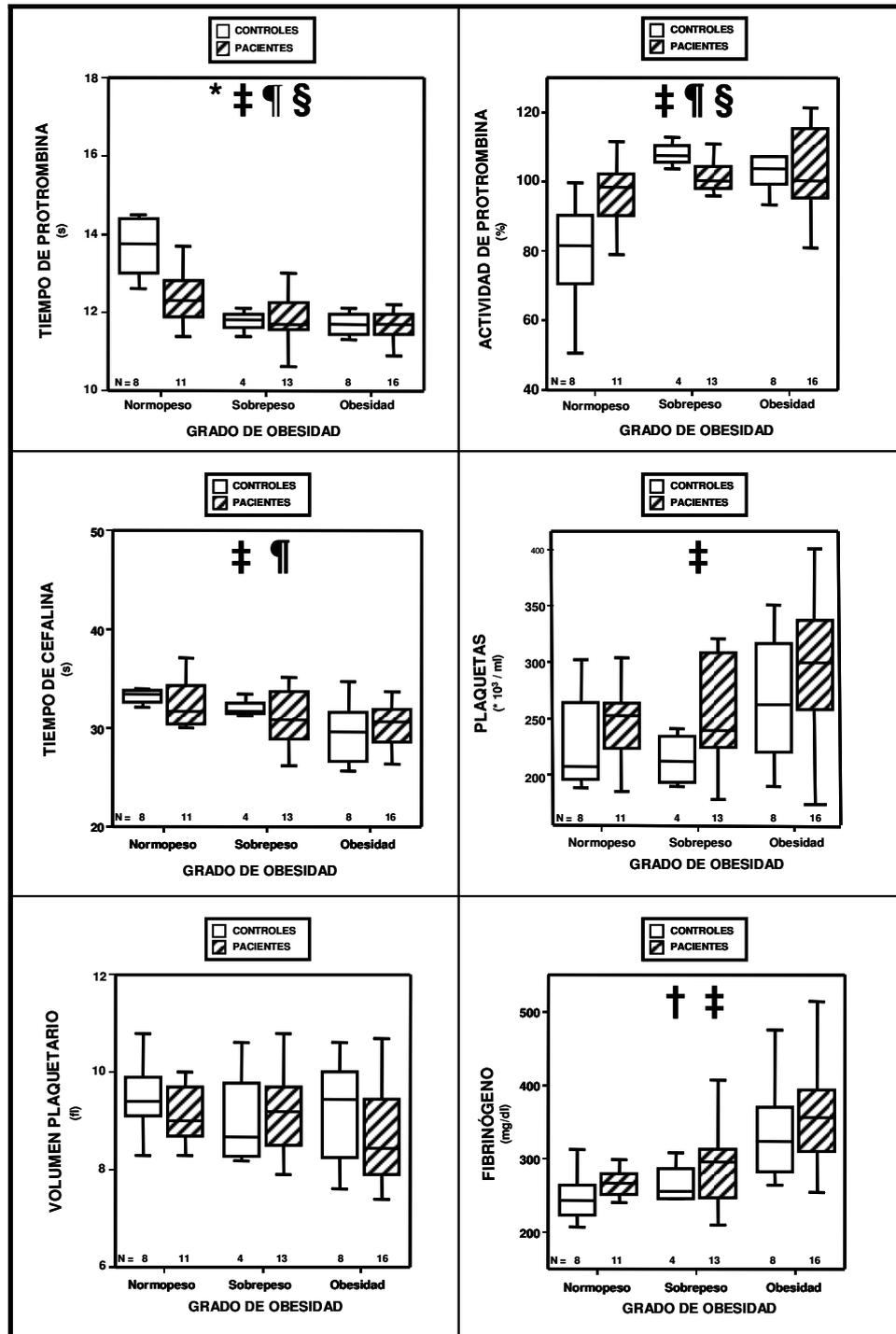
Los niveles de ácido úrico, ferritina y proteína C reactiva fueron significativamente mayores en el grupo de obesidad frente al de sobrepeso y normopeso, respectivamente, pero no en función de la presencia de SOP (Figura 24a y 24b).

En relación con los parámetros de coagulación las mujeres con obesidad y sobrepeso presentaron un menor tiempo de protrombina y cefalina, y una actividad de protrombina mayor que el grupo de normopeso (**Figura 25**). El T° de protrombina fue menor en las pacientes que en las controles, existiendo diferencias significativas para la interacción entre grado de obesidad y status de enfermedad, tanto para el T° de protrombina como para el de cefalina ( $P = 0,005$  y  $P = 0,006$ , respectivamente), así como para la actividad de protrombina ( $P = 0,007$ ), que se tradujeron en diferencias significativas únicamente en el grupo de mujeres con normopeso. Las mujeres obesas presentaron unos niveles de fibrinógeno superiores al grupo de sobrepeso y enfermedad, así como un recuento plaquetario superior al grupo de normopeso pero sin diferencias con las mujeres con sobrepeso, existiendo una tendencia a un mayor recuento plaquetario entre las pacientes frente a las controles ( $P = 0,054$ ). El volumen plaquetario fue similar entre todos los grupos de mujeres.

En las **Figuras 26 y 27** se muestran los valores de presión arterial en consulta y tras monitorización ambulatoria de 24 horas. La presencia de obesidad incremento significativamente los valores de presión arterial diastólica y presión arterial media en consulta tanto en las pacientes como en los controles (**Figura 26**). De acuerdo con estos resultados, la frecuencia de hipertensión arterial en consulta fue del 29% en las mujeres obesas frente a sólo el 3% de las mujeres sin obesidad (**Tabla 32**).

Las determinaciones de la MAPA no mostraron ninguna diferencia estadísticamente significativa en los valores de presión arterial sistólica, diastólica y presión arterial media entre las mujeres con obesidad y sin obesidad (**Figura 26**), no existiendo diferencias significativas entre las mujeres en las frecuencias de hipertensión de acuerdo a la MAPA durante el periodo diurno, nocturno ni a lo largo de las 24 horas (**Tabla 32**). Sin embargo, la media de la frecuencia cardiaca obtenida durante la monitorización ambulatoria estuvo consistentemente elevada en las mujeres obesas frente a aquellas sin obesidad durante los periodos diurno, nocturno y a lo largo de las 24 horas (**Figura 26**).

La frecuencia de anomalías en la presión arterial no fue estadísticamente significativa en las mujeres con SOP frente a los controles no hiperandrogénicos tanto en las mujeres obesas como sin obesidad (**Tabla 32**). Finalmente, y aunque la obesidad no influyo en las diferencias en el descenso nocturno de la presión arterial entre las pacientes con SOP y los controles descritas previamente (**Figura 27**), destacó que la frecuencia de mujeres con patrón no descendedor nocturno de la presión arterial fue especialmente elevada en las pacientes obesas con SOP, estando presente en más del 50% de estas pacientes (**Figura 27**).



**Figura 25. Parámetros de coagulación en pacientes y controles según el grado de obesidad.** Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

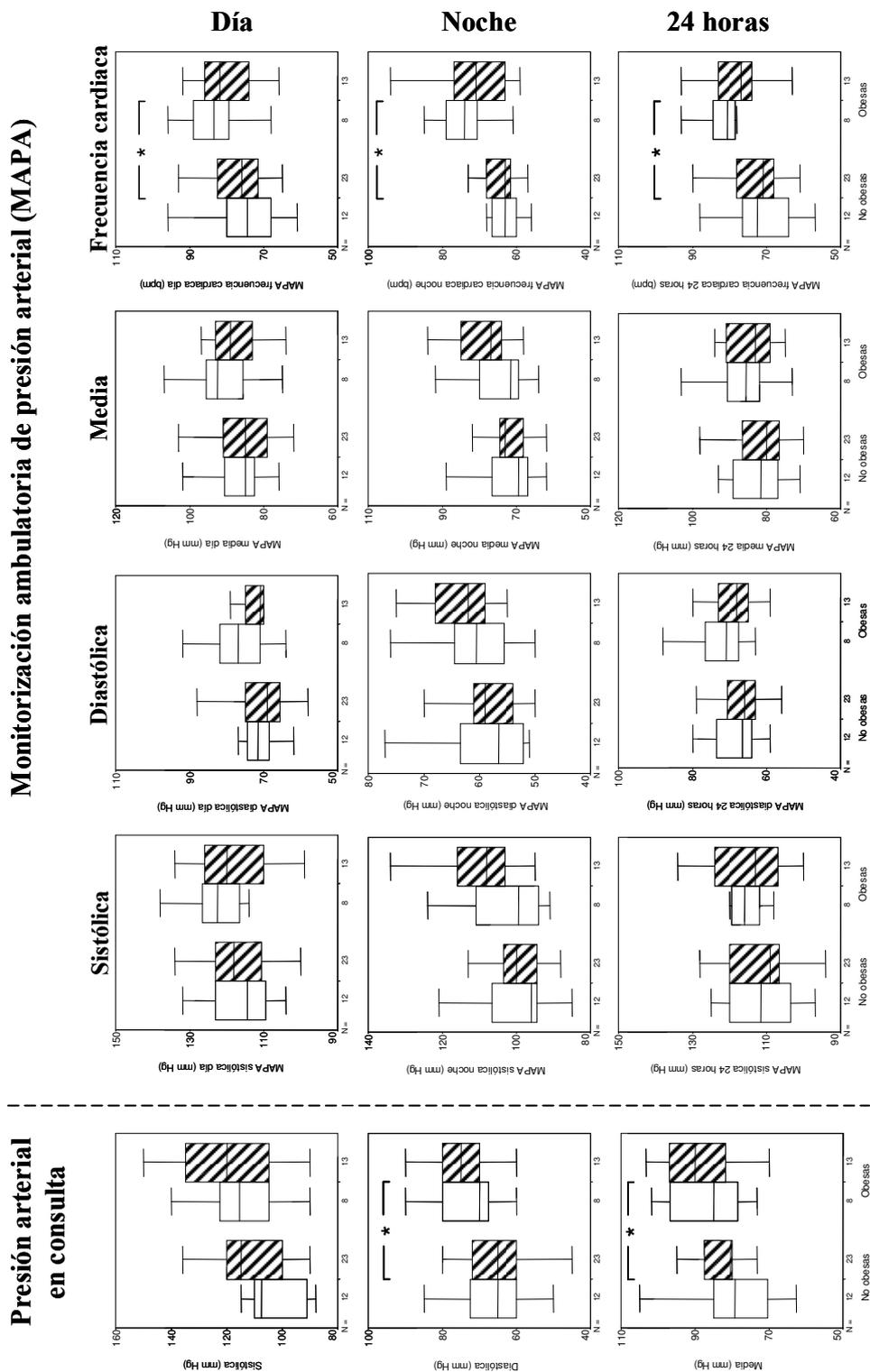
\* Diferencias entre pacientes y controles.

† Diferencias entre obesidad y sobrepeso.

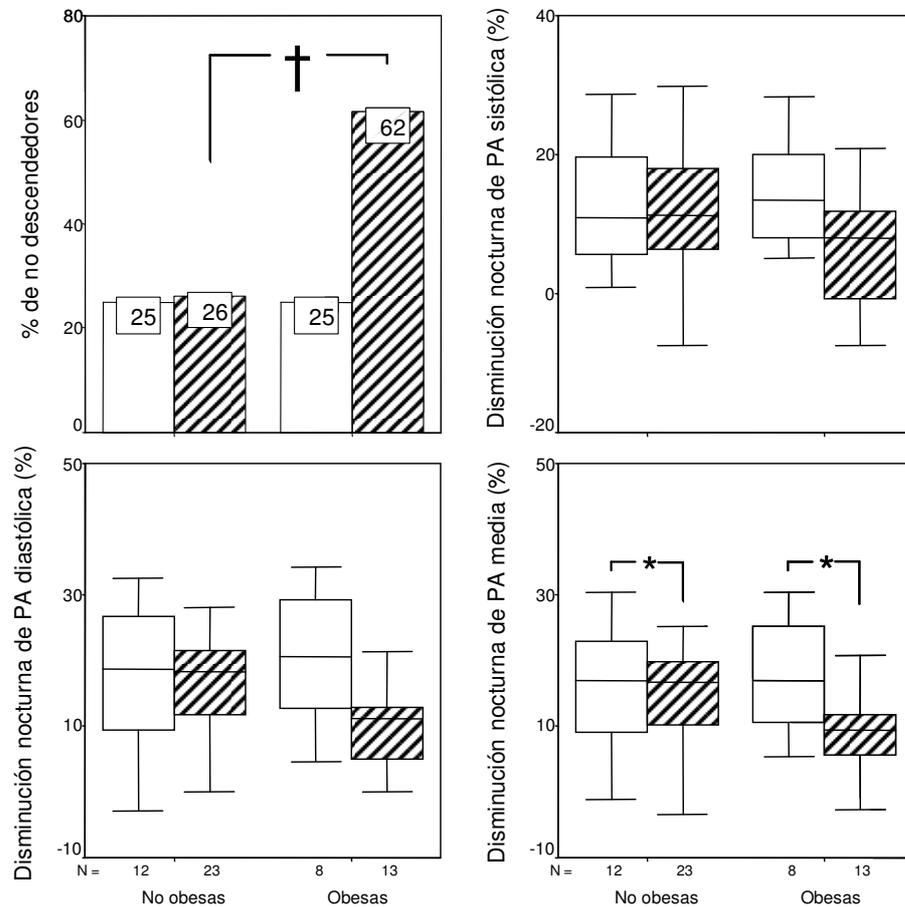
‡ Diferencias entre obesidad y normopeso.

¶ Diferencias entre sobrepeso y normopeso.

§ Diferencias para la interacción entre grado de obesidad y la presencia de SOP.



**Figura 26. Presión arterial en consulta y tras MAPA en pacientes y controles en función del grado de obesidad.** Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico. Las cajas blancas corresponden a los controles y las rayadas a las pacientes con SOP. Los números bajo el eje-X indican el número de sujetos en cada subgrupo. \*  $p < 0,05$  cuando se comparan las mujeres obesas frente a las no obesas, independientemente de ser paciente o control. Reproducido de referencia (423).



**Figura 27. Descenso nocturno en la presión arterial en pacientes y controles en función de la presencia de obesidad.** Las barras del panel superior izquierdo representan el porcentaje de pacientes non-dipper en cada subgrupo. Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico. Las columnas y cajas blancas corresponden a los controles y las barras y cajas rayadas a las pacientes. Los números bajo el eje-X indican el número de sujetos en cada subgrupo.\*  $p < 0,05$  cuando se comparan pacientes y controles, independientemente del grado de obesidad. †  $p < 0,05$  cuando se comparan las pacientes obesas con las pacientes no obesas. Reproducido de referencia (423).

**Anticonceptivos versus metformina y riesgo cardiovascular en el SOP**

	Mujeres no obesas (IMC < 30 kg/m <sup>2</sup> )			Mujeres obesas (IMC ≥ 30 kg/m <sup>2</sup> )		
	Total (n = 35)	Pacientes (n = 23)	Controles (n = 12)	Total (n = 21)	Pacientes (n = 13)	Controles (n = 8)
<b>Hipertensión arterial</b>						
<i>en consulta</i>	1 (3)	0 (0)	1 (8)	6 (29)*	4 (31)	2 (25)
<b>Monitorización ambulatoria de la presión arterial</b>						
<b>Periodo diurno</b>						
Hipertensión sistólica	2 (6)	1 (4)	1 (8)	3 (14)	2 (15)	1 (13)
Hipertensión diastólica	3 (9)	2 (9)	1 (8)	3 (14)	1 (8)	2 (25)
<b>Periodo nocturno</b>						
Hipertensión sistólica	5 (14)	3 (13)	2 (17)	8 (38)	6 (46)	2 (25)
Hipertensión diastólica	7 (20)	4 (17)	3 (25)	6 (29)	5 (39)	1 (13)
<b>Periodo de 24 horas</b>						
Hipertensión sistólica	3 (9)	1 (4)	2 (17)	4 (19)	3 (23)	1 (13)
Hipertensión diastólica	3 (9)	2 (9)	1 (8)	4 (19)	2 (15)	2 (25)
<b>Hipertensión enmascarada</b>	9 (26)	5 (22)	4 (33)	6 (29)	5 (39)	1 (13)
<b>Hipertensión de bata blanca</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (10)	2 (15)	0 (0)
<b>Hipertensión †</b>	10 (29)	5 (22)	5 (42)	10 (48)	7 (54)	3 (38)

**Tabla 32. Frecuencia de anomalías en la presión arterial en las pacientes y controles en función del grado de obesidad.** Los datos se presentan como números crudos (porcentaje).

\*  $P = 0,005$  cuando se compara el conjunto de mujeres obesas con las mujeres no obesas. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes y controles en los subgrupos de obesidad.

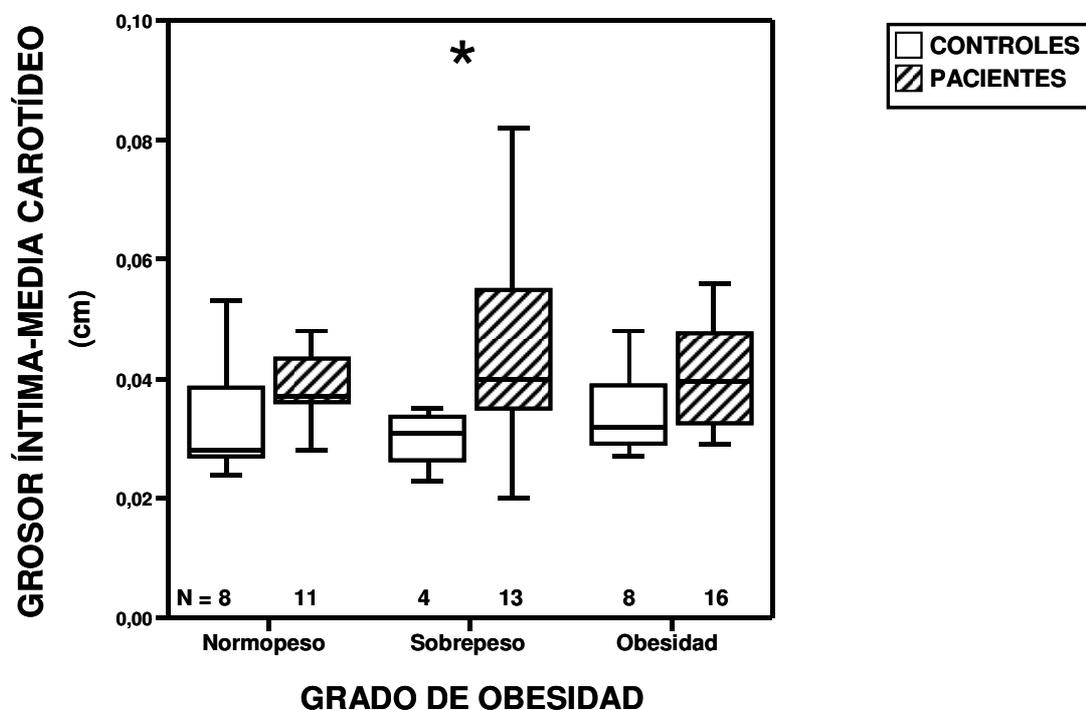
† Incluye las pacientes que presentaron hipertensión arterial en consulta confirmada por MAPA y las pacientes con hipertensión enmascarada.

	Normopeso		Sobrepeso		Obesidad	
	Pacientes (n = 11)	Controles (n = 8)	Pacientes (n = 13)	Controles (n = 4)	Pacientes (n = 16)	Controles (n = 8)
<i>Diámetro basal</i> (mm)	3,57 ± 0,38	3,45 ± 0,36	3,47 ± 0,43	3,78 ± 0,24	3,44 ± 0,56	3,86 ± 0,41
<i>Incremento neto</i> (mm)	0,23 ± 0,30	0,08 ± 0,29	0,23 ± 0,38	0,31 ± 0,17	0,33 ± 0,29	0,19 ± 0,20
<i>FMD (%)</i> *	6,8 ± 8,2	4,3 ± 11,0	7,4 ± 12,7	8,2 ± 4,8	10,3 ± 9,6	5,3 ± 5,4
<i>NTG (%)</i> *	25,2 ± 12,1	24,5 ± 11,2	22,0 ± 9,0	18,2 ± 4,6	25,0 ± 7,4	15,3 ± 10,2

**Tabla 33. Parámetros ecográficos de disfunción endotelial en pacientes y controles según el grado de obesidad.**

Los datos se presentan como media ± DE.

\* Valores ajustados por diámetro basal de la arteria braquial.



**Figura 28. IMT carotídeo en pacientes y controles según el grado de obesidad.**

Los datos fueron analizados mediante un modelo lineal general incluyendo la presencia de enfermedad y el grado de obesidad como variables independientes. Las figuras representan la mediana (línea horizontal) y el rango intercuartílico (caja), y las barras de error indican los valores máximo y mínimo, mientras no haya valores extremos en cuyo caso estas barras se extienden hasta un máximo de 1,5 veces el rango intercuartílico.

\* Diferencias entre pacientes y controles independientemente del grado de obesidad.

No existieron diferencias en el estudio ecográfico de función endotelial entre pacientes y controles según el grado de obesidad, ni en la dilatación dependiente ni independiente de endotelio (**Tabla 33**). En cuanto al IMT carotídeo se mantuvieron las diferencias entre pacientes y controles ( $F = 8,575$ ;  $P = 0,005$ ) sin modificarse según el grado de obesidad ( $F = 0,757$ ;  $P = 0,474$  para la interacción), ni existiendo cambios en función del mismo ( $F = 0,111$ ;  $P = 0,895$ ) (**Figura 28**). De las 9 mujeres con SOP que presentaban una cifra de IMT  $> 2$  DE de la media de la población sana de la misma edad y sexo, 6 se encontraban dentro del grupo con sobrepeso y 3 en el de obesidad.

**Evaluación a las 12 y 24 semanas en ambas ramas de tratamiento. Ensayo clínico.**

Tras la randomización inicial, 15 pacientes fueron asignadas al grupo de Diane<sup>35</sup> Diario, y 19 al de metformina, cuyos datos iniciales se muestran en la **Tabla 34**. De las 19 pacientes asignadas al grupo de metformina, 2 pacientes abandonaron el protocolo por intolerancia digestiva, una quedó embarazada al mes de iniciar el tratamiento, y otras 2 incumplieron el tratamiento de forma voluntaria. Otras 2 pacientes de ésta misma rama de tratamiento abandonaron el estudio tras haber realizado la primera revisión. Estas 7 pacientes han sido incluidas en el análisis por intención de tratar como se describió previamente. Las pacientes perdidas a lo largo del seguimiento tendieron a ser más obesas y presentar mayor grado de hiperandrogenismo (**Tabla 34**). Las 12 mujeres restantes constituyen el grupo de análisis de pacientes que completó el estudio. (**Figura 9**).

	<b>Diane<sup>35</sup> Diario (n = 15)</b>	<b>Metformina (n = 19)</b>	<b>Metformina (pacientes que completaron el estudio, n = 12)</b>	<b>Metformina (pérdidas de seguimiento, n = 7)</b>
<i>Edad (años)</i>	23,4 ± 5,6	25,1 ± 6,6	24,8 ± 7,4	24,9 ± 6,1
<i>Fumadoras, n (%)</i>	6 (40)	8 (42)	5 (46)	3 (43)
<i>Índice de masa corporal (kg/m<sup>2</sup>)</i>	29,2 ± 5,7	30,5 ± 6,9	28,9 ± 6,0	34,1 ± 7,3
<i>Circunferencia abdominal (cm)</i>	83 ± 12	89 ± 18	88 ± 16	94 ± 21
<i>Índice cintura-cadera</i>	0,79 ± 0,06	0,82 ± 0,11	0,80 ± 0,09	0,87 ± 0,14
<i>Escala de hirsutismo</i>	11 ± 5	10 ± 6	9 ± 5	12 ± 6
<i>Testosterona libre (ng/dl)</i>	1,1 ± 0,4	1,3 ± 0,6	1,2 ± 0,6	1,5 ± 0,7
<i>Androstendiona (ng/dl)</i>	3,4 ± 0,9	4,0 ± 1,2	3,4 ± 0,9	4,6 ± 1,2 *
<i>DHEAS (ng/ml)</i>	2.741 ± 1.037	2.259 ± 926	2.185 ± 667	2.407 ± 1.333
<i>Índice de sensibilidad insulínica</i>	4,4 ± 3,5	3,8 ± 2,4	3,6 ± 2,2	3,2 ± 1,8

**Tabla 34. Características basales de las pacientes randomizadas en cada rama de tratamiento, de aquellas que completaron el estudio y de las pérdidas de seguimiento en el grupo de tratamiento con metformina**

Los datos se presentan como media ± DE y números crudos (porcentaje).

\* p < 0,05 comparadas con las pacientes que finalizaron el estudio. No existieron otras diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables.

**Efectos del tratamiento sobre las características clínicas y perfil androgénico.**

Las pacientes no presentaron cambios significativos a lo largo del estudio respecto a los valores basales de IMC, perímetro abdominal, ICC y porcentaje de masa grasa corporal respecto al peso corporal total (**Figura 29**). Al considerar el global de pacientes con SOP, la escala de hirsutismo y los niveles de testosterona libre y androstendiona disminuyeron con el tratamiento (**Figura 29**), aunque un análisis detallado de la interacción en cada rama de sujetos con el tratamiento en el modelo lineal general reveló que estas diferencias significativas fueron debidas al descenso en dichos niveles observado en las mujeres tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario, cuyo efecto fue mucho más marcado que el observado durante el tratamiento con metformina (**Figura 29**), y de hecho sólo el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario indujo un descenso en los niveles de DHEAS.

Estos cambios motivaron que las pacientes tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario presentaran al final del seguimiento unos niveles de testosterona libre y androstendiona similares al grupo control, mientras que las de la rama de tratamiento con metformina mantuvieron unos niveles aún elevados.

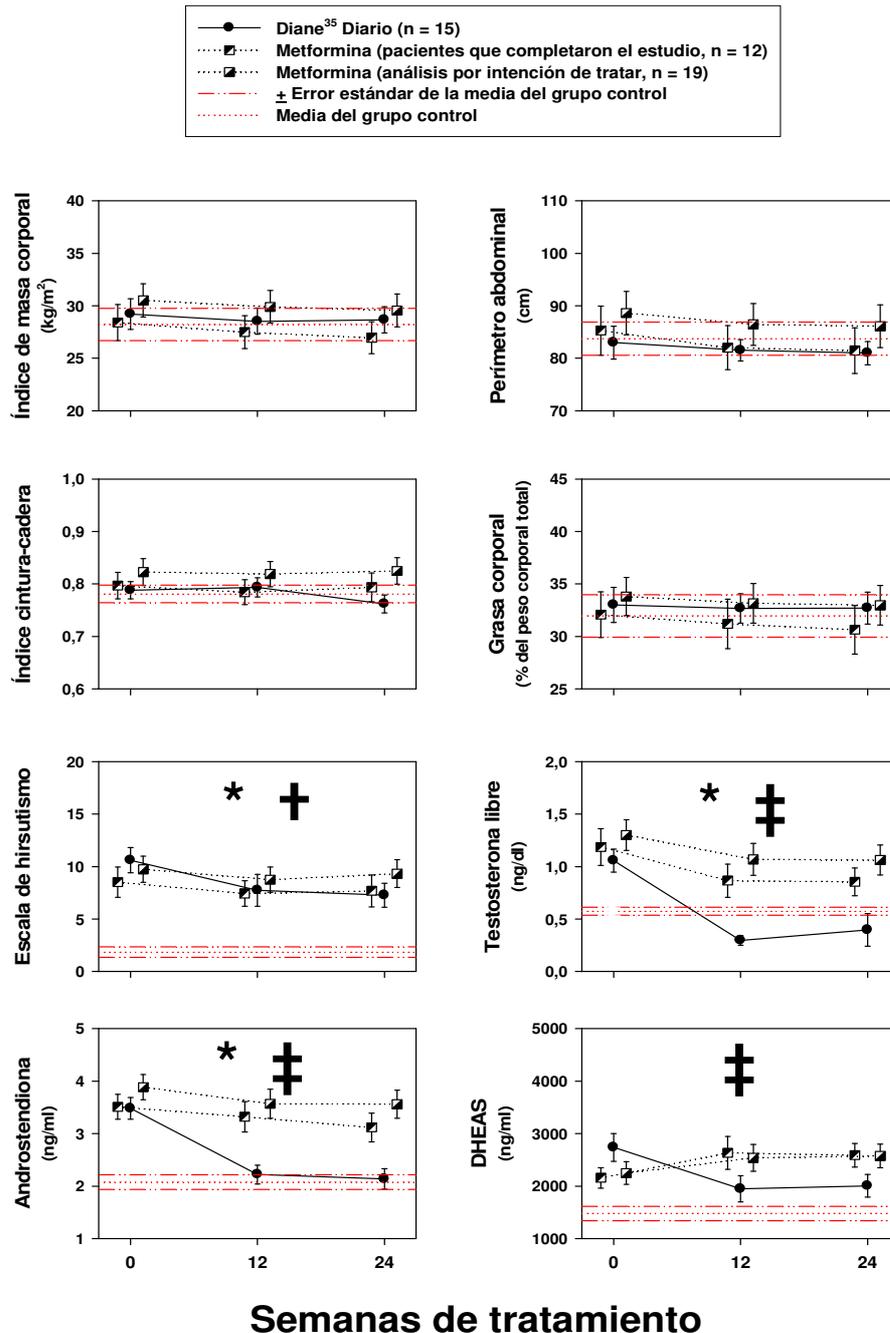
Al introducir la presencia de obesidad como efecto entre los sujetos en el modelo lineal general, pudimos observar un descenso significativo del perímetro abdominal en el global de pacientes (Wilks'  $\lambda = 0,588$ ;  $F = 7,707$ ;  $P = 0,003$ ; **Figura 30**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,712$ ;  $F = 5,859$ ;  $P = 0,007$ ), que aconteció de forma independiente a la rama de tratamiento aplicada (Wilks'  $\lambda = 0,964$ ;  $F = 0,410$ ;  $P = 0,669$ ; **Figura 30**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,998$ ;  $F = 0,025$ ;  $P = 0,975$ ), aunque el descenso en el perímetro abdominal estuvo realmente relacionado con los cambios experimentados en las pacientes obesas (Wilks'  $\lambda = 0,546$ ;  $F = 9,135$ ;  $P = 0,001$ ; **Figura 30**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,662$ ;  $F = 7,397$ ;  $P = 0,003$ ). Los valores de otras variables antropométricas y andrógenos no se modificaron al considerar la interacción de la obesidad de forma uniforme en las pacientes que completaron el estudio y en el análisis por intención de tratar.

### **Efectos del tratamiento sobre el patrón menstrual.**

La disfunción menstrual (oligomenorrea crónica o amenorrea) presente en 14 de las pacientes randomizadas a tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario y en 11 de las pacientes tratadas con metformina (1 paciente en cada grupo presentaba ciclos regulares anovulatorios), se normalizó en todas las pacientes tratadas con el anticonceptivo, mientras que la presencia de ciclos menstruales regulares únicamente se alcanzó en 5 y 6 pacientes tratadas con metformina a las 12 y 24 semanas de tratamiento, respectivamente (**Figura 31**). Las 6 pacientes tratadas con metformina que mostraban menstruaciones regulares al final del seguimiento presentaban un IMC < 30,0 kg/m<sup>2</sup>, mientras que ninguna paciente con obesidad normalizó sus ciclos menstruales ( $\chi^2$ : 6,000;  $P = 0,061$ ).

### **Efectos del tratamiento sobre el metabolismo de los hidratos de carbono e índices de sensibilidad insulínica.**

Los índices de sensibilidad insulínica mejoraron en el global de pacientes respecto a la visita basal, de tal forma que los valores del ISI se incrementaron, y los niveles de insulina basal y el AUC insulina a lo largo de la SOG descendieron al compararlos con los valores obtenidos en la evaluación basal (**Figura 32**). De estos cambios, únicamente el incremento en el índice de sensibilidad insulínica estaba claramente relacionado de forma específica con el tratamiento con metformina (**Figura 32**), como sugiere la interacción estadísticamente significativa observada en las pacientes que completaron el estudio en el modelo lineal general, aunque esta interacción no fue confirmada en el análisis por intención de tratar. Por el contrario, los niveles de glucemia basal y el AUC glucosa a lo largo de la SOG no mostraron cambios significativos respecto a los valores basales en el global de pacientes, aunque los niveles de glucemia basal experimentaron un discreto incremento en las mujeres tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario tanto a las 12 como 24 semanas de seguimiento, pero sin superar los valores del grupo control (**Figura 32**). Los resultados de estas variables relacionadas con el metabolismo de los hidratos de carbono no se modificaron de forma uniforme al considerar la interacción de la obesidad en las pacientes que finalizaron el estudio y en el análisis por intención de tratar.



**Figura 29.** Cambios en las variables clínicas y perfil androgénico en las pacientes en la rama de tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario y metformina a lo largo de las 24 semanas de seguimiento. Los datos se presentan como media ± EEM. Las figuras muestran tanto la evolución de las pacientes que completaron el estudio en la rama de tratamiento con metformina (n = 12), como el análisis por intención de tratar, incluyendo todas las pacientes que iniciaron el tratamiento con metformina (n = 19) y asumiendo para los valores perdidos la ausencia de cambio respecto a la última visita realizada. *Abreviaturas*, DHEAS, dehidroepiandrosterona-sulfato. \* p < 0,05 para el cambio en los valores comparado con basales en el global de pacientes, independientemente de la rama de tratamiento. † p < 0,05 para las diferencias en los cambios de cada variable dependiendo de la rama de tratamiento, únicamente en el análisis por intención de tratar. ‡ p < 0,05 para las diferencias en los cambios de cada variable dependiendo de la rama de tratamiento, tanto en las pacientes que completaron el estudio como en el análisis por intención de tratar.

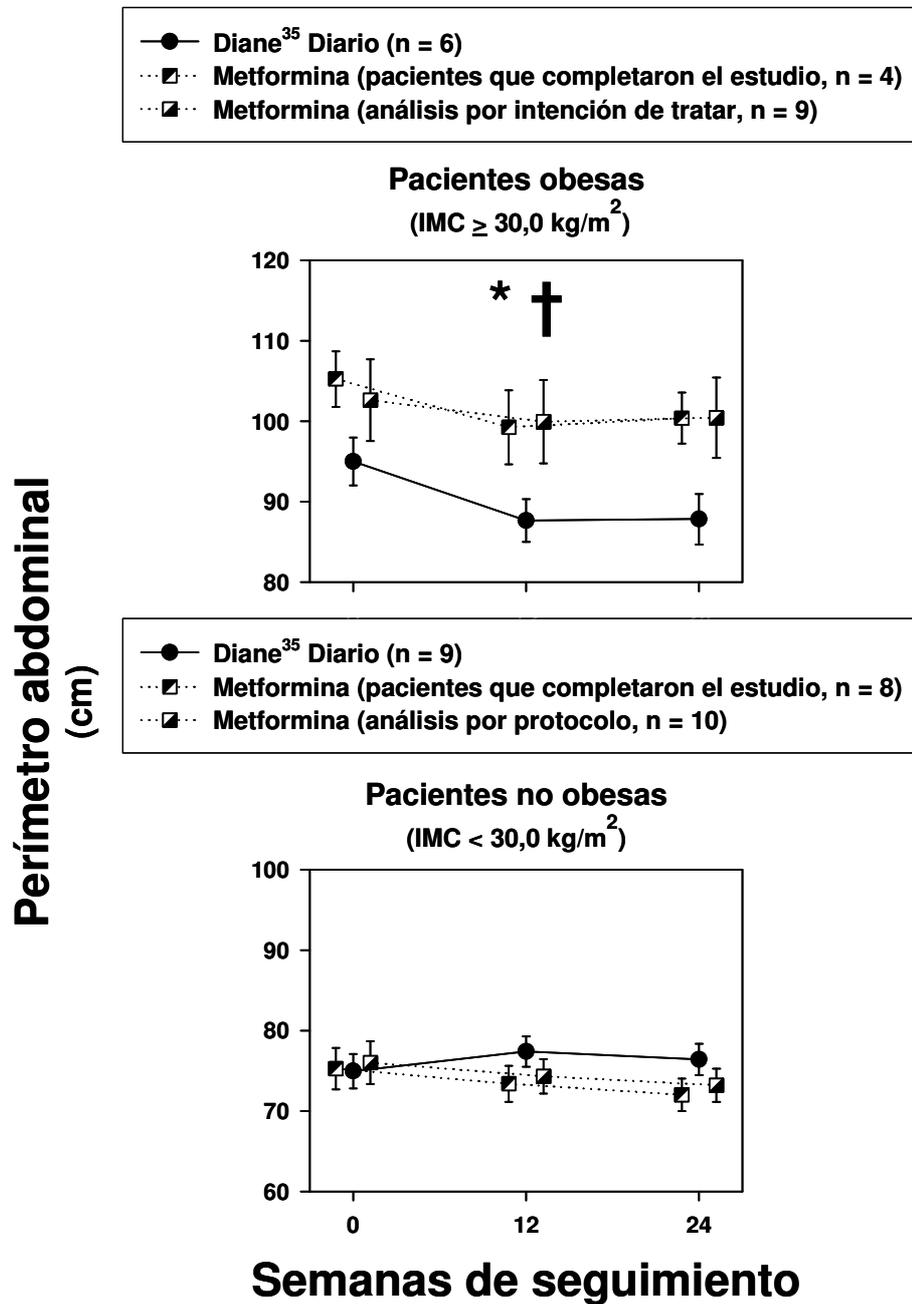
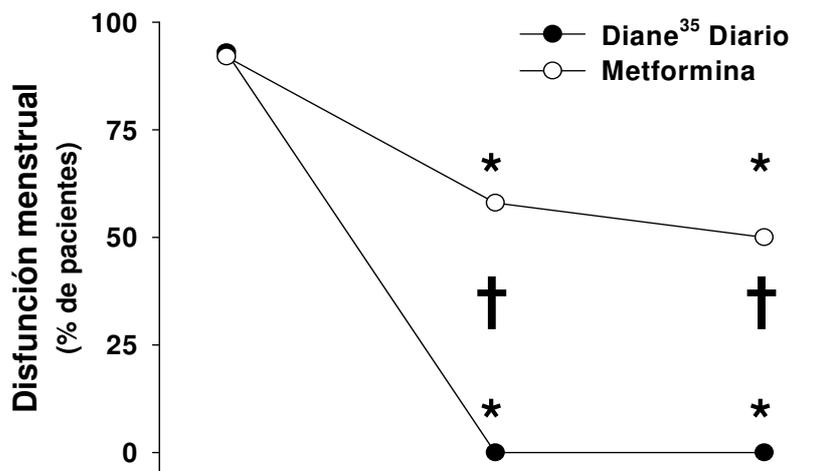


Figura 30. Cambios en el perímetro abdominal durante el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario o metformina en función del grado de obesidad.

Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM.

\*  $p < 0,05$  al comparar con los datos basales, independientemente de la rama de tratamiento.

†  $p < 0,05$  para la interacción entre el efecto de las visitas sobre el perímetro abdominal y la presencia de obesidad.



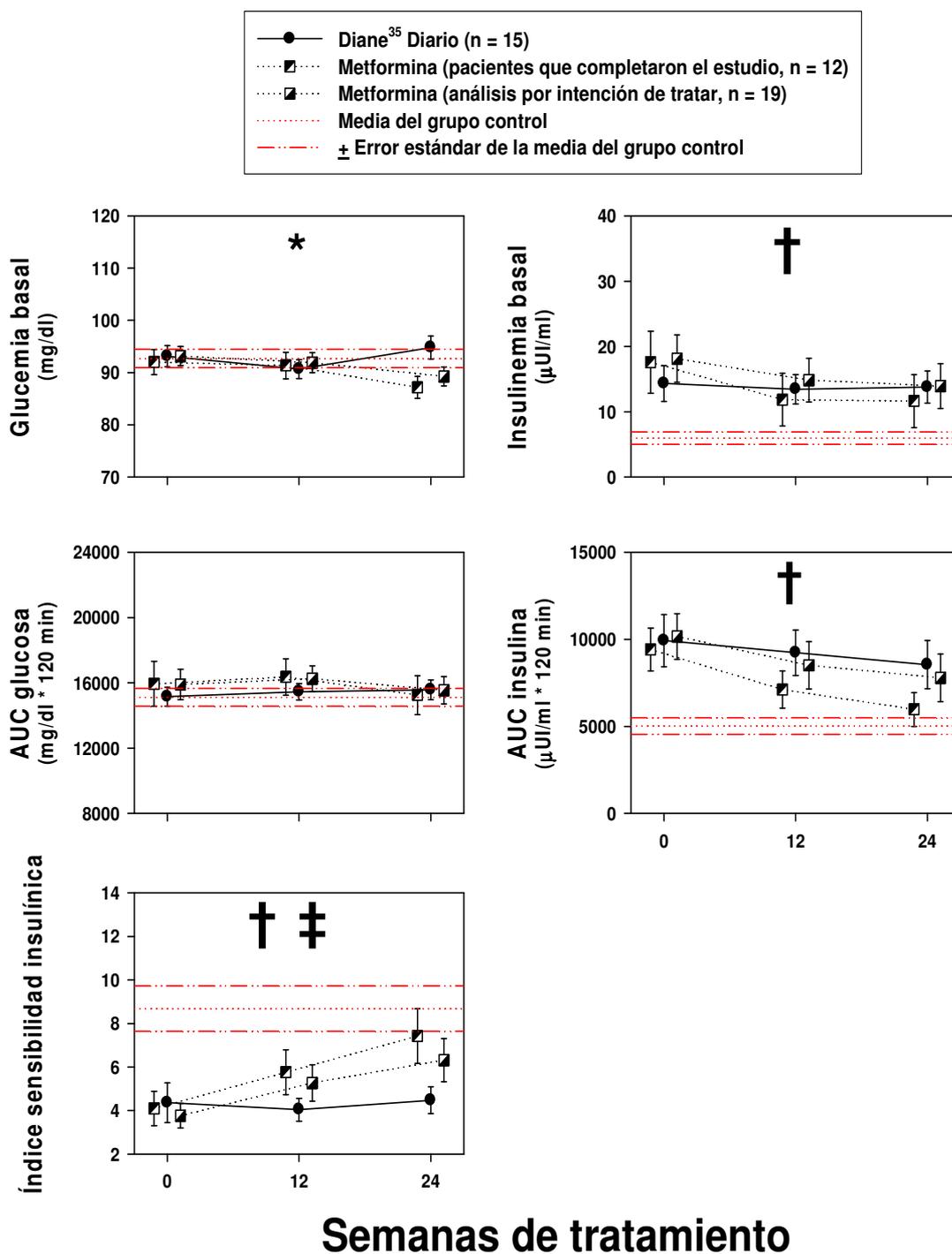
**Figura 31. Cambios en la disfunción menstrual durante el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario o metformina en las pacientes que completaron el estudio.**

\*  $p < 0,05$  al comparar con los datos basales, independientemente de la rama de tratamiento.

†  $p < 0,05$  para la diferencia entre ambas ramas de tratamiento.

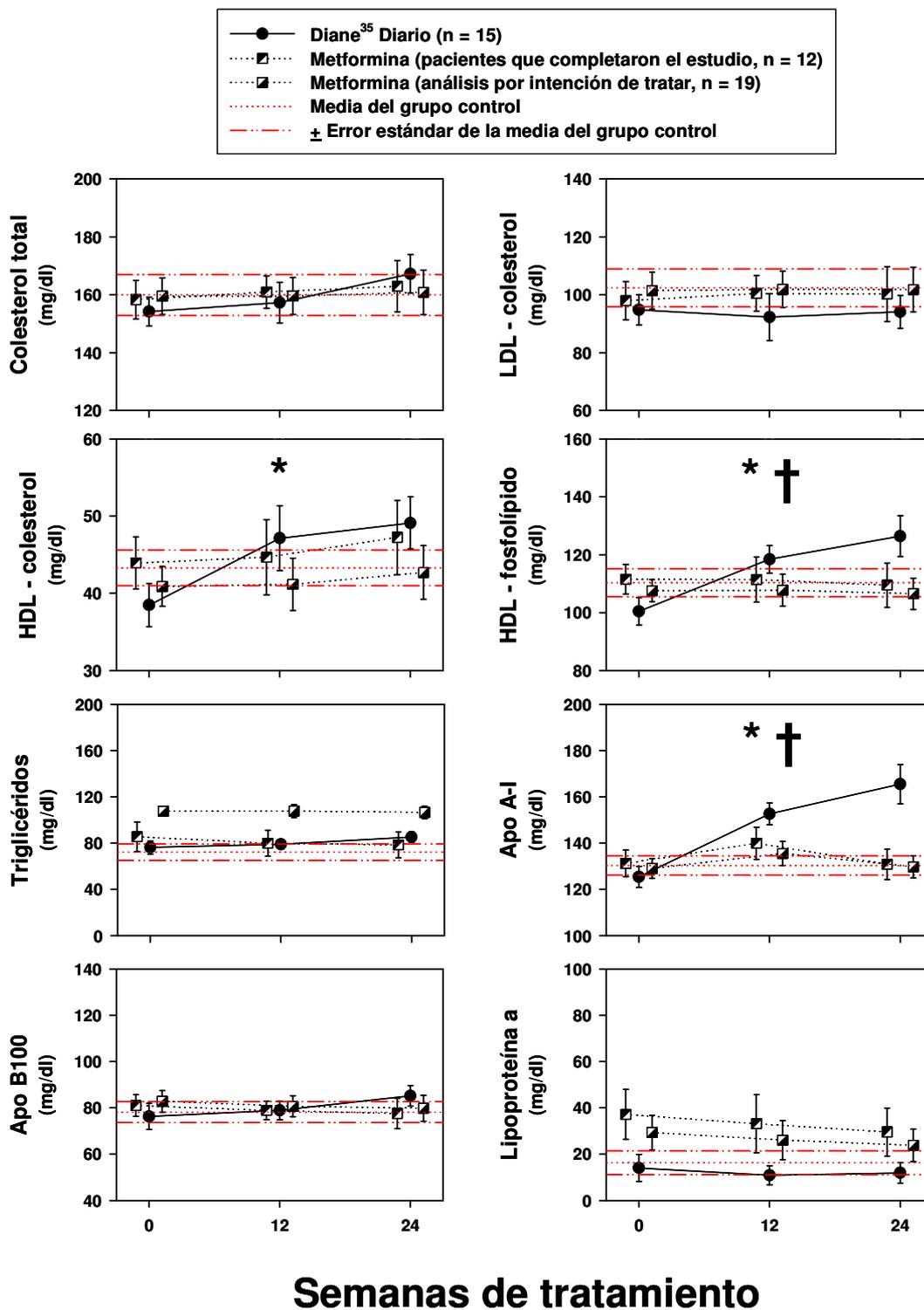
### Efectos del tratamiento sobre el perfil lipídico.

Al igual de los resultados observados en la evaluación clínica e hiperandrogenismo bioquímico, los cambios observados en el perfil lipídico se relacionaron fundamentalmente con el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario. En las pacientes tratadas con este anticonceptivo, los niveles plasmáticos de Apo-AI y HDL-fosfolípido se incrementaron de forma significativa, lo que explica el incremento observado en las concentraciones de estos lípidos y HDL-colesterol, en el global de pacientes cuando se compararon con los valores basales (**Figura 33**). Por el contrario, no se observaron cambios estadísticamente significativos en las concentraciones plasmáticas de colesterol total, LDL-colesterol, triglicéridos, Apo B100 ni lipoproteína (a) respecto a los niveles observados en la evaluación basal (**Figura 33**). Estos cambios conllevaron que al final del seguimiento las mujeres tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario presentaran niveles superiores de Apo-AI y HDL-fosfolípido incluso superiores a los observados en el grupo de mujeres control (**Figura 33**). Los resultados del perfil lipídico no se modificaron al considerar la interacción de la obesidad de forma uniforme en el análisis de las pacientes que completaron el estudio y por intención de tratar.



**Figura 32. Cambios en los índices del metabolismo de los hidratos de carbono y sensibilidad a la insulina a lo largo de las 24 semanas de seguimiento.**

Los datos se presentan como media ± EEM. Las figuras muestran el análisis de las pacientes que completaron el estudio (n = 12) y las pacientes incluidas en el análisis por intención de tratar (n = 19). \* p < 0,05 para la interacción del tratamiento tanto en el análisis de las pacientes que completaron el estudio como por intención de tratar. † p < 0,05 para la comparación con los valores basales en el global de pacientes, independientemente de la rama de tratamiento. ‡ p < 0,05 para la interacción del tratamiento en el análisis de las pacientes que completaron el estudio pero no por intención de tratar.



**Figura 33. Cambios en el perfil lipídico a las 12 y 24 semanas de tratamiento.**

Los datos se presentan como media ± EEM. Las figuras muestran el análisis de las pacientes completaron el estudio, así como el análisis por intención de tratar con aquellas pacientes que iniciaron el estudio (n = 19). \* p < 0,05 para la comparación con los niveles basales en el global de pacientes, independientemente de la rama de tratamiento. † p < 0,05 para el efecto de las ramas de tratamiento, en el análisis de las pacientes que completaron el estudio y por intención de tratar.

## Anticonceptivos versus metformina y riesgo cardiovascular en el SOP

Semana	Diane <sup>35</sup> Diario (n = 15)			Metformina (pacientes que completaron el estudio, n = 12)			Metformina (análisis por intención de tratar, n = 19)		
	0	12	24	0	12	24	0	12	24
<b>Tolerancia a la glucosa</b>									
<i>Normal</i>	10 (67)	12 (80)	8 (53)	10 (83)	9 (75)	10 (83)	14 (74)	14 (74)	15 (79)
<i>Glucemia basal alterada</i>	4 (27)	1 (7)	5 (33)	0 (0)	0 (0)	1 (8)	4 (21)	4 (21)	3 (16)
<i>Intolerancia a los hidratos de carbono</i>	2 (13)	2 (13)	2 (13)	1 (8)	3 (25)	1 (8)	3 (16)	5 (26)	3 (16)
<i>Diabetes mellitus tipo 2</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (8)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	0 (0)	0 (0)
<i>Total</i>	5 (33)	3 (20)	7 (47)	2 (17)	3 (25)	2 (17)	5 (26)	5 (26)	4 (21)
<b>Dislipidemia</b>									
↑ <i>colesterol total</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0.0)
↑ <i>LDL-colesterol</i>	0 (0)	1 (7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (8)	1 (5)	1 (5)	2 (11)
↓ <i>HDL-colesterol</i>	8 (53)	4 (27)	4 (27)	4 (33)	6 (50)	4 (33)	9 (50)	11 (58)	9 (47)
<i>Hipertrigliceridemia</i>	2 (13)	1 (7)	2 (13)	1 (8)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	0 (0)	0 (0)
<i>Total</i>	8 (53)	5 (33)	4 (27)	4 (33)	6 (50)	4 (33)	9 (47)	11 (58)	9 (47)

**Tabla 35. Frecuencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono y dislipidemia de acuerdo a criterios de la ADA (424) y ATP-III (425).** Los datos se presentan como valores crudos (porcentaje). No existieron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la frecuencia de alteraciones metabólicas como conjunto entre las diferentes visitas, ni entre ramas de tratamiento.

### **Cambios en la frecuencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono y dislipidemia a lo largo del estudio.**

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las frecuencias de alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono ni dislipidemia entre ambas ramas de tratamiento, ni en el global de pacientes entre la evaluación basal y la realizada a las 12 y 24 semanas de tratamiento, ni al evaluar ambos tratamientos por separado (**Tabla 35**). Cabe destacar, que tanto el incremento en el número de pacientes con glucemia basal alterada y el descenso en la frecuencia de mujeres con niveles bajos de HDL-colesterol observados en la rama de tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario, estuvieron lejos de alcanzar significación estadística. Es más, dos de las pacientes que presentaron niveles de glucemia basal alterada después del tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario, mostraron una concentración de glucosa plasmática basal de 100 y 101 mg/dl respectivamente, sin olvidar, que una mujer que presentaba glucemia basal alterada al inicio del estudio mostró niveles de glucemia basal normales después de recibir tratamiento con el anticonceptivo oral. De forma similar, los cambios observados en el metabolismo de los hidratos de carbono en las mujeres tratadas con metformina, no siguieron

ningún patrón discernible a pesar de la mejoría observada en la resistencia a la insulina observadas en estas mujeres como grupo. Mientras que una paciente diagnosticada en la evaluación basal de DM2, otra diagnosticada de intolerancia a los hidratos de carbono, y dos con glucemia basal alterada, presentaron niveles normales de glucemia al final de las 24 semanas de tratamiento con metformina, otras dos mujeres que presentaba un metabolismo normal de los hidratos de carbono en la evaluación basal desarrollaron glucemia basal alterada e intolerancia a los hidratos de tratamiento tras el tratamiento con metformina.

### **Efectos del tratamiento sobre los depósitos tisulares de hierro.**

Los niveles de ferritina sérica descendieron en el global de pacientes (Wilks'  $\lambda = 0,741$ ;  $F = 4,187$ ;  $P = 0,028$ ; **Figura 34**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,741$ ;  $F = 5,412$ ;  $P = 0,010$ ), aunque este hallazgo se produjo por el descenso observado en el grupo de tratamiento con metformina, considerando la interacción significativa del efecto de la visita con la rama de tratamiento (Wilks'  $\lambda = 0,679$ ;  $F = 5,668$ ;  $P = 0,010$ ; **Figura 34**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,693$ ;  $F = 6,861$ ;  $P = 0,003$ ). El cambio observado a lo largo del estudio en los niveles de ferritina no se modificó al considerar la interacción de la obesidad de forma uniforme en el análisis de las pacientes que completaron el estudio y por intención de tratar.

Para evaluar si el descenso en los depósitos férricos observado durante el tratamiento con metformina estaba relacionado con un incremento de las pérdidas menstruales, a pesar de que la oligomenorrea o amenorrea persistió en la mitad de las pacientes tratadas con metformina, estudiamos las concentraciones de hemoglobina sérica y el volumen corpuscular medio, basalmente y durante el tratamiento. La concentración de hemoglobina, la cuál fue ligeramente superior basalmente en las pacientes tratadas con metformina [aunque esta diferencia no se mantuvo en el análisis por intención de tratar ( $F = 6,099$ ;  $P = 0,021$ ; análisis por intención de tratar:  $F = 0,355$ ;  $P = 0,555$ ; **Figura 34**], presentó un descenso estadísticamente significativo durante el estudio, aunque discreto, en ambas ramas de tratamiento (Wilks'  $\lambda = 0,538$ ;  $F = 9,872$ ;  $P = 0,001$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,543$ ;  $F = 13,049$ ;  $P < 0,001$ ; **Figura 34**), sin existir interacción entre la visita de evaluación y la rama de tratamiento (Wilks'  $\lambda = 0,896$ ;  $F = 1,340$ ;  $P = 0,281$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,826$ ;  $F = 3,275$ ;  $P = 0,051$ ).

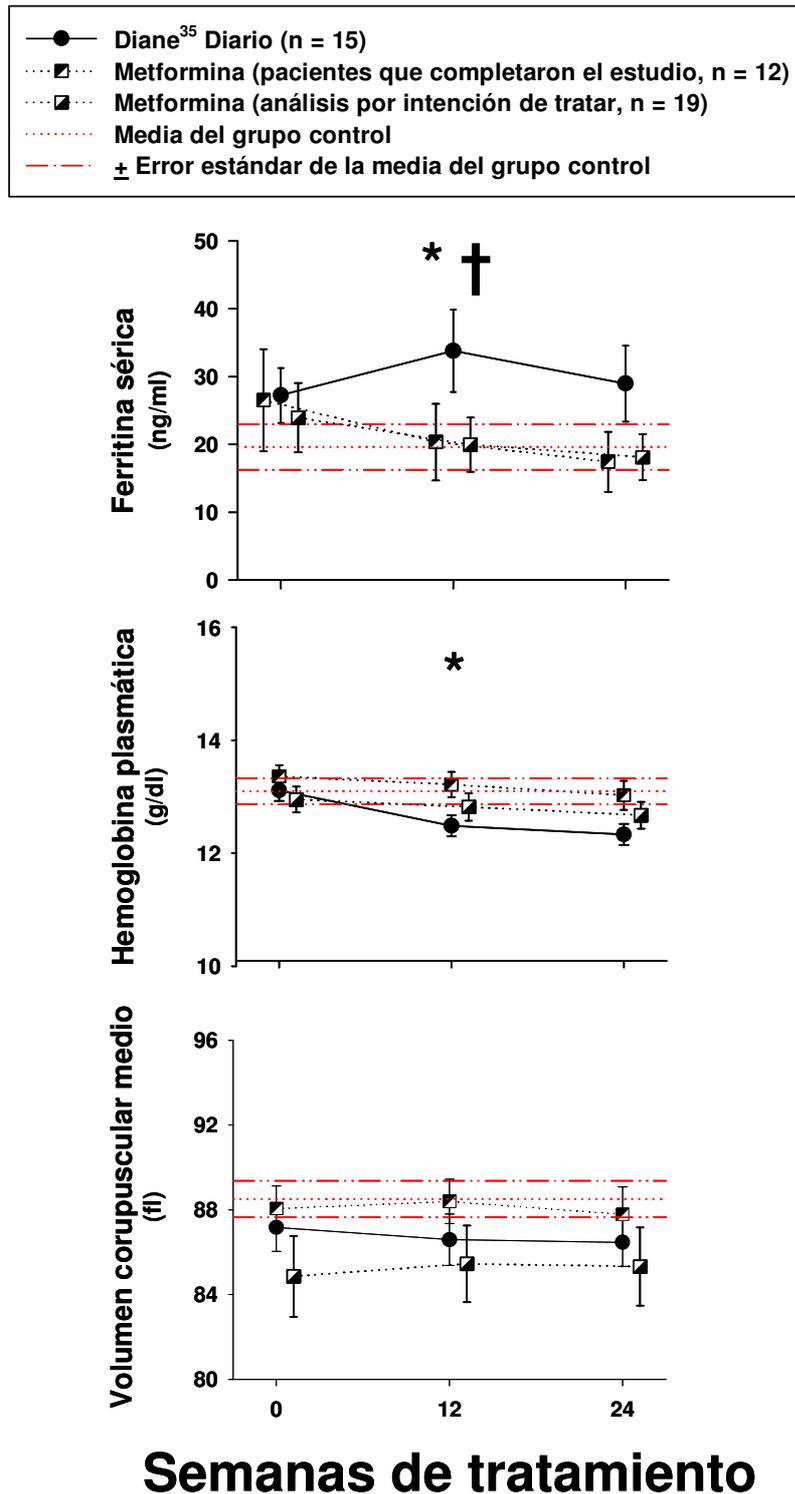


Figura 34. Cambios en la ferritina, hemoglobina plasmática y volumen corpuscular medio durante el tratamiento en aquellas pacientes que completaron el estudio.

Los datos se muestran como media ± EEM.

\*  $p < 0,05$  al comparar con las concentraciones basales, independientemente de la rama de tratamiento, en las pacientes que completaron el estudio y en el análisis por intención de tratar.

†  $p < 0,05$  para la interacción del tratamiento con la visita de seguimiento en las pacientes que completaron el estudio y en el análisis por intención de tratar.

El volumen corpuscular medio fue similar en ambos grupos de pacientes ( $F = 0,401$ ;  $P = 0,533$ ; análisis por intención de tratar:  $F = 0,435$ ;  $P = 0,514$ ; **Figura 34**), y se mantuvo sin cambios a lo largo del estudio (Wilks'  $\lambda = 0,979$ ;  $F = 0,241$ ;  $P = 0,788$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,986$ ;  $F = 0,224$ ;  $P = 0,801$ ; **Figura 34**) sin ninguna interacción entre la visita de evaluación y la rama de tratamiento (Wilks'  $\lambda = 0,816$ ;  $F = 2,598$ ;  $P = 0,096$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,844$ ;  $F = 2,865$ ;  $P = 0,072$ ) sugiriendo que las pérdidas sanguíneas no estaban relacionadas con los cambios en los niveles de ferritina observados en las mujeres tratadas con metformina.

### **Efectos del tratamiento sobre el ácido úrico.**

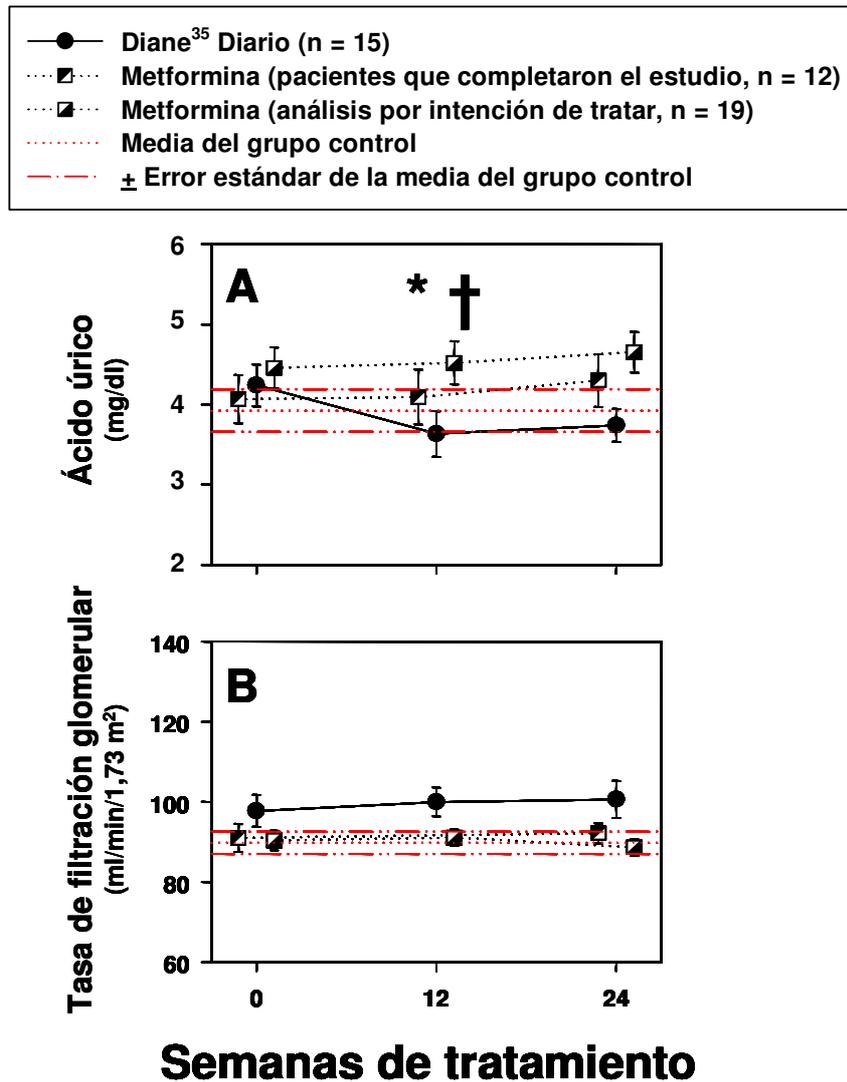
Los niveles séricos de ácido úrico disminuyeron durante las 24 semanas de seguimiento del estudio en el global de pacientes (**Figura 35**, panel A: Wilks'  $\lambda = 0,784$ ;  $F = 3,307$ ;  $P = 0,054$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,787$ ;  $F = 4,186$ ;  $P = 0,025$ ), aunque este descenso fue causado por la reducción observada en las mujeres tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario como demostró la interacción estadísticamente significativa del efecto de la visita de evaluación con la rama de tratamiento (**Figura 35**, panel A: Wilks'  $\lambda = 0,714$ ;  $F = 4,798$ ;  $P = 0,018$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,681$ ;  $F = 7,250$ ;  $P = 0,003$ ).

El descenso en las concentraciones séricas de ácido úrico durante el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario ocurrió tanto en las pacientes no obesas ( $IMC < 30,0 \text{ kg/m}^2$ ) como obesas ( $IMC \geq 30,0 \text{ kg/m}^2$ ) ya que al introducir como variable independiente en el modelo lineal general la presencia de obesidad no apareció ninguna interacción estadísticamente significativa entre la visita de evaluación, la rama de tratamiento y la presencia de obesidad (Wilks'  $\lambda = 0,962$ ;  $F = 0,431$ ;  $P = 0,655$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,952$ ;  $F = 0,733$ ;  $P = 0,489$ ).

La reducción en los niveles de ácido úrico fue independiente de cambios en la función renal ya que la tasa de filtración glomerular de las pacientes no cambió al considerar a las pacientes en conjunto (**Figura 35**, panel B: Wilks'  $\lambda = 0,956$ ;  $F = 0,558$ ;  $P = 0,580$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,959$ ;  $F = 0,671$ ;  $P = 0,518$ ) o cuando se consideró la interacción entre la visita de evaluación con la rama de tratamiento (**Figura 35**, panel B: Wilks'  $\lambda = 0,950$ ;  $F = 0,634$ ;  $P = 0,539$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,915$ ;  $F = 1,434$ ;  $P = 0,254$ ).

Efectos del tratamiento sobre parámetros inflamatorios, adiponectina y leptina.

Las pacientes no experimentaron ningún cambio estadísticamente significativo de forma global ni en ninguna de las 2 ramas de tratamiento en cuanto al recuento leucocitario total, porcentaje de neutrófilos ni número total de neutrófilos como se puede observar en la **Figura 36**. Los niveles de IL-6 experimentaron una discreta tendencia a disminuir su concentración en el global de mujeres (Wilks'  $\lambda = 0,816$ ;  $F = 2,703$ ;  $P = 0,087$ ), que incluso

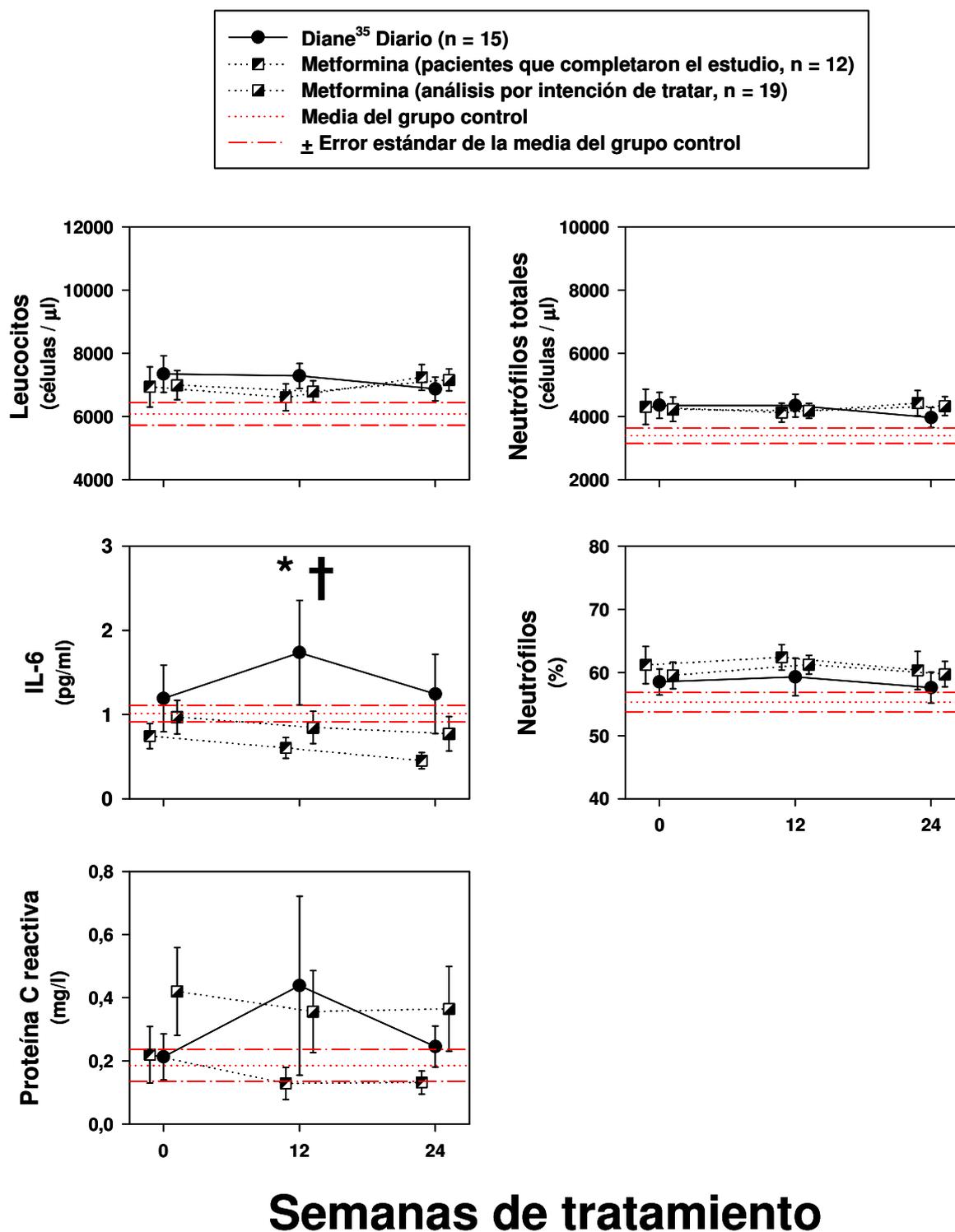


**Figura 35. Cambios en las concentraciones séricas de ácido úrico (A) y tasa de filtración glomerular (B) a lo largo del estudio.**

Los datos se muestran como media  $\pm$  EEM.

\*  $p < 0,05$  comparada con la visita basal en el global de mujeres únicamente en el análisis por intención de tratar.

†  $p < 0,05$  para el efecto de la rama tratamiento tanto en las pacientes que completaron el estudio como en el análisis por intención de tratar.



**Figura 36. Cambios en los parámetros inflamatorios a lo largo del ensayo clínico.**

Los datos se muestran como media ± EEM.

\*  $p < 0,05$  comparada con la visita basal en el global de mujeres únicamente en el análisis por intención de tratar.

†  $p < 0,05$  para el efecto de la rama tratamiento únicamente en el análisis por intención de tratar. La media ± EEM del grupo control para los niveles de IL-6 se obtuvo de un grupo de referencia de nuestra población cuyas características se han publicado previamente (96).

se hizo significativa en el análisis por intención de tratar (Wilks'  $\lambda = 0,772$ ;  $F = 4,587$ ;  $P = 0,018$ ), a favor de las pacientes tratadas con metformina de nuevo en el análisis por intención de tratar (Wilks'  $\lambda = 0,813$ ;  $F = 3,570$ ;  $P = 0,040$ ), aunque sin significación en el análisis de las pacientes que completaron el estudio, resultados que no se modificaron tras introducir como variable independiente el grado de obesidad en el modelo lineal general.

Los niveles de proteína C reactiva no se modificaron de forma significativa en ninguna de las 2 ramas de tratamiento (**Figura 36**). Sin embargo, al introducir la presencia de obesidad como variable independiente junto con la rama de tratamiento en el modelo lineal general se observó una interacción significativa para el efecto de la visita de evaluación y el grado de obesidad (Wilks'  $\lambda = 0,676$ ;  $F = 5,284$ ;  $P = 0,013$ ; **Figura 37**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,727$ ;  $F = 5,458$ ;  $P = 0,010$ ), que se tradujo en un discreto descenso de los niveles de PCR en el grupo de pacientes obesas y un incremento de la concentración en las pacientes no obesas independiente de la rama de tratamiento (Wilks'  $\lambda = 0,949$ ;  $F = 0,594$ ;  $P = 0,561$ ; **Figura 37**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,879$ ;  $F = 2,001$ ;  $P = 0,153$ ).

Los niveles de adiponectina no se modificaron de forma significativa en el global de pacientes (Wilks'  $\lambda = 0,926$ ;  $F = 0,955$ ;  $P = 0,399$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,876$ ;  $F = 2,187$ ;  $P = 0,129$ ), ni se vieron influenciados por la rama de tratamiento Wilks'  $\lambda = 0,863$ ;  $F = 1,909$ ;  $P = 0,170$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,890$ ;  $F = 1,916$ ;  $P = 0,164$ ). Sin embargo, al introducir en el modelo lineal general la presencia de obesidad como variable independiente junto con la rama de tratamiento los niveles de adiponectina sérica se incrementaron durante las 24 semanas del estudio en el grupo de pacientes que completaron el estudio tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario, como demostró la interacción estadísticamente significativa del efecto de la visita de evaluación con la rama de tratamiento (Wilks'  $\lambda = 0,705$ ;  $F = 4,603$ ;  $P = 0,021$ ; **Figura 38**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,866$ ;  $F = 2,249$ ;  $P = 0,124$ ), aunque este cambio estuvo realmente causado por el incremento observado en las mujeres obesas tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario como demuestra la interacción estadísticamente significativa entre el efecto de la visita de evaluación, con la rama de tratamiento y el grado de obesidad (Wilks'  $\lambda = 0,755$ ;  $F = 3,570$ ;  $P = 0,045$ ; **Figura 38**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,854$ ;  $F = 2,482$ ;  $P = 0,101$ ).

Por otro lado, las concentraciones de leptina no experimentaron ningún cambio estadísticamente significativo a lo largo del estudio en el global de pacientes (Wilks'  $\lambda = 0,961$ ;  $F = 0,445$ ;  $P = 0,647$ ; **Figura 38**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,985$ ;  $F =$

0,216;  $P = 0,807$ ), ni cuando se consideró la interacción con el grado de obesidad (Wilks'  $\lambda = 0,862$ ;  $F = 1,755$ ;  $P = 0,196$ ; **Figura 38**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,896$ ;  $F = 1,678$ ;  $P = 0,204$ ). De forma similar, no existió una influencia significativa de la rama de tratamiento en la evolución de los niveles séricos de leptina (Wilks'  $\lambda = 0,945$ ;  $F = 0,645$ ;  $P = 0,534$ ; **Figura 38**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,973$ ;  $F = 0,396$ ;  $P = 0,677$ ), ni al considerar también el efecto del grado de obesidad (Wilks'  $\lambda = 0,886$ ;  $F = 1,421$ ;  $P = 0,263$ ; **Figura 38**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,867$ ;  $F = 2,227$ ;  $P = 0,126$ ).

Finalmente, la relación adiponectina / leptina mejoró sólo en el grupo de pacientes obesas que recibieron Diane<sup>35</sup> Diario, como demostró la interacción estadísticamente significativa entre el efecto de la visita de evaluación, rama de tratamiento y obesidad (Wilks'  $\lambda = 0,707$ ;  $F = 4,565$ ;  $P = 0,022$ ; **Figura 38**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,745$ ;  $F = 4,970$ ;  $P = 0,014$ ).

