

UNIVERSIDAD DE VALENCIA

Facultad de Medicina

Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología.

Programa de Doctorado: 290E



Estudio del riesgo cardiovascular en pacientes con Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP). Creación de grupos de riesgo.

Tesis Doctoral

Presentada por:

Marta García Gamón Valero

Dirigida por:

Dra. Ana Monzó Miralles

Dr. Antonio Pellicer Martínez

Dr. Alberto Romeu Sarrió.

Valencia 2015.

Índice general

Índice

Índice de abreviaturas

Índice de figuras

Índice de tablas

1.- Introducción:	1
1.1 Justificación.	1
1.2 Concepto e importancia.	2
1.3 Epidemiología.	5
1.4 Aspectos genéticos.	6
1.5 Fisiopatología del SOP.	7
2.- Riesgo cardiovascular y SOP:	15
2.1 Hipertensión arterial y SOP.	15
2.2 Obesidad y SOP.	16
2.3 Hiperlipidemia y SOP.	24
2.4 Estado proinflamatorio y SOP.	25
2.5 Alteraciones del metabolismo hidrocarbonado.	27
2.6 Metabolismo del tejido adiposo y SOP.	33
2.6.1 Adipogénesis.	33
2.6.2 Regulación del metabolismo lipídico.	34
2.6.3 Tejido adiposos y citokinas.	35
2.6.3.1 Tejido adiposo y respuesta inflamatoria.	35
2.6.3.2. Sustancias segregadas por el tejido	36

2.6.3.2.1 Adiponectina.	37
2.6.3.2.2 Leptina.	38
2.6.3.2.3 Resistina.	40
2.6.3.2.4 TNF- α .	41
3.- Hipótesis de trabajo y objetivos:	
3.1 Hipótesis de trabajo.	43
3.2 Objetivos:	43
Principal.	
Secundario.	
4.- Material y métodos:	
4.1 Diseño.	44
4.2 Ámbito.	44
4.3 Pacientes.	44
4.3.1 Criterios de inclusión.	45
4.3.2 Criterios de exclusión.	46
4.4 Intervenciones.	46
4.5 Análisis estadístico.	
4.5.1 Análisis univariante descriptivo.	52
4.5.2 Análisis comparativo bivariante.	53
4.5.3 Análisis multivariante predictivo de Riesgo Cardiovascular.	53
5.- Resultados:	
5.1 Análisis univariante descriptivo.	64
5.2 Análisis bivariante comparativo.	66

5.3 Análisis multivariante predictivo.	71
6.- Discusión:	
6.1 Análisis bivariante.	98
6.2 Análisis multivariante.	102
6.3 Limitaciones del estudio.	108
7.- Conclusiones.	111
8.- Bibliografía.	112

ACTH: Hormona adrenocorticotropa.

AES: Androgen Excess Society.

AG: Ácidos grasos.

AMH: hormona antimulleriana.

AMPK: Proteinkinasa dependiente del AMPc.

AR: receptor androgénico.

ASRM: American Society for Reproductive Medicine

CMM: Células madre mesenquimales.

CRH: Hormona corticotropa.

CT: Colesterol total.

DMT2: Diabetes mellitus tipo 2.

E1: Estrona.

E2: Estradiol.

EGF: Epidermal growth factor.

ESHRE: European Society of Human Reproduction and Embriology.

FGm: Índice de Ferriman Gallwey modificado.

FRCV: Factor de riesgo cardiovascular.

FSH: Hormona foliculoestimulante.

GnRH: Hormona liberadora de gonadotrofina.

HDL-Col: High density colesterol protein.

HOMA: Homeostasis model assessment.

HSL: Lipasa sensible a hormonas.

HTA: Hipertensión arterial.

ICC: Índice cintura-cadera.

IGF-1: Insulin growth factor 1.

IGFBP: Insulin growth factor binding protein.

IL-6: Interleukina 6.

IMC: Índice de masa corporal.

IOG: Intolerancia oral a la glucosa.

KNDy: Neuronas con receptor a Kisspeptina, Neurokinina y Dynorfina.

LDL-Col: Low density cholesterol protein.

LH: Hormona luteinizante.

NIH: National Institutes of Health and Human Development.

PCRus: Proteína C reactiva ultrasensible.

PPARY: Receptor activado por la proliferación de peroxisomas.

RCV: Riesgo cardiovascular.

SHBG: Sex hormone binding globulin.

SNC: Sistema nervioso central.

SOP: Síndrome de ovarios poliquísticos.

TAB: Tejido adiposo blanco.

TAD: Tensión arterial diastólica.

TAP: Tejido adiposo pardo.

TAS: Tensión arterial sistólica.

TGF- β : Transforming growth factor β .

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa.

VLDL-Col: Very low density cholesterol protein.

Índice de figuras:

Figura 1: Circuito de secreción de GnRH mediante la vía Kisspeptina	9
Figura 2: Esquema de la regulación de esteroides en el hiperandrogenismo	11
Figura 3: Regulación de los esteroides sexuales	13
Figura 4: Relación entre la insulina e IGF con el ovario y sus ejes reguladores.	18
Figura 5: Circuito desde el colesterol hasta la obtención de esteroides sexuales.	21
Figura 6: Escala de Ferriman Gallwey.	45
Figura 7: Gráficos de diagnóstico de modelo continuo, análisis de residuos, identificación de outliers y puntos de influencia.	78
Figura 8: Gráficos de diagnóstico de modelo categorizado, análisis de residuos identificación de outliers y puntos de influencia.	79
Figura 9: Distribución de densidad de la probabilidad estimada de la población de estudio en relación a la presencia de RCV.	81
Figura 10: Curva ROC comparativa para los modelos de RL logística con variables continuas (AUC= 92%, 95% IC=86-98) y variables categóricas (AUC= 90% (95% IC 85-95%).	86
Figura 11: Tabla dinámica digital para cálculo individual del RCV. Ejemplo de paciente con riesgo elevado con odds ratio de 14,59; Adiponectina 3.30 µg/ml, PCRus ≥3 mg/dl e FGm 13.	92
Figura 12: Tabla dinámica digital para cálculo individual del RCV. Ejemplo de paciente con riesgo bajo con odds ratio de 1,11; Adiponectina 3.30 µg/ml, PCRus ≥3 mg/dl e FGm 9-12.	92
Figura 13: Tabla dinámica digital para cálculo individual del RCV. Ejemplo de paciente con riesgo intermedio con Odds.	93

Figura 14: Nomograma de cálculo individualizado de RCV en pacientes con SOP. 94

SOP.- Las líneas de color rojo representan los puntos asignados a cada valor de las variables predictoras. La suma total es de 89 puntos. Línea azul representa la probabilidad de RCV asignada de acuerdo a los puntos totales. Probabilidad 0,25. Con un punto de corte de 0,50, se le cataloga como sin RCV.

Figura 15: Nomograma de cálculo individualizado de RCV en pacientes con SOP. 95

SOP.- Las líneas de color rojo representan los puntos asignados a cada valor de las variables predictoras. La suma total es de 130 puntos. Línea azul representa la probabilidad de RCV asignada de acuerdo a los puntos totales. Probabilidad 0,93. Con un punto de corte de 0,50, se le cataloga como con RCV.

Índice de tablas:

Tabla 1: Criterios del NIH para el diagnóstico de SOP.	2
Tabla 2: Criterios de ESRHE/ASRM Rotterdam para el diagnóstico de SOP	3
Tabla 3: Diferentes fenotipos dentro del diagnóstico de SOP según los Criterios de Rotterdam.	4
Tabla 4: Prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular como causa de muerte en la población española en 2005.	15
Tabla 5: Relación de efectos de la insulina que favorecen la aparición de SOP.	17
Tabla 6: Relación de efectos de los IGF's sobre las células de la granulosa.	20
Tabla 7: Relación de efectos de los IGF's sobre las células de la teca.	20
Tabla 8: Consecuencias de la intolerancia a la glucosa.	31
Tabla 9: Criterios de inclusión en el estudio.	45
Tabla 10: Criterios de exclusión del estudio.	46
Tabla 11: Esquema de los datos recogidos en la primera visita.	47
Tabla 12: Esquema de datos recogidos en la segunda visita.	47
Tabla 13: Relación de variables clínicas y antropométricas.	48
Tabla 14: Relación de determinaciones hormonales.	49
Tabla 15: Relación de determinaciones hematológicas y bioquímicas ordinarias.	49
Tabla 16: Relación de determinaciones de variables del metabolismo hidrocarbonado.	49
Tabla 17: Relación de determinaciones de variables del metabolismo lipídico.	50
Tabla 18: Relación de determinaciones de variables del metabolismo adipocitario.	50
Tabla 19: Listado de variables consideradas como respuesta.	55
Tabla 20: Categorización de variables cuantitativas.	56

Tabla 21: Variables dummy con más de dos categorías	56
Tabla 22: Distribución de variables según la presencia o ausencia de SOP.	65
Tabla 23: Comparación de medias de variables antropométricas.	66
Tabla 24: Comparación de medias de valores de tensión arterial.	67
Tabla 25: Comparación de medias de índice de Ferriman Gallwey y de duración del ciclo menstrual.	68
Tabla 26: Comparación de medias de valores de serie blanca y de PCRus.	68
Tabla 27: Comparación de medias de valores del metabolismo hidrocarbonado.	69
Tabla 28: Comparación de medias de valores del metabolismo lipídico.	70
Tabla 29: Comparación de medias de valores del metabolismo adipocitario.	71
Tabla 30: Resultados del análisis de regresión logística del modelo continuo.	72
Tabla 31: Resultados del análisis de regresión logística del modelo categorizado.	73
Tabla 32: Estadígrafos de bondad de ajuste global del modelo continuo.	74
Tabla 33: Estadígrafos de bondad de ajuste global del modelo categorizado.	75
Tabla 34: Análisis de los residuos deviance de los modelos.	77
Tabla 35: Comparación de datos observados y predichos de RCV por el modelo continuo.	78
Tabla 36: Resumen de las características diagnósticas del modelo continuo como herramienta predictiva.	83
Tabla 37: Comparación de datos observados y predichos de RCV por el modelo categorizado.	84
Tabla 38: Resumen de las características diagnósticas del modelo categorizado como herramienta predictiva.	85
Tabla 39: Tabla de contingencia. Calibración del modelo continuo.	87

Tabla 40: Tabla de contingencia. Calibracion del modelo categorizado.	88
Tabla 41: Grupos de riesgo cardiovascular según el modelo.	90
Tabla 42: Prevalencia del SOP dependiendo de los diferentes criterios diagnósticos.	109

Agradecimientos

A mis padres, por todo lo que me han enseñado. Sin ellos nada habría sido posible.

A los Doctores Ana Monzó y Alberto Romeu, quienes me dieron mi primera oportunidad y creyeron en mi para este proyecto. Siempre estaré en deuda con vosotros.

Al Doctor Antonio Pellicer por sumarse a este proyecto y hacerlo propio.

A mis hijos Pepe y Marta, por todo el tiempo que este trabajo les ha robado.

A mis compañeros de la Unidad de Reproduccion Humana del H.U.P La Fe por su colaboración en este proyecto.

A todas las pacientes de este estudio. Gracias por su colaboración y paciencia.

Al Dr. José Luis Ruiz Cerdá que con su voluntad e inteligencia han hecho de este proyecto algo extraordinario. Trabajar contigo ha sido todo un reto que ha merecido inmensamente la pena. Te quiero.

1. Introducción:

1.1 Justificación: El síndrome de ovarios poliquísticos (SOP) afecta del 4 al 7% de las pacientes en edad fértil (1). La enfermedad cardiovascular es la causa de mortalidad más frecuente en la mujer menopáusica. Nos encontramos ante dos patologías que afectan de manera importante a la mujer en diferentes etapas de su vida, que producen una modificación notable en su calidad de vida (2) y que, con frecuencia, están relacionadas.