### **Efectos del tratamiento sobre la hemostasia (Figura 39).**

Las pacientes en conjunto experimentaron un descenso del tiempo de protrombina con el consecuente incremento de la actividad de protrombina, presentando al final del estudio tanto las pacientes tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario como con metformina un menor tiempo y una mayor actividad de protrombina que el grupo control. Sin embargo, aunque el tiempo de cefalina experimentó un descenso significativo como efecto del tratamiento respecto a la visita basal, este descenso fue consecuencia del efecto experimentado por las mujeres tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario dado el efecto significativo de la interacción del tratamiento en el modelo lineal general. Este descenso del tiempo de cefalina se tradujo en diferencias significativas en la rama de tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario respecto a los valores de referencia del grupo control tanto a las 12 como 24 semanas de tratamiento. Ni la concentración de fibrinógeno ni el recuento plaquetario experimentaron cambios en ninguna de las ramas de tratamiento a lo largo del estudio manteniéndose dentro del rango de referencia del grupo control. Sin embargo, el volumen plaquetario medio presentó un discreto incremento a lo largo del estudio (análisis por protocolo: Wilks'  $\lambda = 0,790$ ;  $F = 3,186$ ;  $P = 0,059$ ; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,814$ ;  $F = 3,547$ ;  $P = 0,041$ ), aunque en todas las visitas manteniéndose dentro del rango de referencia del grupo control. Los resultados de los parámetros de hemostasia, recuento y volumen plaquetario no se modificaron al considerar la interacción de

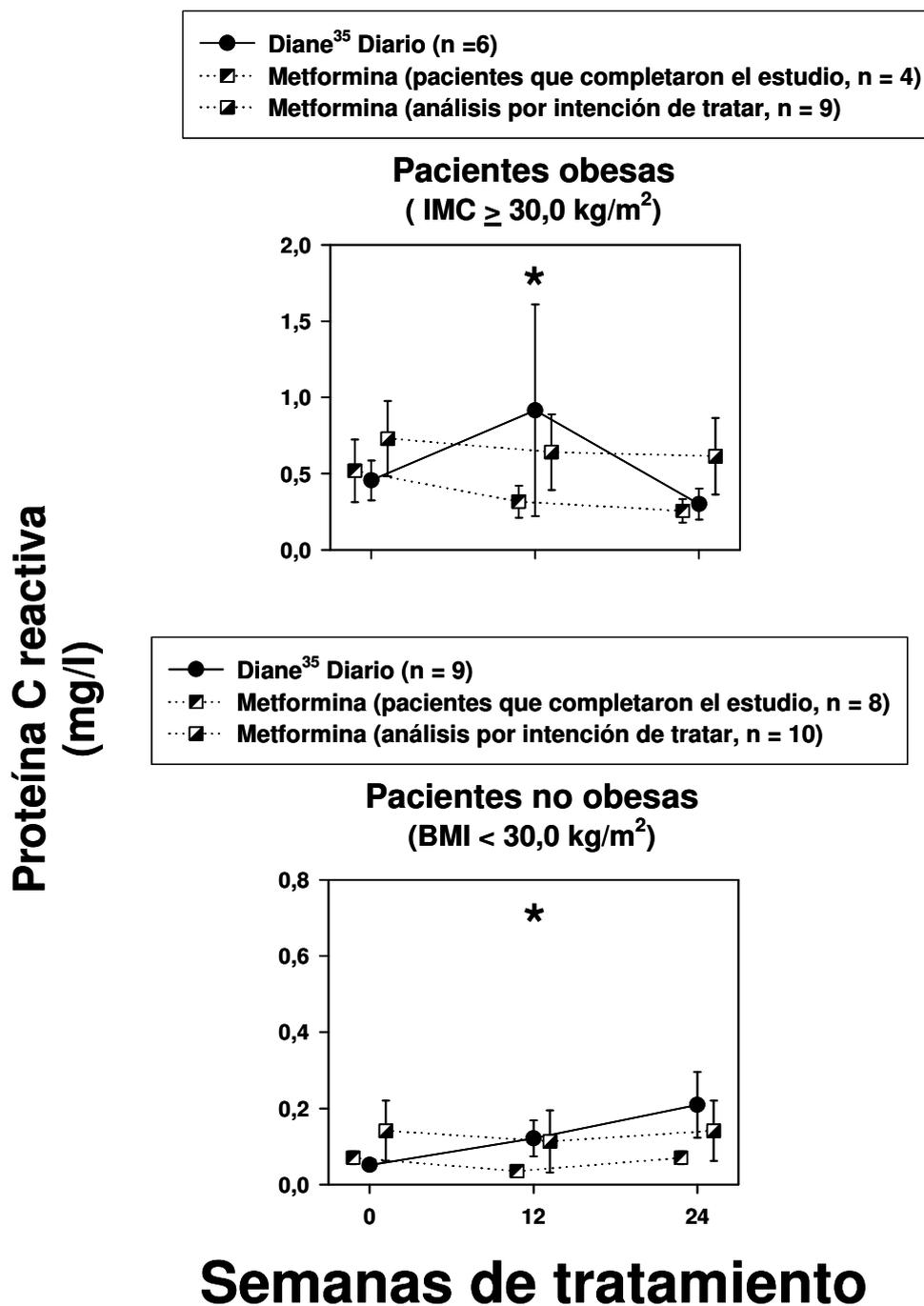
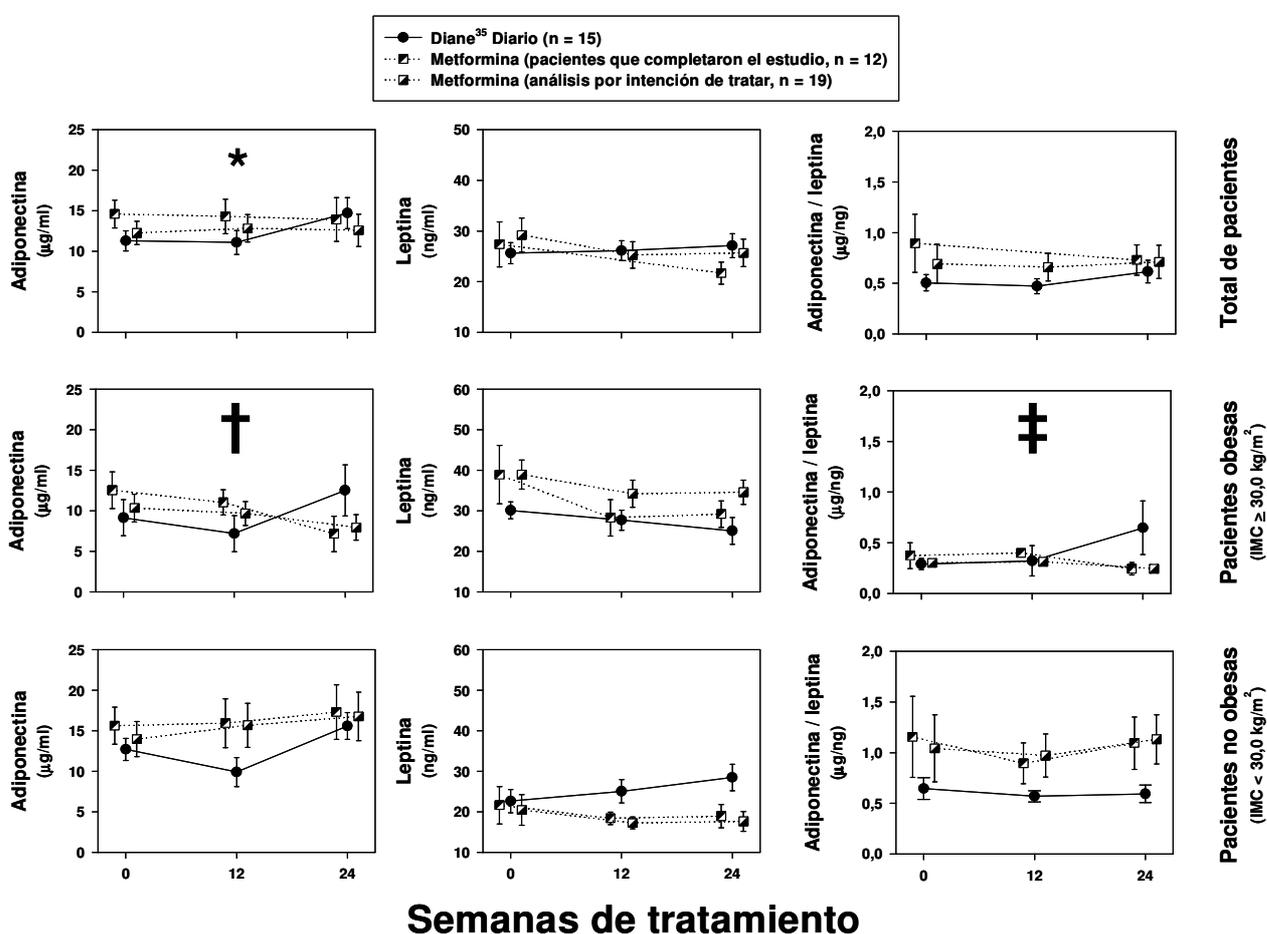


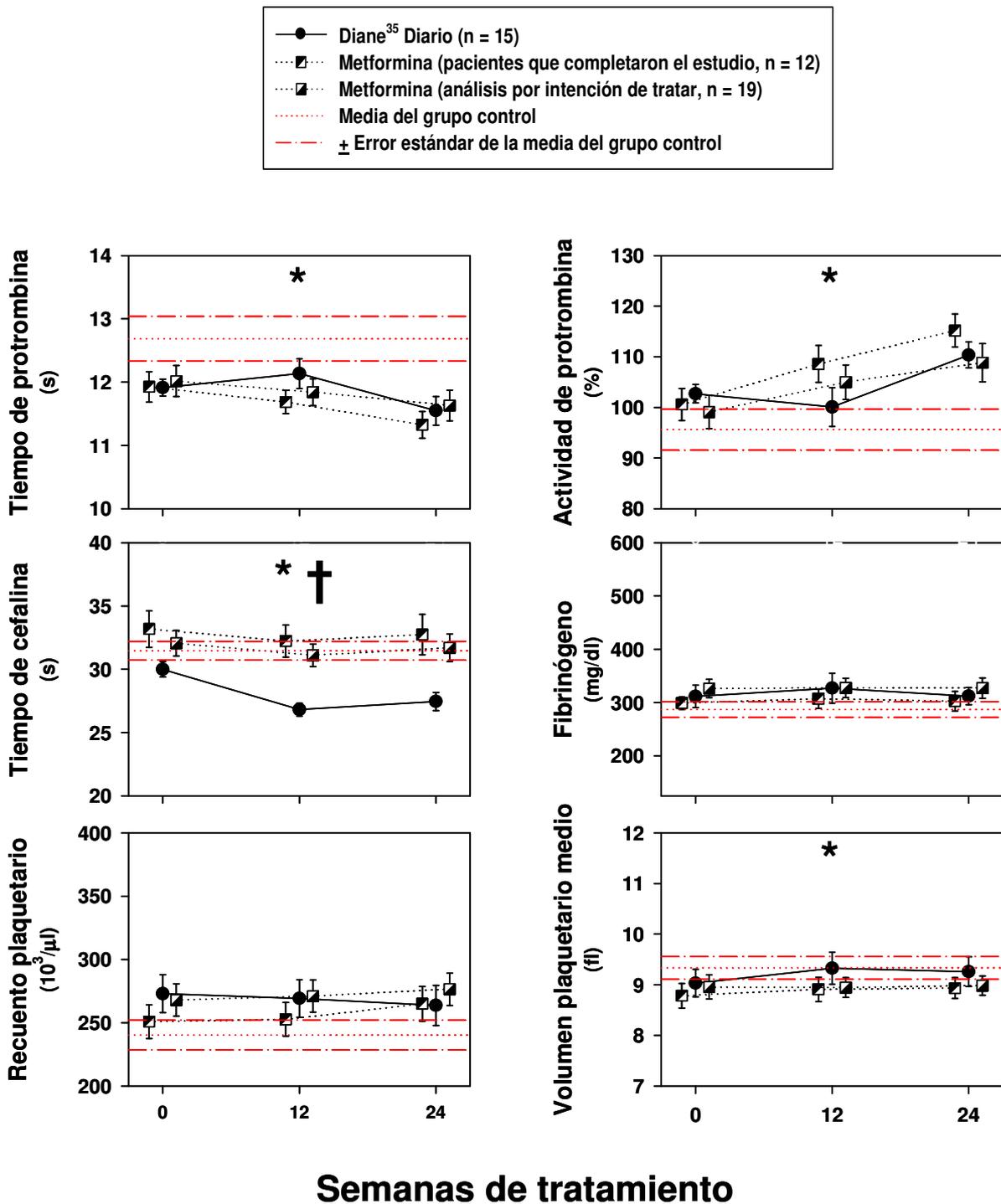
Figura 37. Cambios en las concentraciones séricas de proteína C reactiva durante el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario o metformina en función del grado de obesidad.

Datos presentados como media  $\pm$  EEM.

\* p < 0,05 para la interacción entre el efecto de la visita de evaluación y la presencia de obesidad.

la obesidad de forma homogénea en las pacientes que completaron el estudio y en el análisis por intención de tratar. Sin embargo, el cambio en la concentración media de fibrinógeno si fue influenciado por la obesidad, observándose un descenso en las pacientes obesas y un incremento en las pacientes sin obesidad tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario respectivamente, con un efecto nulo de la administración de metformina, como mostró la interacción estadísticamente significativa entre el efecto de la visita de evaluación, la rama de tratamiento y la presencia de obesidad (Wilks'  $\lambda = 0,706$ ;  $F = 4,585$ ;  $P = 0,022$ ; **Figura 40**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,683$ ;  $F = 6,736$ ;  $P = 0,004$ ).



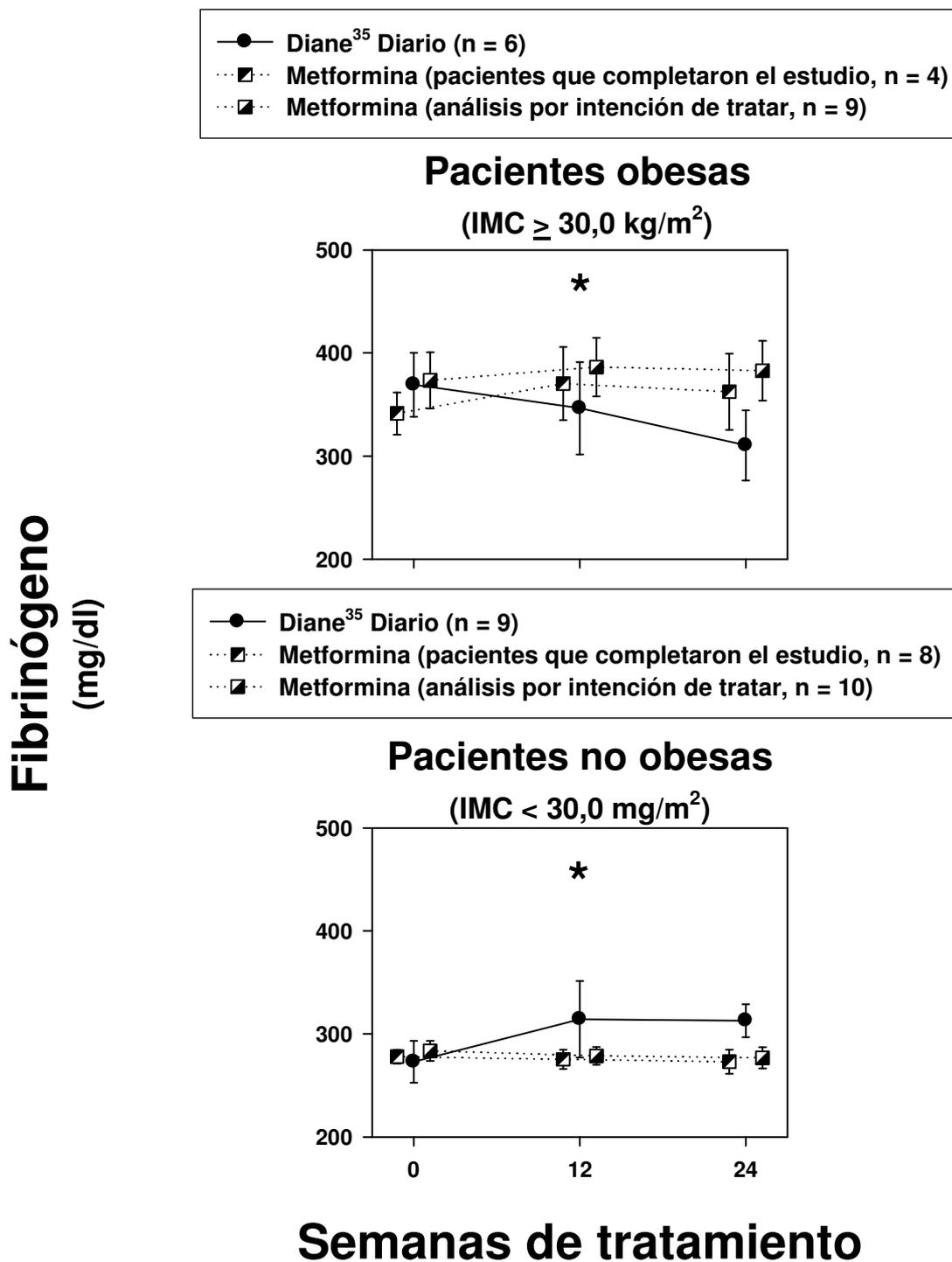


**Figura 39. Cambios en los parámetros de hemostasia a las 12 y 24 semanas de tratamiento.**

Los datos se presentan como media ± EEM. Las figuras muestran el análisis con las pacientes que completaron el tratamiento en la rama de metformina (n = 12), así como el análisis por intención de tratar con aquellas pacientes que iniciaron el protocolo (n = 19).

\* p < 0,05 para la comparación con los niveles basales en el global de pacientes, independientemente de la rama de tratamiento en el análisis de las pacientes que completaron el estudio y por intención de tratar.

† p < 0,05 para el efecto de las ramas de tratamiento, en el análisis de las pacientes que completaron el estudio y por intención de tratar.



**Figura 40. Cambios en la concentración plasmática de fibrinógeno durante el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario o metformina en función del grado de obesidad.**

Datos presentados como media  $\pm$  EEM.

\*  $p < 0,05$  para la interacción entre el efecto de la visita de evaluación, el efecto de la rama de tratamiento y la presencia de obesidad.

Efectos del tratamiento sobre los parámetros de la monitorización ambulatoria de la presión arterial.

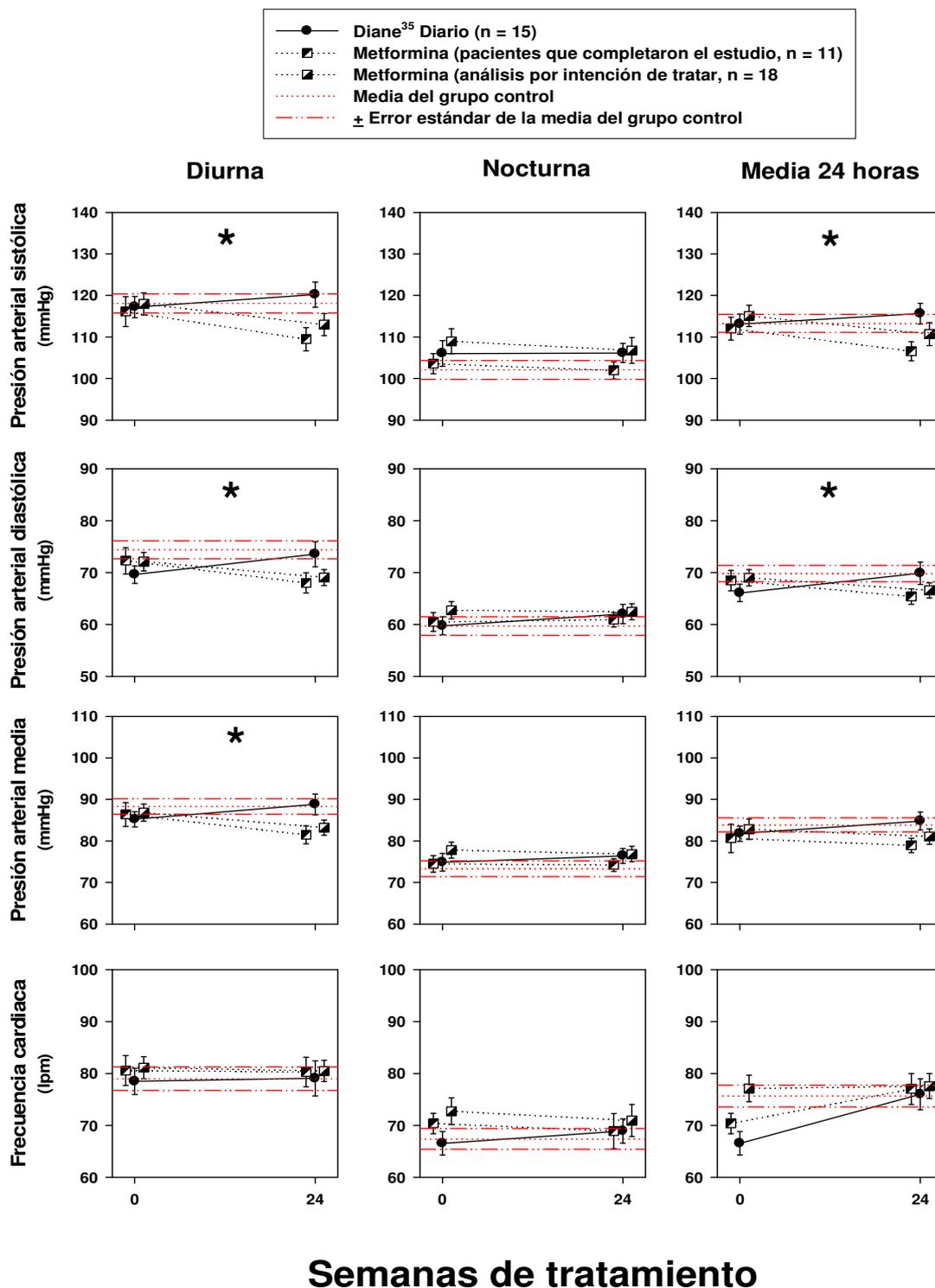
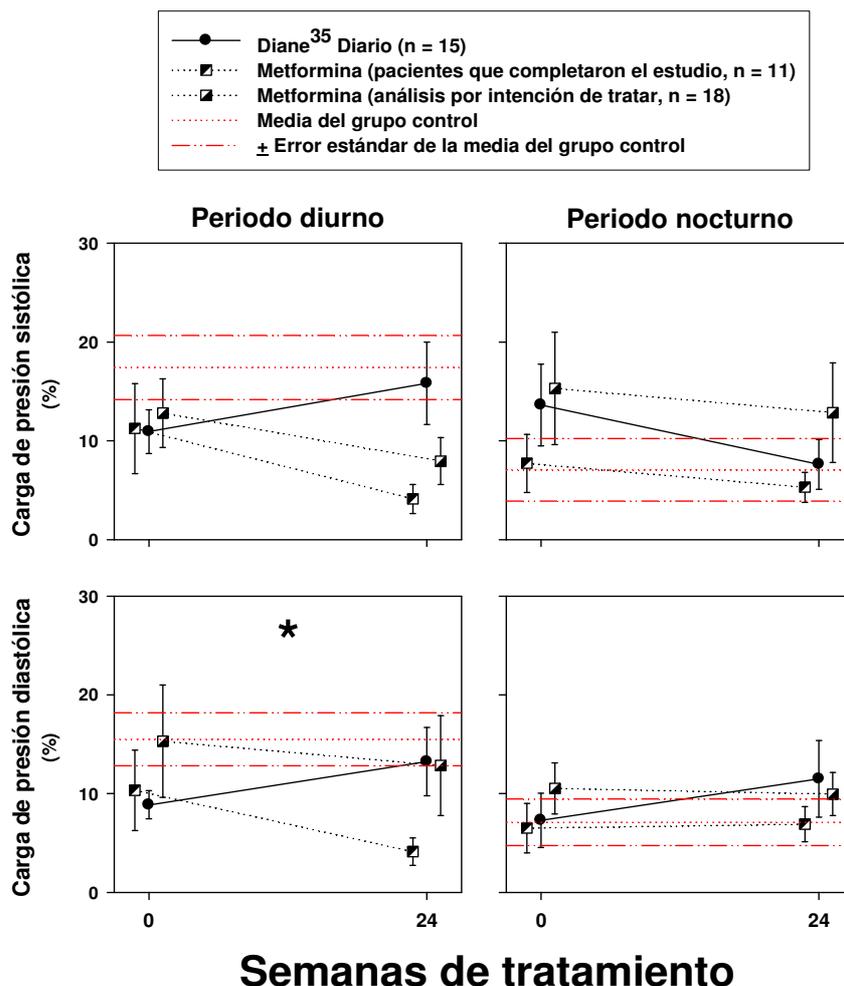


Figura 41. Cambios en los diferentes parámetros de la MAPA a lo largo del seguimiento en ambas ramas de tratamiento.

Datos presentados como media ± EEM.

\* p < 0,05 para la influencia del tratamiento sobre el cambio entre la visita basal y al final del seguimiento.



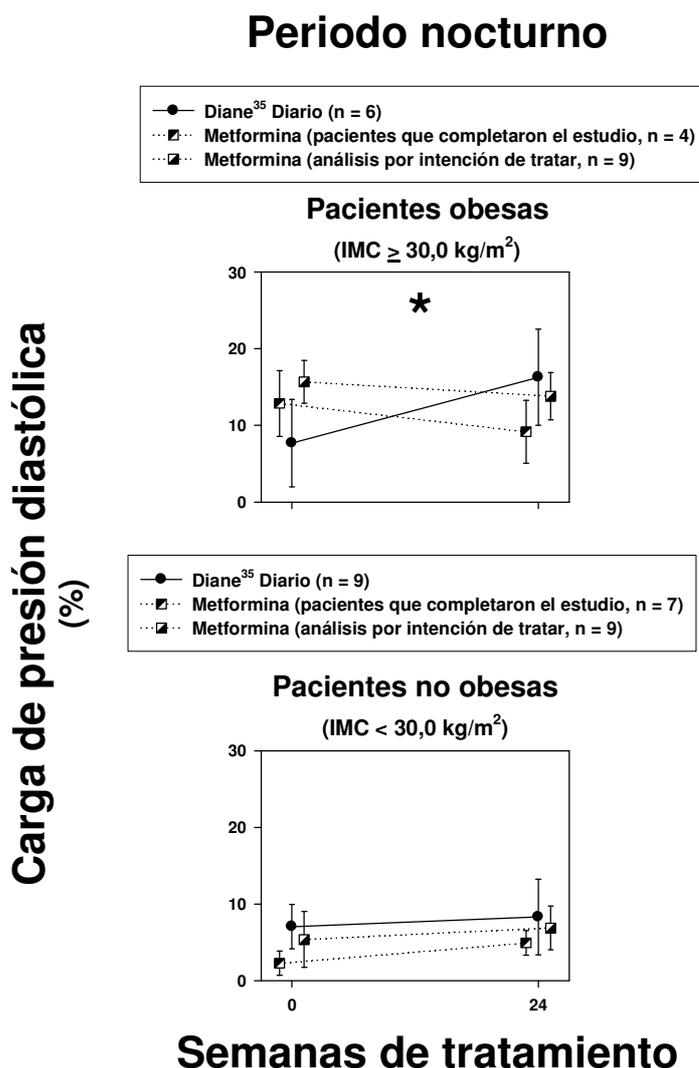
**Figura 42.** Cambios en la carga de presión sistólica y diastólica durante los periodos diurno y nocturno entre la visita basal y tras 24 semanas de tratamiento en ambas ramas de tratamiento.

Datos presentados como media  $\pm$  EEM.

\*  $p < 0,05$  para la interacción del tratamiento en el cambio en la carga de presión diastólica diurna entre ambas visitas.

En esta sección se analizaron los valores de las 15 pacientes randomizadas a Diane<sup>35</sup> Diario y de 18 de las 19 pacientes que recibieron metformina, ya que los datos basales de una de estas pacientes se perdieron por un mal funcionamiento del monitor portátil. En las **Figuras 41** y **42** se analizan los cambios en los parámetros de monitorización arterial entre ambas visitas. Aunque no existieron diferencias en el global de pacientes entre los niveles iniciales y tras 24 semanas de tratamiento de presión arterial sistólica, diastólica y presión arterial media, las mujeres tratadas con metformina experimentaron un descenso significativo en los niveles de presión arterial sistólica, diastólica y media durante el periodo diurno, y en los niveles de presión arterial sistólica y diastólica en la media de 24 horas, mientras que las

pacientes tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario incrementaron los niveles de presión arterial durante los mismos periodos (**Figura 41**). Sin embargo, durante el periodo nocturno no se observó ningún cambio significativo en ninguna de las ramas de tratamiento. En las mujeres tratadas con metformina se observó una tendencia a presentar una menor carga sistólica durante el periodo diurno (Wilk's  $\lambda = 0,851$ ;  $F = 4,199$ ;  $P = 0,052$ ; análisis por intención de tratar: Wilk's  $\lambda = 0,883$ ;  $F = 3,939$ ;  $P = 0,056$ ), y una significativa menor carga diastólica durante el mismo periodo, sin diferencias entre ambas ramas de tratamiento durante el periodo nocturno (**Figura 42**).



**Figura 43.** Cambios en la carga de presión diastólica nocturna durante el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario o metformina en función del grado de obesidad.

Datos presentados como media  $\pm$  EEM.

\*  $p < 0,05$  para la interacción entre el efecto de la visita de evaluación, el efecto de la rama de tratamiento y la presencia de obesidad.

Descenso nocturno presión arterial sistólica (%)

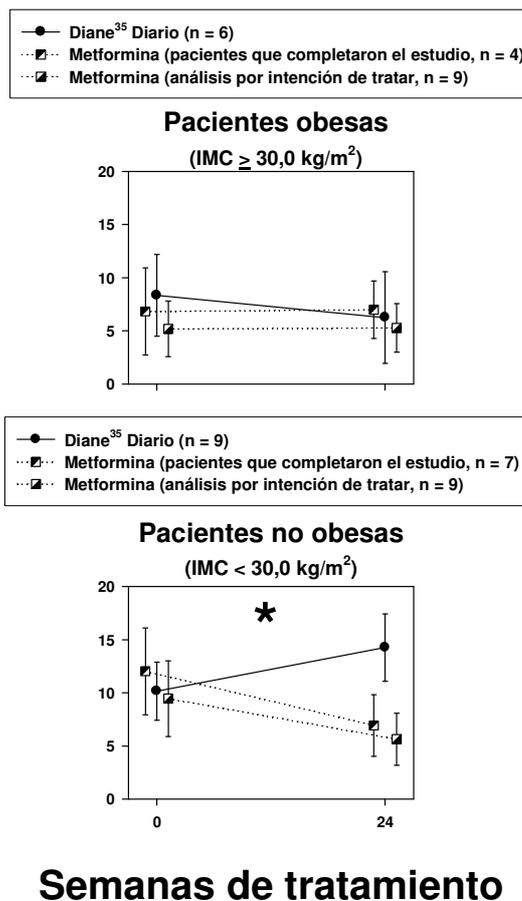


Figura 44. Cambios en el patrón de descenso nocturno de la presión arterial sistólica durante el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario o metformina en función del grado de obesidad.

Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM.

\*  $p < 0,05$  para la interacción entre el efecto de la visita de evaluación, el efecto de la rama de tratamiento y la presencia de obesidad.

Semana	Diane <sup>35</sup> Diario (n = 15)		Metformina (pacientes que completaron el estudio, n = 12)		Metformina (análisis por intención de tratar, n = 19)	
	0	24	0	24	0	24
<i>Media de 24 horas</i>						
<i>Hipertensión sistólica</i>	2 (13)	4 (27)	0 (0)	0 (0)	3 (17)	3 (17)
<i>Hipertensión diastólica</i>	1 (7)	4 (27)	2 (18)	0 (0)	3 (17)	1 (6)
<i>Hipertensión</i>	2 (13)	5 (33)	2 (18)	0 (0)	5 (28)	3 (17)
<i>Hipertensión diurna aislada</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Hipertensión nocturna aislada</i>	2 (13)	2 (13)	1 (9)	1 (9)	3 (17)	3 (17)
<i>Patrón no descendedor</i>	5 (33)	6 (40)	3 (27)	4 (36)	10 (56)	11 (61)

Tabla 36. Frecuencia de alteraciones en la presión arterial a lo largo del estudio. Los datos se presentan como valores crudos (porcentaje). No existieron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la frecuencia de alteraciones metabólicas como conjunto entre las diferentes visitas, ni entre ramas de tratamiento.

Al introducir como variable independiente junto con la rama de tratamiento la presencia de obesidad, observamos la aparición de 2 interacciones significativas. Las pacientes obesas tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario experimentaron un incremento de la carga de presión diastólica durante el periodo nocturno no observada en el tratamiento con metformina ni en las pacientes sin obesidad, como demostró la interacción significativa entre el efecto de la visita de evaluación rama de tratamiento y obesidad (Wilks'  $\lambda = 0,821$ ;  $F = 4,578$ ;  $P = 0,044$ ; **Figura 43**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,846$ ;  $F = 4,897$ ;  $P = 0,036$ ). Por otro lado, las pacientes sin obesidad tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario experimentaron un incremento significativo en el porcentaje de descenso de la presión arterial sistólica entre los periodos diurnos y nocturnos, no observado con metformina ni en las pacientes obesas en ninguna de las ramas de tratamiento (Wilks'  $\lambda = 0,835$ ;  $F = 4,340$ ;  $P = 0,049$ ; **Figura 44**; análisis por intención de tratar: Wilks'  $\lambda = 0,834$ ;  $F = 5,771$ ;  $P = 0,023$ ).

Aunque, tras corregir el valor de significación para comparaciones múltiples, no existieron diferencias en las frecuencias de anomalías en la presión arterial entre ambas ramas de tratamiento ni en las pacientes que completaron el estudio ni en el análisis por intención de tratar, en el grupo de mujeres tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario, 3 (20%) pacientes (una paciente con normopeso, otra con sobrepeso y otra con obesidad) desarrollaron alteraciones en los niveles de presión arterial que no presentaban al inicio del seguimiento, mientras que en la rama de tratamiento con metformina 2 (11%) mujeres (una con peso normal y otra con obesidad) corrigieron las alteraciones que mostraban basalmente (**Tabla 37**).

#### **Efectos del tratamiento sobre los parámetros ecográficos: Función endotelial y grosor intimomedial carotídeo.**

No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de vasodilatación dependiente ni independiente de endotelio entre la visita basal y la evaluación realizada a las 24 semanas de seguimiento, para el global de pacientes ni efecto de la rama de tratamiento (**Tabla 37**). Estos resultados no se vieron modificados de forma significativa al introducir la presencia de obesidad como variable independiente en el modelo lineal general. Tampoco existieron diferencias significativas entre ambas visitas en cuanto al grosor intimomedial carotídeo, aunque las pacientes tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario experimentaron una

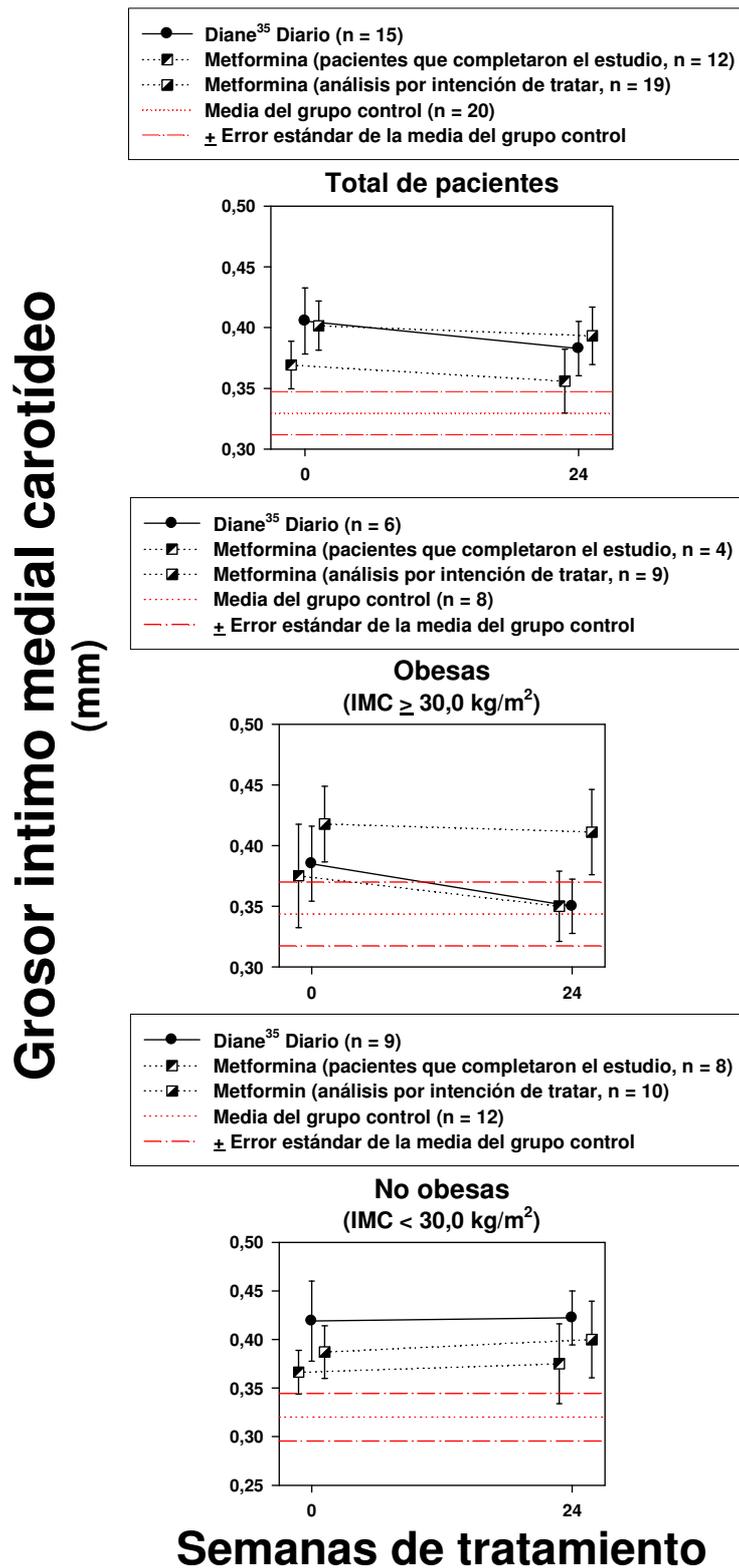


Figura 45. Cambios en el grosor intimomedial carotídeo a lo largo del periodo de tratamiento. Los datos se presentan como media ± EEM.

Semana de tratamiento	Vasodilatación dependiente de endotelio (FMD%)	
	0	24
<i>Diane<sup>35</sup> Diario (n = 15)</i>	7,5 ± 9,4	10,0 ± 11,8
<i>Metformina (pacientes que completaron el estudio, n = 12)</i>	4,5 ± 10,7	6,0 ± 4,6
<i>Metformina (análisis por intención de tratar, n = 19)</i>	7,2 ± 10,0	8,1 ± 6,1
Semana de tratamiento	Vasodilatación independiente de endotelio (NTG%)	
	0	24
<i>Diane<sup>35</sup> Diario (n = 15)</i>	22,5 ± 8,1	24,8 ± 11,6
<i>Metformina (pacientes que completaron el estudio, n = 12)</i>	25,3 ± 12,3	20,9 ± 8,9
<i>Metformina (análisis por intención de tratar, n = 19)</i>	25,7 ± 11,4	22,9 ± 9,1

**Tabla 37. Cambios en la vasodilatación dependiente e independiente de endotelio a nivel de la arteria braquial a lo largo de las 24 semanas de tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario o metformina.** Los datos se presentan como media ± DE. No existieron diferencias estadísticamente significativas como conjunto entre las diferentes visitas, ni entre ramas de tratamiento, entre ambas visitas.

discreta disminución de este valor no observado en la rama de tratamiento con metformina en el global de pacientes (**Figura 45**). Esta tendencia explicó que al final del seguimiento no existieran diferencias significativas entre los valores de IMT de las pacientes y del grupo control de mujeres no hiperandrogénicas (controles no hiperandrogénicos:  $0,33 \pm 0,08$  mm; pacientes tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario:  $0,39 \pm 0,01$  mm; pacientes tratadas con metformina que finalizaron el estudio:  $0,36 \pm 0,01$  mm; pacientes tratadas con metformina en el análisis por intención de tratar:  $0,39 \pm 0,01$  mm;  $F = 1,690$ ,  $P = 0,196$  para las pacientes que completaron el estudio;  $F = 2,737$ ,  $P = 0,074$  para el análisis por intención de tratar). Al analizar la influencia de la obesidad sobre el efecto de ambos tratamientos observamos que las pacientes obesas experimentaron un descenso del IMT con ambos tratamientos en el análisis de aquellas que completaron el estudio, que aunque no significativo (Wilks  $\lambda = 0,915$ ;  $F = 2,144$ ;  $P = 0,157$ ), si fue suficiente para que la media de este grupo se equiparara a la de las pacientes control, mientras que las mujeres sin obesidad no experimentaron cambios con ningún tratamiento (**Figura 45**). Una paciente con sobrepeso tratada con Diane<sup>35</sup> Diario que basalmente presentaba un grosor anormal de la intimo medial carotídea, normalizó dicho valor al final del seguimiento, mientras que dos pacientes con valores normales de IMT basalmente presentaron tras 24 semanas de tratamiento con metformina valores anormales.