El SOP es una enfermedad sistémica de afectación multiorgánica con manifestaciones clínicas que se inician ya en la etapa peripuberal y que traducen una alteración endocrinológica ovárica (3).

Diversos estudios han demostrado que las pacientes con SOP presentan alteraciones proaterógenas del metabolismo lipídico (4) e hidrocarbonado junto a elevación de marcadores de inflamación como los leucocitos (5), la PCR ultrasensible o el factor de necrosis tumoral α (6). Estas alteraciones están relacionadas causalmente con un aumento del riesgo cardiovascular. Pero además, el SOP está asociado a un factor de reconocido riesgo cardiovascular como es la obesidad. De tal forma que existe un problema a la hora de analizar si el SOP es realmente un factor predictivo de riesgo cardiovascular independiente del resto de factores o se trata meramente de un factor de confusión. La única manera de valorar la capacidad predictiva independiente de un determinado factor que puede estar actuando como confusión, es llevar a cabo un análisis multivariante controlando el resto de variables.

El objeto de este estudio es poder demostrar que el SOP eleva de manera independiente de otros factores el RCV y llevar a cabo estimaciones individualizadas para poder desarrollar y crear grupos de riesgo bien definidos. De esta forma, se podrían llevar a cabo estrategias clínicas para el control y tratamiento de las patologías asociadas. En este sentido, el ginecólogo se encuentra en una posición de privilegio ya que, tanto las alteraciones del ciclo como la esterilidad o la aparición de hirsutismo (presencia de pelo terminal, hormonodependiente en lugares del cuerpo en los que la

mujer carece normalmente de él) que conlleva este síndrome se encuentran entre los motivos de consulta más frecuentes de consulta ginecológica.

1.2 Concepto e importancia: Se considera que el SOP tal y como hoy lo conocemos fue descrito en 1935 por Stein y Leventhal (7) tras los estudios realizados en 7 pacientes que presentaban amenorrea, hirsutismo y esterilidad, siendo 4 de ellas obesas. Estas pacientes presentaban ovarios de gran tamaño con numerosos quistes. Se les practicó una resección de entre el 50 al 75 % de la superficie consiguiéndose menstruaciones regulares en todas ellas y quedando 2 gestantes. Basaron su técnica quirúrgica en la idea de que el engrosamiento de la túnica impedía a los folículos llegar a la superficie del ovario y al adelgazar ésta se producían ovulaciones espontáneas. La importancia de esta publicación no radica sólo en ser la primera sino que además, aporta el tratamiento quirúrgico que, con determinadas variaciones tecnológicas, está vigente en la actualidad.

Es difícil delimitar el concepto de SOP. Fundamentalmente se basa en la presencia de oligomenorrea por anovulación crónica e hiperandrogenismo no tumoral de origen ovárico con exclusión de otras patologías como la hiperprolactinemia, la disfunción tiroidea suprarrenal.

La heterogenicidad del síndrome y el avance en los métodos diagnósticos han supuesto variaciones en los criterios diagnósticos a lo largo del tiempo.

Así, no fue hasta 1990 cuando se realizó en Bethesda por el National Institutes of Health and Human Development (NIH) la primera conferencia sobre el SOP llegándose al acuerdo de considerar a las pacientes con SOP a aquellas que presentaban ambos criterios (Tabla 1).

Tabla 1	NIH 1990
	Anovulación crónica
	Hiperandrogenismo clínico o biológico habiendo excluido otras etiologías*.

*Suprarrenal, tiroidea, tumoral, hiperprolactinemia.

Se considera hiperandrogenismo cuando se produce un exceso de actividad de los andrógenos sobre sus órganos diana (folículo pilosebáceo fundamentalmente) e hiperandrogenemia a la presencia de niveles circulantes elevados de estos andrógenos. Dependiendo de la expresión de los receptores androgénicos y del metabolismo y transporte periférico de los andrógenos variará la intensidad del hiperandrogenismo. Es importante recalcar que la presencia de ovarios de aspecto poliquístico ecográfico se puede observar en pacientes con ciclos normales y en ausencia de hiperandrogenemia.

Es por esto, que en el año 2003 se revisaron los criterios diagnósticos y se establecieron los criterios de Rotterdam (8) por lo que una paciente puede ser diagnosticada de SOP si presenta 2 de los 3 criterios siguientes (Tabla 2):

Tabla 2	Criterios de Rotterdam
	Presencia de oligo/anovulación.
	Signos clínicos y/o bioquímicos de hiperactividad androgénica.
	Ovarios de aspecto poliquístico: presencia de 12 o más folículos de diámetro inferior a 10 mm o con volumen ovárico mayor a 10 cm ³ .

Todo esto en ausencia de otras endocrinopatías hiperandrogénicas (Hiperplasia adrenal, Síndrome de Cushing, Tumor secretor de andrógenos...).

A pesar de la controversia que generó y todavía genera, esta definición es la más aceptada en nuestro medio ya que permite una mejor clasificación. Con estos criterios se intenta eliminar el sobrediagnóstico que generan los hallazgos ecográficos y potenciar la base endocrinológica que causa el síndrome.

Mediante esta clasificación se obtienen 4 fenotipos diferentes (Tabla 3).

Tabla 3 Fenotipo paciente SOP según criterios de Rotterdam	
Fenotipo	Características
A	<ul style="list-style-type: none"> - Oligoanovulación - Signos clínicos o biológicos de hiperandrogenismo. - Ovarios de aspecto poliquístico
B	<ul style="list-style-type: none"> - Oligoanovulación - Signos clínicos o biológicos de hiperandrogenismo.
C	<ul style="list-style-type: none"> - Signos clínicos o biológicos de hiperandrogenismo. - Ovarios de aspecto poliquístico
D	<ul style="list-style-type: none"> - Oligoanovulación - Ovarios de aspecto poliquístico

Las pacientes incluidas en este estudio en el grupo de SOP son del fenotipo A.

1.3 Epidemiología:

La prevalencia del SOP es difícil de establecer ya que depende de los criterios diagnósticos que se apliquen.

En España se considera que la prevalencia es del 6.5% según los criterios del NIH (National Institutes of Health) (9) . Si nos basamos en los criterios de Rotterdam, la prevalencia en Europa y EEUU es superior alcanzando entre el 6 al 8% (1), (10). Es importante recalcar que las diferentes etnias tienen prevalencias diferentes, como las pacientes japonesas que no presentan en su mayoría hirsutismo y son menos obesas (11) , o las hispanas que presentan el doble de prevalencia de presencia del síndrome que las afroamericanas sugiriendo una predisposición genética para desarrollar el SOP (12). La variación en la prevalencia del hirsutismo y el acné se atribuye a la diferencia en la expresión del enzima 5 α reductasa en la glándula sebácea y en el folículo piloso.

Hay que tener en cuenta que los ovarios de aspecto poliquístico están presentes en un 15 a 20 % de pacientes sanas siendo más frecuente en la época peripuberal (13, 14). Varios autores han afirmado que este criterio diagnóstico sobreestima la prevalencia mientras que otros asumen este aumento porque lo ha hecho la sensibilidad del método diagnóstico.

El hiperandrogenismo es difícil de valorar ya que actualmente no existen sistemas de puntuación aceptados y validados en todas las comunidades científicas.

Para la valoración de la calvicie la clasificación más utilizada es la de Hamilton-Norwood (14). El acné está presente entre el 15 y el 30% de las mujeres adultas con SOP (1). El SOP alcanza el 40% en las mujeres que presentan acné severo (15). La intensidad del acné se puede valorar mediante múltiples clasificaciones aunque actualmente se utiliza la clasificación de Hayashi que valora el número de lesiones (16).

El hirsutismo está presente hasta en el 70% de las pacientes con SOP (17). Para la valoración del hirsutismo la escala más aceptada en nuestro medio para la valoración es la de Ferriman-Gallwey (18). Esta clasificación evalúa el crecimiento del pelo terminal en siete lugares: labio superior, mentón / cara, pecho, espalda, abdomen, brazos y muslos. Una puntuación de 0 se da en ausencia de crecimiento del

pelo terminal y una puntuación de 4 se da para el crecimiento extensivo. Una puntuación total de 8 o más es indicativa de hirsutismo en la raza caucásica.

1.4 Bases genéticas del SOP:

Existe una agrupación familiar en las pacientes con SOP (19, 20) aunque no se ha podido evidenciar un patrón genético definido.

Esta asociación abarca tanto el hirsutismo como las alteraciones metabólicas asociadas a este síndrome. En los años sesenta ya se demostró una mayor prevalencia de oligomenorrea y ovarios de aspecto poliquístico en familiares de primer grado de pacientes con SOP (21). Asimismo se planteó un modelo de herencia autosómico dominante quedando respaldado por estudios posteriores de segregación (22). Sin embargo los múltiples polimorfismos hallados, la imposibilidad para encontrar un gen causante y la necesidad ambiental (23) hacen que esta patología presente un patrón hereditario complejo. Actualmente se considera que el SOP se debe a la interacción de varios genes junto con factores ambientales y hábitos de vida (24).

Las alteraciones que se producen durante la vida fetal que originan el SOP todavía no se han dilucidado. Algunos autores han estudiado la posible relación entre el bajo peso al nacimiento y el desarrollo del SOP en la pubertad (25). Esta asociación implica alteraciones en el sistema hipotálamo-hipofiso-suprarrenal que provocaría en determinadas niñas con bajo peso al nacimiento una pubarquia precoz y un aumento de sensibilidad a ACTH (26).

Los estudios de Ibáñez y cols relacionan el bajo peso al nacimiento con la pubarquia precoz y el SOP. Consideran que el bajo peso al nacimiento y el nivel de plasminógeno tipo 1 pueden ser indicadores de riesgo para el desarrollo del SOP en niñas con pubarquia precoz (26).

Las agresiones ambientales por esteroides sexuales o por disruptores endocrinos pueden predisponer a la enfermedad en adultos mediante alteraciones epigenéticas (27). Por ejemplo, la exposición estrogénica reprograma las células mediante metilación de ADN.

Dados los efectos cruciales de la perturbación epigenética en otras enfermedades metabólicas, actualmente se considera que la alteración del epigenoma mediante la metilación del ADN junto con la hiperglucemia gestacional transitoria y el exceso de andrógenos durante la gestación podría ser una de las causas desarrollo de SOP (28).

Se han encontrado alteraciones genéticas en la producción de andrógenos, en la secreción y transporte de insulina y en la síntesis de gonadotrofinas no siendo ninguna de ellas patognomónica del SOP.

En las pacientes con SOP coexisten otras patologías asociadas como la obesidad, el estado proinflamatorio, la dislipemia, la insulinoresistencia y el estado protrombótico. La investigación genómica de todas estas patologías ha proporcionado una serie de mutaciones y polimorfismos que sustentan la teoría de que el SOP es una enfermedad compleja.

1.5 Fisiopatología del SOP:

Actualmente, se sigue considerando que la característica más importante del SOP es la oligoanovulación crónica y el hiperandrogenismo. Esta situación se produce por una alteración intrínseca ovárica y por la alteración del eje hipotálamo/hipofisario.

- *Alteración a nivel del SNC:*

Las pacientes con SOP presentan una secreción inadecuada de gonadotropinas por una secreción hiperpulsátil de GnRH. Esta hiperpulsatilidad genera aumento de la pulsatilidad de LH, disminución de los niveles de FSH, y el aumento de ratios de LH-FSH. Durante el ciclo menstrual normal la frecuencia de pulsos de GnRH disminuye durante la fase lútea favoreciendo la síntesis de FSH. En desaparición del cuerpo lúteo las concentraciones de progesterona, estradiol e inhibina A disminuyen favoreciendo la elevación de la secreción de GnRH. En las pacientes con SOP el aumento de pulsatilidad de GnRH-LH persiste durante la fase lútea, lo que provoca un aumento de la androstenendiona por las células de la teca del ovario. El resultado es la auto perpetuación del ciclo con niveles elevados de LH y de andrógenos ováricos.

Este mecanismo de secreción es sensible a las señales ambientales, como el ritmo circadiano, la nutrición y el estrés.

En las pacientes con SOP se ha demostrado que esta hiperpulsatilidad en la secreción de GnRH que se debe a varios factores:

La pérdida de sensibilidad a la acción hipotalámica de la progesterona se traduce en un aumento de la pulsatilidad y en la aparición de hiperandrogenismo. De hecho la administración de antiandrógenos restaura la sensibilidad hipotalámica a la acción de la progesterona (29).

Alteración en la retroalimentación hipotálamo-hipofisaria debida a la insulina: en estados hiperinsulinémicos se han detectado un aumento de isoformas glicosiladas de LH que presentan mayor bioactividad, mayor afinidad por el receptor, mayor actividad esteroideogénica y un incremento en la producción de AMPc cíclico en experimentos *in vitro* (30).

Alteración en los neuromedidores del SNC: se ha estudiado la relación con múltiples mediadores sin encontrarse actualmente relación con ninguna de ellas.

Hiperestrogenismo: los estrógenos producen estímulo en las neuronas KNDy localizadas en el núcleo infundibular y éstas estimulan las neuronas GnRH aumentando su secreción pulsátil (31).

La vía Kisspeptina: Cuando se alteran los estímulos de secreción de las neuronas GnRH se altera la secreción de las gonadotropinas. En condiciones normales la secreción de GnRH que libera LH se produce en pulsos cada 90 minutos. En las pacientes con SOP, con pubertad precoz y con menopausia la secreción de LH esta aumentada. Actualmente se conoce que la secreción de GnRH se realiza de la siguiente manera (Figura 1).

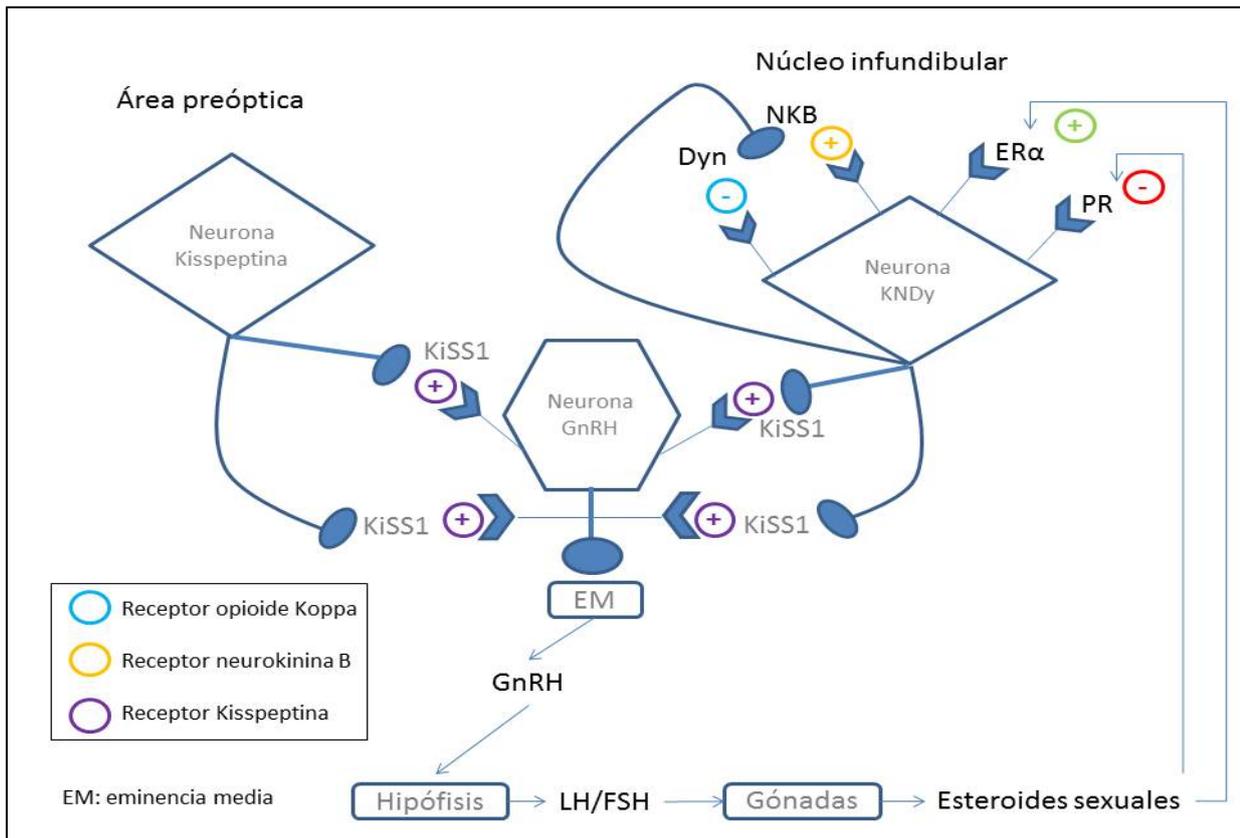


Figura 1 +: Estimulación; – inhibición; ERα: receptor estrogénico alfa; PR: receptor progesterona; KiSS1: Kisspeptina; NKB: neurokinina B; Dyn: dynorfina. (Skorupskaite et al.; 2014).

En el área preóptica se localizan las neuronas de kisspeptina y en el núcleo infundibular las neuronas KNDy (Kispeptina, neurokinina y dynorfina). Ambas poblaciones neuronales liberan kisspeptina que estimula las neuronas secretoras de GnRH y ésta libera GnRH que estimula la hipófisis produciendo la liberación al torrente sanguíneo de FSH/LH (31).

Las neuronas KNDy presentan distintos mecanismos de regulación. Uno de ellos consiste en la autorregulación producida por la dynorfina y la neurokinina B. La dynorfina estimula estas neuronas y la neurokinina B las inhibe. El otro mecanismo de regulación es externo y se produce mediante los receptores de esteroides sexuales. El estrógeno actúa sobre el receptor estrogénico alfa estimulando a estas neuronas y la progesterona inhibiéndolas.

No se ha descubierto por ahora red de autorregulación ni de regulación externa en las neuronas kisspeptina.

Todavía se desconoce si la hiperpulsatilidad que presentan las pacientes con SOP se debe a un aumento de kisspeptina o de neurokinina B. Actualmente se está investigando el uso potencial de los antagonistas de la Kisspeptina y de la neurokinina B para el tratamiento del SOP.

- **Alteraciones hipotálamo-hipofisarias:**

La disfunción más importante consiste en la secreción inapropiada de gonadotropinas lo que conlleva a una concentración media de LH elevada y una concentración de FSH normal o por debajo de la normalidad. Todo esto hace que el cociente LH/FSH esté elevado. Esta alteración está sujeta a muchos condicionantes como son la pulsatilidad de la secreción y las diferentes técnicas empleadas para su diagnóstico. Antaño fue un requisito para el diagnóstico pero actualmente la elevación de la concentración de LH no se considera como un criterio diagnóstico ya que se encuentra normal en numerosas pacientes con este síndrome.

El patrón de secreción de LH viene predeterminado por el patrón de secreción de GnRH. Cuando la secreción de GnRH presenta una baja pulsatilidad se produce una secreción predominante de FSH. Cuando la pulsatilidad es elevada predomina la secreción de LH: se considera actualmente que la hipersecreción de LH viene determinada por la hiperpulsatilidad de la GnRH (32, 33).

- **Alteración a nivel ovárico:**

El aspecto más importante que caracteriza al SOP es la maduración folicular insuficiente. Se produce el reclutamiento de numerosos folículos pero la mayor parte de ellos evolucionan a la atresia antes de la selección del folículo dominante.

En el ovario normal, las células de la granulosa presentan mayoritariamente receptores para FSH. Estos receptores son máximos en la fase folicular hasta que el ovocito está maduro. La FSH ejerce un efecto estimulante para el crecimiento folicular. Induce además la actividad aromatasa que hace que los andrógenos de la teca se transformen en estrógenos como el estradiol y éste que amplifica el número de receptores de FSH y la actividad aromatasa produciéndose un círculo de auto

estimulación. Las células de la teca interna presentan receptores mayoritariamente para LH que estimulan la producción androgénica. La producción androgénica es fundamental para la obtención de estrógenos.

En las pacientes con SOP las concentraciones de FSH son bajas lo que genera una actividad aromatasas deficiente. Cuando la actividad aromatasas de la granulosa es insuficiente, los andrógenos se convierten en derivados 5α reducidos no transformables que inhiben la actividad enzimática e inducen a la atresia folicular a través de la activación de los receptores androgénicos de la granulosa (Figura 2).

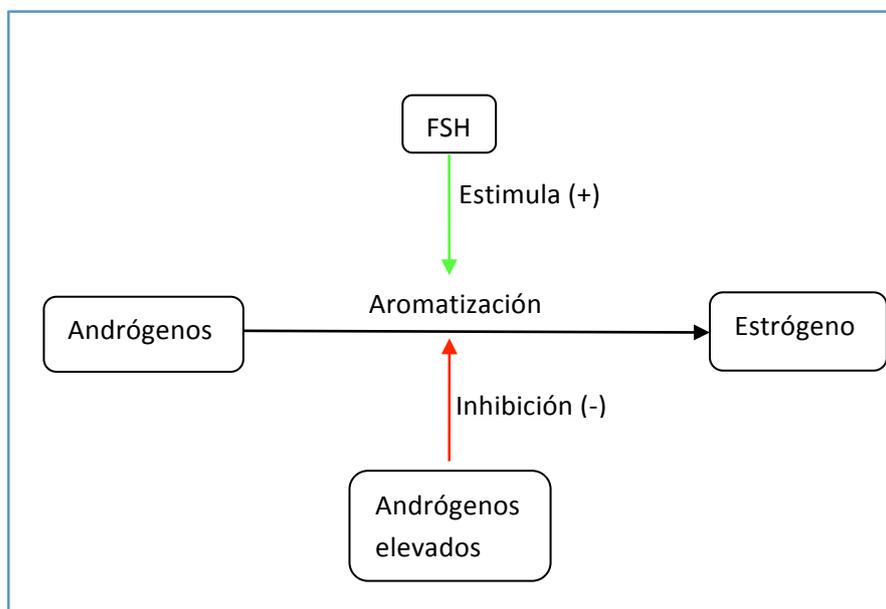


Figura 2. Esquema de la regulación de la síntesis de esteroides en el hiperandrogenismo.

La elevación del umbral de respuesta de las células de la granulosa a la FSH es otra de las causas que se han sugerido para explicar la falta de maduración. Esta alteración se produciría por la influencia de factores esteroideos (estrógenos y andrógenos) y no esteroideos (polipéptidos). Los factores de crecimiento, la insulina, el TGF- β (transforming growth factor) y la IGF-1 (insulin growth factor) aumentan la producción de estradiol por parte de las células de la granulosa. El EGF (epidermal growth factor), el TGF- β , la AMH (hormona antimulleriana) y la inhibina B

inhiben la secreción de FSH. El EGF inhibe la actividad aromatasa en la granulosa e inhibe la producción de FSH que depende de la concentración de estradiol. La AMH que se segrega en las células de la granulosa presenta una correlación positiva con el número de folículos antrales y con la concentración de andrógenos circulante.

En la regulación de la FSH también interviene la inhibina B. Esta sustancia se segrega en las células de la granulosa de los folículos antrales y preantrales. Se encuentra elevada en pacientes con SOP probablemente por el elevado número de folículos antrales y folículos en atresia. Presenta una correlación negativa con el IMC y positiva con la FSH (34, 35).