## DISCUSIÓN.-



En nuestro estudio, como ya se ha expuesto anteriormente, nos propusimos los siguientes objetivos:

**OBJETIVO 1:** Determinar la frecuencia de aparición de factores de riesgo cardiovascular clásicos y no clásicos, así como la presencia de disfunción endotelial y arteriosclerosis subclínica en mujeres con SOP frente a un grupo control de mujeres sanas, así como evaluar la posible influencia de la obesidad, la resistencia a la insulina y el hiperandrogenismo en las asociaciones observadas.

**OBJETIVO 2:** Confirmar la influencia de la resistencia a la insulina y del hiperandrogenismo sobre estos factores de riesgo cardiovascular y parámetros arteriales, antagonizando sus efectos mediante la administración de un sensibilizador de insulina, la metformina, por un lado, o de un anticonceptivo oral con acción antiandrogénica, combinación de etinilestradiol y acetato de ciproterona, por el otro, evaluando la posible influencia de la obesidad en el efecto de estos fármacos sobre los factores de riesgo cardiovascular clásicos y no clásicos presentes en mujeres con SOP.

Para poder evaluar hasta qué punto se han conseguido estos objetivos, empezaremos por discutir el modelo experimental empleado.

### ***EL MODELO EXPERIMENTAL.***

---

- ***Estudio casos-contróles.***

El estudio caso-control, en el que se han comparado pacientes con diagnóstico de SOP basado en la presencia de hiperandrogenismo y oligoanovulación frente a controles sanos, nos ha permitido establecer las diferencias existentes en este grupo de mujeres en términos de parámetros metabólicos como la insulinoresistencia, factores de riesgo cardiovascular clásicos como las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono, dislipemia e hipertensión arterial, marcadores de riesgo cardiovascular no clásicos, como el incremento de los depósitos de hierro, hiperuricemia, marcadores de inflamación, hemostasia y adipocinas, así como marcadores de disfunción endotelial y presencia de arteriosclerosis subclínica.

Las ventajas de este diseño experimental son las siguientes:

- 1) El gran número de parámetros evaluados nos ha permitido establecer cuál es el perfil de riesgo cardiovascular de las mujeres jóvenes con SOP comparándolas con una población sana de mujeres control.
- 2) La inclusión de un grupo control similar en términos de edad, índice de masa corporal, grado de obesidad y proporción de fumadoras, nos ha permitido evitar la influencia de estos parámetros de confusión sobre los factores y marcadores de riesgo cardiovascular examinados, y nos ha permitido determinar la influencia de la adiposidad en las diferencias entre el grupo de casos y controles, así como en la población total en estudio.
- 3) El protocolo de estudio completo se ha llevado a cabo tanto en las pacientes y controles, siempre en el mismo orden y en un corto periodo de tiempo.
- 4) La similitud de las poblaciones estudiadas, pese a no presentar un elevado tamaño muestral nos ha permitido que la potencia estadística sea suficiente para evaluar pequeñas diferencias, que pueden tener relevancia desde el punto de vista clínico.
- 5) Se han utilizado técnicas muy sensibles para la evaluación de ciertos parámetros, como son la monitorización ambulatoria de la presión arterial y la presencia de aterosclerosis subclínica a nivel carotídeo.

Sin embargo cabe mencionar algunas de las limitaciones de este diseño que han de tenerse en cuenta a la hora de interpretar los resultados:

- 1) Si bien, como se ha comentado las mujeres del grupo control se han seleccionado en términos de similitud en cuanto a edad e índice de masa corporal, como demuestra la ausencia de diferencias estadísticamente significativas en cuanto a edad y características antropométricas basales, el tamaño muestral de este grupo puede haber sido insuficiente para encontrar diferencias en algunas variables.
- 2) Al analizar la influencia del grado de obesidad en las diferencias entre pacientes y controles, el tamaño muestral de alguno de los subgrupos de peso entre las mujeres control es pequeño, por lo que pese a que el análisis

estadístico ha sido estricto y correcto, cabe tomar precauciones a la hora extrapolar ciertos resultados a la población general.

- 3) Finalmente, debido a los problemas de variabilidad y reproducibilidad de la técnica ecográfica de determinación de disfunción endotelial que se comentarán posteriormente (426), no podemos afirmar que la ausencia de diferencias observadas entre las pacientes y controles, aunque concordantes con otros autores, no sean fruto de la ausencia de potencia estadística para encontrar diferencias significativas de nuestro diseño.

- ***Ensayo clínico.***

Varios trabajos previamente comentados han evaluado de forma comparativa el papel del tratamiento con un el anticonceptivo antiandrogénico Diane<sup>35</sup> Diario frente al sensibilizador de insulina metformina, sobre parámetros antropométricos (393), hiperandrogenismo clínico y bioquímico (393, 395, 403, 409), resistencia insulínica (393, 395, 409), perfil lipídico (393, 395, 400, 409), parámetros inflamatorios (369), parámetros de presión arterial (400) y función endotelial (409).

*Morin-Papunen* y cols. (369, 393, 395, 400) con un diseño experimental similar al nuestro comunican un efecto beneficioso del empleo de metformina sobre la sensibilidad insulínica y marcadores inflamatorios, y por el contrario una acción deletérea de Diane<sup>35</sup> Diario sobre estos mismos parámetros, si bien este último fármaco mejoraba de forma importante la clínica de hiperandrogenismo. Ambos tratamientos ejercieron acciones positivas sobre el perfil lipídico. Si bien, utilizan para el estudio de la resistencia insulínica el *clamp* euglucémico, considerado como el *patrón oro*, existen varios puntos débiles en estos trabajos que deben ser comentados.

El diagnóstico de SOP se basó en criterios ecográficos (22), por lo que parte de las pacientes que presentan oligoanovulación, que son aquellas con mayor resistencia insulínica, quedan excluidas del estudio. Por otro lado, comunican por separado los resultados de las pacientes con normopeso y con sobrepeso y obesidad, cuando estos grupos son aleatorizados inicialmente en conjunto, atomizando la población final en grupos de comparación con un número pequeño de pacientes, lo que favorece la aparición de sesgos en los resultados. El análisis estadístico únicamente incluye las pacientes que finalizaron el estudio no evaluando el papel de las pérdidas de seguimiento, muy elevadas en las pacientes tratadas con

metformina, sobre los resultados finales. Finalmente, los cambios en la presión arterial son evaluados mediante la determinación de tensión arterial en consulta, una técnica muy poco sensible como hemos demostrado previamente (423).

Posteriormente, *Harborne* y cols. (403) evalúan el papel de estos dos fármacos sobre las manifestaciones clínicas, sensibilidad insulínica, perfil lipídico y parámetros de presión arterial de las mujeres con SOP. Para el diagnóstico utilizan los criterios de *Rotterdam*, por lo que incluyen en la evaluación pacientes con disfunción ovulatoria y poliquistosis ovárica sin hiperandrogenemia de las que se duda que presenten un perfil metabólico y de riesgo cardiovascular similar al de las pacientes con hiperandrogenismo (30). Los autores evalúan mediante un método objetivo el grado de hirsutismo (análisis del grosor capilar) pero el grupo de estudio únicamente incluye pacientes obesas y el análisis estadístico no evalúa las numerosas pérdidas de pacientes, superiores al 30% en ambas ramas de tratamiento. Finalmente, utilizan de nuevo la presión arterial en consulta para evaluar los cambios en este parámetro, lo que junto a las pérdidas de seguimiento ya comentadas pudieron motivar los controvertidos resultados obtenidos.

*Meyer* y cols. (409), recientemente han llevado a cabo un estudio con pacientes SOP con los mismos criterios diagnósticos utilizados en nuestro trabajo, presentando resultados similares a los nuestros en relación con los parámetros de resistencia insulínica, perfil lipídico y disfunción endotelial, pero nuevamente sin evaluar el efecto de las pérdidas de pacientes durante el seguimiento, y sin disponer de un grupo control para evaluar la magnitud de los cambios observados en parámetros poco normalizados.

Por el contrario, nuestro diseño experimental se ha caracterizado por los siguientes puntos fuertes:

- 1) La implementación de una aleatorización estricta y eficaz, como denota la ausencia de diferencias basales entre las pacientes de ambas ramas de tratamiento en todas las variables analizadas.
- 2) La evaluación antropométrica, bioquímica, monitorización ambulatoria de la presión arterial y ecográfica ha sido idéntica a lo largo del estudio a la realizada en el estudio casos-control, y por los mismos investigadores, lo que elimina la aparición de diferencias interindividuales en la determinación de estos parámetros.

- 3) La evaluación previa de un grupo control, nos ha permitido establecer unos rangos de normalidad en nuestra población para algunos parámetros de los que no se disponen estudios en población sana de nuestro entorno.
- 4) Las recomendaciones dietéticas y sobre actividad física han sido similares en todas las pacientes, lo que ha permitido que no existan diferencias significativas en cuanto al peso en el seguimiento de las pacientes entre ambas ramas de tratamiento, eliminando la posible influencia de un efecto externo a la administración del fármaco en el cambio de los parámetros evaluados al final del estudio.
- 5) Hemos utilizado técnicas sensibles para la valoración de los parámetros de presión arterial y arterosclerosis subclínica, que no habían sido evaluadas previamente en un ensayo clínico aleatorizado como el nuestro.
- 6) Finalmente, hemos utilizado un estricto análisis estadístico tanto de las pacientes que completaron el estudio como un análisis por intención de tratar para compensar las pacientes pérdidas durante el seguimiento en nuestros resultados finales.

No obstante, existen algunas limitaciones que deben ser tenidas en cuenta a la hora de analizar nuestros resultados:

- 1) La rama de tratamiento con metformina ha presentado una elevada tasa de pérdidas de seguimiento, aunque es similar a la presentada en los estudios previos ya comentados y ha sido tenida en cuenta a la hora del análisis estadístico en nuestro trabajo. No debemos olvidar que las pacientes que han abandonado el tratamiento con metformina, como se comentará posteriormente, son pacientes más obesas e hiperandrogénicas que aquellas que finalizaron el estudio, y por lo tanto su pérdida limita parcialmente los cambios observados en esta rama de tratamiento.
- 2) Si bien, como se ha descrito previamente todas las pacientes recibieron las mismas recomendaciones nutricionales y en cuanto a actividad física, éstas no fueron revisadas estrictamente a lo largo de las 24 semanas de tratamiento.
- 3) La duración del estudio puede haber sido escasa a la hora de evaluar cambios en ciertos parámetros estructurales como el grosor intímo-medial carotídeo.

- 4) Finalmente, como ya se ha comentado previamente la variabilidad de la técnica ecográfica de valoración de la función endotelial limita la extrapolación de nuestros resultados.

### ***CONSECUCCIÓN DE LOS OBJETIVOS.***

---

- **OBJETIVO 1:** Determinar la frecuencia de aparición de factores de riesgo cardiovascular clásicos y no clásicos, así como la presencia de disfunción endotelial y arteriosclerosis subclínica en mujeres con SOP frente a un grupo control de mujeres sanas, así como evaluar la posible influencia de la obesidad, la resistencia a la insulina y el hiperandrogenismo en las asociaciones observadas.

#### **A. Factores de riesgo clásicos.**

##### **A.1. Metabolismo de los hidratos de carbono.**

Ya se ha comentado la elevada frecuencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono que presentan las mujeres con SOP, con una prevalencia de intolerancia a los hidratos de carbono superior al 30-35% de las pacientes (160, 161), y de DM2 hasta del 7-10% (160, 161), junto con un incremento de la incidencia de diabetes gestacional (165, 427).

Nuestras pacientes mantienen unas concentraciones similares de glucemia a lo largo de la SOG, con diferencias en el global de pacientes entre el grupo de obesidad frente al de normopeso, precisando un incremento en la secreción insulínica patente a lo largo de los diferentes grados de obesidad, lo que se traduce en unos índices de sensibilidad insulínica disminuidos, y una mayor resistencia a la acción de esta hormona, en acuerdo con la multitud de trabajos previos que demuestran una alteración en la acción (72), y quizá en la secreción insulínica, inherente al síndrome (76, 78).

El global de mujeres, independientemente de pertenecer al grupo de pacientes o al de controles, presentó un descenso progresivo de los índices de sensibilidad insulínica a medida que se incrementaba su grado de obesidad, descenso que fue más marcado en el grupo de mujeres con SOP.

Pese a la confirmación de estos hallazgos, nuestras pacientes no presentaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la frecuencia de alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono respecto al grupo control, en probable relación con la joven edad media de nuestras mujeres (24,5 años), la equiparación en el porcentaje de mujeres obesas respecto al grupo control, y la similitud en los antecedentes familiares de DM (20,5% vs 25%, entre las pacientes y grupo control, respectivamente).

Sin embargo, analizadas en conjunto, las concentraciones de glucosa a lo largo de la SOG fueron significativamente superiores en las mujeres obesas frente al grupo con normopeso, lo que se tradujo en que la frecuencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono fue muy superior entre las mujeres con sobrepeso y obesidad, frente al grupo de normopeso.

No debemos olvidar que la obesidad, extremadamente prevalente entre las mujeres con SOP (106), la presencia de polimorfismos relacionados con alteraciones en la acción de la insulina y los antecedentes familiares de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono (45), son factores predisponentes para el desarrollo de DM tanto en las mujeres con SOP como en la población general. Al equiparar en ambos grupos tanto los antecedentes familiares como la frecuencia de obesidad, disminuimos la probabilidad de encontrar diferencias entre ambos grupos de mujeres. No obstante, el pequeño tamaño muestral, impide la realización de inferencias respecto a la población general.

## **A.2. Perfil lipídico.**

Las mujeres con SOP no presentaron diferencias en las concentraciones de lípidos respecto al grupo control, ni tampoco en cuanto a la frecuencia de alteraciones del perfil lipídico. Cabe resaltar que al analizar estas alteraciones en función de la obesidad, como grupo experimentaron un incremento progresivo en función del grado de obesidad en el porcentaje de mujeres con concentraciones bajas de HDL-colesterol, y en la frecuencia de mujeres con alguna alteración lipídica. En las pacientes con SOP se ha descrito un incremento de LDL-colesterol (183), aunque el hallazgo más constante es el descenso de las concentraciones de HDL-colesterol (180, 186). En la base de estas diferencias se encuentran probablemente la relación con factores ambientales y la base genética de las diferentes poblaciones estudiadas. Nuestro grupo previamente ha comunicado la frecuencia de alteraciones lipídicas en una muestra amplia de pacientes obesas de nuestro medio con SOP

frente a controles sanos, no encontrando una mayor prevalencia de dislipemia entre el grupo de pacientes (106). Sin embargo, al analizar el global de mujeres encontramos una mayor frecuencia de alteraciones del perfil lipídico a medida que aumenta el grado de obesidad, fundamentándose estas alteraciones en la elevada prevalencia de mujeres obesas y con sobrepeso con niveles bajos de HDL-colesterol. El descenso de la concentración de HDL-colesterol es una de las características de los estados de insulinoresistencia (428). La disminución progresiva de la sensibilidad a la insulina a medida que aumenta el grado de obesidad en ambos grupos de mujeres, pacientes y controles, conduciría al descenso de HDL-colesterol ya comentado.

### **A.3. Presión arterial.**

Las anomalías en la regulación de la presión arterial son un hallazgo frecuente en nuestra población de mujeres jóvenes con SOP, aunque estas anomalías están en la mayoría de los casos relacionadas con la frecuente asociación del síndrome con la obesidad (423). Al analizar a las pacientes y controles independientemente del grado de obesidad, la única alteración destacable tanto en la presión arterial determinada en consulta como en la MAPA fue la presencia de un menor descenso nocturno de la presión arterial diastólica y presión arterial media en las pacientes con SOP. Las pacientes obesas con SOP presentaron una frecuencia de hipertensión arterial en consulta (independientemente de incluir o no aquellas con hipertensión arterial de “bata blanca”), considerablemente más prevalente que el 1% encontrado en diferentes estudios poblacionales para mujeres en el mismo rango de edad (429). Pero aún es más llamativo el hallazgo de hipertensión de acuerdo a la monitorización ambulatoria en el 33% de las mujeres con SOP de nuestra serie, comparado con una prevalencia inferior al 5% en población femenina europea del mismo rango de edad (430). De acuerdo a estos resultados, la MAPA consiguió desenmascarar la presencia de hipertensión arterial en un 28% de mujeres con SOP de las que se disponían tanto de los datos de presión arterial en consulta como de la MAPA. Cabe destacar, que la hipertensión arterial enmascarada predice morbi-mortalidad cardiovascular en estudios longitudinales (431), subrayando la importancia de diagnosticar la hipertensión en estas pacientes. No obstante, es de reseñar que como se ha comentado, que la elevada frecuencia de alteraciones en la presión arterial detectada en nuestras pacientes es consecuencia en la mayoría de los casos de la frecuente asociación de este síndrome con la obesidad, como señala el hecho de que no

existan diferencias en la frecuencia de alteraciones entre el grupo de pacientes y controles, ni en consulta ni en la MAPA. Sin embargo, las mujeres obesas en conjunto, independientemente de presentar SOP o no, presentaron una mayor prevalencia de hipertensión arterial en consulta, así como unos valores superiores de presión arterial diastólica y presión arterial media en la propia consulta. La obesidad es un factor de riesgo bien conocido para el desarrollo de hipertensión. Los sujetos obesos presentan 2 veces más riesgo comparados con los individuos delgados de presentar hipertensión arterial tanto en consulta como en la monitorización ambulatoria (209).

Es de interés reseñar como la MAPA reveló que las mujeres obesas presentaron una frecuencia cardíaca más elevada que las delgadas a lo largo de los periodos diurno, nocturno y media de 24 horas. La activación simpática juega un papel central entre los mecanismos propuestos de mediación de la hipertensión arterial en los sujetos obesos (432), en acuerdo con la presencia de una frecuencia cardíaca aumentada en nuestras mujeres obesas.

La única anomalía que parece influida de forma sumatoria por la presencia de SOP y la obesidad es el descenso nocturno de la presión arterial durante el periodo nocturno. Se observó un patrón no descendedor significativo de la presión arterial en el 62% de las mujeres obesas con SOP, confirmando trabajos previos en los que se comunica una elevada prevalencia de patrón no descendedor de la presión arterial en mujeres adolescentes con SOP (433). El descenso medio nocturno en los niveles de presión arterial sistólica, diastólica y presión arterial media fue menor en las pacientes que en las mujeres controles, pero estas diferencias sólo alcanzaron significación estadística en el caso de la presión arterial diastólica y media. La presencia de un patrón no descendedor de la presión arterial está relacionado con un incremento de eventos cardiovasculares (434) incluso en sujetos normotensos (210), por lo que estos resultados sugieren que el subgrupo de mujeres obesas con SOP podrían encontrarse especialmente en riesgo de padecer eventos cardiovasculares desde edades tempranas.

El hecho de que para la detección de estas anomalías en la presión arterial haya sido necesaria la MAPA, puede ayudar a explicar el papel controvertido de la hipertensión en el SOP. El empleo de la MAPA en el SOP ha estado restringido a un pequeño número de trabajos con diferentes criterios diagnósticos, con escasos sujetos y en los que no se ha considerado el papel de la obesidad en las posibles anomalías detectadas en las pacientes (204-206, 208).

## **B. Marcadores no clásicos de riesgo cardiovascular.**

### **B.1. Hiperferritinemia.**

Nuestro grupo previamente había comunicado en un grupo más amplio de pacientes obesas con SOP, una elevación de la concentración de ferritina independiente de la inflamación crónica, indicando aumento de los depósitos corporales de hierro, consecuencia de la interacción entre el SOP y el grado de obesidad, no observado en las mujeres no hiperandrogénicas (172).

Este incremento de los depósitos férricos podría contribuir a la resistencia a la insulina y disfunción de la célula  $\beta$  pancreática, frecuente en las mujeres con SOP, como ya se ha sugerido en relación con el síndrome metabólico y la DM2 (435, 436). Sin embargo, este aumento de la ferritina podría no ser un hecho inherente al propio síndrome. La ausencia de pérdidas menstruales regulares, puede contribuir al incremento de los depósitos de hierro (172). Por otro lado, el incremento del estrés oxidativo, demostrado en las mujeres con SOP (87, 166), aumenta la síntesis de ferritina, en parte como mecanismo protector frente al daño oxidativo, ya que la ferritina neutraliza el hierro libre altamente tóxico (435). Además el hiperinsulinismo secundario a la resistencia a la insulina podría favorecer la absorción y depósito tisular de hierro (175, 437). La resistencia insulínica inherente al SOP exacerbada por la obesidad, favoreciendo dicha absorción y depósito, a su vez facilita el propio incremento de la insulinoresistencia en ciertos tejidos, cerrando el círculo vicioso, predisponiendo a estas pacientes para el desarrollo de DM2 y síndrome metabólico (172).

Cabe destacar como este incremento de las concentraciones de ferritina fue independiente de la proteína C reactiva, descartando su elevación como reactante de fase aguda, y que el incremento de ferritina se asoció con una mayor prevalencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono (172). No obstante, en el grupo de mujeres evaluadas en este trabajo, sólo hemos podido demostrar un incremento de la concentración de ferritina en el grupo de mujeres con obesidad frente al grupo con normopeso, independientemente de pertenecer al grupo de pacientes o controles, probablemente en relación con el menor número de sujetos estudiados en esta ocasión, y en concordancia con la elevada frecuencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono hallada en el subgrupo de mujeres obesas.

## **B.2. Uricemia.**

Nuestros resultados confirman que las concentraciones de ácido úrico no se encuentran realmente incrementadas en las pacientes con SOP cuando son comparadas con mujeres no hiperandrogénicas pareadas adecuadamente por edad, IMC y grado de obesidad. Por el contrario, la obesidad se encuentra claramente asociada con el incremento en la concentración sérica de ácido úrico observado en las mujeres del grupo control y en el grupo de pacientes, a pesar del mayor grado de resistencia a la insulina observado en las pacientes con SOP. Tanto es así, que en un análisis ulterior de los datos presentados (438) observamos como el IMC explicaría el 35,4% de la variabilidad en la concentración sérica de ácido úrico observado en este conjunto de mujeres premenopáusicas, sugiriendo que la obesidad y no la resistencia a la insulina, es el principal determinante de sus concentraciones en este grupo de edad. Podríamos especular que las diferencias prevalencias de obesidad presentes en los grupos de pacientes y controles han influido en los controvertidos resultados publicados hasta la fecha en relación con las concentraciones de ácido úrico en el SOP (253, 254).

Aunque la mayoría de las pacientes estudiadas presentaban concentraciones de ácido úrico consideradas como normales, la influencia de la obesidad sobre éstos es importante debido a que el incremento de la uricemia se asocia con una mayor mortalidad cardiovascular incluso cuando nos manejamos en el rango de la normalidad (244, 439). Por lo tanto, estos resultados añaden evidencias a la importante contribución de la obesidad sobre el riesgo cardiovascular asociado al SOP, ya que la obesidad aparece como el responsable real de factores de riesgo estudiados en este síndrome como la hipertensión arterial (423), y factores no clásicos como el ácido úrico y marcadores séricos de inflamación crónica (96).

Aunque, en los análisis de regresión múltiple realizados los modelos únicamente retuvieron el IMC como principal responsable de las concentraciones de ácido úrico en estas mujeres premenopáusicas, estos niveles también correlacionaron con los andrógenos séricos e índices de adiposidad abdominal y resistencia a la insulina, sugiriendo un papel menos importante de estos factores en la regulación de la concentración de ácido úrico (438).

La asociación entre incremento del ácido úrico, obesidad e insulinoresistencia es parcialmente explicada por la acción inhibitoria del hiperinsulinismo sobre la excreción renal de urato (440). También los andrógenos pueden influir sobre la concentración de ácido úrico, aunque como grupo nuestras pacientes con SOP no mostraron un incremento de ésta, a pesar de su obvio hiperandrogenismo.

La posible relación entre la androgenemia y ácido úrico se basa en el hallazgo de unas concentraciones superiores de este último en los varones frente a las mujeres (244), por la existencia de una correlación entre los andrógenos séricos y las concentraciones de úrico en la población femenina (441), y por estudios en modelos animales que muestran que los andrógenos incrementarían las concentraciones de urato induciendo el metabolismo hepático de las purinas (442, 443).

### **B.3. Marcadores de inflamación sistémica de bajo grado.**

Nuestras mujeres presentaron un incremento progresivo del recuento leucocitario total en función del grado de obesidad, con una tendencia estadística a presentar cifras superiores de leucocitos entre las pacientes con SOP frente a los controles, relacionado con un aumento del número total de neutrófilos, significativamente superior entre el grupo de mujeres con obesidad y normopeso, y entre las pacientes con SOP y el grupo control una vez ajustado por el grado de obesidad. Así mismo, se observó un incremento progresivo en función del grado de obesidad en la concentración sérica de proteína C reactiva independiente del hecho de tener o no SOP.

La asociación entre diferentes estados de resistencia a la insulina, la obesidad y la inflamación crónica sistémica es bien conocida (444) (445), secundaria a la producción de adipocinas y citoquinas por el tejido adiposo. Como se ha comentado previamente, en relación con la etiopatogenia del SOP se han descrito polimorfismos en diferentes genes relacionados con la síntesis y acción de citoquinas inflamatorias (45, 49), que favorecerían tanto la síntesis androgénica como el estado de resistencia a la insulina (89).

Sin embargo, existe controversia acerca de si el estado de inflamación sistémica descrita en el SOP es consecuencia del propio síndrome, o de la elevada prevalencia de obesidad encontrada entre las pacientes (96, 101). En nuestra población de estudio existe una clara influencia de la adiposidad sobre las concentraciones de marcadores séricos de inflamación sistémica. No obstante, aparece una influencia dependiente del SOP sobre estos marcadores, como sugiere la elevación del recuento leucocitario y de neutrófilos totales independiente del grado de obesidad presente entre las pacientes. La elevación del recuento leucocitario se ha demostrado como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de enfermedad coronaria (446). El incremento del recuento leucocitario en las mujeres con SOP ya ha sido descrito previamente como marcador inflamatorio en el SOP (81, 447), inherente al

propio síndrome e influenciado por marcadores de resistencia a la insulina (81). *Ibáñez y cols.* han demostrado un aumento del recuento leucocitario relacionado con el incremento del número total de neutrófilos en su serie de mujeres adolescentes con hiperandrogenismo ovárico desde edades tempranas (448).

Sin embargo, nuestros resultados añaden controversia sobre el papel de la PCR en el SOP. Corroborando resultados previos de nuestro grupo y de otros autores (96, 101, 172, 223), este marcador inflamatorio depende del grado de obesidad y su elevación no es inherentes al síndrome. No obstante, independientemente del origen etiopatogénico nuestras pacientes muestran una elevación de diferentes marcadores indicadores de un estado de inflamación sistémica subyacente, de gran importancia, ya que como ya se comentó las células y citoquinas inflamatorias se encuentran en la base fisiopatológica de la aterosclerosis y enfermedad cardiovascular (219, 221).

#### **B.4. Parámetros de hemostasia.**

Las mujeres con SOP presentan un descenso de la capacidad fibrinolítica (259) que se ha relacionado tanto con el incremento de la síntesis de PAI-1 que se observa en diferentes estados de insulinoresistencia (260) como con el propio hiperandrogenismo (259), y que podría colaborar al incremento del riesgo cardiovascular en estas pacientes (449). No obstante, recientemente se ha sugerido que este estado de hipofibrinólisis estaría relacionado de nuevo con la obesidad de las pacientes y no con el propio síndrome (450).

Por otro lado, tanto la resistencia a la insulina (451), la obesidad (452), como los andrógenos (453) incrementan la agregabilidad plaquetaria, por lo que este aspecto ha sido evaluado en el SOP demostrando un incremento de la respuesta plaquetaria a diferentes sustancias proagregantes (454).

En nuestro grupo de mujeres con sobrepeso y obesidad se sugiere un estado protrombótico como se deriva del descenso en el tiempo de protrombina y cefalina de forma inversa con el incremento del grado de obesidad. El grupo de mayor adiposidad presentó además un incremento del recuento plaquetario y de las concentraciones plasmáticas de fibrinógeno independiente de la presencia de SOP, respecto al grupo de normopeso, y normopeso y sobrepeso, respectivamente. Sin embargo, el tiempo de protrombina y la actividad de protrombina, si se vieron influidas por el SOP, fundamentalmente en el grupo de normopeso, en dónde las pacientes presentaron un perfil procoagulante marcado respecto al

grupo control. El tiempo de protrombina evalúa tanto la vía extrínseca (factor tisular y factor VII) de la cascada de coagulación como la vía común (protrombina, factor V, X y fibrinógeno). Si bien, estos parámetros de hemostasia han sido poco estudiados en el SOP, en nuestro conocimiento es la primera vez que se comunican estos resultados.

El papel de los andrógenos sobre los factores de coagulación es controvertido y parece tener un efecto diferente en función del sexo. Mientras que la elevación de los andrógenos se ha relacionado en la mujer con un estado protrombótico y proinflamatorio (455), en el varón el descenso de los mismos presenta un efecto deletéreo similar (456). Sin embargo, recientemente se ha comunicado como la administración de dosis elevadas de andrógenos en transexuales de mujer a hombre no se asocia con alteraciones en los diferentes parámetros de coagulación (457), y como la administración de dosis bajas de testosterona en el seno del tratamiento del síndrome premenstrual tiene un efecto inerte sobre el sistema de coagulación (458), por lo que el papel de los andrógenos sobre la hemostasia permanece por elucidar.

Por otro lado, no debemos olvidar que la relación entre obesidad, insulinoresistencia e hipercoagulabilidad está claramente establecida (459). Los sujetos obesos muestran un patrón con elevación de parámetros procoagulantes y antifibrinolíticos, tanto en relación con la insulinoresistencia como con la inflamación asociada (460), por lo que la elevada insulinoresistencia y adiposidad de nuestras pacientes con SOP puede influir sobre las alteraciones previamente descritas.

### **C. Parámetros ecográficos de disfunción endotelial.**

Nuestras pacientes no muestran ninguna diferencia en la valoración ecográfica de la dilatación dependiente ni independiente de endotelio a nivel de la arteria braquial, al compararlas en conjunto con el grupo de mujeres control, ni en función del grado de obesidad. Este hecho no es sorprendente teniendo en cuenta los controvertidos resultados obtenidos hasta la fecha en relación con estos parámetros ecográficos en las mujeres con SOP (286, 290, 294, 306).

Aunque la insulinoresistencia se relaciona claramente con la aparición de disfunción endotelial a través de una serie de mecanismos comentados previamente (ver apartado de disfunción endotelial en la Introducción), como se demuestra claramente en los pacientes con DM2 (306, 461), las diferentes vías metabólicas implicadas en la producción de la resistencia a la acción de la insulina parecen influir en la aparición de esta disfunción endotelial (306).

En esta situación, la acción deletérea del estrés oxidativo (86), la hipoadiponectinemia (127), y el ambiente proinflamatorio inherentes al SOP (45, 297) sobre la capacidad de producción de óxido nítrico del endotelio puede verse contrarrestada por las propiedades antiinflamatorias y vasodilatadoras de la propia insulina (281), cuyas concentraciones se encuentran elevadas en estas pacientes, preservando la vasodilatación endotelial hasta situaciones extremas de obesidad (306).

Apoyando la preservación de la capacidad vasodilatadora endotelial, *Nácul* y cols. (302) recientemente no han sido capaces de demostrar un descenso de la producción de productos derivados del NO en mujeres con SOP frente a población control sana pareada por edad e IMC. Por otro lado, no debemos olvidar el posible papel de los andrógenos como vasodilatador directo a nivel vascular (275, 276), que se puede encontrar en la base de la incapacidad para demostrar de forma homogénea la presencia de disfunción endotelial en estas pacientes.

#### **D. Marcadores precoces de aterosclerosis: Grosor intimo-medial carotídeo.**

Nuestros resultados muestran como el grosor intimomedial carotídeo es mayor en pacientes jóvenes con SOP frente a una muestra de mujeres controles de la misma edad, y cómo este incremento es independiente de la elevada prevalencia de sobrepeso y obesidad inherente al síndrome.

Varios estudios previos habían demostrado un incremento del IMT en mujeres con SOP (290, 294, 325, 326, 328, 329, 462), sugiriendo como dicha alteración no está relacionada con la asociación del SOP con factores de riesgo clásicos para el desarrollo de aterosclerosis como la obesidad, dislipemia y resistencia a la insulina (294), sino relacionada con el propio síndrome (290, 325). La importancia de este hallazgo estriba en que el incremento del IMT se ha mostrado como un marcador precoz de aterosclerosis, y en relación con este aspecto se ha comunicado una elevada prevalencia de calcificación prematura en las arterias coronarias de las mujeres con SOP (331, 332).

Nuestros resultados sugieren que el hiperandrogenismo, que se ha mostrado como mecanismo etiopatogénico central en el SOP (31), es el principal determinante del incremento del IMT de estas pacientes. El análisis de los datos demuestra como este incremento correlaciona directamente con los niveles de andrógenos, la frecuencia cardiaca, y con la

resistencia a la insulina, dada la relación inversa con el índice de sensibilidad insulínica. Es importante señalar como otros factores de riesgo cardiovascular clásicos como la obesidad, la dislipidemia o los niveles de presión arterial no están relacionados con el IMT en las mujeres jóvenes con SOP evaluadas en este estudio.

Al estudiar a las pacientes y mujeres control en conjunto, únicamente los niveles de andrógenos y la frecuencia cardiaca determinan el IMT en un modelo de regresión multivariante, desapareciendo la influencia de la resistencia a la insulina. Cabe destacar como los niveles de andrógenos y la frecuencia cardiaca explican el 22% y 39% de la variabilidad en el IMT en la población de mujeres jóvenes evaluadas, y como exclusivamente los niveles de andrógenos son el principal determinante del IMT, explicando entre el 16 y 32% de su variabilidad, al analizar al grupo de mujeres con SOP por separado, mientras que en las mujeres no hiperandrogénicas el principal determinante de este marcador precoz de aterosclerosis es la frecuencia cardiaca, explicando el 21% de su variabilidad. En relación con este hallazgo en la población control, la frecuencia cardiaca se considera un marcador de hiperactividad simpática (463), la cual es un reconocido factor de aterosclerosis y daño vascular (464).

De acuerdo con el papel central de la hiperandrogenemia en el incremento del IMT observado en el SOP, estudios *in vitro* han demostrado como la testosterona ejerce un efecto proaterogénico en la función macrofágica favoreciendo la captación de lipoproteínas modificadas, aunque este efecto está parcialmente contrarrestado por un efecto antiaterogénico estimulando el flujo de colesterol celular hacia las partículas de HDL (275).

Por otro lado, el incremento del IMT independiente del grado de obesidad indica que la adiposidad no ejerce ninguna influencia sobre este marcador en nuestra serie de mujeres jóvenes con SOP, en claro contraste con la predominante asociación entre la obesidad y las anomalías detectadas en la presión arterial en nuestras pacientes, como previamente se ha comentado y hemos publicado (423). Es más, la resistencia a la insulina ejerce una mínima influencia, que no se mantiene tras ajustar por los niveles de andrógenos y la frecuencia cardiaca.

Estos resultados apoyan el concepto de que el perfil de riesgo cardiovascular presente en las mujeres con SOP, tiene un origen multifactorial y no es debido únicamente a las frecuentes anomalías metabólicas asociadas a esta entidad. Mientras que la resistencia a la insulina, la inflamación crónica y la obesidad están indudablemente relacionadas con algunos de estos factores de riesgo (334), nuestros resultados sugieren que los niveles de andrógenos

juegan un papel fundamental en la patogénesis de la aterosclerosis en el SOP. Por lo tanto, el descenso de los niveles de andrógenos debería ser considerado como un objetivo de prevención cardiovascular a la hora de elegir la mejor estrategia terapéutica en estas mujeres.

- **OBJETIVO 2:** Confirmar la influencia de la resistencia a la insulina y del hiperandrogenismo sobre estos factores de riesgo cardiovascular y parámetros arteriales, antagonizando sus efectos mediante la administración de un sensibilizador de insulina, la metformina, por un lado, o de un anticonceptivo oral con acción antiandrogénica, combinación de etinilestradiol y acetato de ciproterona, por el otro, evaluando la posible influencia de la obesidad en el efecto de estos fármacos sobre los factores de riesgo cardiovascular clásicos y no clásicos presentes en mujeres con SOP.

#### **A. Factores de riesgo cardiovascular clásicos.**

##### **A.1. Metabolismo de los hidratos de carbono y perfil lipídico.**

Nuestros resultados confirman que ambos fármacos, Diane<sup>35</sup> Diario y metformina, son seguros y efectivos en el tratamiento de las pacientes con SOP, mostrando un efecto global beneficioso sobre la mayoría de las alteraciones características de esta entidad (465).

Sin embargo, nuestros datos sugieren que Diane<sup>35</sup> Diario es más eficiente en el tratamiento del hiperandrogenismo y la disfunción menstrual, independientemente del grado de obesidad, al considerar que la mejoría en el grado de hirsutismo, el descenso de la hiperandrogenemia y la restauración de ciclos menstruales regulares ocurrió de forma más temprana y con una mayor frecuencia en el grupo de mujeres tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario que en aquellas tratadas con metformina (465).

Por otro lado, aunque la metformina supera claramente al tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario en la mejoría de la sensibilidad insulínica, nuestros datos indican que Diane<sup>35</sup> Diario es un fármaco seguro cuando consideramos su efecto sobre factores de riesgo cardiovascular clásicos, e incluso, presenta un efecto favorable sobre el perfil lipídico de las pacientes con SOP (465), de forma independiente al grado de obesidad. En relación con este aspecto, mientras que la mejoría de la sensibilidad insulínica provocada por la metformina no se acompaña de cambios en el perfil lipídico, el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario se acompaña de un incremento marcado en las concentraciones plasmáticas de Apo A-I y HDL-fosfolípido,

explicando el aumento de HDL-colesterol que se observa tras las 24 semanas de tratamiento en el global de pacientes (465). Este hallazgo es de especial importancia si consideramos que el descenso de HDL-colesterol es la alteración lipídica que con mayor frecuencia se asocia al SOP (180, 186), y el reconocido papel de esta anomalía como factor de riesgo cardiovascular (466).