La producción androgénica se realiza en el ovario y en la glándula suprarrenal. Para el transporte, estos andrógenos se unen a proteínas, fundamentalmente a SHBG (Sex-hormone binding globulin). Pero sólo la fracción libre, la no unida a proteína, es la que entra en los tejidos. Allí la testosterona se transforma en dihidrotestosterona en el folículo piloso, hormona realmente activa. Ésta pasa del citoplasma al núcleo uniéndose al receptor androgénico (AR) donde ejerce su acción (Figura 3).

La proteína transportadora o SHBG es una proteína que se encarga del transporte de testosterona y estradiol, y regula el acceso de estas sustancias a los tejidos. Esta proteína se encuentra disminuida en pacientes con hirsutismo por lo que circula mayor proporción de hormona libre. Este nivel disminuido estimularía en principio la producción hepática de esta proteína pero queda neutralizada por los elevados niveles de insulina frecuentemente hallados en las pacientes con SOP. Se ha descrito recientemente polimorfismo microsatélite por repetición de la secuencia *taaaa* que se relaciona con niveles bajos de SHBG en pacientes con hiperandrogénicas (40).

2.- Riesgo cardiovascular y SOP:

La principal causa de mortalidad en España es la enfermedad cardiovascular (41). En el año 2002 ocasionó 125.797 muertes, representando esto el 34% de todas las defunciones (el 30% en varones y el 39% en mujeres). En la mujer postmenopáusica se considera la primera causa de muerte distribuyéndose el 31% en enfermedad cerebrovascular, el 25% en enfermedad isquémica coronaria, el 25% en otras enfermedades isquémicas no coronarias y el 19% en insuficiencia cardiaca.

La prevalencia de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (FRCV) en la mujer española en el año 2006 queda reflejada en la tabla 4.

Tabla 4 Prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular como causa de muerte.	
Factores de riesgo cardiovascular (FRCV)	%
Tensión arterial $\geq 140/90$ mmHg	35%
Obesidad (IMC ≥ 30)	15%
Hipercolesterolemia	50%
Diabetes mellitus*	7%
Fumadora actual *	27%
Sedentarismo *	50%

(178) *El diagnóstico de Diabetes Mellitus, de consumo de cigarrillos y de actividad física fue comunicado por los propios pacientes.

Las pacientes con SOP presentan, asociados al síndrome, una serie de factores que aumentan el riesgo cardiovascular y que favorecen la aparición de hipertensión como son la obesidad, la dislipemia, la resistencia a la insulina y el estado proinflamatorio.

A continuación se desarrollaran los FRCV asociados al SOP.

2.1 Hipertensión arterial y SOP:

La organización mundial de la salud considera hipertensión arterial (HTA) cuando la tensión arterial sistólica (TAS) es mayor a 140 y la diastólica (TAD) es mayor a 90, ambos valores expresados en milímetros de mercurio (mmHg).

Las pacientes con SOP presentan reducción de la distensibilidad vascular, disfunción endotelial vascular y mayores cifras de tensión arterial que en las pacientes control (42). Holte et al ya demostraron en 1996 que las pacientes con SOP presentaban valores de TAS más elevados durante el día, que los valores medios eran mayores y que la frecuencia de pulso era mayor que en las pacientes control (43). Este resultado, se mantuvo cuando se ajustaron las pacientes según IMC, distribución de grasa corporal (índice cintura/cadera) y resistencia a la insulina. Además las pacientes con SOP presentan una disminución de la tensión arterial menor al 10% durante el sueño incluso si no son obesas. Esta escasa disminución de la tensión arterial y la insulino-resistencia se asocia con mayor deterioro endotelial, hipertrofia de ventrículo izquierdo, disfunción renal y estrés oxidativo (44). Existen estudios que evidencian que las pacientes con SOP tienen una prevalencia 2 veces superior de HTA que los grupos control (45). La presencia de esta patología se atribuye a los cambios producidos por la insulino-resistencia que alteran las fibras musculares lisas evolucionando hacia la hipertrofia derivando en una reducción de la complianza, alteración del endotelio que disminuye la vasodilatación, la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona y el aumento de la retención de sodio. De hecho la administración de metformina en pacientes con SOP presenta una mejora de la TAS y TAD alcanzando valores dentro de la normalidad tanto en la tensión periférica como la central (46). Todavía sigue sin esclarecerse si la presencia del SOP es por sí misma un factor predisponente para la aparición de HTA.

2.2 Obesidad y SOP:

La obesidad es un hallazgo frecuente en las pacientes con SOP. Se considera que el sobrepeso o la obesidad están presentes en el 50 % de estas pacientes (47). En muchas de ellas la aparición de hiperandrogenemia y oligomenorrea van precedidas de una ganancia importante de peso sugiriendo a la obesidad como agente causal (48). Sin embargo las últimas investigaciones sugieren que la patogénesis del SOP pudiera iniciarse en la vida intrauterina y podría tener una relación importante con el peso al nacimiento. La conclusión a la que llegan varios autores es que la obesidad, sobre todo la centrípeta, amplifica el grado de hiperinsulinemia y de resistencia a la insulina que

promueve la hiperandrogenemia aunque no se ha podido descartar su presencia en pacientes sin obesidad (49).

Actualmente se considera que la obesidad puede promover o mantener el SOP mediante los siguientes mecanismos:

2.2.1 Resistencia a la insulina/hiperinsulinemia: aparte de los órganos diana clásicos de la insulina, también se ha encontrado que ejerce efectos sobre otros órganos o tejidos como el ovario, la hipófisis o las glándulas suprarrenales. A nivel ovárico ejerce efectos interaccionado con su propio receptor y con el receptor tipo I de IGF (50). La insulina promueve el SOP mediante las siguientes acciones reflejadas en la tabla 5 y Figura 4.

<i>Tabla 5 Efectos de la insulina que favorecen la aparición de SOP</i>
Aumento de la producción androgénica mediante la estimulación de la 17 α -hidroxilasa, 17-20 liasa y aumento de expresión de 3 β hidroxiesteroide deshidrogenasa.
Disminución de la producción hepática de SHBG y el consecuente aumento de hormona libre.
Incremento del número de receptores LH y de la sensibilización de las células hipotalámicas que estimulan la producción de LH.
Disminución de la producción de IFGBP-1 (Insulingrowth factor bindingprotein 1) en el ovario y en el hígado aumentado la sensibilidad de la hipófisis a la GnRH.
Regulación al alza del receptor tipo I con la siguiente amplificación del efecto de IGF I y II en el ovario: aumento de la sensibilidad de la hipófisis a GnRH y aumento de la secreción esteroidea ovárica.
Estimulación del crecimiento ovárico, de la producción de esteroides y de la formación de quistes por la elevación de LH.

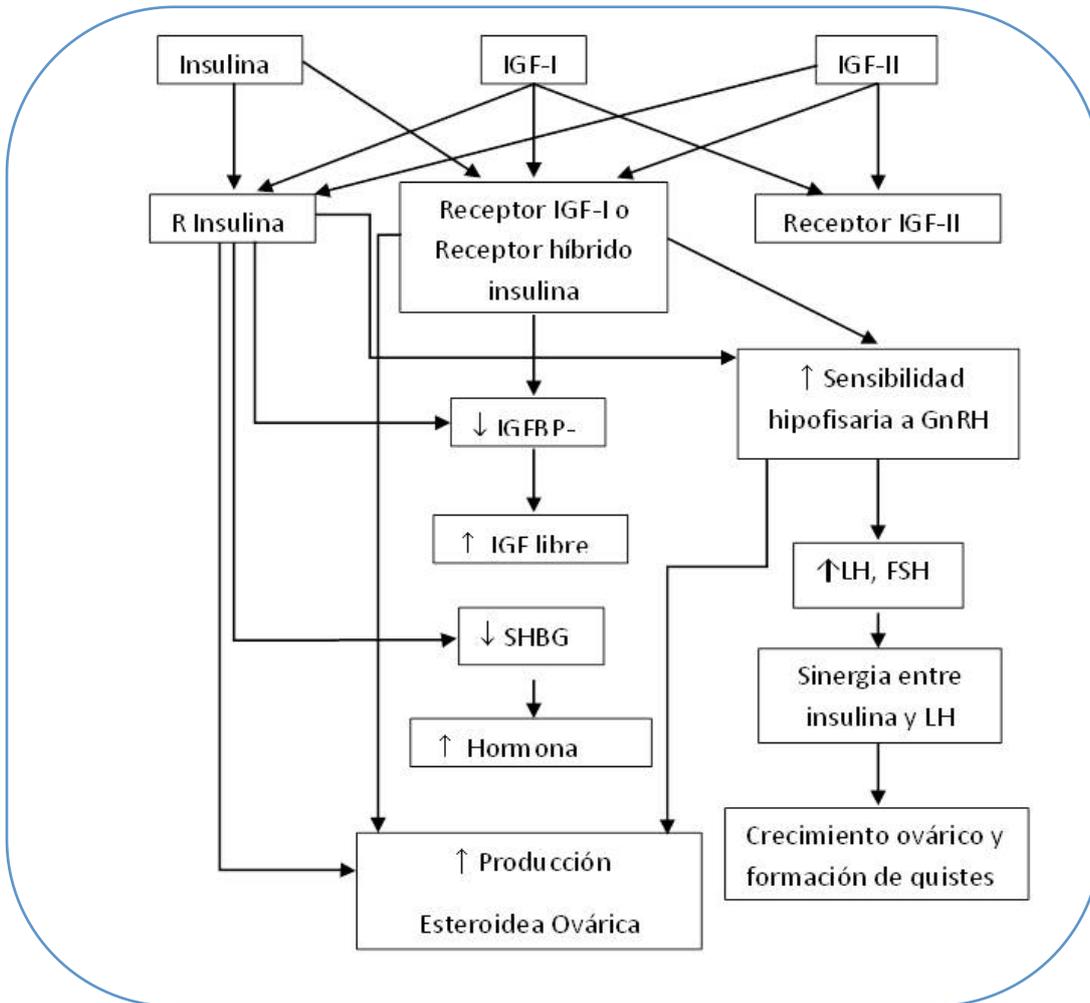


Figura 4: Relación entre la insulina e IGF con el ovario y sus ejes reguladores.

El comportamiento de la insulina en la obesidad y en el SOP es similar. Muchos pacientes con obesidad presentan insulino-resistencia e hiperinsulinismo sobre todo si la obesidad es abdominal. La obesidad produce insulino-resistencia ya que el depósito de grasa visceral aumenta la disponibilidad de varios metabolitos que afectan a la secreción y acción periférica de la insulina. Esto provoca que las células pancreáticas tipo β aumenten la producción de insulina como mecanismo compensatorio. Además se ha demostrado que en pacientes con SOP disminuye el aclaramiento de insulina por lo que aumenta su concentración en sangre (51). Todo esto hace que aumente la hiperinsulinemia disminuyendo los receptores en los tejidos diana clásicos sin disminución o incluso con aumento en el ovario. Esto se debe por la acción entre la

insulina, IGF (insulin growth factor), IGFBP (insulin growth factor binding protein) y los esteroides producidos en el ovario (52). Además la insulina amplía su efecto por la regulación al alza del receptor tipo I de IGF. Se ha descrito una alteración molecular causante de la insulino-resistencia: la excesiva fosforilación de los residuos de serina en el receptor de la insulina. Este defecto ha sido descrito en el 50 % de las pacientes con SOP (53). Consiste en una reducción de la actividad tirosinkinasa en el receptor lo que produce una disminución en la señal de transducción.

En la obesidad, la resistencia a la insulina también está relacionada con el TNF- α ya que interfiere en la fosforilación de la serina del IRS-1. Esta modificación produce inhibición del receptor de la insulina y del receptor de IGF-1. Se ha evidenciado que el efecto de la leptina es similar al del TNF- α .

2.2.2 Disminución de SHBG (Sex hormone binding protein): Los niveles de SHBG están disminuidos en las pacientes con SOP, siendo la disminución más intensa si estas pacientes presentan obesidad centrípeta e insulino-resistencia. Numerosos estudios demuestran la correlación negativa entre los niveles de insulina y los de SHBG (54). Estos niveles disminuidos son responsables de la elevada disponibilidad de hormona activa libre y de su excesiva interacción con los tejidos diana justificando así parte del hiperandrogenismo.

2.2.3 Niveles elevados de estrógenos: en las pacientes con SOP se encuentran niveles elevados de estrona (E_1) y estradiol (E_2). Parte de estos niveles están justificados por las bajas concentraciones de SHBG (55). Estos niveles elevados producen un feedback negativo sobre la FSH elevándose las concentraciones de LH y consecuentemente el ratio LH/FSH. Estos niveles elevados de LH producen hiperplasia ovárica y aumentan la producción androgénica proporcionando sustrato para la aromatización extraglandular y perpetuando anovulación crónica. Las pacientes con obesidad presentan una correlación positiva entre los estrógenos, el IMC y la cantidad de tejido graso. De hecho se considera que las pacientes con obesidad presentan un estado de hiperestronismo, ya que es la estrona el estrógeno dominante en estos casos.

2.2.4 IGF's (Insulin growth factors): estas dos sustancias ejercen su función mediante sus dos receptores: tipo I y tipo II presentes tanto en la granulosa como en la teca y en el estroma ovárico.

Los efectos sobre el ovario de los IGF's quedan reflejados en la **tabla 6 y 7.**

Tabla 6 Efectos de los IGF's sobre las células de la granulosa.	
	Estimulación de la actividad aromatasa.
	Elevación de la concentración de estradiol y progesterona mediada por FSH.
	Estimulación de la proliferación celular.
	Modificación de las concentraciones de las subunidades de IGFBP.

Tabla 7 Efectos de los IGF's sobre las células de la teca.	
	Estimulación de la producción de Androstenendiona y testosterona.
	Incrementa la síntesis del ADN celular.

Este sistema está regulado por la insulina ya que esta aumenta su efecto y el de los IGF aumentando el número de receptores tipo I e inhibiendo la producción de IGFBP-1 promoviendo así, la producción de IGF libre. No se han encontrado diferencias en los niveles de IGF-I e IGF-II en las pacientes con SOP aunque las pacientes con SOP y obesidad presentan niveles más bajos de IGFBP-1 si la comparamos con pacientes

normopeso (50). Los niveles de GH difieren en las pacientes con SOP dependiendo de la presencia de obesidad debido a que éstas presentan una tasa de eliminación mayor. En concreto se puede sugerir que la insulino-resistencia y la hiperinsulinemia desempeñan un papel decisivo en las pacientes con SOP obesas mientras que las alteraciones del sistema IGF/IGFBP lo son en las pacientes con normopeso y SOP.

2.2.5 Hiperandrogenemia: La conclusión a la que llega la mayor parte de los autores es que tanto la hiperandrogenemia como la resistencia a la insulina forman un círculo vicioso que se retroalimenta el uno del otro. El ciclo de formación de hormonas sexuales es el siguiente (Figura 5).

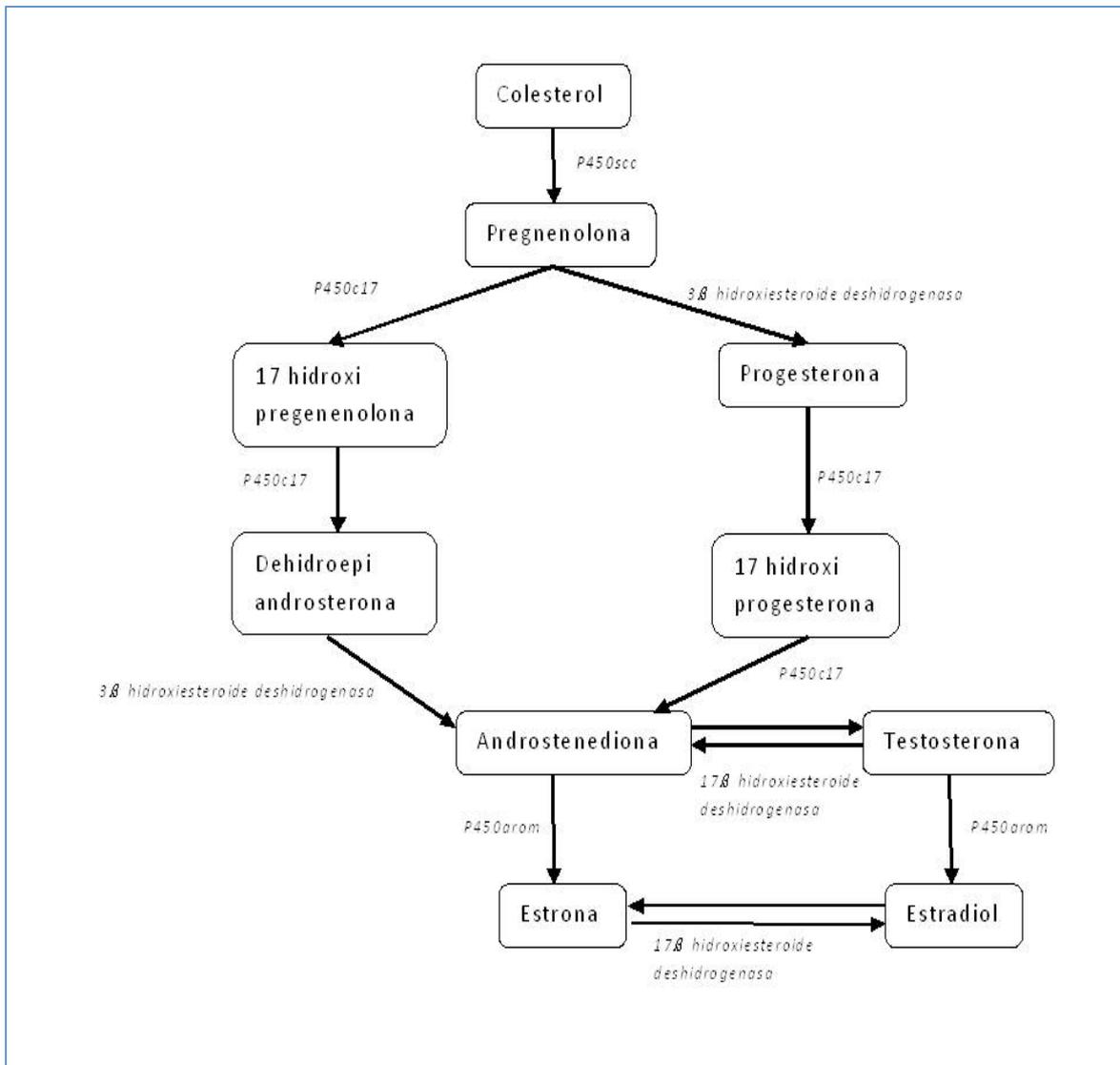


Figura 5: Circuito desde el colesterol hasta la obtención de esteroides sexuales.

La enzima P450_{scc} o CYP11A1 está localizada en las mitocondrias y su función consiste en la escisión de una cadena lateral de la molécula de colesterol. La enzima P450_{c17} o CYP17A1 se localiza en el retículo endoplásmico y ejerce las reacciones de 17 α hidroxilasa y 17,20 liasa y el complejo enzimático P450_{arom} o CYP19A1 se localiza también en el retículo endoplásmico y su función es la aromatización de andrógenos a estrógenos.

El complejo enzimático P450_{c17} es el paso clave en la formación androgénica. Se localiza tanto en las células de la teca e intersticiales del ovario como en la glándula suprarrenal. La activación de este complejo enzimático viene dada por numerosos sustancias como LH, ACTH, insulina y los IGF. La hiperactividad de este sistema justifica el hiperandrogenismo presenta en la mayor parte de las pacientes con SOP (56) aunque todavía no se ha dilucidado si esta hiperactividad es la causa primaria o un efecto secundario de otros factores. La elevación de la insulina disminuye los niveles de SHBG y eleva el porcentaje de andrógenos libres ampliando el efecto de la LH sobre el ovario. Además, esta elevación de la insulina produce una disfunción en la maduración folicular provocando atresia. Todo esto provoca una deficiencia en el complejo P450_{arom} por lo que la aromatización a estrógenos es deficiente elevando, aún más si cabe, el nivel de andrógenos.

La aportación de andrógenos por parte de la glándula suprarrenal no es desdeñable en las pacientes con SOP. Obviamente hay que excluir con anterioridad al diagnóstico de SOP otras causas de hiperandrogenismo como las hiperplasias suprarrenales. Se ha evidenciado que la insulina eleva la actividad de las enzimas 17 α hidroxilasa y 17-20 liasa en la glándula suprarrenal de manera directa o mediante la estimulación de ACTH elevado así la concentración de androstenendiona.

La obesidad eleva el grado de hiperandrogenismo en las pacientes con SOP: los niveles de testosterona libre (57, 58) y total en pacientes con SOP y obesidad son mayores que si las comparamos con pacientes sin sobrepeso o peso normal. Además la obesidad troncular eleva el porcentaje de andrógenos libres circulantes debido a una reducción en la concentración de SHBG. Este estado de exceso de grasa produce

un estado de insulino-resistencia con la consiguiente elevación de la concentración de los ácidos grasos libres y su consiguiente depósito visceral.

2.2.6 Elevación de LH: La mayoría de los autores consideran que la elevación de LH no supone un hecho fundamental en la patogenia de las pacientes con SOP. Es difícil concluir que todas las pacientes con SOP presentan elevaciones de LH debido su patrón pulsátil y a los diferentes métodos de detección. Aun así, es un hallazgo altamente frecuente aunque no diagnóstico. Todavía se desconoce si la elevación responde a una alteración primaria o es secundaria a otros procesos. La elevación de LH se debe a alteración del feed-back neuroendocrino provocado por los estrógenos dando lugar a una hiperrespuesta de la GnRH y la consiguiente elevación de LH. En pacientes que presentan SOP y obesidad los niveles de LH disminuyen y si la obesidad es mórbida llegan a alcanzar los niveles normales (59).

2.2.7 Elevación de β -endorfina: las pacientes con SOP presenta niveles plasmáticos elevados de β -endorfina. Su administración intravenosa produce un aumento de la secreción de insulina de las células beta pancreáticas. También disminuye la liberación de LH en pacientes sanas pero no es las pacientes con SOP lo que sugiere cierta resistencia a esta sustancia.

Las pacientes obesas presentan una concentración elevada de β -endorfina ya que es un estado "hiperopioide". La administración de antagonistas opiáceos disminuye las concentraciones de glucosa, tanto la basal como la estimulada por la insulina, en pacientes con obesidad siendo más intensa si la obesidad es abdominal. Esta disminución no se produce en pacientes con IMC normal (60). Por el momento no existen estudios concluyentes sobre la influencia de los opioides sobre la regulación de la insulina en pacientes con SOP.

2.2.8 Factores dietéticos: La conclusión a la que llegan la mayor parte de los autores es que el consumo elevado de lípidos y bajo en fibra favorece la presencia de andrógenos libres en sangre y aumenta la posibilidad de presentar obesidad (55).

La alimentación ejerce un papel importante en la regulación de los esteroides sexuales. Se conoce que una alimentación rica en lípidos y baja en fibra produce una

elevación androgénica plasmática (61). También produce una disminución importante de los niveles de SHBG aumentando la proporción de andrógenos libres plasmáticos (62). De hecho las pacientes con SOP tienen una alimentación con más lípidos y menos fibra que si las comparamos con un grupo control.