Resultados similares habían sido comunicados previamente en algunos estudios que han comparado el efecto de la metformina en mujeres con SOP frente al anticonceptivo utilizado en el presente trabajo (400, 403). Estos resultados unidos a los aquí comunicados sugieren un efecto de Diane<sup>35</sup> Diario sobre la regulación del metabolismo de las partículas de HDL-colesterol. En relación con esta regulación se sitúa la acción de los esteroides sexuales sobre la actividad de la lipasa hepática plasmática, una enzima con una sensibilidad marcada a los esteroides sexuales. Los estrógenos disminuyen su actividad, mientras que ésta se ve potenciada por los andrógenos y progestágenos androgénicos (192). De acuerdo con esta regulación, y aunque ciertos anticonceptivos orales podrían empeorar el perfil lipídico en la población general (387, 388), el descenso del hiperandrogenismo en las mujeres con SOP, combinado con las propiedades antiandrogénicas del acetato de ciproterona y la composición estrogénica del Diane<sup>35</sup> Diario parecen evitar este efecto adverso indeseable, explicando la acción beneficiosa de los anticonceptivos orales en las mujeres con SOP (195).

Por otro lado, Diane<sup>35</sup> Diario presentó un impacto menor sobre el metabolismo de los hidratos de carbono incluso en las pacientes obesas, provocando únicamente un mínimo aumento de la glucemia basal que no supera las concentraciones del grupo control, el cual no fue acompañado de un incremento simultáneo del AUC para glucosa a lo largo de la sobrecarga oral, evaluada a las 12 y 24 semanas de tratamiento. Las concentraciones de insulina basal y AUC de insulina a lo largo de la sobrecarga oral de glucosa disminuyeron en el global de pacientes independientemente de la rama de tratamiento y grado de obesidad, y la frecuencia de anomalías en el metabolismo de los hidratos de carbono se mantuvieron estables a lo largo de las 24 semanas de seguimiento en las pacientes tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario.

Estos resultados están en concordancia con comunicaciones previas que muestran un pequeño impacto de este anticonceptivo oral sobre la tolerancia a la glucosa en las mujeres con SOP (395, 403). Cabe reseñar como el descenso en la resistencia a la insulina observada a lo largo de las 24 semanas de tratamiento, en las pacientes tratadas con metformina, no se vio acompañada de una reducción real en la frecuencia de alteraciones en la tolerancia a la glucosa observadas en estas mujeres.

Es importante subrayar que la rama de tratamiento con metformina se asoció con una elevada tasa de abandonos, en el rango del 38% (403) y 45% (400) de las pacientes tratadas con este fármaco observada en trabajos previos que comparan la metformina frente a Diane<sup>35</sup> Diario en mujeres con SOP. Junto con los efectos secundarios de origen gastrointestinal característicos de la metformina (361), y que estuvieron directamente relacionados con el abandono del tratamiento en 2 de nuestras pacientes, es probable que la respuesta subóptima que produce la metformina sobre el hirsutismo (403), pueda haber contribuido a la pérdida de pacientes en nuestro estudio, dado que éste es uno de los principales motivos de consulta en las pacientes jóvenes con SOP (41). En cualquier caso, la confirmación de la mayoría de los resultados en aquellas pacientes que finalizaron el estudio mediante un análisis por intención de tratar, descarta un impacto significativo de los abandonos de protocolo en la rama de tratamiento con metformina. Por el contrario, la tolerancia de las pacientes a la administración de Diane<sup>35</sup> Diario fue excelente, no observándose ningún abandono en esta rama de tratamiento, aspecto importante a la hora de elegir un tratamiento crónico que debe ser utilizado durante años.

## **A.2. Monitorización ambulatoria de la presión arterial.**

Previamente, se ha comentado como la asociación de hipertensión arterial y SOP es un aspecto debatido (467) y, como hemos visto en la sección anterior, la inmensa mayoría de las alteraciones en la presión arterial observadas en nuestras mujeres jóvenes con SOP, alteraciones que presentan una frecuencia próxima al 30% de esta población, son consecuencia de la obesidad asociada al síndrome (423).

Nuestros resultados, muestran claramente como la administración de Diane<sup>35</sup> Diario se acompaña de un incremento moderado de los valores de presión arterial sistólica, diastólica y media durante el periodo diurno de la monitorización ambulatoria de 24 horas, mientras que la metformina produce un descenso de los mismos. Este incremento en los valores diurnos de presión arterial se acompaña de un aumento de los valores sistólicos y diastólicos medios de las 24 horas, pero sin embargo, este efecto diferencial de ambos fármacos no se observa durante el periodo nocturno. En concordancia con estos resultados la carga de presión sistólica y diastólica durante el periodo diurno, se incrementó con el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario a expensas del grupo de pacientes obesas, mientras que descendió con la

administración de metformina, alcanzando significación estadística en el caso de la carga de presión diastólica.

Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que la administración de anticonceptivos orales en el SOP produce un ligero, aunque significativo, empeoramiento de los niveles de presión arterial, mientras que la metformina mejoraría los mismos, aunque únicamente durante el periodo diurno. Cabe destacar, como las anomalías en la presión arterial de nuestra población de mujeres con SOP fueron mucho más frecuentes durante el periodo nocturno (423), y es durante este periodo nocturno dónde la metformina no parece ser efectiva en la reducción de los valores de presión arterial de acuerdo a nuestros resultados.

El efecto beneficioso de la metformina sobre las cifras de presión arterial había sido previamente comunicado tanto en los pacientes con DM2 (468) como en mujeres con SOP (469). Sin embargo, el empeoramiento de los valores de presión arterial experimentado por nuestras pacientes durante el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario, aunque coincide con los cambios observados por otros autores en la población general tras el tratamiento con anticonceptivos orales (470), no había sido comunicado hasta el momento en las mujeres con SOP. Es más en un ensayo clínico previamente publicado comparando Diane<sup>35</sup> Diario frente a metformina, los autores concluyen que el tratamiento con este anticonceptivo oral resulta en una disminución de los valores de presión arterial diastólica determinada en consulta (403).

Dado que la mayoría de las alteraciones detectadas en la presión arterial de estas mujeres requieren de la monitorización ambulatoria de la presión arterial durante un periodo de 24 horas para ser detectadas (423), la aparente discrepancia entre nuestros resultados y los previamente comentados, probablemente sea debida a nuestra metodología, mucho más sensible que la determinación de presión arterial en consulta, para detectar dichas anomalías en la presión arterial, y al pequeño efecto que ejercen sobre éstas ambos tratamientos.

Es importante reseñar como ni la metformina ni Diane<sup>35</sup> Diario produjeron ningún cambio significativo en las tasas de hipertensión arterial. Sin embargo, la administración de Diane<sup>35</sup> Diario se acompañó de un incremento del descenso fisiológico de la presión arterial durante el periodo nocturno que se hizo significativo en el caso de la presión arterial sistólica en el subgrupo de mujeres sin obesidad de acuerdo a las determinaciones de la MAPA, entre la visita basal y a las 24 semanas de tratamiento, y que este patrón no descendido nocturno de la presión arterial parece una alteración inherente al SOP, sembrando una sombra de duda acerca del significado clínico real a largo-plazo de las modificaciones observadas durante el periodo diurno de monitorización.

## **B. Marcadores de riesgo cardiovascular no clásicos.**

### **B.1. Hiperferritinemia.**

Previamente, nuestro grupo había hipotetizado que el incremento en los depósitos de hierro observado en las mujeres con SOP y sobrepeso u obesidad presentaba un origen multifactorial (172), dentro del cual se encontrarían el descenso en las pérdidas menstruales en las pacientes con SOP, la presencia de un incremento del estrés oxidativo (87, 166), la hiperinsulinemia secundaria a la resistencia a la insulina frecuentemente asociada al SOP, y factores genéticos como mutaciones y polimorfismos en el gen de la hemocromatosis y genes relacionados con el metabolismo del hierro.

Inicialmente, descartamos la presencia de mutaciones en el gen *HFE* de la hemocromatosis que no se relacionaron con las concentraciones de ferritina en nuestra serie de pacientes con SOP (471). En el presente trabajo hemos proporcionado una evidencia sustancial acerca de la relación de la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina como agentes fundamentales del incremento de los depósitos de hierro en estas mujeres, mientras que el descenso de las pérdidas menstruales asociado con la presencia de oligo- o anovulación no influye de forma significativa en la concentración de ferritina y por tanto en los depósitos de hierro (472).

Por un lado, el tratamiento con metformina disminuye de forma significativa la concentración de ferritina en paralelo a un incremento evidente de la sensibilidad insulínica, aunque sólo el 50% de las pacientes tratadas con este fármaco lograron presentar ciclos menstruales regulares. Por otro lado, aunque el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario normalizó los ciclos menstruales en todas las pacientes sin cambios en la sensibilidad a la insulina, la concentración de ferritina no se modificó de forma significativa durante las 24 semanas de tratamiento con este fármaco (472).

La combinación del hallazgo de la reducción de la concentración de ferritina únicamente en las mujeres tratadas con metformina con la ausencia de cambios observada en la rama de tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario, nos lleva a interpretar que la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina se encuentran entre los principales determinantes del incremento de esta concentración observada en las pacientes con SOP (472). Más aún, la administración de metformina no se relacionó específicamente con el descenso de las concentraciones de hemoglobina observado a lo largo del estudio, que aconteció en ambas ramas de tratamiento

(472). La reducción de la ferritina observada con el tratamiento con metformina, no tuvo relación aparente con un incremento de las pérdidas menstruales en estas mujeres, ya que su concentración no se modificó en la rama de tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario, a pesar de la ya comentada restauración de los ciclos menstruales desde el primer mes de tratamiento en todas las pacientes (472).

Cabe destacar el hecho que el descenso de la hemoglobina independiente de la rama de estudio sugiere una influencia del descenso de la hiperandrogenemia en este hallazgo, considerando el conocido efecto de los andrógenos sobre la eritropoyesis (473). Por otro lado, la posibilidad de que nuestros resultados pudieran haber sido influidos por la presencia de mujeres portadoras de mutaciones en el gen de la  $\beta$ -talasemia, muy frecuente en el área Mediterránea y que puede causar un incremento de los depósitos de hierro (474), parece improbable, especialmente cuando sólo 2 de las pacientes evaluadas, una asignada a Diane<sup>35</sup> Diario y otra a metformina, presentaban perfiles hematológicos sugestivos de tal alteración genética.

Los cambios en la concentración de ferritina tampoco se vieron acompañados de cambios en la proteína C reactiva, que sería lo esperable en el caso de que el incremento de ferritina fuese consecuencia de la inflamación crónica asociada al SOP en su papel de reactante de fase aguda (472). Por otro lado, la relación de la hiperinsulinemia e insulinoresistencia con un incremento de los depósitos de hierro ya ha sido demostrado en otras enfermedades que cursan con resistencia a la insulina, como la DM2 (435).

La insulina parece estimular la absorción intestinal de hierro regulando al alza la actividad del factor 1- $\alpha$  inducible por hipoxia y a la baja la expresión hepática de hepcidina (175, 437), por lo que el descenso de las concentraciones de insulina consecuencia de la mejora de la sensibilidad insulínica observada en las mujeres tratadas con metformina puede explicar el descenso de la ferritina, especialmente cuando, en nuestro conocimiento no existe ninguna influencia a nivel intestinal de la metformina sobre la absorción de hierro.

Esta reducción en los depósitos de hierro observada en las mujeres con SOP tratadas con metformina, puede ser de especial importancia en las pacientes que presentan sobrepeso u obesidad, dado que estos depósitos contribuyen de forma recíproca a la resistencia a la insulina e hiperinsulinismo reduciendo la extracción hepática y metabolismo de la insulina (475), así como descendiendo la captación muscular de glucosa (476).

De acuerdo con un papel predominante de los depósitos de hierro en el desarrollo de resistencia a la insulina (435), la realización de flebotomías repetidas en pacientes diabéticos con sobrecarga de hierro (477), e incluso en voluntarios sanos (478), conduce a un descenso de la resistencia a la insulina, efecto similar al observado con dietas vegetarianas que disminuyen los depósitos férricos (479). Apoyando, la influencia del hierro sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, en modelos animales de hemocromatosis se ha descrito una disfunción de la célula  $\beta$  pancreática como consecuencia del daño oxidativo y la inducción de apoptosis por parte de los depósitos de hierro en las células pancreáticas (480), favoreciendo el desarrollo de intolerancia a los hidratos de carbono y DM tan prevalentes en el SOP (160).

Por lo tanto, estos resultados sugieren que la administración de metformina a las mujeres con SOP puede ser de utilidad para romper este círculo vicioso de la insulinoresistencia, incremento de la absorción y depósito tisular de hierro, que empeoraría a su vez la sensibilidad a la insulina de las pacientes con SOP, ayudando a la prevención de la diabetes en estas pacientes.

## **B.2. Concentraciones séricas de ácido úrico.**

De acuerdo con el papel de los andrógenos sobre la regulación de la concentración de ácido úrico en las mujeres premenopáusicas, sólo la administración de Diane<sup>35</sup> Diario, y no la del sensibilizador de insulina metformina, se acompañó de un descenso significativo de la concentración de ácido úrico en nuestras pacientes hiperandrogénicas con SOP (438).

Destacar como al final del periodo de evaluación la concentración de ácido úrico correlacionó de forma directa con el grado de descenso de la hiperandrogenemia (438), el cual fue mucho más marcado con el anticonceptivo oral que con metformina (465). Más aún, el descenso del ácido úrico durante el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario se observó tanto en las mujeres obesas como no obesas, sugiriendo que la relación entre andrógenos y ácido úrico es mediada por un efecto independiente de la obesidad (438). En relación con este hecho, los estrógenos sintéticos presentan un efecto uricosúrico que podría contribuir a explicar nuestros resultados (481).

La nula influencia de la metformina sobre la uricemia, a pesar de la mejora observada en la sensibilidad insulínica (465), indica de nuevo que la resistencia a la insulina no es uno de los principales reguladores de las concentraciones séricas de ácido úrico en estas mujeres.

Se puede especular que la magnitud de los cambios observados en la concentración de ácido úrico durante el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario en nuestras pacientes con SOP es pequeña, y acontece dentro del rango de la normalidad en la mayoría de los casos. No obstante, incrementos pequeños en las concentraciones de ácido úrico, en el rango de 1 mg/dl, se asocian con un mayor número de eventos cardiovasculares y cardiopatía isquémica en estudios epidemiológicos (244). Es más, el 29% del descenso en el objetivo primario compuesto - muerte cardiovascular, infarto agudo de miocardio fatal y no fatal, e ictus fatal y no fatal - observado en la rama de tratamiento con losartan del estudio LIFE ha sido atribuido al descenso observado en la concentración de ácido úrico secundario a las propiedades uricosúricas de este fármaco (250), subrayando el posible beneficio cardiovascular de controlar y reducir las concentraciones de ácido úrico.

Nuestro estudio no permite extraer ninguna conclusión en relación con cambios en las concentraciones séricas de ácido úrico tras modificación de estilo de vida y pérdida de peso, debido a que nuestras pacientes fueron instruidas para mantener un aporte calórico en su dieta aproximado de 25 – 30 Kcal por kg de peso corporal y día, manteniendo una actividad física moderada a lo largo del ensayo clínico, explicando porque el peso y IMC no se modificaron de forma significativa a lo largo del periodo de evaluación (465). Considerando la importante influencia que el IMC ejerció sobre las concentraciones de ácido úrico en la evaluación basal, es plausible que una pérdida de peso en nuestras pacientes con SOP se hubiera acompañado de un descenso de su concentración como se ha demostrado en la población general (482).

### **B.3. Marcadores de inflamación, adiponectina y leptina.**

Los únicos cambios destacables a lo largo del tratamiento en los parámetros de inflamación evaluados a lo largo del tratamiento (recuento leucocitario total, porcentaje y neutrófilos totales, y concentraciones séricas de proteína C reactiva e IL-6) fue el descenso de la concentración de IL-6 tras la administración de metformina, y el incremento de las concentraciones séricas de PCR ultrasensible en el subgrupo de pacientes sin obesidad tras la administración de Diane<sup>35</sup> Diario.

La administración de estrógenos se ha asociado con un incremento de PCR tanto en mujeres postmenopáusicas (483, 484), como en premenopáusicas en ausencia de un incremento de la respuesta inflamatoria sistémica (484, 485), en probable relación con un efecto directo del primer paso hepático de los estrógenos orales sobre la síntesis hepática de

este marcador inflamatorio, no mediado por el incremento de citoquinas y por lo tanto carente de base inflamatoria (485).

En el seno del SOP, el efecto de los anticonceptivos orales sobre estos parámetros ha mostrado resultados controvertidos, comunicándose tanto incrementos de los niveles de PCR tras la administración de etinilestradiol más acetato de ciproterona (369), como un incremento del recuento total de neutrófilos en adolescentes con hiperandrogenismo hiperinsulinémico (448), frente a otros trabajos que demuestran un efecto beneficioso de la administración de un anticonceptivo con un progestágeno de baja androgenicidad (desogestrel) sobre diferentes marcadores inflamatorios (486).

En la base del efecto de los anticonceptivos orales sobre los marcadores inflamatorios en el SOP puede encontrarse el descenso marcado de la hiperandrogenemia durante la administración de los mismos a estas mujeres (465). Los andrógenos circulantes se relacionan de forma directa con los niveles de PCR en mujeres en edad media de la vida (455), y parece existir una correlación directa entre la hiperandrogenemia observada durante los procedimientos de hiperestimulación ovárica y el incremento de este marcador inflamatorio (487), por lo que el descenso de los andrógenos tras la administración de los ACOs podría contrarrestar el incremento de la PCR asociada a la toma de estrógenos.

Por otro lado, el efecto beneficioso de la administración de metformina sobre diversos marcadores inflamatorios en las mujeres con SOP se ha evaluado más ampliamente. La metformina ha demostrado disminuir las concentraciones de PCR fundamentalmente en mujeres obesas con SOP en un ensayo clínico aleatorizado frente a Diane<sup>35</sup> Diario (369). No obstante, los datos de estos autores no son comparables a los de nuestra población ya que utilizan los criterios ecográficos de *Homburg* (22) para la definición de SOP contando por lo tanto con una población desde el punto de vista androgénico y metabólico más heterogénea que la nuestra. Subrayando el papel controvertido de la metformina sobre los niveles de PCR, *Harborne* y cols. (488) y *Kjotrod* y cols. (489), no han sido capaces de comunicar un efecto significativo de la metformina sobre este parámetro en mujeres obesas con SOP diagnosticadas de acuerdo a los criterios del consenso de *Rotterdam* (488), ni en pacientes en tratamiento con metformina previo a estimulación de la ovulación para realización de fecundación *in vitro* (489), aunque otros autores si lo han logrado recientemente en población griega (490).

*Ibáñez* y cols. (448), en su serie de adolescentes con SOP han comunicado un efecto beneficioso de la metformina sobre diferentes marcadores inflamatorios como el recuento de

neutrófilos (448), que se ha reportado también en pacientes adultas (491), así como un descenso de las concentraciones circulantes de IL-6 en usando metformina combinación con flutamida (492). Se ha hipotetizado que el hiperinsulinismo y resistencia a la insulina pueden incrementar la producción de reactantes de fase aguda como la IL-6 (83), que a su vez alterarían la secreción y acción de la propia insulina. Como hemos comprobado el empleo de metformina en estas pacientes se asocia con una importante mejoría de la sensibilidad insulínica (465). La mejoría del estado proinflamatorio de las pacientes asociado al empleo de metformina, como refleja la disminución de las concentraciones plasmáticas de IL-6, puede contribuir al incremento en la sensibilidad a la insulina observado con este fármaco. No obstante, de forma recíproca la disminución de las concentraciones plasmáticas de insulina podría estar en la base de esta tendencia al descenso de esta citoquina observada con metformina.

Tampoco debemos olvidar que a la IL-6 se le han otorgado también propiedades antiinflamatorias e insulinosensibilizantes (83, 493), y parece ser la única citoquina autorregulable en situación de inflamación crónica (83, 493), por lo que queda por aclarar si este descenso en su concentración se relaciona con algún beneficio clínico en las pacientes.

La asociación del SOP con la hipoadiponectinemia y la correlación inversa entre las concentraciones de adiponectina sérica y testosterona libre sugieren un posible papel causal de la hiperandrogenemia sobre la hipoadiponectinemia característica de estas mujeres (127, 494). Nuestros resultados, demuestran que el anticonceptivo antiandrogénico Diane<sup>35</sup> Diario incrementa la concentración de adiponectina sérica y la relación adiponectina / leptina en las mujeres obesas con SOP, en paralelo con un descenso marcado de la hiperandrogenemia (465), proporcionando una evidencia directa de la importante influencia de los andrógenos sobre la regulación de la función adipocitaria a través de la modulación de la secreción de adiponectina.

El receptor de andrógenos está presente en preadipocitos y adipocitos, especialmente en la grasa visceral (495), posiblemente modificando la distribución corporal del tejido adiposo (495, 496) y, de acuerdo con el papel inhibitor de los andrógenos sobre la secreción de adiponectina apuntado por nuestros resultados, la administración de testosterona disminuye la secreción de adiponectina, particularmente la fracción de alto peso molecular (497), tanto *in vitro* (498) como *in vivo* (499, 500).

El incremento de esta molécula insulinosensibilizante podría explicar la aparente paradoja de los diferentes efectos de los anticonceptivos orales sobre la resistencia a la

insulina y tolerancia a los hidratos de carbono en mujeres sanas y en mujeres hiperandrogénicas; mientras que los anticonceptivos orales empeoran la sensibilidad a la insulina en las primeras (387, 388), éstos ejercen un efecto neutral o incluso beneficioso en las últimas (395, 403), incluyendo las mujeres con SOP aquí estudiadas (465).

Podemos especular que el incremento en la secreción de adiponectina en respuesta a la mejoría del exceso androgénico de nuestras pacientes obesas con SOP tras el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario compensaría el posible efecto deletéreo de este fármaco sobre la sensibilidad insulínica y metabolismo de los hidratos de carbono.

Por otro lado, el descenso de los andrógenos observado en nuestras pacientes, mucho más marcado tras el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario que con metformina (465), podría relacionarse con el descenso en el perímetro abdominal en las mujeres obesas, sugiriendo una cierta redistribución de la grasa visceral hacia depósitos periféricos, ya que este cambio no se vio acompañado de un cambio significativo en el IMC ni porcentaje de grasa corporal total (465). Un cambio similar en la distribución de la grasa corporal ha sido descrito tras la administración de un antiandrógeno puro, la flutamida, en mujeres con SOP (109).

Al contrario que la adiponectina, la concentración sérica de leptina no se modificó a lo largo del periodo de evaluación en ninguna de las dos ramas de tratamiento. La leptina es un marcador de los depósitos corporales de grasa (501-504). De acuerdo con nuestros resultados, la concentración periférica de leptina no se modifica en las mujeres con SOP durante el tratamiento con metformina, anticonceptivos orales o análogos de GnRH en ausencia de cambios en el IMC (505-507). Sin embargo, si consideramos los efectos de la metformina sobre pacientes con o sin obesidad por separado, los niveles de adiponectina tienden a disminuir en las mujeres obesas, y a incrementarse en las pacientes delgadas, aunque estos cambios no resultan en diferencias estadísticamente significativas.

La relación adiponectina / leptina podría predecir mejor la resistencia a la insulina, la inflamación y la aterosclerosis, que la evaluación por separado de las concentraciones séricas individuales de ambas hormonas (508-511). Junto con el incremento observado en la concentración de adiponectina, el incremento en esta relación subraya el impacto beneficioso del tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario sobre la disfunción del tejido adiposo visceral en las mujeres obesas con SOP.

Es más, este efecto beneficioso podría no estar restringido a las pacientes obesas, dado que la representación gráfica de los cambios en la concentración de adiponectina a lo largo del estudio fue bastante similar en las pacientes con o sin obesidad, y similar a la observada al

considerar a las pacientes obesas y no obesas en conjunto. Posiblemente, el aumento aparente en las concentraciones de adiponectina observada en las pacientes sin obesidad no alcance significación estadística en comparación con el efecto de la metformina sobre la visita de evaluación, debido a que la metformina produjo un ligero incremento no significativo en la concentración de adiponectina en las pacientes sin obesidad. No obstante, es también posible que el efecto beneficioso de Diane<sup>35</sup> Diario sea más importante en las mujeres obesas en relación con un tejido adiposo más disfuncional.

Finalmente, la administración de metformina no modificó la secreción de adiponectina ni leptina en nuestras pacientes a pesar de la clara mejoría de la sensibilidad insulínica observada en las pacientes asignadas a esta rama de tratamiento (465), indicando que los efectos insulinosensibilizantes de este fármaco en las pacientes con SOP no son mediados por cambios en la secreción de adipoquinas, de acuerdo con los efectos fundamentalmente hepáticos, musculares e intestinales de este fármaco (512).

#### **B.4. Parámetros de hemostasia.**

Tras 24 semanas de tratamiento con metformina y Diane<sup>35</sup> Diario las pacientes experimentan un descenso del tiempo de protrombina e incremento de su actividad de forma global e independiente a la rama de tratamiento asignada, lo que traduce un incremento del estado protrombótico. Las pacientes tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario presentaron un descenso del tiempo de cefalina, desde la semana 12 de tratamiento, que se mantiene hasta el final del seguimiento, efecto no observado con el tratamiento con metformina. Por lo tanto, en nuestro grupo de pacientes el empleo de ambos fármacos provoca un efecto deletéreo en los parámetros de hemostasia, aún más marcado tras la administración del anticonceptivo. Diane<sup>35</sup> Diario se ha asociado a un incremento del riesgo de trombosis venosa profunda-embolismo pulmonar en mujeres con SOP y manifestaciones de hiperandrogenismo (404), aunque este riesgo no parece superior al asociado al empleo de otros ACOs de similar dosis estrogénica (404, 513), siendo en general bajo (513).

Se ha publicado una disminución en el tiempo de protrombina y cefalina, similar al observado en nuestras pacientes, tras la administración de Diane<sup>35</sup> Diario en la población general (514). Aunque el efecto protrombótico de los anticonceptivos orales se relaciona con el componente estrogénico, el tipo de progestágeno parece modificar este riesgo (401), sugiriéndose que podría verse incrementado con los de tercera generación. En la base del

incremento del riesgo de trombosis parece encontrarse un descenso de la capacidad fibrinolítica mediado por la aparición de resistencia a la proteína C activada, aunque el mecanismo intrínseco no está por el momento aclarado (515). Por lo tanto, pese a la mejoría de los niveles de andrógenos circulantes (465), y al posible efecto deletéreo de éstos sobre la coagulabilidad comentado previamente, parece prevalecer la acción procoagulante del ACO.

La modificación de los niveles de fibrinógeno merece un comentario aparte, ya que mientras que las pacientes sin obesidad tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario incrementaron las concentraciones plasmáticas de fibrinógeno, en el subgrupo de mujeres obesas se observó un descenso de dichos niveles. La elevación de los niveles de fibrinógeno se ha demostrado como un factor de riesgo para la aparición de cardiopatía isquémica (516). Su concentración muestra una correlación directa con el IMC (517), parámetros de insulinoresistencia (518) y marcadores inflamatorios como la PCR (517). La administración de Diane<sup>35</sup> Diario provoca un incremento de sus concentraciones que se ha comunicado de manera uniforme en diferentes estudios (519, 520). Por lo tanto, la elevación mostrada en nuestras pacientes sin obesidad está en acuerdo con los estudios previos publicados. La observación visual de la evolución de los niveles de PCR y fibrinógeno en las pacientes con y sin obesidad tratadas con Diane<sup>35</sup> Diario muestra un patrón similar, por lo que podemos especular que la relación con este marcador inflamatorio se puede encontrar en la base de la disminución mostrada en la concentración de fibrinógeno de las mujeres con obesidad.

El tratamiento con metformina se ha relacionado con un descenso de la concentración de PAI-1 en relación con su efecto sobre la acción insulínica (363), aunque recientemente se ha reportado un efecto nulo sobre diversos índices de coagulación durante su empleo en el embarazo (521). Dado el conocido efecto de la metformina sobre la absorción de vitamina B12, con el consecuente incremento de los niveles de homocisteína, factor procoagulante, se ha investigado el papel de este fármaco en el SOP, reportándose un incremento de la concentración de homocisteína tras el tratamiento con metformina (522, 523), aunque este efecto no ha podido observarse en pacientes con normopeso (235). No obstante, el hecho de la acción beneficiosa de la administración de metformina sobre el estado protrombótico asociado a la DM (524), mediado en parte por su acción sobre la formación de los polímeros de fibrina (525) y la mejoría de la actividad fibrinolítica (526), convierten nuestros resultados en novedosos, requiriendo confirmación en futuros trabajos.

### **C. Marcadores ecográficos de disfunción endotelial.**

Las pacientes no experimentaron ningún cambio significativo en la valoración ecográfica de la vasodilatación tanto dependiente como independiente de endotelio en ninguna de las dos ramas de tratamiento. Ya se ha comentado previamente como los resultados obtenidos con esta técnica en el SOP son controvertidos, incluso sugiriéndose recientemente que las mujeres con SOP presentan una respuesta vascular similar a la de las mujeres sin patología asociada, en contraposición con lo que acontece en otra situación de resistencia a la insulina como la DM2, y como consecuencia de los diferentes mecanismos implicados a nivel molecular en la insulinoresistencia de ambas entidades (306).

Pese a que en población griega (292) e italiana (293), se ha comunicado una mejoría de la función endotelial en mujeres con SOP tras la administración de metformina, recientemente no se ha demostrado ningún efecto relevante en un ensayo clínico de similares características realizado por *Lowenstein* y cols. (527).

De acuerdo con nuestros resultados, el único ensayo clínico aleatorizado que compara el efecto de Diane<sup>35</sup> frente a metformina sobre esta técnica de valoración de la función endotelial tampoco ha sido capaz de demostrar ninguna acción diferencial de ninguno de estos dos tratamientos (409). Si bien sobre estos resultados estarían influyendo el escaso número de pacientes asignados a cada rama de tratamiento para la detección de posibles diferencias (528), al igual que ocurría con los datos comparativos con el grupo control, y problemas inherentes a la técnica (426), no existe evidencia en la literatura científica actual a favor del empleo de ninguno de estos fármacos sobre la base de una posible mejoría de la función endotelial, aspecto que para ser resuelto requiere de ensayos clínicos aleatorizados con un número más amplio de pacientes, y probablemente, del empleo de otras técnicas de valoración. Finalmente, es importante subrayar que un diseño paralelo como el nuestro con un número limitado de mujeres en cada rama de tratamiento, no es suficientemente potente para detectar diferencias en la vasodilatación arterial inferiores al 25% respecto al diámetro basal (528), lo que junto con los problemas de repetibilidad inherentes a la técnica (426, 529), impide que podamos establecer conclusiones definitivas en nuestra población en base a estos resultados.

#### **D. Marcadores precoces de aterosclerosis: Grosor intimo-medial carotídeo.**

El presente estudio es el primero que evalúa el efecto de estos dos tratamientos sobre este marcador precoz de aterosclerosis. Previamente hemos comentado como nuestra muestra de mujeres jóvenes con SOP presenta un incremento del IMT independiente del grado de obesidad, y como el principal determinante de este aumento es la hiperandrogenemia y no la resistencia a la insulina. Por lo tanto, el efecto de la metformina y Diane<sup>35</sup> Diario sobre este marcador debería ser completamente diferente para cada uno de estos fármacos, debido fundamentalmente a sus dispares mecanismos de acción, mejora de la sensibilidad insulínica en el caso de la metformina y disminución de los niveles de andrógenos en el caso de Diane<sup>35</sup> Diario.

Sin embargo, tanto la administración de Diane<sup>35</sup> Diario como de metformina durante 24 semanas se acompañó de un descenso modesto y no significativo del IMT de nuestras pacientes, que no obstante fue suficiente para que desaparecieran las diferencias en cuanto al IMT cuando se comparó al final del seguimiento con los niveles de nuestro grupo control. El efecto antiandrogénico de Diane<sup>35</sup> Diario, y la disminución tanto de la hiperandrogenemia como de la resistencia a la insulina provocada por la metformina, podría explicar la discreta mejoría del IMT de nuestras pacientes, ya que el exceso androgénico es el principal determinante del incremento del IMT de nuestras pacientes con SOP, independientemente de la obesidad y resistencia a la insulina (530). Sin embargo, debemos destacar que el descenso del IMT observado en las pacientes tratadas con metformina puede estar relacionado con el abandono del protocolo de mujeres que presentaban los valores de IMT más elevados, y no por efecto directo del fármaco. También cabe reseñar como 2 pacientes que presentaban valores normales de IMT basalmente, mostraron valores elevados de este marcador precoz de aterosclerosis al final del seguimiento tras ser tratadas con metformina. Esta incapacidad para evitar la progresión de la aterosclerosis subclínica por parte de la metformina ya ha sido comunicada en población insulinoresistente con DM2 (531), aunque no podemos olvidar que existen estudios previos que han mostrado un descenso del grosor intimomedial carotídeo en pacientes con SOP tras el tratamiento con este fármaco (293).

Nuestro estudio, como ya se ha comentado, no se encuentra libre de limitaciones, debido a la desafortunada pérdida de seguimiento de 3 pacientes con IMT elevados que habían sido randomizadas a la rama de administración de metformina, lo que no nos permite establecer una conclusión definitiva acerca de este previamente sugerido efecto beneficioso de

la metformina sobre el IMT (293). Por otro lado, la relativa corta duración del presente ensayo clínico, y el tiempo prolongado que se precisa para producir un cambio estructural en la arteria, pueden haber influido en que la tendencia observada hacia un descenso con el tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario no haya sido suficiente para alcanzar la significación estadística.

## CONCLUSIONES.-



**CONCLUSIONES.**

---

**A. ESTUDIO CASOS-CONTROLES.**

- En nuestro grupo de mujeres jóvenes con SOP, tanto la obesidad como el hiperandrogenismo contribuyen de forma independiente al riesgo cardiovascular presente en estas pacientes. La obesidad es el principal determinante de la presencia de anomalías en el metabolismo de los hidratos de carbono, dislipemia, alteraciones de la presión arterial e hiperuricemia, mientras que el exceso androgénico es el principal determinante del aumento del grosor intimomedial carotídeo, que correlaciona con eventos cardiovasculares en la población general.
- Las pacientes presentan de forma inherente al síndrome una menor sensibilidad a la insulina que las mujeres no hiperandrogénicas del grupo control, un patrón deletéreo en el descenso fisiológico de la presión arterial durante el periodo nocturno, características analíticas sugerentes de un estado proinflamatorio y anomalías en los parámetros de coagulación, si bien estas anomalías se ven potenciadas por la presencia de obesidad.

**B. ENSAYO CLÍNICO**

- El tratamiento con Diane<sup>35</sup> Diario es más efectivo que la metformina a la hora de controlar las manifestaciones estéticas del hiperandrogenismo y la disfunción menstrual de forma independiente al grado de obesidad, siendo bien tolerado, con un perfil de riesgo cardiovascular seguro, mostrando un efecto neutro sobre la sensibilidad insulínica, asociando una mejoría del perfil lipídico, un descenso de los niveles de ácido úrico, un incremento de la adipocitoquina insulinosensibilizante adiponectina, y a un discreto descenso del grosor intimomedial carotídeo. No obstante, su administración se acompañó de un empeoramiento discreto del perfil protrombótico y de parámetros de presión arterial, lo que debe tenerse en cuenta a la hora de su administración en estas mujeres.

- La administración de metformina produjo un efecto pequeño sobre las manifestaciones cutáneas del síndrome, consiguiendo la normalización de los ciclos menstruales en menos del 50% de las pacientes, junto con una pobre tolerancia. Sin embargo, el empleo de metformina se asocia a un descenso discreto de los parámetros de inflamación sistémica, IL-6 y PCR, en el subgrupo de pacientes obesas, a una mejoría en los valores de presión arterial durante el periodo diurno, y a un descenso significativo de las concentraciones de ferritina independiente de la normalización de los ciclos menstruales, hechos a tener en cuenta a la hora de su prescripción en pacientes con alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono, hiperferritinemia y / o hipertensión.

### **C. CONCLUSIÓN FINAL.**

- El riesgo cardiovascular asociado al SOP cuenta con un origen mixto en el que la obesidad, la resistencia a la insulina y el exceso androgénico contribuyen de forma a veces independiente a los diversos factores de riesgo y marcadores precoces de arteriosclerosis presentes en las mujeres con el síndrome. Por lo tanto, tanto los ACOs antiandrogénicos como los sensibilizadores de la insulina pueden ser utilizados en el SOP, y la decisión de su empleo debe ser individualizada en cada caso concreto, ya que, como decía D. Gregorio Marañón, padre de la Endocrinología Clínica Española, *”NO EXISTEN ENFERMEDADES, SINO ENFERMOS”*.

## **BIBLIOGRAFÍA.-**



1. **Stein IF, Leventhal LM** 1935 *Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries*. Am J Obstet Gynecol 29:181-191.
2. **Ehrmann DA** 2005 *Polycystic ovary syndrome*. N Engl J Med 352:1223-1236.
3. **Adams J, Polson DW, Franks S** 1986 *Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism*. Br Med J (Clin Res Ed) 293:355-359.
4. **Conway GS, Honour JW, Jacobs HS** 1989 *Heterogeneity of the polycystic ovary syndrome: clinical, endocrine and ultrasound features in 556 patients*. Clin Endocrinol (Oxf) 30:459-470.
5. **Taponen S, Martikainen H, Jarvelin MR, Laitinen J, Pouta A, Hartikainen AL, Sovio U, McCarthy MI, Franks S, Ruokonen A** 2003 *Hormonal profile of women with self-reported symptoms of oligomenorrhea and/or hirsutism: Northern Finland birth cohort 1966 study*. J Clin Endocrinol Metab 88:141-147.
6. **Carmina E, Lobo RA** 1999 *Polycystic ovary syndrome (PCOS): arguably the most common endocrinopathy is associated with significant morbidity in women*. J Clin Endocrinol Metab 84:1897-1899.
7. **Medvei VC** 1982 *A history of endocrinology*. Lancaster: MTP Press:237.
8. **Medvei VC, Medvei M** 1993 *Capítulo 6: The Greeks*. The history of clinical endocrinology Ed: Taylor & Francis: A comprehensive account of endocrinology from earliest times to the present day:Pag.: 25.
9. **London DR** 1987 *The consequences of hyperandrogenism in young women*. J R Soc Med 80:741-745.
10. **de Cervantes M** *Don Quijote de La Mancha I*. 1605 Cap: 20 Grupo Anaya, SA 1987 Pag: 275.
11. **De Creccio L** 1865 *Sopra un caso di apparenze virile in una donna*. Morgagne:1951.
12. **Chereau A** 1844 *Mémoires pour servir à l'étude des maladies des ovaries*. Paris: Fortin, Masson, Cie.
13. **Rokitansky C** *A manual of pathological anatomy*. Vol 2 Philadelphia, Blanchard, Lea, 1855: 246 (tr by Edward Stevking from original German edition of 1844).
14. **Achard MC, Thyers MJ** 1921 *Le virilisme pileaire et son association à l'insuffisance glycolytique. (Diabète des femmes a barbe)*. Bull Acad Natl Med (Paris) 86:51-83.
15. **Rebar R, Judd HL, Yen SS, Rakoff J, Vandenberg G, Naftolin F** 1976 *Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovarian syndrome*. J Clin Invest 57:1320-1329.
16. **Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE** 1980 *Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease*. J Clin Endocrinol Metab 50:113-116.
17. **Lobo RA** 1995 *A disorder without identity "HCA", "PCO", "PCOD", "PCOS", "SLS". What are we to call it?* Fertil Steril 63:1158-1160.
18. **Zawadzki JK, Dunaif A** 1992 *Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Towards a rational approach*. In: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GR eds. Polycystic ovary syndrome. Boston: Blackwell Scientific Publications; 377-384.
19. **Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D** 1981 *Hirsutism: implications, etiology, and management*. Am J Obstet Gynecol 140:815-830.
20. **Goodman A** 1999 *Terminology and differential diagnosis of genital tract bleeding in women*. In: Snyder PJ, Utiger RD (eds) *Up To Date in Endocrinology and Diabetes Up to Date, Inc, Wellesley, MA*.
21. **Polson DW, Adams J, Wadsworth J, Franks S** 1988 *Polycystic ovaries--a common finding in normal women*. Lancet 1:870-872.