2.2.9 Disregulación del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal HHA: las pacientes con SOP presentan una elevación plasmática de andrógenos suprarrenales. La tendencia actual es basar estos hallazgos en una disregulación del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (63). Se ha evidenciado que en las pacientes con SOP existe un catabolismo aumentado del cortisol que produciría una hiperactivación del eje HHA lo que elevaría la producción androgénica en la glándula suprarrenal. La administración de hormona corticotropa (CRH) en pacientes con SOP produce una respuesta exagerada de ACTH sin conocerse con certeza el mecanismo de actuación.

Existe una hiperactividad en el eje HHA en las pacientes con obesidad, más intensa en las pacientes con obesidad abdominal. Dos son los mecanismos fundamentales que se han propuesto. El primero obedece a una alteración central en el que se alteraría la pulsatilidad de ACTH, predispondría a una hiperrespuesta del eje a situaciones de estrés agudo y a diferente neuropéptidos y disregulación de eje CRH-ACTH. El otro mecanismo es una alteración periférica, en el tejido graso. Este tejido se caracteriza por un elevado intercambio y aclaramiento del cortisol. Esta teoría se ve reforzada por la presencia de alteraciones en el circuito del cortisol presentes en las pacientes con obesidad y disregulación ovulatoria (64).

2.3 Hiperlipidemia y SOP:

El hiperandrogenismo produce un amplio espectro de alteraciones, además de las alteraciones físicas como el acné y el hirsutismo. También se han evidenciado alteraciones metabólicas como la hiperlipidemia que están consideradas como factor de riesgo cardiovascular.

Las pacientes con SOP presentan niveles disminuidos de HDL-Col (proteínas de alta densidad del colesterol) y elevados de triglicéridos (TG) (65). Los niveles de HDL-

Col están disminuidos en estas pacientes y también la calidad de estas moléculas, incluso en pacientes delgadas (66).

Los niveles de LDL-Col (Proteínas del colesterol de baja densidad) también se encuentran elevados en diferentes estudios si ajustamos a las pacientes por IMC.

La elevación de la concentración de LDL-Col está presente en estas pacientes pero también está vinculada a estados de insulino-resistencia por lo que, por ahora no se ha podido atribuir al hiperandrogenismo o a defectos genéticos.

Existen estudios que evidencian que los hijos de madres con SOP presentan niveles más elevados de LDL-Col que los controles (67) lo que apoyaría la tesis del defecto genético. Sin embargo, otros estudios sobre las madres de pacientes con SOP evidenciaron que éstas presentaban niveles más elevados de LDL-Col (3.58 ± 0.97 mmol/L versus 3.11 ± 0.66 mmol/L, $p = 0.007$) que sus hijas pero no hubo diferencias entre los niveles de TG y de HDL-Col (68).

También se ha demostrado en diferentes estudios que las concentraciones de partículas de baja densidad de LDL-Col están elevados en pacientes con sobrepeso u obesidad y SOP (69). Estas partículas son particularmente aterogénicas e incrementan el riesgo cardiovascular.

Se ha relacionado la presencia de niveles elevados de TG con un nivel elevado del índice HOMA. Este índice es un marcador de riesgo para el desarrollo del síndrome metabólico y diagnóstico para la insulino-resistencia.

La respuesta a los tratamientos hipolipemiantes en estas pacientes es variable. Actualmente, se aconseja disminuir el índice glucémico ya que produce una disminución también de la concentración de LDL-Col (70).

2.4 Estado proinflamatorio y SOP:

Las pacientes con SOP presentan un estado proinflamatorio caracterizado por la elevación de reactantes de fase aguda, como la proteína C reactiva ultrasensible (PCRus), los leucocitos, y citocinas como el TNF- α .

2.4.1 PCRus: actualmente se considera que la proteína C reactiva ultrasensible (PCRus) es un marcador de inflamación, principalmente de carácter vascular.

Son varios los estudios que indican que las pacientes con SOP presentan niveles elevados de PCRus por lo que se reafirma la teoría del daño vascular que favorecería la aparición de HTA (71) y otros factores de riesgo cardiovascular. Existe controversia sobre si los valores elevados que presenta las pacientes con SOP se deben al síndrome en sí mismo, a la presencia de obesidad abdominal o a ambos. Se considera que la liberación de citocinas proinflamatorias por parte del tejido adiposo estimula la secreción de PCRus.

Sin embargo otros informan que la elevación de la PCRus en estas pacientes va asociada a obesidad y no a SOP y que existe correlación entre los valores de PCRus y la circunferencia abdominal reforzando la asociación con obesidad abdominal e insulino-resistencia (72). También se ha evidenciado correlación entre el nivel de PCRus y la grasa visceral independientemente del grado de adiposidad corporal (73). De hecho, la administración de fármacos sensibilizantes a la insulina, en concreto rosiglitazona, disminuyen el valor de PCRus en estas pacientes (74) y en pacientes con diabetes tipo 2. Estos resultados indican que la reducción de la resistencia a la insulina presenta un efecto cardioprotector en pacientes con SOP sin obesidad (75).

Actualmente es difícil concluir si el bajo grado de inflamación induce resistencia a la insulina o si es consecuencia de las diferentes alteraciones metabólicas existentes.

2.4.2 Leucocitosis y neutrofilia: la inflamación crónica está relacionada con el inicio y la evolución de la aterosclerosis. El recuento de leucocitos se ha considerado durante muchos años como predictor de enfermedades cardiovasculares (76).

En 2005, Orio et al encontraron que las pacientes con SOP presentaban valores de leucocitos mayores que las pacientes control emparejadas por edad e IMC (5).

Actualmente se considera que las pacientes con SOP presentan un estado proinflamatorio favorecido por la insulino-resistencia pero que no puede ser atribuido exclusivamente a este estado ya que la hiperandrogenemia también lo favorece.

2.4.3 TNF- α : Existen estudios contradictorios con respecto a los niveles de TNF- α en pacientes con SOP.

EL TNF- α es una citokina inductora de la respuesta inflamatoria y sus funciones se deben a su unión a 2 receptores celulares diferentes que se localizan en diferentes células como las endoteliales, neutrófilos, fibroblastos y tejido adiposo. Su función es fundamentalmente incrementar la respuesta inflamatoria en otros tejidos. También activa las células endoteliales durante las fases iniciales de la aterosclerosis favoreciendo la síntesis de moléculas de adhesión (77).

Sobre el endotelio vascular, la liberación de TNF- α produce una reacción local con liberación de óxido nítrico, vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, reclutamiento de las células inflamatorias, inmunoglobulinas y complemento, provocando la activación. La hiperglucemia está relacionada con inflamación sistémica como observado en mujeres con SOP intolerancia a la glucosa (78).

Está íntimamente ligada a la regulación de insulina, sobre todo en pacientes con obesidad. Inhibe la actividad tirosinkinasa y favorece la fosforilación del receptor de la insulina, impidiendo todo ello que la insulina ejerza su correcta función (77, 78). Además produce una disminución de la secreción de adiponectina por parte de los adipocitos y suprime el transporte de glucosa y los receptores insulínicos (79-81). En el tejido adiposo mejora la diferenciación preadipocitaria, incrementa la apoptosis del adipocito y aumenta la lipólisis (79, 82, 83).

Por otra parte, el TNF- α reduce la producción de esteroides sexuales por el ovario, los testículos y el córtex (84) adrenal mediante la inhibición de AMP cíclico. (85). En el hipotálamo actúa sobre el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal, estimulando la liberación de hormona liberadora de corticotropina.

2.5 Alteraciones del metabolismo hidrocarbonado y SOP:

El 45 % de las pacientes con SOP presentan alteraciones de metabolismo hidrocarbonado siendo el 35% IOG y el 10 % DMT2 (86). Según determinados estudios la resistencia a la insulina se encuentra presente en el 80% si usamos el criterio diagnóstico HOMA y este porcentaje se eleva al 95 % si la pacientes presentan

obesidad (86). Sin embargo algunos estudios evidenciaron que no había diferencias entre las pruebas de tolerancia oral a la glucosa en pacientes delgadas con SOP si se comparaban con controles emparejados por edad y peso. A raíz de esto se sugirió que las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado varían según el fenotipo de presentación del SOP.

Se sabe que la prevalencia de la IOG es tres veces superior en las pacientes con SOP que en la población general y dos veces superior si las ajustamos por edad y peso (4). Estas alteraciones aumentan conforme aumenta el IMC siendo más prevalentes en pacientes obesas. Actualmente la American Diabetes Association considera que el SOP es un factor de riesgo para el desarrollo de la diabetes.

La tasa de conversión de IOG a DMT2 es de 2,5 a 3,6% anual en un periodo de 3 a 8 años. Estas tasas son menores a las que se evidencian en la población general que se sitúan en el 7%. Probablemente, porque los estudios en pacientes con SOP están realizados en un número menor de pacientes (87). La forma de presentación más frecuente en la paciente con SOP es la hiperglucemia postprandial que refleja una resistencia a la insulina fundamentalmente en el músculo esquelético. Es mucho menos frecuente la hiperglucemia en ayunas que advierte de una secreción endógena de glucosa elevada. De hecho, la Androgen Excess Society aconseja realizar la prueba de tolerancia oral con 75 gramos de glucosa a las pacientes con SOP como screening de las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado.

2.5.1 Insulina y sus acciones: La insulina es una hormona peptídica segregada por las células β de los islotes de Langerhans. Juega un papel fundamental en la regulación del metabolismo hidrocarbonado, lipídico y proteico. Clásicamente se asume que ejerce su función sobre el músculo, hígado y tejido adiposo.

Las primeras evidencias que relacionan la insulino-resistencia y el hiperandrogenismo datan de 1921 cuando Achard y Thiers (88) describen la existencia de mujeres con intolerancia a la glucosa e hirsutismo (El estudio de las mujeres barbudas diabéticas). Pero no fue hasta 1980 cuando Burghen y colaboradores (89) evidenciaron la relación entre la concentración de insulina y los niveles de andrógenos (androstendiona y testosterona) en las pacientes con SOP. Desde entonces se ha

estado trabajando en identificar las bases del desarrollo de la insulino-resistencia en las pacientes con estados hiperandrogénicos.

Son múltiples las acciones de la insulina más allá de la regulación del consumo de glucosa. Interviene también en aumentar el depósito de lípidos y proteínas así como en la promoción del crecimiento y diferenciación celular. En las células actúa uniéndose al receptor en superficie. Este receptor está compuesto por 2 subunidades α y dos β . La subunidad α es extracelular y contiene el dominio de unión al ligando. Además inhibe la actividad quinasa de la subunidad β . La subunidad β se extiende sobre la membrana y la porción intracitoplasmática presenta actividad tirosinkinasa que se activa mediante fosforilación. Este receptor presenta homología estructural con el receptor IGF1. Cuando se produce la unión con el ligando se induce la fosforilación del receptor insulínico y la activación de la acción tirosinkinasa y se fosforilan sustancias intracelulares conducen a la activación de diferentes caminos de actuación.

La insulina estimula el consumo de glucosa aumentando su transportador que pasa de vesículas citoplasmáticas a estar presente en la superficie celular. También estimula el crecimiento celular mediante la activación de la cascada serina/treoninquinasa. También está involucrada en alteraciones endoteliales de fenómenos de adhesión y modula la vasodilatación dependiente de endotelio.

El efecto de la insulina sobre los adipocitos varía de las pacientes con SOP a los controles. El tamaño de los adipocitos es mayor independientemente de la presencia o no de obesidad (90). El número de receptores insulínico y su afinidad en los adipocitos fue similar a los controles. Se ha descrito una menor concentración en la subunidad β en el tejido adiposo del omento en las pacientes con SOP. La alteración más importante detectada en los adipocitos es la disminución del consumo de glucosa por una disminución de la sensibilidad insulínica lo que sugiere un defecto en la unión al receptor o en la fosforilación.

En el ovario se han identificado receptores para insulina e IGF 1 (91). En las células de la granulosa se han identificado mínimo dos subtipos diferentes de receptores insulínicos, ambos de alta afinidad y sin relación con el tamaño folicular.

Estos receptores disminuyen con la edad (92). En estas células también se han identificado receptores para IGF 1. Las concentraciones de FSH y LH regulan los receptores de insulina e IGF en las células de la granulosa. El desarrollo folicular y la producción esteroidea son el resultado de la acción de las gonadotropinas en el ovario junto con otras sustancias que actúan como cofactores. Se conoce que la insulina y el IGF 1 presentan actividad mitógena en las células de la granulosa, siendo la potencia del IGF 1 discretamente superior a la de la insulina.

2.5.2 Insulino-resistencia: El término insulino-resistencia fue utilizado por primera vez en 1936 por Himsworth al encontrar respuesta variable entre los pacientes tras la administración de la misma cantidad de insulina. Actualmente se define como la disminución de la capacidad de la insulina producir la respuesta fisiológica adecuada sobre el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa. Debido a esto se produce un incremento compensatorio en la producción de insulina dando lugar a hiperinsulinemia que se presenta compatible con valores de glucosa plasmática normales. Cuando este mecanismo no resulta suficiente se evoluciona primero a intolerancia oral a la glucosa y posteriormente a diabetes tipo 2.

La presencia de esta alteración metabólica favorece la aparición de otras patologías (93):

Tabla 8 Consecuencias de la intolerancia a la glucosa	
Alteraciones endoteliales	Aumento de la adhesión de monocitos.
	Elevación plasmática de las moléculas de adhesión.
	Disminución de la vasodilatación dependiente del endotelio.
	Aumento de la concentración plasmática de dimetilarginina asimétrica.
Estado proinflamatorio	Elevación de PCR y leucocitosis con desviación izquierda.
Estado procoagulante	Elevación del fibrinógeno.
	Elevación de la proteína PAI-1.
Dislipemia	Hipertrigliceridemia
	Disminución de HDL-Col
	Aumento del diámetro de las partícula de LDL-Col
	Aumento de la acumulación postprandial de las proteínas lipídicas ricas en triglicéridos.
Alteraciones hemodinámicas	Aumento de la retención renal de sodio
	Aumento de la actividad del sistema simpático
Alteraciones del metabolismo del ácido urico	Hiperuricemia
Alteraciones respiratorias	Apnea del sueño

Aceptado el hecho de la asociación de hiperandrogenismo y resistencia insulínica en mujeres con SOP, se discutió durante algún tiempo si existía una relación causa efecto entre ambos procesos.

Algunos estudios sirvieron para descartar la idea de que el exceso de andrógenos pudiera ser la causa del hiperinsulinismo y para apoyar la posibilidad de que, por el contrario, el hiperinsulinismo pudiera estimular la producción de andrógenos en el ovario de las mujeres con SOP (94). En contra de la primera hipótesis, investigaciones de Dunaif y cols (95) permitieron evidenciar que la supresión de los niveles de andrógenos al rango normal no induce cambios significativos en la resistencia insulínica en pacientes con SOP.

Con el objetivo de investigar las interacciones de la hiperinsulinemia y las alteraciones de la secreción de gonadotrofinas en mujeres SOP, Anttila y cols llevaron a cabo investigaciones que les permitieron afirmar que las mujeres hiperandrogénicas pueden ser divididas en dos subgrupos: unas con resistencia insulínica, LH normal o mínimamente elevada e insulina marcadamente elevada; otras con LH elevada, sin resistencia insulínica e insulina normal y que la obesidad se asocia con el primero y la elevación de los niveles circulantes de LH con el segundo (30)

Se hizo evidente que el hiperinsulinismo consecuencia del aumento de la resistencia a la acción periférica de la insulina es frecuente en mujeres SOP, sobre todo en aquéllas que presentan obesidad troncular, y se postuló que la resistencia insulínica está relacionada con alteraciones biológicas a nivel post-receptor insulínico (96). Varios estudios en pacientes con SOP han demostrado que la metformina reduce los niveles de insulina y de glucosa postprandial, y mejora la sensibilidad a la insulina (97). También se ha demostrado que el uso de metformina mejora el perfil lipídico, la función endotelial y disminuye los marcadores de inflamación como la PCRus (98).

2.5.3 Insulina y metabolismo adipocitario: Investigaciones recientes han permitido relacionar la resistencia a la acción de la insulina con alteraciones del metabolismo de los adipocitos que, básicamente, consisten en aumento de la expresión de TNF α (80), aumento de la producción de ácidos grasos libres, aumento de la liberación de resistina (99), disminución de la producción de leptina (100) y

disminución de la liberación de adiponectina (101). Muchos de estos resultados son controvertidos ya que son estudios sobre muestras pequeñas y donde se diferencia entre pacientes con y sin obesidad (102).

En resumen, parece poder afirmarse que la resistencia a la insulina y el hiperinsulinismo que de ella se deriva juegan un papel importante en la fisiopatología del ovario poliquístico aumentando el riesgo de vasculopatía y elevando el riesgo cardiovascular.

2.6 Metabolismo del tejido adiposo y SOP:

Actualmente se considera que el tejido adiposo es el órgano más grande del cuerpo humano con unas funciones muy importantes: aislante visceral, almacenamiento de energía en situaciones de exceso de hidratos de carbono y secreción de sustancias para la correcta homeostasis energética.

La forma más común de tejido adiposo en el ser humano es el tejido adiposo blanco (TAB) que está compuesto por adipocitos unidos por tejido conectivo altamente vascularizado e innervado. También se pueden encontrar macrófagos, leucocitos, fibroblastos, células progenitoras de adipocitos y células endoteliales. Se distribuye fundamentalmente en dos áreas: la región subcutánea del cuerpo y la alrededor de las vísceras. Dependiendo de la localización ejerce funciones especializadas. Cuando se localiza alrededor de órganos abdominales y torácicos, exceptuando el corazón, la grasa visceral segrega citoquinas inflamatorias que ejercen su función tanto a nivel local como sistémico. Cuando se encuentra asociado con tejido músculo esquelético segrega ácidos grasos libres, interleucina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral (TNF- α). El tejido adiposo alrededor del corazón secreta citoquinas involucradas en la promoción de aterosclerosis e hipertensión arterial sistólica. La grasa perirrenal interviene en la reabsorción de sodio afectando al volumen intravascular y modificando la tensión arterial.

2.6.1 Adipogénesis: Los precursores de los adipocitos surgen de las células madre mesenquimales (CMM) derivadas de la capa mesodérmica embrionaria. Las CMM pluripotentes reciben señales extracelulares para que se diferencien hacia el

linaje adipocitario en forma de preadipocitos. Estas células presentan una sola diferencia con las células CMM, no son capaces de diferenciarse en otra estirpe celular. Con este primer paso lo que se consigue es la proliferación de preadipocitos detenidos en una determinada fase de crecimiento. En esta fase se produce la expresión de una sustancia clave en la diferenciación adipocitaria: receptor activado por la proliferación de peroxisomas (PPAR γ). En ausencia de PPAR γ no se produce la diferenciación adipocitaria. Esta molécula es el objetivo de las tiazolidindionas, medicamentos usados en el tratamiento de la diabetes no insulino dependiente o tipo 2: activan el PPAR γ induciendo la activación adipocitaria. El PPAR γ se encuentra en el cromosoma 3p25 y codifican dos isoformas biológicamente activas PPAR γ 1 y PPAR γ 2. La expresión de PPAR γ 1 es casi omnipresente mientras que la de PPAR γ 2 se expresa en el TAB, y se encuentra implicada en el almacenamiento de lípidos y en el tejido adiposo pardo (TAP) en la disipación de energía.

2.6.2 Regulación del metabolismo lipídico: Los triglicéridos (TG) presentes en el TAB representan la principal reserva de energía. Se encuentran en cambio constante regulados por la ingesta alimentaria, el ayuno, las dietas y los niveles de hormonas pancreáticas. Si el tejido adiposo almacena los AG o los libera para la producción de energía depende de la dieta, el estado hormonal y la homeostasis energética. Las catecolaminas y el glucagón pancreático se unen a sus receptores en los adipocitos activando la adenilatociclase que produce un aumento del AMP cíclico. Este aumento del AMPc activa la proteinkinasa dependiente del AMPc o PKA que fosforila y activa la lipasa sensible a hormonas (HSL) liberando los AG. Esta fosforilación lleva a una liberación de ácidos grasos a la sangre y a un incremento en la oxidación de los ácidos grasos en otros tejidos como en músculo e hígado.

La liberación de glucagón debida a la reserva insuficiente de carbohidratos y de precursores de la gluconeogénesis aumenta la disponibilidad de los AG ya que estimulan la AMPK inhibiendo la ACC y por ello la síntesis de glucosa.

La insulina tiene un efecto opuesto al glucagón y produce la síntesis de glucógeno y triglicéridos. Otro de los efectos que produce es una desfosforilación e inactivación de la HSL.

Tras la ingesta la sangre transporta los triglicéridos en la forma de VLDL y quilomicrones. También AG unidos a albumina, aminoácidos, lactato, cuerpos cetónicos, y glucosa. El principal órgano involucrado en la regulación del estado energético es el páncreas. Cuando las concentraciones son bajas se secreta glucagón y cuando son altas se segrega insulina.

La regulación del metabolismo graso se realiza mediante dos mecanismos distintos: uno a corto y otro a largo plazo. La regulación a corto plazo se basa en la disponibilidad de sustrato, regulación alostérica y modificaciones enzimáticas. La acetil coAcarboxilasa (ACC) es la enzima limitante en la síntesis de ácidos grasos. La liberación de glucagón deriva en fosforilación y por lo tanto inhibición de la ACC. Sin embargo la insulina activa las fosfatasas que defosforilan la ACC aumentando su actividad.

La regulación a largo plazo se basa en alteración en la síntesis enzimática y en la vida media de la misma. La insulina estimula la síntesis de ACC y de FAS (sintetasa de ácidos grasos). El ayuno disminuye la síntesis de estas enzimas. Los niveles de lipoproteína lipasa en el tejido adiposo aumentan por la insulina y disminuyen con el ayuno. En el corazón ejercen un efecto inverso permitiendo al corazón absorber cualquier AGL en sangre para poder ser oxidado y obtener energía.

2.6.3 Tejido adiposo y citokinas:

El tejido adiposo produce y libera factores de crecimiento y angiogénicos, citokinas, quimioquinas, reactantes de fase aguda, factores de complemento y moléculas de adhesión. No todos los tejidos adiposos segregan todas las sustancias ni en la misma cantidad. Depende de la localización y de la cantidad de grasa acumulada.

2.6.3.1 Tejido adiposo y respuesta inflamatoria:

Las citoquinas proinflamatorias segregadas por el tejido adiposo son mayores en pacientes obesas. Un cambio clave en el tejido adiposo en la obesidad es el aumento porcentual de macrófagos en este tejido. Estos macrófagos son una fuente primaria de citoquinas proinflamatorias siendo la adipokina más importante la MCP1.

Conforme aumenta el nivel de macrófagos en el tejido adiposo aumentan las concentraciones de citoquinas como IL6 y TNF α y disminuyen las de adiponectina. El tejido adiposo blanco perivisceral secreta un porcentaje elevado de IL6 y esta a su vez eleva las concentraciones de PCR (proteína C Reactiva).