22. **Homburg R** 2002 *What is polycystic ovarian syndrome? A proposal for a consensus on the definition and diagnosis of polycystic ovarian syndrome*. Hum Reprod 17:2495-2499.
23. 2004 *Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS)*. Hum Reprod 19:41-47.
24. 2004 *Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome*. Fertil Steril 81:19-25.
25. **Balen AH, Laven JSE, Tan S-L, Dewailly D** 2003 *Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definition*. Hum Reprod 9:505-514.
26. **Adams JM, Taylor AE, Crowley WF, Hall JE** 2004 *Polycystic ovarian morphology with regular ovulatory cycles: insights into the pathophysiology of polycystic ovarian syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 89:4343-4350.
27. **Carmina E, Rosato F, Janni A, Rizzo M, Longo RA** 2006 *Relative prevalence of different androgen excess disorders in 950 women referred because of clinical hyperandrogenism*. J Clin Endocrinol Metab 91:2-6.
28. **Norman RJ, Hague WM, Masters SC, Wang XJ** 1995 *Subjects with polycystic ovaries without hyperandrogenaemia exhibit similar disturbances in insulin and lipid profiles as those with polycystic ovary syndrome*. Hum Reprod 10:2258-2261.
29. **Franks S** 2006 *Diagnosis of the polycystic ovarian syndrome: In defense of the Rotterdam criteria*. J Clin Endocrinol Metab 91:986-989.
30. **Azziz R** 2006 *Diagnosis of polycystic ovarian syndrome: The Rotterdam criteria are premature*. J Clin Endocrinol Metab 91:781-785.
31. **Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF** 2006 *Position statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline*. J Clin Endocrinol Metab 91:4237-4245.
32. **Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO** 2004 *The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population*. J Clin Endocrinol Metab 89:2745-2749.
33. **Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, Filandra FA, Tsianateli TC, Spina GG, Zapanti ED, Bartzis MI** 1999 *A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile*. J Clin Endocrinol Metab 84:4006-4011.
34. **Goodarzi MO, Quiñones MJ, Azziz R, Rotter JI, Hsueh WA, Yang H** 2005 *Polycystic ovary syndrome in Mexican-Americans: prevalence and association with the severity of insulin resistance*. Fertil Steril 84:766-769.
35. **Moran C, Tena G, Preciado R, Ruiz PV, Reyna R, Moran S** 2007 *Prevalence of polycystic ovary syndrome in Mexican women*. The 89th Annual Meeting of the Endocrine Society, Toronto, ON The Endocrine Society.
36. **Michelmores KF, Balen AH, Dunger DB, Vessey MP** 1999 *Polycystic ovaries and associated clinical and biochemical features in young women*. Clin Endocrinol (Oxf) 51:779-786.
37. **Asuncion M, Calvo RM, San Millan JL, Sancho J, Avila S, Escobar-Morreale HF** 2000 *A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain*. J Clin Endocrinol Metab 85:2434-2438.
38. **Hashemipour M, Faghihmani S, Zolfaghary B, Hovsepian S, Ahmadi F, Haghighi S** 2004 *Prevalence of polycystic ovary syndrome in girls aged 14-18 years in Isfahan, Iran*. Horm Res 62:278-282.

39. **Davis SR, Knight S, White V, Claridge C, Davis BJ, Bell R** 2002 *Preliminary indication of a high prevalence of polycystic ovary syndrome in indigenous Australian women.* Gynecol Endocrinol 16:443-446.
40. **Escobar-Morreale HF, Sanchón R, San Millán JL** 2008 *A prospective study of the prevalence of nonclassic congenital adrenal hyperplasia (NCAH) among women presenting hyperandrogenic symptoms and signs.* J Clin Endocrinol Metab 93:527-533.
41. **Azziz R, Sánchez LA, Knochelhauer ES, Moran C, Lazenby J, Stephens KC, Taylor K, Boots LR** 2004 *Androgen excess in women: experience with over 1000 consecutive patients.* J Clin Endocrinol Metab 89:453-462.
42. **Elting MW, Korsen TJM, Bezemer PD, Schoemaker J** 2001 *Prevalence of diabetes mellitus, hypertension and cardiac complaints in a follow-up study of a Dutch PCOS population.* Hum Reprod 16:556-560.
43. **Escobar-Morreale HF, Roldan B, Barrio R, Alonso M, Sancho J, de la Calle H, Garcia-Robles R** 2000 *High prevalence of the polycystic ovary syndrome and hirsutism in women with type 1 diabetes mellitus.* J Clin Endocrinol Metab 85:4182-4187.
44. **Peppard HR, Ivorno MJ, Marfoni J, Nestler JE** 2001 *Prevalence of polycystic ovary syndrome among premenopausal women with type 2 diabetes.* Diabetes Care 24:1050-1052.
45. **Escobar-Morreale HF, Luque-Ramírez M, San Millan JL** 2005 *The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and polycystic ovary syndrome.* Endocr Rev 26:251-282.
46. **Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL** 1995 *Polycystic ovary syndrome as a form of functional ovarian hyperandrogenism due to dysregulation of androgen secretion.* Endocr Rev 16:322-353.
47. **Kumar A, Woods KS, Bartolucci AA, Azziz R** 2005 *Prevalence of adrenal androgen excess in patients with the polycystic ovary syndrome (PCOS).* Clin Endocrinol (Oxf) 62:644-649.
48. **Nelson VL, Legro RS, Strauss JF, 3rd, McAllister JM** 1999 *Augmented androgen production is a stable steroidogenic phenotype of propagated theca cells from polycystic ovaries.* Mol Endocrinol 13:946-957.
49. **Luque-Ramírez M, San Millan JL, Escobar-Morreale HF** 2005 *Genomics variants in polycystic ovary syndrome.* Clin Chim Acta 366:14-26.
50. **Wickenheisser J, Nelson-Degrave VL, McAllister JM** 2005 *Dysregulation of cytochrome P450 17alpha-hydroxylase messenger ribonucleic acid stability in theca cells isolated from women with polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 90:1720-1727.
51. **Nelson-Degrave VL, Wickenheisser JK, Hendriks KL, Asano T, Fujishiro M, Legro RS, Kimball SR, Strauss JFr** 2005 *Alterations in mitogen-activated protein kinase kinase and extracellular regulated kinase signaling in theca cells contribute to excessive androgen production in polycystic ovary syndrome.* Mol Endocrinol 19:379-390.
52. **Wickenheisser JK, Nelson-Degrave VL, Quinn PG, McAllister JM** 2004 *Increased cytochrome P450 17alpha-hydroxylase promoter function in theca cells isolated from patients with polycystic ovary syndrome involves nuclear factor-1.* Mol Endocrinol 18:588-605.

53. **Zhang LH, Rodriguez H, Ohno S, Miller WL** 1995 *Serine phosphorylation of human P450c17 increases 17,20-lyase activity: implications for adrenarche and the polycystic ovary syndrome*. Proc Natl Acad Sci U S A 92:10619-10623.
54. **Martens JW, Geller DH, Arlt W, Auchus RJ, Ossovskaya VS, Rodriguez H, Dunaif A, Miller WL** 2000 *Enzymatic activities of P450c17 stably expressed in fibroblasts from patients with the polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 85:4338-4346.
55. **Wickenheisser JK, Nelson-Degrave VL, Hendricks KL, Legro RS, Strauss III JF, McAllister JM** 2006 *Retinoids and retinol differentially regulate steroid biosynthesis in ovarian theca cells isolated from normal cycling women and women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 90:4858-4865.
56. **Draper N, Walker EA, Bujalska IJ, Tomlinson JW, Chalder SM, Arlt W, Lavery GG, Bedendo O, Ray DW, Laing I, Malunowicz E, White PC, Hewison M, Mason PJ, Connell JM, Shackleton CH, Stewart PM** 2003 *Mutations in the genes encoding 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and hexose-6-phosphate dehydrogenase interact to cause cortisone reductase deficiency*. Nat Genet 34:434-439.
57. **White PC** 2005 *Genotypes at 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 11B1 and hexose-6-phosphate dehydrogenase loci are not risk factors for apparent cortisone reductase deficiency in a large population-based sample*. J Clin Endocrinol Metab 90:5880-5883.
58. **San Millan JL, Botella-Carretero JI, Alvarez-Blasco F, Luque-Ramírez M, Sancho J, Moghetti P, Escobar-Morreale HF** 2005 *A study of the hexose-6-phosphate dehydrogenase gene R453Q and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene 83557insA polymorphisms in the polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 90:4157-4162.
59. **Fassnacht M, Schlenz N, Schneider SB, Wudy SA, Allolio B, Arlt W** 2003 *Beyond adrenal and ovarian androgen generation: increased peripheral 5 $\alpha$ -reductase activity in women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 88:2760-2766.
60. **Taylor AE, McCourth B, Martin KA, Anderson EJ, Adams JM, Schoenfeld D, Hall JE** 1997 *Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 82:2248-2256.
61. **Baker EM, Flora SA, Ferguson JE, Evans WS** 2002 *Gonadotropin secretion dynamics in polycystic ovary syndrome*. Curr Opin Endocrinol Diabet 9:475-479.
62. **Arroyo A, Laughlin GA, Morales AJ, Yen SSC** 1997 *Inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome: influence of adiposity*. J Clin Endocrinol Metab 82:3728-3733.
63. **Silfen ME, Denburg MR, Manibo AM, Lobo RA, Jaffe R, Ferin M, Levine LS, Oberfield SE** 2003 *Early endocrine, metabolic, and sonographic characteristics of polycystic ovary syndrome (PCOS): comparison between nonobese and obese adolescents*. J Clin Endocrinol Metab 88:4682-4688.
64. **Moran C, Garcia-Hernandez E, Barahona E, Gonzalez S, Bermudez JA** 2003 *Relationship between insulin resistance and gonadotropin dissociation in obese and nonobese women with polycystic ovary syndrome*. Fertil Steril 80:1466-1472.
65. **Vrbíková J, Cibula D, Dvoráková K, Stanická S, Sindelka G, Hill M, Fanta M, Vondra K, Skrha J** 2004 *Insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 89:2942-2945.
66. **Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z, Giudice LC** 1999 *The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease*. Endocr Rev 20:535-582.

67. **Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A** 1989 *Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome*. Diabetes 38:1165-1174.
68. **Marsden PJ, Murdoch AP, Taylor R** 2001 *Tissue insulin sensitivity and body weight in polycystic ovary syndrome*. Clin Endocrinol (Oxf) 55:195-199.
69. **Dunaif A, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z** 1995 *Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome*. J Clin Invest 96:801-810.
70. **Dunaif A, Wu X, Lee A, Diamanti-Kandarakis E** 2001 *Defects in insulin receptor signaling in vivo in the polycystic ovary syndrome (PCOS)*. Am J Physiol Endocrinol Metab 281:E392-399.
71. **Wu X-K, Sallinen K, Anttila L, Mäkinen M, Luo C, Pöllänen P, Erkkola R** 2000 *Expression of insulin-receptor substrate-1 and -2 in ovaries from women with insulin resistance and from controls*. Fertil Steril 74:564-572.
72. **Dunaif A** 1997 *Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis*. Endocr Rev 18:774-800.
73. **Rosenbaum D, Haber RS, Dunaif A** 1993 *Insulin resistance in polycystic ovary syndrome: decreased expression of GLUT-4 glucose transporters in adipocytes*. Am J Physiol 264:E197-202.
74. **Baillargeon J-P, Nestler JE** 2006 *Polycystic ovary syndrome: a syndrome of ovarian hypersensitivity to insulin?* J Clin Endocrinol Metab 91:22-24.
75. **O'Meara NM, Blackman JD, Ehrmann DA, Barnes RB, Jaspan JB, Rosenfield RL, Polonsky KS** 1993 *Defects in beta cell function in functional ovarian hyperandrogenism*. J Clin Endocrinol Metab 76:1241-1247.
76. **Ehrmann DA, Breda E, Corcoran MC, Cavaghan MK, Imperial J, Toffolo G, Cobelli C, Polonsky KS** 2004 *Impaired beta-cell compensation to dexamethasone-induced hyperglycemia in women with polycystic ovary syndrome*. Am J Physiol Endocrinol Metab 287:E241-E246.
77. **Colilla S, Cox NJ, Ehrmann DA** 2001 *Heritability of insulin secretion and insulin action in women with polycystic ovary syndrome and their first degree relatives*. J Clin Endocrinol Metab 86:2027-2031.
78. **Ehrmann DA, Sturis J, Byrne MM, Karrison T, Rosenfield RL, Polonsky KS** 1995 *Insulin secretory defects in polycystic ovary syndrome. Relationship to insulin sensitivity and family history of non-insulin-dependent diabetes mellitus*. J Clin Invest 96:520-527.
79. **de Leo V, La Marca A, Petraglia F** 2003 *Insulin-lowering agents in the management of polycystic ovary syndrome*. Endocr Rev 24:633-667.
80. **Boulman N, Levy Y, Leiba R, Shachar S, Linn R, Zinder O, Blumenfeld Z** 2004 *Increased C-reactive protein levels in the polycystic ovary syndrome: a marker of cardiovascular disease*. J Clin Endocrinol Metab 89:2160-2165.
81. **Orio F, Palomba S, Cascella T, Di Biase S, Manguso F, Tauchmanová L, Nardo LG, Labella D, Savastano S, Russo T, Zullo F, Colao A, Lombardi G** 2005 *The increase of leukocytes as a new putative marker of low-grade chronic inflammation and early cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 90:2-5.
82. **Kelly CC, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM, Sattar N** 2001 *Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 86:2453-2455.

83. **Fernandez-Real JM, Ricart W** 2003 *Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome*. *Endocr Rev* 24:278-301.
84. **Frishman WH** 1998 *Biologic markers as predictors of cardiovascular disease*. *Am J Med* 104:18S-27S.
85. **Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM** 1995 *Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance*. *J Clin Invest* 95:2409-2415.
86. **González F, Rote NS, Minium J, Kirwan JP** 2006 *Reactive oxygen species-induced oxidative stress in the development of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab* 91:336-340.
87. **Fenkci V, Fenkci S, Yilmazer M, Serteser M** 2003 *Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease*. *Fertil Steril* 80:123-127.
88. **Piotrowski PC, Rzepczynska IJ, Kwintkiewicz J, Duleba AJ** 2005 *Oxidative stress induces expression of CYP11A, CYP17, STAR and 3βHSD in rat theca-interstitial cells*. *J Soc Gynecol Investig* 12:320A(Abstract).
89. **González F, Rote NS, Minium J, Kirwan JP** 2006 *Increased activation of nuclear factor κB triggers inflammation and insulin resistance in polycystic ovary syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab* 91:1508-1512.
90. **Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM** 1996 *IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha and obesity-induced insulin resistance*. *Science* 271:665-668.
91. **Stephens JM, Pekala PH** 1991 *Transcriptional repression of the GLUT-4 and C/EBP genes in 3T3-L1 adipocytes by tumor necrosis factor α*. *J Biol Chem* 266:21839-21845.
92. **Roby KF, Terranova PF** 1990 *Effects of tumor necrosis factor-alpha in vitro on steroidogenesis of healthy and atretic follicles of the rat: theca as a target*. *Endocrinology* 126:2711-2718.
93. **Spaczynski RZ, Arici A, Duleba AJ** 1999 *Tumor necrosis factor-alpha stimulates proliferation of rat ovarian theca-interstitial cells*. *Biol Reprod* 61:993-998.
94. **Kaipia A, Chun SY, Eisenhauer K, Hsueh AJ** 1996 *Tumor necrosis factor-alpha and its second messenger, ceramide, stimulate apoptosis in cultured ovarian follicles*. *Endocrinology* 137:4864-4870.
95. **Gonzalez F, Thusu K, Abdel-Rahman E, Prabhala A, Tomani M, Dandona P** 1999 *Elevated serum levels of tumor necrosis factor alpha in normal-weight women with polycystic ovary syndrome*. *Metabolism* 48:437-441.
96. **Escobar-Morreale HF, Villuendas G, Botella-Carretero JI, Sancho J, San Millan JL** 2003 *Obesity, and not insulin resistance, is the major determinant of serum inflammatory cardiovascular risk markers in pre-menopausal women*. *Diabetologia* 46:625-633.
97. **Escobar-Morreale HF, Calvo RM, Sancho J, San Millan JL** 2001 *TNF-alpha and hyperandrogenism: a clinical, biochemical, and molecular genetic study*. *J Clin Endocrinol Metab* 86:3761-3767.
98. **Peral B, San Millan JL, Castello R, Moghetti P, Escobar-Morreale HF** 2002 *The methionine 196 arginine polymorphism in exon 6 of the TNF receptor 2 gene (TNFRSF1B) is associated with the polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism*. *J Clin Endocrinol Metab* 87:3977-3983.

99. **Fernandez-Real JM, Vayreda M, Richart C, Gutierrez C, Broch M, Vendrell J, Ricart W** 2001 *Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women.* J Clin Endocrinol Metab 86:1154-1159.
100. **Villuendas G, San Millan JL, Sancho J, Escobar-Morreale HF** 2002 *The -597 G->A and -174 G->C polymorphisms in the promoter of the IL-6 gene are associated with hyperandrogenism.* J Clin Endocrinol Metab 87:1134-1141.
101. **Mohlig M, Spranger J, Osterhoff M, Ristow M, Pfeiffer AF, Schill T, Schlosser HW, Brabant G, Schofl C** 2004 *The polycystic ovary syndrome per se is not associated with increased chronic inflammation.* Eur J Endocrinol 150:525-532.
102. **Escobar-Morreale HF, Calvo RM, Villuendas G, Sancho J, San Millan JL** 2003 *Association of polymorphisms in the interleukin 6 receptor complex with obesity and hyperandrogenism.* Obes Res 11:987-996.
103. **Escobar-Morreale HF, Botella-Carretero JI, Villuendas G, Sancho J, San Millan JL** 2004 *Serum interleukin-18 concentrations are increased in the polycystic ovary syndrome: Relationship to insulin resistance and to obesity.* J Clin Endocrinol Metab 89:806-811.
104. **Escobar-Morreale HF, Millán JL** 2007 *Abdominal adiposity and the polycystic ovary syndrome.* Trends Endocrinol Metab 18:266-272.
105. **Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, Techatrasak K, Manning PJ, West C** 1995 *Polycystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients.* Hum Reprod 10:2107-2111.
106. **Álvarez-Blasco F, Botella-Carretero JI, San Millan JL, Escobar-Morreale HF** 2006 *Prevalence and characteristics of the polycystic ovary syndrome in overweight and obese women: a prospective study.* Arch Intern Med 166:2081-2086.
107. **Escobar-Morreale HF, Botella-Carretero JI, Álvarez-Blasco F, Sancho J, San Millan JL** 2005 *The polycystic ovary syndrome associated with morbid obesity may resolve after weight loss induced by bariatric surgery.* J Clin Endocrinol Metab 90:6364-6369.
108. **Puder JJ, Varga S, Kraenzlin M, De Geyter C, Keller U, Müller B** 2005 *Central fat excess in polycystic ovary syndrome: relation to low-grade inflammation and insulin resistance.* J Clin Endocrinol Metab 90:6014-6021.
109. **Gambineri A, Patton L, Vaccina A, Cacciari M, Morselli-Labate AM, Cavazza C, Pagotto U, Pasquali R** 2006 *Treatment with flutamide, metformin and their combination added to hypocaloric diet in overweight-obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized, 12-month, placebo-controlled study.* J Clin Endocrinol Metab 91:3970-3980.
110. **Barber TM, McCarthy MI, Wass JAH, Franks S** 2006 *Obesity and polycystic ovary syndrome.* Clin Endocrinol (Oxf) 65:137-145.
111. **Ek I, Arner P, Rydén M, Holm C, Thörne A, Hoffstedt J, Wahrenberg H** 2002 *A unique defect in the regulation of visceral fat cell lipolysis in the polycystic ovary syndrome as an early link to insulin resistance.* Diabetes 51:484-492.
112. **Salehi M, Bravo-Vera R, Sheikh A, Gouller A, Poretsky L** 2004 *Pathogenesis of polycystic ovary syndrome: what is the role of obesity?* Metabolism 53:358-376.
113. **Pagán YL, Srouji SS, Jimenez Y, Emerson A, Gill S, Hall JE** 2006 *Inverse relationship between luteinizing hormone and body mass index in polycystic ovarian syndrome: investigation of hypothalamic and pituitary contributions.* J Clin Endocrinol Metab 91:1309-1316.

114. **Ek I, Arner P, Bergqvist A, Carlström K, Wahrenberg H** 1997 *Impaired adipocyte lipolysis in nonobese women with the polycystic ovary syndrome: a possible link to insulin resistance?* J Clin Endocrinol Metab 82:1147-1153.
115. **Arner P** 2005 *Effects of testosterone on fat cell lipolysis. Species differences and possible role in polycystic ovary syndrome.* Biochimie 87:39-43.
116. **Faulds G, Rydén M, Ek I, Wahrenberg H, Arner P** 2003 *Mechanisms behind lipolytic catecholamine resistance of subcutaneous fat cells in the polycystic ovarian syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 88:2269-2273.
117. **Quinkler M, Sinha B, Tomlinson JW, Bujalska IJ, Stewart PM, Arlt W** 2004 *Androgen generation in adipose tissue in women with simple obesity-- a site-specific role for 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 5.* J Endocrinol 183:331-342.
118. **Kershaw EE, Flier JS** 2004 *Adipose tissue as an endocrine organ.* J Clin Endocrinol Metab 89:2548-2556.
119. **Wajchenberg BL** 2000 *Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome.* Endocr Rev 21:697-738.
120. **Flier JS** 1998 *Clinical review 94: What's in a name? In search of leptin's physiologic role.* J Clin Endocrinol Metab 83:1407-1413.
121. **Bjorbaek C, Kahn BB** 2004 *Leptin signaling in the central nervous system and the periphery.* Recent Prog Horm Res 59:305-331.
122. **Flier JS, Harris M, Hollenberg AN** 2000 *Leptin, nutrition, and the thyroid: the why, the wherefore, and the wiring.* J Clin Invest 105:859-861.
123. **Hileman SM, Pierroz DD, Flier JS** 2000 *Leptin, nutrition, and reproduction: timing is everything.* J Clin Endocrinol Metab 85:804-807.
124. **Escobar-Morreale HF, Serrano-Gotarredona J, Varela C, Garcia-Robles R, Sancho JM** 1997 *Circulating leptin concentrations in women with hirsutism.* Fertil Steril 68:898-906.
125. **Laughlin GA, Morales AJ, Yen SSC** 1997 *Serum leptin levels in women with polycystic ovary syndrome: the role of insulin resistance/hyperinsulinemia.* J Clin Endocrinol Metab 82:1692-1696.
126. **Díez JJ, Iglesias P** 2003 *The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease.* Eur J Endocrinol 148:293-300.
127. **Escobar-Morreale HF, Villuendas G, Botella-Carretero JI, Álvarez-Blasco F, Sanchón R, Luque-Ramírez M, San Millán JL** 2006 *Adiponectin and resistin in PCOS: a clinical, biochemical and molecular genetic study.* Hum Reprod 21:2257-2265.
128. **Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HM, Ahima RS, Lazar MA** 2001 *The hormone resistin links obesity to diabetes.* Nature 409:307-312.
129. **Munir I, Yen H-W, Baruth T, Tarkowski R, Azziz R, Maggogin DA, Jakimiuk AJ** 2005 *Resistin stimulation of 17 $\alpha$ -hydroxylase activity in ovarian theca cells in vitro: relevance to polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 90:4852-4857.
130. **Seow K-M, Juan C-C, Wu L-Y, Hsu Y-P, Yang W-M, Tsai Y-L, Hwang J-L, Ho L-T** 2004 *Serum and adipocyte resistin in polycystic ovary syndrome with insulin resistance.* Hum Reprod 19:48-53.
131. **Scalzo K** 2000 *Case problem: dietary recommendations to combat obesity, insulin resistance, and others concerns related to polycystic ovary syndrome.* J Am Diet Assoc 100:955-957; discussion: 957-960.

132. **Muccioli G, Tschop M, Papotti M, Deghenghi R, Heiman M, Ghigo E** 2002 *Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity*. Eur J Pharmacol 440:235-254.
133. **Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S** 2001 *A role for ghrelin in the central regulation of feeding*. Nature 409:194-198.
134. **Tena-Sempere M, Barreiro ML, González LC, Gaytan F, Zhang FP, Caminos JE, Pinilla L, Casanueva FF, Dieguez C, Aguilar E** 2002 *Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis*. Endocrinology 143:717-725.
135. **Gaytan F, Barreiro ML, Chopin LK, Herington AC, Morales C, Pinilla L, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C, Tena-Sempere M** 2003 *Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in the cyclic human ovary*. J Clin Endocrinol Metab 88:879-887.
136. **Pagotto U, Gambineri A, Vicennati V, Heiman ML, Tschöp M, Pasquali R** 2002 *Plasma ghrelin, obesity, and the polycystic ovary syndrome: correlation with insulin resistance and androgen levels*. J Clin Endocrinol Metab 87:5625-5629.
137. **Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Wittert GA, Tomlinson L, Galletly G, Luscombe ND, Norman RJ** 2004 *Ghrelin and measures of satiety are altered in polycystic ovary syndrome but not differentially affected by diet composition*. J Clin Endocrinol Metab 89:3337-3344.
138. **Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Wittert GA, Le Roux CW, Ghatei MA, Bloom SR, Norman RJ** 2007 *Postprandial ghrelin, cholecystokinin, peptide YY, and appetite before and after weight loss in overweight women with and without polycystic ovary syndrome*. Am J Clin Nutr 86:1603-1610.
139. **Eisner JR, Barnett MA, Dumesic DA, Abbott DH** 2002 *Ovarian hyperandrogenism in adult female rhesus monkeys exposed to prenatal androgen excess*. Fertil Steril 77:167-172.
140. **Zhou R, Bird IM, Dumesic DA, Abbott DH** 2005 *Adrenal hyperandrogenism in induced by fetal androgen excess in a rhesus monkey model of polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 90:6630-6637.
141. **Abbott DH, Dumesic DA, Eisner JR, Colman RJ, Kemnitz JW** 1998 *Insights into the development of PCOS from studies of prenatally androgenized female rhesus monkeys*. Trends Endocrinol Metab 9:62-67.
142. **Dumesic DA, Abbott DH, Eisner JR, Goy RW** 1997 *Prenatal exposure of female rhesus monkeys to testosterone propionate increases serum luteinizing hormone levels in adulthood*. Fertil Steril 67:155-163.
143. **Eisner JR, Dumesic DA, Kemnitz JW, Colman RJ, Abbott DH** 2003 *Increased adiposity in female rhesus monkeys exposed to androgen excess during early gestation*. Obes Res 11:279-286.
144. **Eisner JR, Dumesic DA, Kemnitz JW, Abbott DH** 2000 *Timing of prenatal androgen excess determines differential impairment in insulin secretion and action in adult female rhesus monkeys*. J Clin Endocrinol Metab 85:1206-1210.
145. **Hague WM, Adams J, Rodda C, Brook CG, de Bruyn R, Grant DB, Jacobs HS** 1990 *The prevalence of polycystic ovaries in patients with congenital adrenal hyperplasia and their close relatives*. Clin Endocrinol (Oxf) 33:501-510.
146. **Barnes RB, Rosenfield RL, Ehrmann DA, Cara JF, Cuttler L, Levitsky LL, Rosenthal IM** 1994 *Ovarian hyperandrogenism as a result of congenital adrenal virilizing disorders: evidence for perinatal masculinization of neuroendocrine function in women*. J Clin Endocrinol Metab 79:1328-1333.

147. **Ibanez L, Potau N, Francois I, de Zegher F** 1998 *Precocious pubarche, hyperinsulinism, and ovarian hyperandrogenism in girls: relation to reduced fetal growth.* J Clin Endocrinol Metab 83:3558-3562.
148. **Sir-Petermann T, Maliqueo M, Angel B, Lara HE, Perez-Bravo F, Recabarren SE** 2002 *Maternal serum androgens in pregnant women with polycystic ovary syndrome: possible implications in prenatal androgenization.* Hum Reprod 17:2573-2579.
149. **Ibanez L, Dimartino-Nardi J, Potau N, Saenger P** 2000 *Premature adrenarche--normal variant or forerunner of adult disease?* Endocr Rev 21:671-696.
150. **Ong KK, Dunger DB** 2002 *Perinatal growth failure: the road to obesity, insulin resistance and cardiovascular disease in adults.* Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 16:191-207.
151. **Barker DJ, Bull AR, Osmond C, Simmonds SJ** 1990 *Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life.* BMJ 301:259-262.
152. **Fernandez-Real JM, Ricart W** 1999 *Insulin resistance and inflammation in an evolutionary perspective: the contribution of cytokine genotype/phenotype to thriftiness.* Diabetologia 42:1367-1374.
153. **Witchel SF, Lee PA, Suda-Hartman M, Trucco M, Hoffman EP** 1997 *Evidence for a heterozygote advantage in congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency.* J Clin Endocrinol Metab 82:2097-2101.
154. **Parsons P** 1997 *Success in mating: a coordinated approach to fitness through genotypes incorporating genes for stress resistance and heterozygous advantage under stress.* Behav Genet 27:75-81.
155. **Stearns SC, Ackermann M, Doebeli M, Kaiser M** 2000 *Experimental evolution of aging, growth, and reproduction in fruitflies.* Proc Natl Acad Sci U S A 97:3309-3313.
156. **Eaton SB, Konner M** 1985 *Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications.* N Engl J Med 312:283-289.
157. **Eaton SB, Konner M, Shostak M** 1988 *Stone agers in the fast lane: chronic degenerative diseases in evolutionary perspective.* Am J Med 84:739-749.
158. **Wendorf M, Goldfine ID** 1991 *Archaeology of NIDDM. Excavation of the "thrifty" genotype.* Diabetes 40:161-165.
159. **Widen E, Lehto M, Kanninen T, Walston J, Shuldiner AR, Groop LC** 1995 *Association of a polymorphism in the beta 3-adrenergic-receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns.* N Engl J Med 333:348-351.
160. **Ehrmann DA, Cavaghan MK, Barnes RB, Imperial J, Rosenfield RL** 1999 *Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome.* Diabetes Care 22:141-146.
161. **Legro RS, Kusanman AR, Dodson WC, Dunaif A** 1999 *Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women.* J Clin Endocrinol Metab 84:165-169.
162. **Cibula D, Cífková R, Fanta M, Poledne R, Zivny J, Skibová J** 2000 *Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus, arterial hypertension and coronary artery disease in perimenopausal women with a history of the polycystic ovary syndrome.* Hum Reprod 15:785-789.
163. **Legro RS, Gnatuk CL, Kusanman AR, Dunaif A** 2005 *Changes in glucose tolerance over time in women with polycystic ovary syndrome: a controlled study.* J Clin Endocrinol Metab 90:2236-2242.

164. **Boudreaux MY, Talbott EO, Kip KE, Brooks MM, Witchel SF** 2006 *Risk of T2DM and impaired fasting glucose among PCOS subjects: results of an 8-year follow-up.* Curr Diab Rep 6:77-83.
165. **Boomsma CM, Eijkemans MJ, Hughes EG, Visser GH, Fauser BC, Macklon NS** 2006 *A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome.* Hum Reprod Update 12:673-683.
166. **San Millan JL, Corton M, Villuendas G, Sancho J, Peral B, Escobar-Morreale HF** 2004 *Association of the polycystic ovary syndrome with genomic variants related to insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and obesity.* J Clin Endocrinol Metab 89:2640-2646.
167. **Haap M, Machicao F, Stefan N, Thamer C, Tschritter O, Schnuck F, Wallwiener D, Stumvoll M, Haring HU, Fritsche A** 2005 *Genetic determinants of insulin action in polycystic ovary syndrome.* Exp Clin Endocrinol Diabetes 113:275-281.
168. **Polonsky KS, Given BD, Hirsch HL, Tillil H, Shapiro ET, Beebe C, Frank BH, Galloway JA, Van Cauter E** 1988 *Abnormal patterns of insulin secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus.* N Engl J Med 318:1231-1239.
169. **Yildiz BO, Yarali H, Oguz H, Bayraktar M** 2003 *Glucose intolerance, insulin resistance, and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 88:2031-2036.
170. **Yilmaz M, Bukan N, Ersoy R, Karakok A, Yetkin I, Ayvaz G, Cakir N, Arslan M** 2005 *Glucose intolerance, insulin resistance and cardiovascular risk factors in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome.* Hum Reprod 20:2414-2420.
171. **Haffner SM** 1995 *Risk factors for non-insulin-dependent diabetes mellitus.* J Hypertens 13:S73-76.
172. **Escobar-Morreale HF, Luque-Ramírez M, Álvarez-Blasco F, Botella-Carretero JI, Sancho J, San Millan JL** 2005 *Body iron stores are increased in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome.* Diabetes Care 28:2042-2044.
173. **Haap M, Fritsche A, Mensing HJ, Haring HU, Stumvoll M** 2003 *Association of high serum ferritin concentration with glucose intolerance and insulin resistance in healthy people.* Ann Intern Med 139:869-871.
174. **Jiang R, Manson JE, Meigs JB, Ma J, Rifai N, Hu FB** 2004 *Body iron stores in relation to risk of type 2 diabetes in apparently healthy women.* JAMA 291:711-717.
175. **McCarty MF** 2003 *Hyperinsulinemia may boost both hematocrit and iron absorption by upregulating activity of hypoxia-inducible factor-1alpha.* Med Hypotheses 61:567-573.
176. **American Association of Clinical Endocrinologists Polycystic Ovary Syndrome Writing Committee** 2005 *American Association of Clinical Endocrinologists Position Statement on Metabolic and Cardiovascular Consequences of Polycystic Ovary Syndrome.* Endocr Pract 11:126-134.
177. **Huxley R, Barzi F, Woodward M** 2006 *Excess risk of fatal coronary heart disease associated with diabetes in men and women: meta-analysis of 37 prospective cohort studies.* BMJ 332:73-78.
178. **Reaven GM** 1988 *Banting lecture: role of insulin resistance in human disease.* Diabetes 37:1595-1607.
179. **Austin MA, Edwards KL** 1996 *Small, dense low density lipoproteins, the insulin resistance syndrome and noninsulin dependent diabetes mellitus.* Curr Opin Lipidol 7:167-171.

180. **Berneis K, Rizzo M, Lazzaroni V, Fruzzetti F, Carmina E** 2007 *Atherogenic lipoprotein phenotype and low density lipoproteins size and subclasses in women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 92:186-189.
181. **Talbott E, Clerici A, Berga SL, Kuller L, Guzick D, Detre K, Daniels T, Engberg RA** 1998 *Adverse lipid and coronary heart disease risk profiles in young women with polycystic ovary syndrome: results of a case-control study*. J Clin Epidemiol 51:415-422.
182. **Valkenburg O, Steegers-Theunissen RP, Smedts HP, Dallinga-Thie GM, Fauser BC, Westerveld EH, Laven JS** 2007 *A more atherogenic serum lipoprotein profile is present in women with polycystic ovary syndrome: a case-control study*. J Clin Endocrinol Metab Dec 4 [Epub ahead of print].
183. **Legro RS, Kusanman AR, Dunaif A** 2001 *Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome*. Am J Med 111:607-613.
184. **Pirwany IR, Fleming R, Greer IA, Packard CJ, Sattar N** 2001 *Lipids and lipoprotein subfractions in women with PCOS: relationship to metabolic and endocrine parameters*. Clin Endocrinol (Oxf) 54:447-453.
185. **Dejager S, Pichard C, Giral P, Bruckert E, Federspiel MC, Beucler I, Turpin G** 2001 *Smaller LDL particle size in women with polycystic ovary syndrome compared to controls*. Clin Endocrinol (Oxf) 54:455-462.
186. **Rajkhowa M, Neary RH, Kumpatla P, Game FL, Jones PW, Obhrai MS, Clayton RN** 1997 *Altered composition of high density lipoproteins in women with the polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 82:3389-3394.
187. **Raji A, Seely EW, Arky RA, Simonson DC** 2001 *Body fat distribution and insulin resistance in healthy asian indians and caucasians*. J Clin Endocrinol Metab 86:5366-5371.
188. **Deschênes D, Couture P, Dupont P, Tchernof A** 2003 *Subdivision of the subcutaneous adipose tissue compartment and lipid-lipoprotein levels in women*. Obes Res 11:469-476.
189. **Baynes C, Henderson AD, Anyaoku V, Richmond W, Hughes CL, Johnston DG, Elkeles RS** 1991 *The role of insulin sensitivity and hepatic lipase in the dyslipidaemia of type 2 diabetes*. Diabet Med 8:560-566.
190. **McNamara JR, Jenner JL, Li Z, Wilson PW, Schaefer EJ** 1992 *Change in LDL particle size is associated with change in plasma triglyceride concentration*. Arterioscler Thromb 12:1824-1890.
191. **Glazer G** 1991 *Atherogenic effects of anabolic steroids on serum lipids levels. A literature review*. Arch Intern Med 151:1925-1933.
192. **Tikkanen MJ, Nikkila EA** 1987 *Regulation of hepatic lipase and serum lipoproteins by sex steroids*. Am Heart J 113:562-567.
193. **Diamanti-Kandarakis E, Mitrakou A, Raptis S, Tolis G, Duleba AJ** 1998 *The effect of a pure antiandrogen receptor blocker, flutamide, on the lipid profile in the polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 83:2699-2705.
194. **Escobar-Morreale HF, Lasunción MA, Sancho J** 2000 *Treatment of hirsutism with ethinyl estradiol– desogestrel contraceptive pills has beneficial effects on the lipid profile and improves insulin sensitivity*. Fertil Steril 74:816-819.
195. **Villaseca P, Hormaza P, Cardenas I, Oestreicher E, Arteaga E** 2004 *Ethinylestradiol/cyproterone acetate in polycystic ovary syndrome: lipid and carbohydrate changes*. Eur J Contracept Reprod Health Care 9:155-165.

196. **Sam S, Legro RS, Bentley-Lewis R, Dunaif A** 2005 *Dyslipidemia and metabolic syndrome in the sisters of women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 90:4797-4802.
197. **Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M, Association. AD, Diabetes. EAftSo** 2005 *The metabolic syndrome: time for a critical appraisal joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes*. Diabetes Care 28:2289-2304.
198. **Haffner SM** 2006 *Risk constellations in patients with the metabolic syndrome: epidemiology, diagnosis, and treatment patterns*. Am J Med 119:3S-9.
199. **Apridonidze T, Essah PA, Iuorno MJ, Nestler JE** 2005 *Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 90:1929-1935.
200. **Ehrmann DA, Liljenquist DR, Kasza K, Azziz R, Legro RS, Ghazzi MN, Group. PTS** 2006 *Prevalence and predictors of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 91:48-53.
201. **Vrbíková J, Cífková R, Jirkovská A, Lánská A, Platilova H, Zamrazil V, Stárka L** 2003 *Cardiovascular risk factors in young Czech females with polycystic ovary syndrome*. Hum Reprod 18:980-984.
202. **Taponen S, Martikainen H, Järvelin M-R, Sovio U, Laitinen J, Pouta A, Hartikainen A-L, McCarthy MI, Franks S, Paldanius M, Ruokonen A** 2004 *Metabolic cardiovascular disease risk factors in women with self-reported symptoms of oligomenorrhea and/or hirsutism: Northern Finland Birth Cohort 1966 Study*. J Clin Endocrinol Metab 89:2114-2118.
203. **Lo JC, Feigenbaum SL, Yang J, Pressman AR, Selby JV, Go AS** 2006 *Epidemiology and adverse cardiovascular risk profile of diagnosed polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 91:1357-1363.
204. **Zimmermann S, Phillips RA, Dunaif A, Finegood DT, Wilkenfeld G, Ardeljan M, Gorlin R, Krakoff LR** 1992 *Polycystic ovary syndrome: lack of hypertension despite profound insulin resistance*. J Clin Endocrinol Metab 75:508-513.
205. **Sampson M, Kong C, Patel A, Unwin R, Jacobs HS** 1996 *Ambulatory blood pressure profiles and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) activity in lean women with and without the polycystic ovary syndrome*. Clin Endocrinol (Oxf) 45:623-629.
206. **Holte J, Gennarelli G, Berne C, Bergh T, Lithell H** 1996 *Elevated ambulatory day-time blood pressure in women with polycystic ovary syndrome: a sign of a pre-hypertensive state?* Hum Reprod 11:23-28.
207. **Orbetzova MM, Shigarminova RG, Genchev GG, Milcheva BA, Lozanov LB, Genov NS, Zacharieva SZ** 2003 *Role of 24-hour monitoring in assessing blood pressure changes in polycystic ovary syndrome*. Folia Med (Plovdiv) 45:21-25.
208. **Meyer C, McGrath BP, Teede HJ** 2005 *Overweight women with polycystic ovary syndrome have evidence of subclinical cardiovascular disease*. J Clin Endocrinol Metab 90:5711-5716.
209. **Kotsis V, Stabouli S, Bouldin M, Low A, Toumanidis S, Zakopoulos N** 2005 *Impact of obesity on 24-hour ambulatory blood pressure and hypertension*. Hypertension 45:602-607.
210. **Ohkubo T, Hozawa A, Yamaguchi J, Kikuya M, Ohmori K, Michimata M, Matsubara M, Hashimoto J, Hoshi H, Araki T, Tsuji I, Satoh H, Hisamichi S, Imai Y** 2002 *Prognostic significance of the nocturnal decline in blood pressure in individuals with and without 24-h blood pressure: the Ohasama study*. J Hypertens 20:2183-2189.

211. **Esler M, Rumantir M, Wiesner G, Kaye D, Hastings J, Lambert G** 2001 *Sympathetic nervous system and insulin resistance: from obesity to diabetes*. Am J Hypertens 14:304S-309S.
212. **de Jong RT, Serné EH, Ijerman RG, de Vries G, Stehouwer CDA** 2004 *Impaired microvascular function in obesity. Implications for obesity-associated microangiopathy, hypertension, and insulin resistance*. Circulation 109:2529-2535.
213. **Stener-Victorin E, Karolina P, Larsson B-M, Holmäng A** 2005 *Rats with steroid-induced polycystic ovaries develop hypertension and increased sympathetic nervous system activity*. Reprod Biol Endocrinol 7:44-53.
214. **Garcia-Rudaz C, Armando I, Levin G, Escobar ME, Barontini M** 1998 *Peripheral catecholamine alterations in adolescents with polycystic ovary syndrome*. Clin Endocrinol (Oxf) 49:221-228.
215. **Barria A, Leyton V, Ojeda SR, Lara HE** 1993 *Ovarian steroidal response to gonadotropins and beta-adrenergic stimulation is enhanced in polycystic ovary syndrome: role of sympathetic innervation*. J Clin Endocrinol Metab 133:2696-2703.
216. **Luza SM, Lizama L, Burgos RA, Lara HE** 1995 *Hypothalamic changes in norepinephrine release in rats with estradiol valerate-induced polycystic ovaries*. Biol Reprod 52:398-404.
217. **Yildirim A, Aybar F, Kabakçi G, Yarali H, Oto A** 2006 *Heart rate variability in women with polycystic ovary syndrome*. Ann Noninvasive Electrocardiol 11:306-312.
218. **Tekin G, Tekin A, Kiliçarslan EB, Haydardedeoglu B, Katircibasi T, Koçum T, Erol T, Cölkesen Y, Sezgin AT, Müderrisoglu H** 2007 *Altered autonomic neural control of the cardiovascular system in patients with polycystic ovary syndrome*. Int J Cardiol Dec 3 [Epub ahead of print].
219. **Hansson GK** 2005 *Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease*. N Engl J Med 352:1685-1695.
220. **Gewurz H, Zhang XH, Lint TF** 1995 *Structure and function of the pentraxins*. Curr Opin Immunol 7:54-64.
221. **Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GDO, Pepys MB, Gudnason V** 2004 *C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease*. N Engl J Med 350:1387-1397.
222. **Pai JK, Pischon T, Ma J, Manson JE, Hankinson SE, Joshipura K, Curhan GC, Rifai N, Cannuscio CC, Stampfer MJ, Rimm EB** 2004 *Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women*. N Engl J Med 351:2599-2610.
223. **Talbott EO, Zborowski JV, Boudreaux MY, McHugh-Pemu KP, Sutton-Tyrrell K, Guzick DS** 2004 *The relationship between c-reactive protein and carotid intima-media wall thickness in middle-aged women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 89:6061-6067.
224. **Nasiek M, Kos-Kudla B, Ostrowska Z, Marek B, Kudla M, Sieminska L, Kajdaniuk D, Foltyn W, Zemczak A** 2007 *Acute phase proteins: C-reactive protein and fibrinogen in young women with polycystic ovary syndrome*. Pathophysiology 14:23-28.
225. **Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Wittert GA, Belobrajdic P, Norman RJ** 2007 *C-reactive protein before and after weight loss in overweight women with and without polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 92:2944-2951.
226. **Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, Peetz D, Cambien F, Meyer J, Rupprecht HJ** 2002 *Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina*. Circulation 106:24-30.

227. **Mallat Z, Corbaz A, Scoazec A, Besnard S, Leseche G, Chvatchko Y, Tedgui A** 2001 *Expression of interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability*. *Circulation* 104:1598-1603.
228. **Escobar-Morreale HF, Botella-Carretero JI, Villuendas G, Sancho J, San Millan JL** 2004 *Serum interleukin-18 concentrations are increased in the polycystic ovary syndrome: relationship to insulin resistance and obesity*. *J Clin Endocrinol Metab* 89:806-811.
229. **Zhang YF, Yang YS, Hong J, Gu WQ, Shen CF, Xu M, Du PF, Li XY, Ning G** 2006 *Elevated serum levels of interleukin-18 are associated with insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome*. *Endocrine* 29:419-424.
230. **Schachter M, Raziell A, Friedler S, Strassburger D, Bern O, Ron-El R** 2003 *Insulin resistance in patients with polycystic ovary syndrome is associated with elevated plasma homocysteine*. *Hum Reprod* 18:721-727.
231. **Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stenswold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland M, Kvale G** 1995 *Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study*. *JAMA* 274:1526-1533.
232. **Welch GN, Loscalzo J** 1998 *Homocysteine and atherothrombosis*. *N Engl J Med* 338:1042-1050.
233. **Van Guldener C, Stehouwer CD** 2000 *Hyperhomocysteinemia, vascular pathology, and endothelial dysfunction*. *Semin Thromb Hemost* 26:281-289.
234. **Wijayarathne C, Nirantharakumar K, Balen AH, Barth JH, Sheriff R, Belchetz PE** 2004 *Plasma homocysteine in polycystic ovary syndrome: does it correlate with insulin resistance and ethnicity?* *Clin Endocrinol (Oxf)* 60:560-567.
235. **Yilmaz M, Bukan N, Ayvaz G, Karakok A, Toruner F, Cakir N, Arslan M** 2005 *The effects of rosiglitazone and metformin on oxidative stress and homocysteine levels in lean patients with polycystic ovary syndrome*. *Hum Reprod* 20:3333-3340.
236. **Cagnacci A, Tirelli A, Renzi A, Paoletti AM, Volpe A** 2006 *Effects of two different oral contraceptives on homocysteine metabolism in women with polycystic ovary syndrome*. *Contraception* 73:348-351.
237. **Kilicdaq EB, Bagis T, Tarim E, Aslan E, Erkanli S, Simsek E, Haydardedeoglu B, Kuscü E** 2005 *Administration of B-group vitamins reduces circulating homocysteine in polycystic ovarian syndrome patients treated with metformin: a randomized trial*. *Hum reprod* 20:1521-1528.
238. **Hayden MR, Tyagi SC** 2004 *Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle*. *Nutr Metab (Lond)* 1:10.
239. **Kanellis J, Kang DH** 2005 *Uric acid as a mediator of endothelial dysfunction, inflammation, and vascular disease*. *Semin Nephrol* 25:39-42.
240. **Johnson RJ, Kang DH, Feig D, Kivlighn S, Kanellis J, Watanabe S, Tuttle KR, Rodriguez-Iturbe B, Herrera-Acosta J, Mazzali M** 2003 *Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease?* *Hypertension* 41:1183-1190.
241. **Baker JF, Krishnan E, Chen L, Ralph Schumacher H** 2005 *Serum acid and cardiovascular disease: recent developments, and where do they leave us?* *Am J Med* 118:816-826.
242. **Liese AD, Hense HW, Löwel H, Döring A, Tietze M, Keil U** 1999 *Association of serum acid with all-cause and cardiovascular disease mortality and incident myocardial infarction in the MONICA Augsburg cohort*. *World Health Organization*

- Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Diseases*. Epidemiology 10:391-397.
243. **Culleton BF, Larson MG, Kannel WB, Levy D** 1999 *Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study*. Ann Intern Med 131:7-13.
244. **Fang J, Alderman MH** 2000 *Serum acid and cardiovascular mortality the NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971-1992. National Health and Nutrition Examination Survey*. JAMA 283:2404-2410.
245. **Moriarty JT, Folsom AR, Iribarren C, Nieto FJ, Rosamond WD** 2000 *Serum uric acid and risk of coronary heart disease: Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study*. Ann Epidemiol 10:136-143.
246. **Farquharson CA, Butler R, Hill A, Belch JJ, Struthers AD** 2002 *Allopurinol improves endothelial dysfunction in chronic heart failure*. Circulation 106:221-226.
247. **Mercuro G, Vitale C, Cerquetani E, Zoncu S, Deidda M, Fini M, Rosano GM** 2004 *Effect of hyperuricemia upon endothelial function in patients at increased cardiovascular risk*. Am J Cardiol 94:932-935.
248. **Struthers AD, Donnan PT, Lindsay P, McNaughton D, Broomhall J, MacDonald TM** 2002 *Effect of allopurinol on mortality and hospitalisations in chronic heart failure: a retrospective cohort study*. Heart 87:229-234.
249. **Weimert NA, Tanke WF, Sims JJ** 2003 *Allopurinol as a cardioprotective during coronary artery bypass graft surgery*. Ann Pharmacother 37:1708-1711.
250. **Hoiegggen A, Alderman MH, Kjeldsen SE, Julius S, Devereux RB, De Faire U, Fyhrquist F, Ibsen H, Kristianson K, Lederballe-Pedersen O, Lindholm LH, Nieminen MS, Omvik P, Oparil S, Wedel H, Chen C, Dahlöf B, Group LS** 2004 *The impact of serum acid on cardiovascular outcomes in the LIFE study*. Kidney Int 66:1714-1715.
251. **Athyros VG, Elisaf M, Papageorgiou AA, Symeonidis AN, Pehlivanidis AN, Bouloukos VI, Milionis HJ, Mikhailidis DP, Group GSC** 2004 *Effects of statins versus untreated dyslipidemia on serum acid levels in patients with coronary heart disease: a subgroup analysis of the GREEK Atorvastatin and Coronary-heart-disease Evaluation (GREACE) study*. Am J Kidney Dis 43:589-599.
252. **Anttila L, Rouru J, Penttilä T, Irjala K** 1996 *Normal serum acid concentrations in women with polycystic ovary syndrome*. Hum Reprod 11:2405-2407.
253. **Quiñonez Zarza C, Silva Ruiz R, Torres Juárez JM** 2000 *Obesity, arterial hypertension, metabolic disorders, and polycystic ovary syndrome*. Ginecol Obstet Mex 68:317-322.
254. **Yarali H, Yildirim A, Aybar F, Kabakçi G, Bükülmez O, Akgül E, Oto A** 2001 *Diastolic dysfunction and increased serum homocysteine concentrations may contribute to increased cardiovascular risk in patients with polycystic ovary syndrome*. Fertil Steril 76:511-516.
255. **Rossi GP, Boscaro M, Ronconi V, Funder JW** 2005 *Aldosterone as a cardiovascular risk factor*. Trends Endocrinol Metab 16:104-107.
256. **Williams JS, Williams GH** 2003 *50th anniversary of aldosterone*. J Clin Endocrinol Metab 88:2364-2372.
257. **Giacchetti G, Sechi LA, Rilli S, Carey SM** 2005 *The renin-angiotensin-aldosterone system, glucose metabolism and diabetes*. Trends Endocrinol Metab 16:120-125.
258. **Cascella T, Palomba S, Tauchmanova L, Manguso F, Di Biase S, Labella D, Giallauria F, Vigorito C, Colao A, Lombardi G, Orio F** 2006 *Serum aldosterone*

- concentration and cardiovascular risk in women with polycystic ovarian syndrome. J Clin Endocrinol Metab* 91:4395-4400.
259. **Yildiz BO, Haznedaroglu IC, Kirazli S, Bayraktar M** 2002 *Global fibrinolytic capacity is decreased in polycystic ovary syndrome, suggesting a prothrombotic state. J Clin Endocrinol Metab* 87:3871-3875.
260. **Carmassi F, DeNegri F, Fioriti R, De Giorgi A, Giannarelli C, Fruzzetti F, Pedrinelli R, Dell’Omo G, Bersi C** 2005 *Insulin resistance causes impaired vasodilation and hypofibrinolysis in young women with polycystic ovary syndrome. Thromb Res* 116:207-214.
261. **Glueck CJ, Wang P, Fontaine RN, Sieve-Smith L, Tracy T, Moore RK** 1999 *Plasminogen activator inhibitor activity: an independent risk factor for the high miscarriage rate during pregnancy in women with polycystic ovary syndrome. Metabolism* 48:1589-1595.
262. **Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC** 1995 *Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. N Engl J Med* 332:635-641.
263. **Nordt T, Sawa H, Fujii S, Sobel B** 1995 *Induction of plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) by proinsulin and insulin in vivo. Circulation* 91:764-770.
264. **Glueck CJ, Sieve L, Zhu B, Whang P** 2006 *Plasminogen activator inhibitor activity, 4G5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor 1 gene, and first-trimester miscarriage in women with polycystic ovary syndrome. Metabolism* 55:345-352.
265. **Glueck CJ, Wang P, Goldenberg N, Sieve L** 2004 *Pregnancy loss, polycystic ovary syndrome, thrombophilia, hypofibrinolysis, enoxaparin, metformin. Clin Appl Thromb Hemost* 10:323-334.
266. **Diamanti-Kandarakis E, Palioniko G, Alexandraki K, Bergiele A, Koutsouba T, Bartzis M** 2004 *The prevalence of 4G5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene in polycystic ovarian syndrome and its association with plasma PAI-1 levels. Eur J Endocrinol* 150:793-798.
267. **Atiomo WU, Fox R, Condon JE, Shaw S, DFriend J, Prentice AG, Wilkin TJ** 2000 *Raised plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) is not an independent risk factor in the polycystic ovary syndrome (PCOS). Clin Endocrinol (Oxf)* 52:487-492.
268. **Ehrmann DA, Schneider DJ, Sobel BE, Cavaghan MK, Imperial J, Rosenfield RL, Polonsky KS** 1997 *Troglitazone improves defects in insulin action, insulin secretion, ovarian steroidogenesis, and fibrinolysis in women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab* 82:2108-2116.
269. **Shah PK** 2000 *Plaque disruption and thrombosis: potential role of inflammation and infection. Cardiol Rev* 8:31-39.
270. **Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, Meyer J, Cambien F, Tiret L** 2003 *Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. Circulation* 107:1579-1585.
271. **Lewandowski KC, Komorowski J, O’Callaghan CJ, Tan BK, Chen J, Prelevic GM, Randeve HS** 2005 *Increased circulating levels of matrix metalloproteinase -2 & 9- in women with the polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab* 91:1173-1177.
272. **Mombouli J-V, Vanhoutte PM** 1999 *Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. J Mol Cell Cardiol* 31:61-74.

273. **Esper RJ, Nordaby RA, Vilariño JO, Paragano A, Cacharrón JL, Machado RA** 2006 *Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal*. Cardiovas Diabetol 5:4.
274. **Simoncini T, Mannella P, Fornari L, Caruso A, Varone G, Genazzani AR** 2004 *Genomic and non-genomic effects of estrogens on endothelial cells*. Steroids 69:537-542.
275. **Wu FCW, von Eckardstein A** 2003 *Androgens and coronary artery disease*. Endocr Rev 24:183-217.
276. **Worboys S, Kotsopoulos D, Teede H, McGrath B, Davis SR** 2001 *Evidence that parenteral testosterone therapy may improve endothelium-dependent and -independent vasodilatation in postmenopausal women already receiving estrogen*. J Clin Endocrinol Metab 86:158-161.
277. **Norata GD, Tibolla G, Seccomandi PM, Poletti A, Catapano AL** 2005 *Dihydrotestosterone decreases tumor necrosis factor  $\alpha$  and lypopolysaccharide induced inflammatory response in human endothelial cells*. J Clin Endocrinol Metab 91:546-554.
278. **Sader MA, Celermajer DS** 2002 *Endothelial function, vascular reactivity and gender differences in the cardiovascular system*. Cardiovasc Res 53:597-604.
279. **Nigro J, Osman N, Dart AM, Little PJ** 2006 *Insulin resistance and atherosclerosis*. Endocr rev 27:242-259.
280. **Katusic ZS** 2001 *Vascular endothelial dysfunction: does tetrahydrobiopterin play a role?* Am J Physiol Heart Circ Physiol 281:H981-986.
281. **Ritchie SA, Ewart M-A, Perry CG, Connell JMC, Salt IP** 2004 *The role of insulin and the adipocytokines in regulation of vascular endothelial function*. Clin Sci (Lond) 107:519-532.
282. **Calnek DS, Mazzella L, Roser S, Roman J, Hart CM** 2003 *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands increase release of nitric oxide from endothelial cells*. Arterioscler Thromb Vasc Biol 23:52-57.
283. **Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE** 1992 *Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis*. Lancet 340:1111-1115.
284. **Teragawa H, Ueda K, Matsuda K, Kimura M, Higashi Y, Oshima T, Yoshizumi M, Chayama K** 2005 *Relationship between endothelial function in the coronary and brachial arteries*. Clin Cardiol 28:460-466.
285. **Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R** 2002 *Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery*. J Am Coll Cardiol 39:257-265.
286. **Mather KJ, Verma S, Corenblum B, Anderson TJ** 2000 *Normal endothelial function despite insulin resistance in healthy women with the polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 85:1851-1856.
287. **Paradisi G, Steinberg HO, Himpfling A, Cronin J, Hook G, Shepard MK, Baron AD** 2001 *Polycystic ovary syndrome is associated with endothelial dysfunction*. Circulation 103:1410-1415.
288. **Paradisi G, Steinberg HO, Shepard MK, Hook G, Baron AD** 2003 *Troglitazone therapy improves endothelial function to near normal levels in women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 88:576-580.

289. **Kelly CJG, Speirs A, Gould GW, Petrie JR, Lyall H, Connell JMC** 2002 *Altered vascular function in young women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 87:742-746.
290. **Orio F, Palomba S, Cascella T, De Simone B, Di Biase S, Russo T, Labella D, Zullo F, Lombardi G, Colao A** 2004 *Early impairment of endothelial structure and function in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 89:4588-4593.
291. **Diamanti-Kandarakis E, Spina G, Kouli C, Migdalis I** 2001 *Increased endothelin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin therapy*. J Clin Endocrinol Metab 86:4666-4673.
292. **Diamanti-Kandarakis E, Alexandraki K, Protogerou A, Piperi C, Papamichael C, Aessopos A, Lekakis J, Mavrikakis M** 2005 *Metformin administration improves endothelial function in women with polycystic ovary syndrome*. Eur J Endocrinol 152:749-756.
293. **Orio F, Palomba S, Cascella T, De Simone B, Manguso F, Savastano S, Russo T, Tolino A, Zullo F, Lombardi G, Azziz R, Colao A** 2005 *Improvement in endothelial structure and function after metformin treatment in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome: results of a 6-month study*. J Clin Endocrinol Metab 90:6072-6076.
294. **Carmina E, Orio F, Palomba S, Longo RA, Cascella T, Colao A, Lombardi G, Rini GB, Lobo RA** 2006 *Endothelial dysfunction in PCOS: role of obesity and adipose hormones*. Am J Med 119:356.e351-e356.
295. **Meyer C, McGrawth BP, Cameron J, Kotsopoulos D, Teede HJ** 2005 *Vascular dysfunction and metabolic parameters in polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 90:4630-4635.
296. **Tarkun I, Arslan BC, Cantürk Z, Türemen E, Sahin T, Duman C** 2004 *Endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome: relationship with insulin resistance and low-grade chronic inflammation*. J Clin Endocrinol Metab 89:5592-5596.
297. **Diamanti-Kandarakis E, Alexandraki K, Piperi C, Protogerou A, Katsikis I, Paterakis T, Lekakis J, Panidis D** 2006 *Inflammatory and endothelial markers in women with polycystic ovary syndrome*. Eur J Clin Invest 36:691-697.
298. **Kravariti M, Naka KK, Kalantaridou SN, Kazakos N, Katsouras CS, Makrigiannakis A, Paraskevaides EA, Chrousos GP, Tsatsoulis A, Michalis LK** 2005 *Predictors of endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 90:5088-5095.
299. **Dagre A, Lekakis J, Mihas C, Protogerou A, Thalassinou L, Tryfonopoulos D, Douridas G, Papamichael C, Alevizaki M** 2006 *Association of dehydroepiandrosterone-sulfate with endothelial function in young women with polycystic ovary syndrome*. Eur J Endocrinol 154:883-890.
300. **Alexandraki K, Protogerou A, Papaioannou TG, Piperi C, Mastorakos G, Lekakis J, Panidis D, Diamanti-Kandarakis E** 2006 *Early microvascular and macrovascular dysfunction is not accompanied by structural arterial injury in polycystic ovary syndrome*. Hormones (Athens) 5:126-136.
301. **Bickerton AS, Clark N, Meeking D, Shaw KM, Crook M, Lumb P, Turner C, Cummings MH** 2005 *Cardiovascular risk in women with polycystic ovarian syndrome (PCOS)*. J Clin Pathol 58:151-154.

302. **Nácul AP, Andrade CD, Schwarz CD, de Bittencourt PIJ, Spritzer PM** 2007 *Nitric oxide and fibrinogen in polycystic ovary syndrome: associations with insulin resistance and obesity*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 133:191-196.
303. **Sorensen MB, Franks S, Robertson C, Pennell DJ, Collins P** 2006 *Severe endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome is only partially explained by known cardiovascular risk factors*. Clin Endocrinol (Oxf) 65:655-659.
304. **Brinkworth GD, Noakes M, Moran LJ, Norman R, Clifton PM** 2006 *Flow-mediated dilatation in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome*. BJOG 113:1308-1314.
305. **Dokras A, Jagasia DH, Maifeld M, Sinkey CA, VanVoorhis BJ, Haynes WG** 2006 *Obesity and insulin resistance but not hyperandrogenism mediates vascular dysfunction in women with polycystic ovary syndrome*. Fertil Steril 86:1702-1709.
306. **Beckmann JA, Goldfine AB, Dunaif A, Gerhard-Herman M, Creager MA** 2007 *Endothelial function varies according to insulin resistance type*. Diabetes Care 30:1226-1232.
307. **McFarlane SI, Banerji M, Sowers JR** 2001 *Insulin resistance and cardiovascular disease*. J Clin Endocrinol Metab 86:713-718.
308. **Vetta F, Cicconetti P, Ronzoni S, Rizzo V, Palleschi L, Canarile G, Lupattelli MR, Migliori M, Morelli S, Marigliano V** 1998 *Hyperinsulinaemia, regional adipose tissue distribution and left ventricular mass in normotensive, elderly, obese subjects*. Eur Heart J 19:326-331.
309. **Orio F, Palomba S, Spinelli L, Cascella T, Tauchmanova L, Zullo F, Lombardi G, Colao A** 2004 *The cardiovascular risk of young women with polycystic ovary syndrome: an observational, analytical, prospective case-control study*. J Clin Endocrinol Metab 89:3696-3701.
310. **Tıras MB, Yalçın R, Noyan V, Maral I, Yıldırım M, Dörtlemez O, Daya S** 1999 *Alterations in cardiac flow parameters in patients with polycystic ovarian syndrome*. Hum Reprod 14:1949-1952.
311. **Topcu S, Tok D, Caliskan M, Ozciment EE, Gullu H, Uckuyu A, Erdogan D, Zeyneloglu H, Muderrisoglu H** 2006 *Metformin therapy improves coronary microvascular function in patients with polycystic ovary syndrome and insulin resistance*. Clin Endocrinol (Oxf) 65:75-80.
312. **Myers J, Prakash M, Froelicher V, Do D, Partington S, Atwood JE** 2002 *Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing*. N Engl J Med 346:793-801.
313. **Kavanagh T, Mertens DJ, Hamm LF, Beyene J, Kennedy J, Corey P, Shepard RJ** 2003 *Peak oxygen intake and cardiac mortality in women referred for cardiac rehabilitation*. J Am Coll Cardiol 42:2139-2143.
314. **Orio FJ, Giallauria F, Palomba S, Cascella T, Manguso F, Vuolo L, Russo T, Tolino A, Lombardi G, Colao A, Vigorito C** 2006 *Cardiopulmonary impairment in young women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 91:2967-2971.
315. **Orio FJ, Palomba S, Giallauria F, Colao A, Vigorito C** 2006 *Impaired cardiopulmonary parameters in young women with polycystic ovary syndrome*. Clin Endocrinol (Oxf) 66:152-153.
316. **Vigorito C, Giallauria F, Palomba S, Cascella T, Manguso F, Lucci R, De Lorenzo A, Tafuri D, Lombardi G, Colao A, Orio F** 2007 *Beneficial effects of a three-month structure exercise training program on cardiopulmonary functional*

- capacity in young women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab* 92:1379-1384.
317. **O'Brien ER, Alpers CE, Stewart DK** 1993 *Proliferation in primary and restenotic coronary atherectomy tissue. Implications for antiproliferative therapy. Circ Res* 73:223-231.
  318. **de Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart J-C, Kastelein JP** 2004 *Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. Circulation* 109:III-33-38.
  319. **Denarié N, Gariépy J, Chironi g, Massonneau M, Laskri F, Salomon J, Levenson J, Simon A** 2000 *Distribution of ultrasonographically-assessed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes. Atherosclerosis* 148:297-302.
  320. **Junyent M, Gilabert R, Núñez I, Corbella E, Vela M, Zambón D, Ros E** 2005 *Ecografía carotídea en la evaluación de aterosclerosis subclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en una cohorte comunitaria española. Med Clin (Barc)* 125:770-774.
  321. **Bernini GP, Sgro M, Moretti A, Argenio GF, Barlascini CO, Cristofani R, Salvetti A** 1999 *Endogenous androgens and carotid intimal-medial thickness in women. J Clin Endocrinol Metab* 84:2008-2012.
  322. **Lo JC, Dolan SE, Kanter JR, Hemphill LC, Connelly JM, Lees RS, Grinspoon SK** 2006 *Effects of obesity, body composition, and adiponectin on carotid intima-media thickness in healthy women. J Clin Endocrinol Metab* 91:1677-1682.
  323. **Bigazzi R, Bianchi S, Batini V, Guzzo D, Campese VM** 2006 *Metabolic risk factors and markers of cardiovascular and renal damage in overweight subjects. Am J Hipertens* 19:426-431.
  324. **Stabouli S, Kotsis V, Papamichael C, Constantopoulos A, Zakopoulos N** 2005 *Adolescent obesity is associated with high ambulatory blood pressure and increased carotid intimal-medial thickness. J Pediatr* 147:651-656.
  325. **Talbott EO, Guzick DS, Sutton-Tyrrell K, McHugh-Pemu KP, Zborowski JV, Remsberg KE, Kuller LH** 2000 *Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:2414-2421.
  326. **Lakhani K, Hardiman P, Seifalian AM** 2004 *Intima-media thickness of elastic and muscular arteries of young women with polycystic ovaries. Atherosclerosis* 175:353-359.
  327. **Lakhani K, Seifalian AM, Hardiman P** 2002 *Impaired carotid viscoelastic properties in women with polycystic ovaries. Circulation* 106:81-85.
  328. **Vural B, Caliskan E, Turkoz E, Kilic T, Demirci A** 2005 *Evaluation of metabolic syndrome frequency and premature carotid atherosclerosis in young women with polycystic ovary syndrome. Hum Reprod* 20:2409-2413.
  329. **Vryonidou A, Papatheodorou A, Tavridou A, Terzi T, Loi V, Vatalas I-A, Batakis N, Phenekos C, Dionyssiou-Asteriou A** 2005 *Association of hyperandrogenism and metabolic phenotype with carotid intima-media thickness in young women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab* 90:2740-2746.
  330. **Birdsall MA, Farquhar CM, White HD** 1997 *Association between polycystic ovaries and extent of coronary artery disease in women having cardiac catheterization. Ann Intern Med* 126:32-35.

331. **Christian RC, Dumesic DA, Behrenbeck T, Oberg AL, Shetty II PF, Fitzpatrick LA** 2003 *Prevalence and predictors of coronary artery calcification in women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 88:2562-2568.
332. **Talbott EO, Zborowski JV, Rager JR, Boudreaux MY, Edmundowicz DA, Guzick DS** 2004 *Evidence for an association between metabolic cardiovascular syndrome and coronary and aortic calcification among women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 89:5454-5461.
333. **Shorff R, Kerchner A, Maifeld M, Van Beek EJR, Jagasia D, Dokras A** 2007 *Young obese women with polycystic ovary syndrome have evidence of early coronary atherosclerosis*. J Clin Endocrinol Metab 92:4609-4614.
334. **Legro RS** 2003 *Polycystic ovary syndrome and cardiovascular disease: a premature association?* Endocr Rev 24:302-312.
335. **Dahlgren E, Jarson PO, Johansson S, Lapidus L, Oden A** 1992 *Polycystic ovary syndrome and risk for myocardial infarction. Evaluated from a risk factor model based on a prospective population study of women*. Acta Obstet Gynecol Scand 71:599-604.
336. **Pierpoint T, McKeigue PM, Isaacs AJ, Wild SH, Jacobs HS** 1998 *Mortality of women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up*. J Clin Epidemiol 51:581-586.
337. **Wild SH, Pierpoint T, McKeigue P, Jacobs H** 2000 *Cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up: a retrospective cohort study*. Clin Endocrinol (Oxf) 52:595-600.
338. **Donesky BW, Adashi EY** 1995 *Surgically induced ovulation in the polycystic ovary syndrome: wedge resection revisited in the age of laparoscopy*. Fertil Steril 63:439-463.
339. **Solomon CG, Hu FB, Dunaif A, Rich-Edwards JE, Stampfer MJ, Willett WC, Speizer FE, Manson JE** 2002 *Menstrual cycle irregularity and risk for future cardiovascular disease*. J Clin Endocrinol Metab 87:2013-2017.
340. **Wild RA, Grubb B, Hartz A, Van Nort JJ, Bachman W, Bartholomew M** 1990 *Clinical signs of androgen excess as a risk factors for coronary artery disease*. Fertil Steril 54:255-259.
341. **Gorgels WJ, van der Graaf Y, Blankenstein MA, Collette HJ, Erkelens DW** 1997 *Urinary sex hormone excretions in premenopausal women and coronary heart disease risk: a nested case-reference study in the DOM-cohort*. J Clin Epidemiol 50:275-281.
342. **Barrett-Connor E, Goodman-Gruen D** 1995 *Prospective study of endogenous sex hormones and fatal cardiovascular disease in postmenopausal women*. BMJ 311:1193-1196.
343. **Talbott EO, Zborowski JV, Sutton-Tyrrell K, McHugh-Pemu KP, Guzick DS** 2001 *Cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome*. Obstet Gynecol Clin North Am 28:111-133, vii.
344. **Norman RJ, Davies MJ, Lord J, Moran LJ** 2002 *The role of lifestyle modification in polycystic ovary syndrome*. Trends Endocrinol Metab 13:251-257.
345. **Hoeger KM, Kochman L, Wixon N, Craig K, Miller RK, Guzick DS** 2004 *A randomized, 48-week, placebo controlled trial of intensive lifestyle modification and/or metformin therapy in overweight women with polycystic ovary syndrome: a pilot study*. Fertil Steril 82:421-429.
346. **Holte J, Bergh T, Berne C, Wide L, Lithell H** 1995 *Restored insulin sensitivity but persistently increased early insulin secretion after weight loss in obese women with polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 80:2586-2593.

347. **Andersen P, Seljeflot I, Abdelnoor M, Arnesen H, Dale PO, Lovik A, Birkeland K** 1995 *Increased insulin sensitivity and fibrinolytic capacity after dietary intervention in obese women with polycystic ovary syndrome.* *Metabolism* 44:611-616.
348. **Huber-Buchholz M-M, Carey DGP, Norman RJ** 1999 *Restoration of reproductive potential by lifestyle modification on obese polycystic ovary syndrome: role of insulin sensitivity and luteinizing hormone.* *J Clin Endocrinol Metab* 84:1470-1474.
349. **Crosignani PG, Colombo M, Vegetti W, Somigliana E, Gessati A, Ragni G** 2003 *Overweight and obese anovulatory patients with polycystic ovaries: parallel improvements in anthropometric indices, ovarian physiology and fertility rate induced by diet.* *Hum Reprod* 18:1928-1932.
350. **Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Lourehanta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M** 2001; *Finnish Diabetes Prevention Study Group.* *Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance.* *N Engl J Med* 344:1343-1350.
351. **Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM** 2002 *Diabetes Prevention Program Research Group.* *Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin.* *N Engl J Med* 346:393-403.
352. **Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Tomlinson L, Norman RJ** 2003 *Dietary composition in restoring reproductive and metabolic physiology in overweight women with polycystic ovary syndrome.* *J Clin Endocrinol Metab* 88:812-819.
353. **Mikkelsen PB, Toubro S, Astrup A** 2000 *Effect of fat-reduced diets on 24-h energy expenditure: comparisons between animal protein, vegetable protein, and carbohydrate diet.* *Am J Clin Nutr* 72:1135-1141.
354. **Piatti PM, Monti F, Fermo I, Baruffaldi L, Nasser R, Santambrogio G, Librenti MC, Galli-Kienle M, Pontiroli AE, Pozza G** 1994 *Hypocaloric high-protein diet improves glucose oxidation and spares lean body mass: comparison to hypocaloric high-carbohydrate diet.* *Metabolism* 43:1481-1487.
355. **Stamets K, Taylor DS, Kunselman A, Demers LM, Pelkman CL, Legro RS** 2004 *A randomized trial of the effects of two types of short-term hypocaloric diets on weight loss in women with polycystic ovary syndrome.* *Fertil Steril* 81:630-637.
356. **Douglas CC, Gower BA, Darnell BE, Ovalle F, Oster RA, Azziz R** 2006 *Role of diet in treatment of polycystic ovary syndrome.* *Fertil Steril* 85:679-688.
357. **Kasim-Karakas SE, Almario RU, Gregory L, Wong R, Todd H, Lasley BL** 2004 *Metabolic and endocrine effects of a polyunsaturated fatty acid-rich diet in polycystic ovary syndrome.* *J Clin Endocrinol Metab* 89:615-620.
358. **Bruner B, Chad K, Chizen D** 2006 *Effects of exercise and nutritional counseling in women with polycystic ovary syndrome.* *Appl Physiol Nutr Metab* 31:384-391.
359. **National Institute of Health** 1998 *Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults-The evidence report.* *Obes Res* 6:51S-209.
360. **Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Heine RJ, Holman RR, Sherwin R, Zinman B** 2006 *Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy.* *Diabetes Care* 29:1963-1972.
361. **Lord JM, Flight IH, Norman RJ** 2003 *Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis.* *BMJ* 327:951-956.
362. **Acbay O, Gundogdu S** 1996 *Can metformin reduce insulin resistance in polycystic ovary syndrome?* *Fertil Steril* 65:946-949.

363. **Ehrmann DA, Cavaghan MK, Imperial J, Sturis J, Rosenfield RL, Polonsky KS** 1997 *Effects of metformin on insulin secretion, insulin action, and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 82:524-530.
364. **Pasquali R, Gambineri A** 2006 *Insulin-sensitizing agents in polycystic ovary syndrome.* Eur J Endocrinol 154:763-775.
365. **Glueck CJ, Phillips H, Cameron D, Sieve-Smith L, Wang P** 2001 *Continuing metformin throughout pregnancy in women with polycystic ovary syndrome appears to safely reduce first-trimester spontaneous abortion: a pilot study.* Fertil Steril 75:46-52.
366. **Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, Carr BR, Diamond MP, Carson SA, Steinkampf MP, Coutifaris C, McGovern PG, Cataldo NA, Gosman GG, Nestler JE, Giudice LC, Leppert PC, Myers ER, Network CMM** 2007 *Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome.* N Engl J Med 356:551-566.
367. **Glueck CJ, Wang P, Kobayashi S, Phillips H, Sieve-Smith L** 2002 *Metformin therapy throughout pregnancy reduces the development of gestational diabetes in women with polycystic ovary syndrome.* Fertil Steril 77:520-525.
368. **Glueck CJ, Aregawi D, Winiarska M, Agloria M, Luo G, Sieve L, Wang P** 2006 *Metformin-diet ameliorates coronary heart disease factors and facilitates resumption of regular menses in adolescents with polycystic ovary syndrome.* J Pediatr Endocrinol Metab 19:831-842.
369. **Morin-Papunen L, Rautio K, Ruokonen A, Hedberg P, Puukka M, Tapanainen JS** 2003 *Metformin reduces serum C-reactive protein levels in women with polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 88:4649-4654.
370. **Yki-Yarvinen H** 2004 *Thiazolidinediones.* N Engl J Med 351:1106-1118.
371. **Dunaif A, Scott D, Finegood D, Quintana B, Whitcomb R** 1996 *The insulin-sensitizing agent troglitazone improves metabolic and reproductive abnormalities in the polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 81:3299-3306.
372. **Wang M, Wise SC, Leff T, Su TZ** 1999 *Troglitazone, an antidiabetic agent, inhibits cholesterol biosynthesis through a mechanism independent of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ .* Diabetes 48:254-260.
373. **Arlt W, Auchus RJ, Miller WL** 2001 *Thiazolidinediones but not metformin directly inhibit the steroidogenic enzymes P450c17 and 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase.* J Biol Chem 276:16767-16771.
374. **Glintborg D, Hermann AP, Andersen M, Hagen C, Beck-Nielsen H, Veldhuis JD, Henriksen JE** 2006 *Effect of pioglitazone on glucose metabolism and luteinizing hormone secretion in women with polycystic ovary syndrome.* Fertil Steril 86:385-397.
375. **Ghazeeri G, Kuttah WH, Bryer-Ash M, Haas D, Ke RW** 2003 *Effect of rosiglitazone on spontaneous and clomiphene citrate-induced ovulation in women with polycystic ovary syndrome.* Fertil Steril 79:562-566.
376. **Seto-Young D, Paliou M, Schlosser J, Avtanski D, Park A, Patel P, Holcomb K, Chang P, Poretsky L** 2005 *Direct thiazolidinedione action in the human ovary: insulin-independent and insulin-sensitizing effects on steroidogenesis and insulin-like growth factor binding protein-1 production.* J Clin Endocrinol Metab 90:6099-6105.
377. **Tarkun I, Çetinarslan B, Türemen E, Sahin T, Cantürk Z, Komsuoglu B** 2005 *Effect of rosiglitazone on insulin resistance, c-reactive protein and endothelial function in non-obese women with polycystic ovary syndrome.* Eur J Endocrinol 153:115-121.

378. **Ciotta L, Calogero AE, Farina M, De Leo V, La Marca A, Cianci A** 2001 *Clinical, endocrine and metabolic effects of acarbose, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, in PCOS patients with increased insulin response and normal glucose tolerance.* Hum Reprod 16:2066-2072.
379. **Nestler JE, Barlascini CO, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Clore JN, Blackard WG** 1989 *Suppression of serum insulin by diazoxide reduces serum testosterone levels in obese women with polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 68:1027-1032.
380. **Nestler JE, Jakubowicz DJ, Reamer P, Gunn RD, Allan G** 1999 *Ovulatory and metabolic effects of d-chiro-inositol in the polycystic ovary syndrome.* N Engl J Med 340:1314-1320.
381. **Gambineri A, Patton L, De Iasio R, Cantelli B, Cognini GE, Filicori M, Barreca A, Diamanti-Kandarakis E, Pagotto U, Pasquali R** 2005 *Efficacy of octreotide-LAR in dieting women with abdominal obesity and polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 90:3854-3862.
382. **Burkman RTJ** 1995 *The role of oral contraceptives in the treatment of hyperandrogenic disorders.* Am J Med 98:130S.
383. **Prelevic GM, Wurzbarger MI, Balint-Peric L, Puziaga Z** 1989 *Effects of a low-dose estrogen-antiandrogen combination (DIANE-35) on clinical signs of androgenization, hormone profile and ovarian size in patients with polycystic ovary syndrome.* Gynecol Endocrinol 3:269-280.
384. **Batukan C, Muderris II** 2006 *Efficacy of a new oral contraceptive containing drospirenona and ethinyl estradiol in the long-term treatment of hirsutism.* Fertil Steril 85:436-440.
385. **Cibula D, Hill M, Fanta M, Sindelka G, Zivny J** 2001 *Does obesity diminish the positive effect of oral contraceptive treatment on hyperandrogenism in women with polycystic ovarian syndrome?* Hum Reprod 16:940-944.
386. **Balen A** 2001 *Polycystic ovary syndrome and cancer.* Hum Reprod Update 7:522-525.
387. **Baillargeon J-P, McCliah DK, Essah PA, Nestler JE** 2005 *Association between the current use of low-dose oral contraceptives and cardiovascular arterial disease: a meta-analysis.* J Clin Endocrinol Metab 90:3863-3870.
388. **Chasan-Taber L, Stampfer MJ** 1998 *Epidemiology of oral contraceptives and cardiovascular disease.* Ann Intern Med 128:467-477.
389. **Rimm EB, Manson JE, Stampfer MJ, Hunter DJ, Colditz GA, Willett WC, Rosner B, Hennekens CH, Speizer FE** 1992 *Oral contraceptive use and the risk of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in a large prospective study of women.* Diabetologia 35:967-972.
390. **Chasan-Taber L, Willett WC, Stampfer MJ, Hunter DJ, Colditz GA, Spiegelman D, Manson JE** 1997 *A prospective study of oral contraceptives and NIDDM among U.S. women.* Diabetes Care 20:330-335.
391. **Diamanti-Kandarakis E, Baillargeon J-P, Iuorno MJ, Jakubowicz DJ, Nestler JE** 2003 *A modern medical quandary: polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and oral contraceptive pills.* J Clin Endocrinol Metab 88:1927-1932.
392. **Cagnacci A, Paoletti AM, Renzi A, Orrù M, Pilloni M, Melis GB, Volpe A** 2003 *Glucose metabolism and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome during therapy with oral contraceptives containing cyproterone acetate or desogestrel.* J Clin Endocrinol Metab 88:3621-3625.

393. **Morin-Papunen L, Vauhkonen I, Koivunen RM, Ruokonen A, Martikainen HK, Tapanainen J** 2000 *Endocrine and metabolic effects of metformin versus ethinyl estradiol-cyproterone acetate in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study.* J Clin Endocrinol Metab 85:3161-3168.
394. **Armstrong VL, Wiggam MI, Ennis CN, Sheridan B, Traub AI, Atkinson AB, Bell PM** 2001 *Insulin action and insulin secretion in polycystic ovary syndrome treated with ethinyl oestradiol/cyproterone acetate.* Q J Med 94:31-37.
395. **Morin-Papunen L, Vauhkonen I, Koivunen R, Ruokonen A, Martikainen H, Tapanainen JS** 2003 *Metformin versus ethinyl estradiol-cyproterone acetate in the treatment of nonobese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study.* J Clin Endocrinol Metab 88:148-156.
396. **Adams PJ** 2005 *Oral contraceptives and the management of hyperandrogenism-polycystic ovary syndrome in adolescents.* Endocrinol Metab Clin N Am 34:707-723.
397. **Azziz R** 2003 *The evaluation and management of hirsutism.* Obstet Gynecol 101:995-1007.
398. **Lobo RA, Skinner JB, Lippman JS, Cirillo SJ** 1996 *Plasma lipids and desogestrel and ethinyl estradiol: a meta-analysis.* Fertil Steril 65:1100-1109.
399. **Falsetti L, Pasinetti E** 1995 *Effects of long-term administration of an oral contraceptive containing ethinylestradiol and cyproterone acetate on lipid metabolism in women with polycystic ovary syndrome.* Acta Obstet Gynecol Scand 74:56-60.
400. **Rautio K, Tapanainen J, Ruokonen A, Morin-Papunen LC** 2005 *Effects of metformin and ethinyl estradiol-cyproterone acetate on lipid levels in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome.* Eur J Endocrinol 152:269-275.
401. **Petitti DB** 2003 *Combination estrogen-progestin oral contraceptives.* N Engl J Med 349:1443-1450.
402. **Murayama N, Matsunaga A, Tangbanluekal L, Tantawiwat S, Ohtsuka R** 2003 *Effects of oral contraceptive use on body mass index and blood pressure among female villagers in north-east Thailand.* J Biosoc Sci 35:243-261.
403. **Harborne L, Fleming R, Lyall H, Sattar N, Norman J** 2003 *Metformin or antiandrogen in the treatment of hirsutism in polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 88:4116-4123.
404. **Seaman HE, de Vries CS, Farmer RDT** 2003 *The risk of venous thromboembolism in women prescribed cyproterone acetate in combination with ethinyl estradiol: a nested cohort analysis and case-control study.* Hum Reprod 18:522-526.
405. **Archer JS, Chang J** 2004 *Hirsutism and acne in polycystic ovary syndrome.* Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 18:737-754.
406. **Zulian E, Sartorato P, Benedini S, Baro G, Armanini D, Mantero F, Scaroni C** 2005 *Spiroinolactone in the treatment of polycystic ovary syndrome: effects on clinical features, insulin sensitivity and lipid profile.* J Endocrinol Invest 28:49-53.
407. **O'Brien RC, Cooper ME, Murray RM, Seaman E, Thomas AK, Jerums G** 1991 *Comparison of sequential cyproterone acetate/estrogen versus spiroinolactone/oral contraceptive in the treatment of hirsutism.* J Clin Endocrinol Metab 72:1008-1013.
408. **Moggetti P, Tosi F, Tosti A, Negri C, Misciali C, Perrone F, Caputo M, Muggeo M, Castello R** 2000 *Comparison of spiroinolactone, flutamide, and finasteride efficacy in the treatment of hirsutism: a randomized, double blind, placebo-controlled trial.* J Clin Endocrinol Metab 85:89-94.
409. **Meyer C, McGrath BP, Teede HJ** 2007 *Effects of medical therapy on insulin resistance and the cardiovascular system in polycystic ovary syndrome.* Diabetes Care 30:471-478.

410. **Escobar-Morreale HF** 2004 *Macroprolactinemia in women presenting with hyperandrogenic symptoms: Implications for the management of polycystic ovary syndrome*. *Fertil Steril* 82:1697-1699.
411. **Loy SF, Likes EA, Andrews PM, Vincent WJ, Holland HJ, Kawai H, Cen S, Swenberger J, Van Loan M, Tanaka K, Heyward V, Stolarczyk L, Lohman TG, Going SB** 1998 *Easy grip on body composition measurements. Three labs show accuracy of hand-held fat analyzer*. *Am College Sports Med Health Fitness J* 2:16-19.
412. **Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC** 1985 *Homeostasis model assessment insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man*. *Diabetologia* 28:412-429.
413. **Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, Quon MJ** 2000 *Quantitative insulin sensitivity index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans*. *J Clin Endocrinol Metab* 85:2402-2410.
414. **Matsuda M, DeFronzo RA** 1999 *Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp*. *Diabetes Care* 22:1462-1470.
415. **Tai MM** 1994 *A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves*. *Diabetes Care* 17:152-154.
416. **Stumvoll M, Yki-Yarvinen H, Mitrakou A, Van Haefen T, Pimenta W, Renn W, Jenssen T, Gerich J** 2000 *Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity*. *Diabetes Care* 23:295-301.
417. **Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS** 1972 *Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge*. *Clin Chem* 18:499-502.
418. **Von Clauss A** 1957 *A gerinnungsphysiologische Schellmethode zur Bestimmung des fibrinogens*. *Acta Haematol* 17:237-246.
419. **Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM** 1999 *A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum*. *J Clin Endocrinol Metab* 84:3666-3672.
420. **Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JLJ, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JTJ, Roccella EJ, National Heart LaBIJNCoP, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee**. 2003 *The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 Report*. *JAMA* 289:2560-2571.
421. **Mancia G, Sega R, Bravi C, de Vito G, Valagussa F, Cesana G, Zanchetti A** 1995 *Ambulatory blood pressure normality: results from the PAMELA study*. *J Hypertens* 13:1377-1390.
422. **Veller MG, Fisher CM, Nicolaidis AN, Renton S, Geroulakos G, Stafford NJ, Sarker A, Szendro G, Belcaro G** 1993 *Measurement of the ultrasonic intima-media thickness in normal subjects*. *J Vasc Surg* 17:719-725.
423. **Luque-Ramírez M, Alvarez-Blasco F, Mendieta-Azcona C, Botella-Carretero JI, Escobar-Morreale HF** 2007 *Obesity is the major determinant of the abnormalities in blood pressure found in young women with the polycystic ovary syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab* 92:2141-2148.
424. **The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus** 1997 *Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. *Diabetes Care* 20:1183-1197.

425. **National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)** 2002 *Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III) final report*. *Circulation* 106:3143-3421.
426. **Malik J, Wichterle D, Haas T, Melenovsky V, Simek J, Stulc T** 2004 *Repeatability of noninvasive surrogates of endothelial function*. *Am J Cardiol* 94:693-696.
427. **Lo JC, Feigenbaum SL, Escobar GJ, Yang J, Crites YM, Ferrara A** 2006 *Increased prevalence of gestational diabetes mellitus among women with diagnosed polycystic ovary syndrome: a population-based study*. *Diabetes Care* 29:1915-1917.
428. **Avramoglu RK, Basciano H, Adeli K** 2006 *Lipid and lipoprotein dysregulation in insulin resistance states*. *Clin Chim Acta* 368:1-19.
429. **Burt VL, Cutler JA, Higgins M, Horan MJ, Labarthe D, Whelton P, Brown C, Roccella EJ** 1995 *Trends in the prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the adult US population. Data from the health examination surveys, 1960 to 1991*. *Hypertension* 26:60-69.
430. **O'Brien E, Murphy J, Tyndall A, Atkins N, Mee F, McCarthy G, Staessen J, Cox J, O'Malley K** 1991 *Twenty-four-hour ambulatory blood pressure in men and women aged 17 to 80 years: the Allied Irish Bank Study*. *J Hypertens* 9:355-360.
431. **Ohkubo T, Kikuya M, Metoki H, Asayama K, Obara T, Hashimoto J, Totsune K, Hoshi H, Satoh H, Imai Y** 2005 *Prognosis of "masked" hypertension and "white-coat" hypertension detected by 24-h ambulatory blood pressure monitoring. 10-year follow-up from the Ohasama study*. *J Am Coll Cardiol* 46:508-515.
432. **Montani JP, Antic V, Yang Z, Dulloo A** 2002 *Pathways from obesity to hypertension: from the perspective of a vicious triangle*. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26:S28-S38.
433. **Arslanian SA, Lewy VD, Danadian K** 2001 *Glucose intolerance in obese adolescents with polycystic ovary syndrome: roles of insulin resistance and b-cell dysfunction and risk of cardiovascular disease*. *J Clin Endocrinol Metab* 86:66-71.
434. **Verdecchia P, Schillaci G, Gatteschi C, Zampi I, Battistelli M, Bartoccini C, Porcellati C** 1993 *Blunted nocturnal fall in blood pressure in hypertensive women with future cardiovascular morbid events*. *Circulation* 88:986-992.
435. **Fernandez-Real JM, Lopez-Bermejo A, Ricart W** 2002 *Cross-talk between iron metabolism and diabetes*. *Diabetes* 51:2348-2354.
436. **Jehn M, Clark JM, Guallar E** 2004 *Serum ferritin and risk of the metabolic syndrome in U.S. adults*. *Diabetes Care* 27:2422-2428.
437. **Le Guenno G, Chanseume E, Ruivard M, Morio B, Mazur A** 2007 *Study of iron metabolism disturbances in an animal model of insulin resistance*. *Diab Res Clin Pract* 77:363-370.
438. **Luque-Ramírez M, Álvarez-Blasco F, Uriol-Rivera M, Escobar-Morreale HF** 2008 *Serum uric acid concentration as non-classic cardiovascular risk factor in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): effect of treatment with ethinyl-estradiol plus cyproterone acetate versus metformin*. *Hum Reprod* (in press).
439. **Niskanen LK, Laaksonen DE, Nyyssonen K, Alftan G, Lakka HM, Salonen JT** 2004 *Uric acid level as a risk factor for cardiovascular and all-cause mortality in middle-aged men: a prospective cohort study*. *Arch Intern Med* 164:1546-1551.

440. **Quiñones Galvan A, Natali A, Baldi S, Frascerra S, Sanna G, Ciociaro D, Ferrannini E** 1995 *Effect of insulin on uric acid excretion in humans*. Am J Physiol 268:E1-5.
441. **Mantzoros CS, Georgadis EI, Young R, Evagelopoulou C, Khoury S, Katsilambros N, Sowers JR** 1995 *Relative androgenicity, blood pressure levels, and cardiovascular risk factors in young healthy women*. Am J Hypertens 8:606-614.
442. **Vizzotto L, Vartemati M, Marinello E, Leoncini R, Pagani R, Pizzichini M** 1996 *Effect of testosterone on purine metabolism and morphometric parameters in the rat liver*. Mol Cell Endocrinol 119:123-127.
443. **Marinello E, Leoncini R, Terzouli L, Vannoni D, Porcelli B, Resconi G** 2004 *Effect of testosterone on purine nucleotide metabolism in rat liver*. Horm Metab Res 36:614-619.
444. **Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB** 2006 *Inflammation and insulin resistance*. J Clin Invest 116:1793-1801.
445. **Greenberg AS, Obin MS** 2006 *Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism*. Am J Clin Nutr 83:461S-465S.
446. **Yarnell JW, Baker IA, Sweetnam PM, Bainton D, O'Brien JR, Whitehead PJ, Elwood PC** 1991 *Fibrinogen, viscosity, and white blood cell count are major risk factors for ischemic heart disease. The Caerphilly and Speedwell collaborative heart disease study*. Circulation 83:836-844.
447. **Diamanti-Kandarakis E, Paterakis T, Kandarakis HA** 2006 *Indices of low-grade inflammation in polycystic ovary syndrome*. Ann N Y Acad Sci 1092:175-186.
448. **Ibañez L, Jaramillo AM, Ferrer A, de Zegher F** 2005 *High neutrophil count in girls and women with hyperinsulinaemic hyperandrogenism: normalization with metformin and flutamide overcomes the aggravation by oral contraception*. Hum Reprod 20:2457-2462.
449. **Lobo RA, Carmina E** 2000 *The importance of diagnosing the polycystic ovary syndrome*. Ann Intern Med 132:989-993.
450. **Slopien R, Lewandowski K, Kolacz E, Zawilska K, Warenik-Szymankiewicz A** 2006 *Comparison of fibrinolytic and metabolic system parameters in obese patients with polycystic ovary syndrome and women with simple obesity*. Gynecol Endocrinol 22:651-654.
451. **Carr A** 2001 *Diabetes mellitus: a hypercoagulate state*. J Diabetes Complications 15:44-54.
452. **Rauramaa R, Vaisanen SB** 1999 *Physical activity in the prevention and treatment of a thrombogenic profile in the obese: current evidence and research studies*. Med Sci Sports Exerc 31:S631-634.
453. **Pilo R, Aharony D, Raz A** 1981 *Testosterone potentiation of ionosphere and ADP induced platelet aggregation: relationship to arachidonic acid metabolism*. Thromb Haemost 46:538-542.
454. **Dereli D, Ozgen G, Buyukkececi F, Guney E, Yilmaz C** 2003 *Platelet dysfunction in lean women with polycystic ovary syndrome and association with insulin sensitivity*. J Clin Endocrinol Metab 88:2263-2268.
455. **Sowers MR, Jannausch M, Randolph JF, McConnell D, Little R, Lasley B, Pasternak R, Sutton-Tyrrell K, Matthews RA** 2005 *Androgens are associated with hemostatic and inflammatory factors among women at the mid-life*. J Clin Endocrinol Metab 90:6064-6071.
456. **Alexanderesen P, Christiansen C** 2004 *The aging male: testosterone deficiency and testosterone replacement. An up-date*. Atherosclerosis 173:157-169.

457. **Mueller A, Kiesewetter F, Binder H, Beckmann MW, Dittrich R** 2007 *Long-term administration of testosterone undecanoate every 3 months for testosterone supplementation in female-to-male transsexuals*. J Clin Endocrinol Metab 92:3470-3475.
458. **Buckler HM, McElhone K, Durrington PN, Mackness MI, Ludlam CA, Wu FC** 1998 *The effects of low-dose testosterone treatment on lipid metabolism, clotting factors and ultrasonographic ovarian morphology in women*. Clin Endocrinol (Oxf) 49:173-178.
459. **Goldsland IF, Crook D, Proudler AJ, Stevenson JC** 2005 *Hemostatic risk factors and insulin sensitivity, regional body fat distribution, and the metabolic syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 90:190-197.
460. **Mertens I, Van Gaal LF** 2002 *Obesity, haemostasis and the fibrinolytic system*. Obes Rev 3:85-101.
461. **Rask-Madsen C, King GL** 2007 *Mechanism of disease: endothelial dysfunction in insulin resistance and diabetes*. Nat Clin Pract Endocrinol Metab 3:46-56.
462. **Guzick DS, Talbott EO, Sutton-Tyrrell K, Herzog HC, Kuller LH, Wolfson SKJ** 1996 *Carotid atherosclerosis in women with polycystic ovary syndrome: initial results from a case-control study*. Am J Obstet Gynecol 174:1224-1229; discussion 1229-1232.
463. **Grassi G, Vailati S, Bertinieri G, Seravalle G, Stella ML, Dell'Oro R, Mancia G** 1998 *Heart rate as a marker of sympathetic activity*. J Hypertens 16:1635-1639.
464. **Paulleto P, Scannapieco G, Pessina AC** 1991 *Sympathetic drive and vascular damage in hypertension and atherosclerosis*. Hypertension 17:III75-81.
465. **Luque-Ramírez M, Alvarez-Blasco F, Botella-Carretero JI, Martínez-Bermejo E, Lasunción MA, Escobar-Morreale HF** 2007 *Comparison of ethinyl-estradiol plus cyproterone acetate versus metformin effects on classic metabolic cardiovascular risk factors in women with the polycystic ovary syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 92:2453-2461.
466. **Gordon DJ, Rifkind BM** 1989 *High-density lipoprotein cholesterol and the clinical implications of recent studies*. N Engl J Med 321:1311-1316.
467. **Wild RA** 2002 *Polycystic ovary syndrome: a risk for coronary artery disease?* Am J Obstet Gynecol 186:35-43.
468. **Saenz A, Fernandez-Esteban I, Mataix A, Ausejo M, Roque M, Moher D** 2005 *Metformin monotherapy for type 2 diabetes mellitus*. Cochrane Database Syst Rev 3:CD002966.
469. **Lord JM, Filght IH, Norman RJ** 2003 *Insulin-sensitizing drugs (metformin, troglitazone, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for polycystic ovary syndrome*. Cochrane Database Syst Rev 3:CD003053.
470. **Dong W, Colhoun HM, Poulter NR** 1997 *Blood pressure on women using oral contraceptives: results from the Health Survey for England 1994*. J Hypertens 15:1063-1068.
471. **Botella-Carretero JI, Luque-Ramírez M, Alvarez-Blasco F, San Millan JL, Escobar-Morreale HF** 2006 *Mutations in hereditary hemochromatosis gene are not associated with the increased body iron stores observed in overweight and obese women with polycystic ovary disease*. Diabetes Care 29:2556.
472. **Luque-Ramírez M, Alvarez-Blasco F, Botella-Carretero JI, Sanchon R, San Millan JL, Escobar-Morreale HF** 2007 *The increased body iron stores of obese women with polycystic ovary syndrome are a consequence of insulin resistance and*

- hyperinsulinism, and do not result from reduced menstrual losses. Diabetes Care 30:2309-2313.*
473. **Berria R, Gastaldelli A, Lucidi S, Belfort R, De Filippis E, Easton C, Brytzki R, Cusi K, Jovanovic L, DeFronzo R** 2006 *Reduction in hematocrit level after pioglitazone treatment is correlated with decreased plasma free testosterone level, not hemodilution, in women with polycystic ovary syndrome. Clin Pharmacol Ther 80:105-114.*
474. **Benz EJJ** *Clinical manifestations of the thalasseмииs.* In Up To Date Rose BD, Ed Waltham, MA, UpToDate, Inc, 2007.
475. **Niederau C, Berger M, Stremmel W, Starke A, Strohmeyer G, Ebert R, Siegel E, Creutzfeldt W** 1984 *Hyperinsulinaemia in non-cirrhotic haemochromatosis: impaired hepatic insulin degradation? Diabetologia 26:441-444.*
476. **Merkel PA, Simonson DC, Amiel SA, Plewe G, Sherwin RS, Pearson HA, Tamborlane WV** 1988 *Insulin resistance and hyperinsulinemia in patients with thalassemia major treated by hemotransfussion. N Engl J Med 318:809-814.*
477. **Fernandez-Real JM, Penarroja G, Castro A, Garcia-Bragado F, Hernandez-Aguado I, Ricart W** 2002 *Blood letting in high-ferritin type 2 diabetes: effects on insulin sensitivity and beta-cell function. Diabetes 51:1000-1004.*
478. **Facchini FS** 1998 *Effect of phlebotomy on plasma glucose and insulin concentrations. Diabetes Care 21:2190.*
479. **Hua NW, Stoohs RA, Facchini FS** 2001 *Low iron status and enhanced insulin sensitivity in lacto-ovo vegetarians. Br J Nutr 86:515-519.*
480. **Cooksey RC, Jouihan HA, R.S. A, Hazel MW, Jones DL, Kushner JP, McClain DA** 2004 *Oxidative stress, beta-cell apoptosis, and decreased insulin secretory capacity in mouse models of hemochromatosis. Endocrinology 145:5305-5312.*
481. **Adamopoulos D, Vlassopoulos C, Seitanides B, Contoyiannis P, Vassilopoulos P** 1977 *The relationship of sex steroids to uric acid levels in plasma and urine. Acta Endocrinol (Copenh) 85:198-208.*
482. **Nicholls A, Scott JT** 1972 *Effect of weight-loss on plasma and urinary levels of uric acid. Lancet 2:1223-1224.*
483. **Zegura B, Kener I, Sebestjen M, Koenig W** 2003 *Double blind, randomized study of estradiol replacement therapy on markers of inflammation, coagulation and fibrinolysis. Atherosclerosis 168:123-129.*
484. **Vitale C, Cornoldi A, Gebara O, Silvestri A, Waijngarten M, Cerquetani E, Fini M, Ramires JA, Rosano GM** 2005 *Interleukin-6 and flow-mediated dilation as markers of increased vascular inflammation in women receiving hormone therapy. Menopause 552:552-558.*
485. **van Rooijen M, Hansson LO, Frostegard J, Silveira A, Hamsten A, Bremme K** 2006 *Treatment with combined oral contraceptives induces a rise in serum C-reactive protein in absence of a general inflammatory response. J Thromb Haemost 4:77-82.*
486. **Banaszewska B, Pawelczyk L, Spaczynski RZ, Dziura J, Duleba AJ** 2007 *Effects of simvastatin and oral contraceptive agent on polycystic ovary syndrome: prospective, randomized, crossover trial. J Clin Endocrinol Metab 92:456-461.*
487. **Orvieto R, Fisch N, Yulrazi-Roll V, La Marca A** 2005 *Ovarian androgens but not estrogens correlate with the degree of systemic inflammation observed during controlled ovarian hyperstimulation. Gynecol Endocrinol 21:170-173.*
488. **Harborne LR, Sattar N, Norman JE, Fleming R** 2005 *Metformin and weight loss in obese women with polycystic ovary syndrome: comparison of doses. J Clin Endocrinol Metab 90:4593-4598.*

489. **Kjotrod SB, Romundstad P, von Düring V, Sunde A, Carlsen SM** 2007 *C-Reactive protein levels unaffected by metformin during pretreatment and IVF cycle in women with polycystic ovary syndrome*. Fertil Steril Jun 2; [Epub ahead of print].
490. **Diamanti-Kandarakis E, Paterakis T, Alexandraki K, Piperi C, Aessopos A, Katsikis I, Katsilambros N, Kreams G, Panidis D** 2006 *Indices of low-grade chronic inflammation in polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin*. Hum Reprod 21:1426-1431.
491. **Orio F, Manguso F, Di Biase S, Falbo A, Giallauria F, Labella D, Tolino A, Lombardi G, Colao A, Palomba S** 2007 *Metformin administration improves leukocyte count in women with polycystic ovary syndrome: a 6-month prospective study*. Eur J Endocrinol 157:69-73.
492. **Ibañez L, de Zegher F** 2004 *Ethinylestradiol-drospirenone, flutamide-metformin, or both for adolescents and women with hyperinsulinemic hyperandrogenism: opposite effects on adipocytokines and body adiposity*. J Clin Endocrinol Metab 89:1592-1597.
493. **Carey AL, Febbraio MA** 2004 *Interleukin-6 and insulin sensitivity: friend or foe?* Diabetologia 47:1135-1142.
494. **Martínez-Bermejo E, Luque-Ramírez M, Escobar-Morreale HF** 2007 *Obesity and the polycystic ovary syndrome*. Minerva Endocrinol 32:129-140.
495. **Dieudonne MN, Pecquery R, Boumediene A, Leneveu MC, Giudicelli Y** 1998 *Androgen receptors in human preadipocytes and adipocytes: regional specificities and regulation by sex steroids*. Am J Physiol 274:C1645-1652.
496. **Joyner J, Hutley L, Cameron D** 2002 *Intrinsic regional differences in androgen receptors and dihydrotestosterone metabolism in human preadipocytes*. Horm Metab Res 34:223-228.
497. **Xu A, Chan KW, Hoo RL, Wang Y, Tan KC, Zhang J, Chen B, Lam MC, Tse C, Cooper GJ, Lam KS** 2005 *Testosterone selectively reduces the high molecular weight form of adiponectin by inhibiting its secretion from adipocytes*. J Biol Chem 280:18073-18080.
498. **Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, Maeda N, Kuriyama H, Nagaretani H, Matsuda M, Kondo H, Furuyama N, Kihara S, Nakamura T, Tochino Y, Funahashi T, Matsuzawa Y** 2002 *Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein*. Diabetes 51:2734-2741.
499. **Lanfranco F, Zitzmann M, Simoni M, Nieschlag E** 2004 *Serum adiponectin levels in hypogonadal males: influence of testosterone replacement therapy*. Clin Endocrinol (Oxf) 60:500-507.
500. **Page ST, Herbst KL, Amory JK, Coviello AD, Anawalt BD, Matsumoto AM, Bremner WJ** 2005 *Testosterone administration suppresses adiponectin levels in men*. J Androl 26:85-92.
501. **Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF** 1996 *Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans*. N Engl J Med 334:292-295.
502. **Erturk E, Kuru N, Savci V, Tuncel E, Ersoy C, Imamoglu S** 2004 *Serum leptin levels correlate with obesity parameters but not with hyperinsulinism in women with polycystic ovary syndrome*. Fertil Steril 82:1364-1368.
503. **Glintborg D, Andersen M, Hagen C, Frystyk J, Hulstrom V, Flyvbjerg A, Hermann AP** 2006 *Evaluation of metabolic risk markers in polycystic ovary syndrome (PCOS). Adiponectin, ghrelin, leptin and body composition in hirsute PCOS patients and controls*. Eur J Endocrinol 155:337-345.

504. **Vicennati V, Gambineri A, Calzoni F, Casimirri F, Macor C, Vettor R, Pasquali R** 1998 *Serum leptin in obese women with polycystic ovary syndrome is correlated with body weight and fat distribution but not with androgen and insulin levels.* Metabolism 47:988-992.
505. **Morin-Papunen LC, Koivunen RM, Tomás C, Ruukonen A, Martikainen HK** 1998 *Decreased serum leptin concentrations during metformin therapy in obese women with polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 83:2566-2568.
506. **Romualdi D, Campagna G, Selvaggi LJ, Cento R, Proto C, Lanzone A, Guido M** 2007 *Metformin treatment does not affect total leptin levels and free leptin index in obese patients with polycystic ovary syndrome.* Fertil Steril Jul 19; [Epub ahead of print].
507. **Krotkiewski M, Landin K, Dahlgren E, Janson PO, Holm G** 2003 *Effect of two modes of antiandrogen treatment on insulin sensitivity and serum leptin in women with PCOS.* Gynecol Obstet Invest 55:88-95.
508. **Inoue M, Yano M, Yamakado M, Maehata E, Suzuki S** 2006 *Relationship between the adiponectin-leptin ratio and parameters of insulin resistance in subjects without hyperglycemia.* Metabolism 55:1248-1254.
509. **Satoh N, Naruse M, Usui T, Tagami T, Suganami T, Yamada K, Kuzuya H, Shimatsu A, Ogawa Y** 2004 *Leptin-to-adiponectin ratio as a potential atherogenic index in obese type 2 diabetic patients.* Diabetes Care 27:2488-2490.
510. **Kotani K, Sakane N, Saiga K, Kurozawa Y** 2005 *Leptin : adiponectin ratio as an atherosclerosis index in patients with type 2 diabetes: relationship of the index to carotid intima-media thickness.* Diabetologia 48:2684-2686.
511. **Xita N, Papassotiriou I, Georgiou I, Vounatsou M, Margeli A, Tsatsoulis A** 2007 *The adiponectin-to-leptin ratio in women with polycystic ovary syndrome: relation to insulin resistance and proinflammatory markers.* Metabolism 56:766-771.
512. **Bailey CJ, Turner RC** 1996 *Metformin.* N Engl J Med 334:574-579.
513. **Franks S, Layton A, Glasier A** 2008 *Cyproterone acetate/ethinyl estradiol for acne and hirsutism: time to revise prescribing policy.* Hum Reprod 23:231-232.
514. **Koh SC, Tarnam SS, Tsakok FH** 1990 *Comparative study on the effect of Diane and Microgynon 50 contraceptive on the haemostatic mechanism in Chinese subjects.* Singapore Med J 31:116-122.
515. **Petitti DB** 2006 *Oral contraceptives and hypercoagulation.* Clin Adv Hematol Oncol 4:813-815.
516. **Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R** 1998 *Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies.* JAMA 279:1477-1482.
517. **Fibrinogen Studies Collaboration** 2007 *Associations of plasma disease risk factors, inflammatory markers, and other characteristics: individual participant meta-analysis of 154,211 adults in 31 prospective studies: the fibrinogen studies collaboration.* Am J Epidemiol 166:867-879.
518. **Solá E, Vayá A, Simó M, Hernández-Mijares A, Morillas C, España F, Estellés A, Corella D** 2007 *Fibrinogen, plasma viscosity and blood viscosity in obesity. Relationship with insulin resistance.* Clin Hemorheol Microcirc 37:309-318.
519. **Larsson-Cohn U, Fahraeus L, von Schenck H, Wallentin L** 1986 *Effects on the lipoprotein metabolism of an antiandrogen-estrogen oral contraceptive drug.* Acta Obstet Gynecol Scand 65:125-128.
520. **Ernst E, Schmölzl C, Matrai A, Schramm W** 1989 *Hemorheological effects of oral contraceptives.* Contraception 40:571-580.

521. **Vanky E, Salvesen KA, Hjorth-Hansen H, Bjerve K, Carlsen SM** 2006 *Beneficial effect of metformin on pregnancy outcome in women with polycystic ovary syndrome is not associated with major changes in C-reactive protein levels or indices of coagulation.* Fertil Steril 85:770-774.
522. **Vrbíkova J, Bicíková M, Tallová J, Hill M, Stárka L** 2002 *Homocysteine and steroids levels in metformin treated women with polycystic ovary syndrome.* Exp Clin Endocrinol Diabetes 110:74-76.
523. **Kilicdag EB, Bagis T, Zeyneloglu H, Tarim E, Aslan E, Haydardedeoglu B, Erkanli S** 2005 *Homocystein levels in women with polycystic ovary syndrome treated with metformin versus rosiglitazone: a randomized study.* Hum Reprod 20:894-899.
524. **Grant PJ** 2003 *Beneficial effects of metformin on haemostasis and vascular function in man.* Diabetes Metab 29:6S44-52.
525. **Standeven KF, Ariëns RA, Whitaker P, Ashcroft AE, Grant PJ** 2002 *The effect of dimethylbiguanide on thrombin activity, FXIII activation, fibrin polymerization, and fibrin clot formation.* Diabetes 51:189-197.
526. **De Jager J, Kooy A, Lehert P, Bets D, Wulffelé MG, Teerlink T, Scheffer PG, Schalkwijk CG, Donker AJ, Stehouwer CD** 2005 *Effects of short-term treatment with metformin on markers of endothelial function and inflammatory activity in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial.* J Intern Med 257:100-109.
527. **Lowenstein L, Damti A, Pillar G, Shott S, Blumenfeld Z** 2007 *Evaluation of endothelial function in women with polycystic ovary syndrome.* Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 134:208-212.
528. **Liand YL, Teede H, Kotsopoulos D, Shiel L, Cameron JD, Dart AM, McGrath BP** 1998 *Non-invasive measurements of arterial structure and function: repeatability, interrelationships and trial sample size.* Clin Sci (Lond) 95:669-679.
529. **De Roos NM, Bots ML, Schouten EG, Katan MB** 2003 *Whitin-subjects variability of flow-mediated vasodilation of the brachial artery in healthy men and women: implications for experimental studies.* Ultrasound Med Biol 29:401-406.
530. **Luque-Ramírez M, Mendieta-Azcona C, Álvarez-Blasco F, Escobar-Morreale HF** 2007 *Androgen excess is associated with the increased carotid intima-media thickness observed in young women with polycystic ovary syndrome.* Hum Reprod 22:3197-3203.
531. **Stocker DJ, Taylor AJ, Langley RW, Jezior MR, Vigersky RA** 2007 *A randomized trial of the effects of rosiglitazone and metformin on inflammation and subclinical atherosclerosis in patients with type 2 diabetes.* Am Heart J 153:445.e441-446.

**ANEXO (PUBLICACIONES).-**