2.6.3.2 Sustancias segregadas por el tejido adiposo:

Factores de crecimiento y factores angiogénicos: fibroblastos factores de crecimiento (FGF), similar a la insulina factor de crecimiento 1 (IGF-1), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de crecimiento nervioso (NGF), de crecimiento vascular endotelial Factor (VEGF), factor de crecimiento transformante- β (TGF β), angiopoyetina-1, angiopoyetina-2, factor tisular (TF)

Citokinas: IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNF α , factor de inhibición de la migración de los macrófagos (MIF)

Factores complement-like: adiposina, adiponectina, proteína estimulante de la acilación (ASP)

Las moléculas de adhesión y los componentes de ECM (matriz extracelular): α 2-macroglobulina, adhesión de células vasculares molécula-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), colágeno I, colágeno III, colágeno IV, colágeno VI, fibronectina, metaloproteinasas de matriz 1 (MMP1), MMP7, MMP9, MMP10, MMP11, MMP14, MMP15, lisil oxidasa

Reactantes de fase aguda: La proteína C reactiva (PCR), amiloide A sérico A3 (SAA3), activador del plasminógeno inhibidor-1 (PAI-1), haptoglobina

Quimiokinas: chemerina, proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1), proteína inhibidora de macrófagos-1 α (MIP-1 α), regula la activación, por lo general de las células T expresadas y secretadas (RANTES)

Moléculas de procesos metabólicos: ácidos grasos del adipocito unión a proteínas (aP2), apolipoproteína E (apoE), resistina, omentina, vaspina, apelina, proteína de unión al retinol 4 (RBP4), visfatina y leptina

Moléculas de otros procesos: COX productos vía PGE2 y PGI2 (prostaciclina), óxido nítrico sintasa vía, renina-angiotensina sistema, inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMP).

Además de estos factores también segrega receptores de membrana y receptores nucleares que influyen en la función del tejido adiposo. Entre los receptores de membrana se encuentran el de la insulina, el del glucagón, el de la hormona de crecimiento, la adiponectina, la gastrina, y la angiotensina II. Los receptores nucleares son (PPAR γ), estrógenos, andrógenos, vitamina D, hormona de la tiroides, progesterona y glucocorticoides.

Existen una serie de sustancias que están relacionadas con las múltiples alteraciones (insulinorresistencia, obesidad, hiperlipidemia...) que se presentan en pacientes con SOP y que además están reguladas por el tejido adiposo:

2.6.3.2.1 Adiponectina:

La adiponectina es una proteína compuesta por 244 aminoácidos. Esta producida fundamentalmente por los adipocitos (103).

Circula en sangre de tres maneras distintas dependiendo de su peso molecular: forma trimérica o de bajo peso molecular, forma hexamérica o de peso molecular medio y forma dodeca a octocaédrica o de alto peso molecular. Esta última forma ejerce su función en las células endoteliales y hepáticas (104).

Presenta dos tipos de receptores distintos: AdipoR1 y AdipoR2 (105). Estos receptores se encuentran presentes en ovario, placenta, endometrio e hipófisis. Presenta una estructura transmembrana que difiere de la estructura de la proteína G en que la porción C terminal se encuentra extracelular y la porción N terminal se encuentra intracelular (106, 107).

Su principal función es el aumento del consumo de glucosa por parte del músculo e hígado disminuyendo la concentración de ácidos grasos libres y triglicéridos y suprimiendo la producción hepática de glucosa (108).

Su secreción a sangre se produce en pulsos siguiendo un ritmo circadiano: disminución conforme anochece y ascenso en las primeras horas de la mañana (109). Sus valores normales en sangre están entre 8-25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ siendo mayores en mujeres que en hombres. Los andrógenos disminuyen la secreción y las dietas ricas en soja y aceites de pescado la aumentan (110, 111)

Sus niveles se encuentran disminuidos en los pacientes obesos y aumentan cuando se produce adelgazamiento, fallo renal, insuficiencia cardiaca congestiva y uso de pioglitazonas, estimulación adrenérgica y uso de glucocorticoides (108, 109).

Ejerce una función de modulación inflamatoria ya que reduce la producción y actividad de $\text{TNF-}\alpha$ y de IL-6.

Existe relación entre adiponectina, insulina y FSH: intervienen en la regulación de folículo periovulatorio mediante la proteína APPL1 (112).

Se ha evidenciado que en situaciones de resistencia a la insulina y metabolismo adipocitario alterado, como ocurre en el SOP, se produce una disminución de la liberación de adiponectina (101).

2.6.3.2.2 Leptina:

Existen datos contradictorios con respecto a los niveles de leptina en las pacientes con SOP y su relación con la obesidad y el metabolismo hidrocarbonado. Existen estudios donde los niveles son más elevados en las pacientes con SOP y se mantienen si las ajustamos por IMC. Sin embargo otros estudios detectan niveles similares en las pacientes con SOP y los controles (113, 114).

La leptina es una proteína compuesta de 167 aminoácidos. Se produce mayoritariamente en el tejido adiposo blanco siendo otras fuentes secundarias el tejido adiposo pardo, la placenta, el ovario, el musculo estriado, las células de la parte inferior del fundus gástrico, glándulas mamarias, medula ósea e hígado (115-119).

Presenta una secreción pulsátil y diurna siendo a la 1 hora el nivel de secreción inicial y a las 9 el pico máximo. El número de pulsos se correlaciona con el IMC y con la amplitud pero es independiente de los esteroides sexuales y de la glucosa (120-122).

Circula en plasma tanto en forma libre como ligada (123, 124). No se almacena y su producción está influenciada por el tamaño de los adipocitos ya que a mayor tamaño mayor producción (125).

Su receptor se expresa en las células del núcleo arcuato, hipófisis anterior, linfocitos T, células endoteliales, páncreas, ovario y endometrio (126, 127).

Ejerce su función en los receptores hipotalámicos mediante su unión al receptor Ob-Rb, fosforilándose y transportándose al núcleo para su expresión génica. Su función fundamental es la regulación del peso corporal mediante la limitación de la ingesta de alimentos y el aumento de gasto de energía.

Inhibe el apetito de dos maneras distintas:

1.- *Contrarrestando el efecto del neuropéptido Y (orexígeno secretado por las células del intestino e hipotálamo) y de la anandamida.* La leptina se une a las neuronas que contienen neuropéptido Y en la zona del núcleo arcuato disminuyendo su actividad. La señal que transmiten es que el cuerpo no necesita más alimento produciendo sensación de saciedad.

2.- *Promoviendo la síntesis de α -MSH (hormona estimulante de los melanocitos).* La MSH es responsable de la pigmentación del pelo y piel y es un potente supresor del apetito.

A pesar que los niveles séricos se correlacionan positivamente con la grasa corporal, se produce un descenso intenso con el ayuno o en dietas hipocalóricas incluso antes de la pérdida de peso o de grasa (122). En los pacientes obesos se ha encontrado un nivel elevado de leptina por lo que se postula que pueden ser resistentes a esta adipokina.

En ausencia de leptina o su receptor se produce un estado de alimentación incontrolada. Teóricamente la administración de leptina exógena a grandes dosis produciría saciedad pero los resultados de los estudios no son concluyentes ya que solo se produce disminución de peso en los pacientes con obesidad mórbida. El tratamiento con leptina exógena solo ha sido satisfactorio en los pacientes que presentan una mutación homocigota para el gen de la leptina.

La leptina interviene en la homeostasis de la glucosa. Se han identificado receptores de leptina en las células β pancreáticas. Su administración revierte la hiperinsulinemia producida por la deficiencia de leptina (128). Se postula que existe un eje adipoinsular que intervienen en el control de la glucosa. Los niveles de leptina se incrementan en niñas a partir de los 7-8 años, siendo los niveles mayores a los 13-15 años lo que sugiere un función importante en el desarrollo puberal. En estados de resistencia a la insulina y alteraciones del metabolismo adipocitario, como ocurre en el SOP, se produce una disminución de la producción de leptina

Leptina y esteroides sexuales: Tras la menarquia y con el comienzo de los ciclos menstruales los niveles de leptina van parejos a los niveles de LH y estradiol (129) encontrándose en su punto más bajo en la fase folicular temprana y aumentando a lo largo del ciclo, siendo máximos durante la fase lútea. En este momento los receptores de leptina localizados en el endometrio están en su punto máximo (130, 131). Los estrógenos estimulan la producción de leptina en el tejido adiposo en las mujeres pero no en los hombres y aumentan la sensibilidad a la leptina en el cerebro.

También han sido identificados receptores para la leptina en el folículo preovulatorio, ovocito maduro, células de la teca y granulosa y células intersticiales. Se ha demostrado que la leptina inhibe la estimulación producida por FSH/IGF 1 en las células de la granulosa por lo que desciende el nivel de estradiol (132).

La leptina posee también un papel proinflamatorio ya que protege a las células T de la apoptosis y mejora la conexión con las T helper. También ejerce un efecto sobre el endotelio ya que aumenta la expresión de las moléculas de adhesión aumentando la unión de neutrófilos y leucocitos.

2.6.3.2.3 Resistina:

Es una proteína compuesta por 94 aminoácidos. Pertenece a la familia de proteínas ricas en cisteína como otras que intervienen en el proceso inflamatorio. Esta codificada por el gen Retn. Su nombre deriva de las observaciones originales ya que esta proteína inducía resistencia a la insulina en los ratones. Su papel en los seres humanos todavía no está claro.

Los niveles en adipocitos son bajos por lo que se considera que su producción proviene más de los macrófagos y las células estromales del tejido adiposo. También se han encontrado pequeñas cantidades en los islotes pancreáticos y en células musculares (99, 133-135).

Sus niveles plasmáticos se encuentran elevados en ratones con obesidad y mejora la sensibilidad a la insulina aunque sus niveles en pacientes humanos con DMT2 no difieren de los controles. Cabe destacar que sus niveles ascienden debido a la estimulación por IL-6 y TNF- α y disminuyen por las pioglitazonas, antidiabético oral utilizado en la DMT2.

Tanto los esteroides sexuales como los depósitos de grasas interfieren en sus niveles. Los estrógenos disminuyen la expresión del gen Retn en los depósitos de grasa pero sin variaciones en las concentraciones plasmáticas (136, 137).

Algunos autores han demostrado que los niveles de resistina están elevados en las pacientes con SOP y han encontrado una correlación entre estos y el IMC y el nivel de testosterona (138, 139). Además la resistina incrementa la producción androgénica mediante la estimulación de las células de la teca del ovario siendo este incremento mayor en presencia de insulina. La secreción de glucosa estimulada por insulina y los niveles de ARNm de la resistina disminuyen tras la realización de un Drilling ovárico (140).

También ejerce efectos sobre el sistema inmunitario y vascular. La resistina modula la función de las células endoteliales aumentando la expresión de la molécula de adhesión celular VCAM1 y del quimioatrayente MCP1 (Proteínaquimiotáctica de los monocitos) favoreciendo un estado proinflamatorio.

2.6.3.2.4 TNF α :

El TNF- α es una hormona glucopeptídica formada por 185 aminoácidos (141). Es una citokina inductora de la respuesta inflamatoria. Esta producida fundamentalmente por los linfocitos, monocitos, macrófagos y células endoteliales. También se expresa en adipocitos.

Activa las células endoteliales durante las fases iniciales de la aterosclerosis favoreciendo la síntesis de moléculas de adhesión (77).

Sobre el endotelio vascular, la liberación de TNF- α produce una reacción local con liberación de óxido nítrico, vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, reclutamiento de las células inflamatorias, inmunoglobulinas y complemento, provocando la activación de los linfocitos T y B. También aumenta la activación y adhesión plaquetarias.

Se considera que ejerce una función importante en la regulación de la insulina en los pacientes con obesidad. Se ha demostrado una elevación de la expresión de esta citokina tanto en tejido adiposo como en músculo. Se considera que mitiga la señalización de la insulina mediante la inhibición de la actividad tirosin-kinasa y favorece la fosforilación del receptor de la insulina, impidiendo todo ello que la insulina ejerza su correcta función (77, 78). Además produce una disminución de la secreción de adiponectina por parte de los adipocitos y suprime el transporte de glucosa y los receptores insulínicos (79-81).

En el tejido adiposo, el TNF- α mejora la diferenciación preadipocitaria, incrementa la apoptosis del adipocito y aumenta la lipólisis (79, 82, 83).

Por otra parte, el TNF- α reduce la producción de esteroides sexuales por el ovario, los testículos y el córtex adrenal mediante la inhibición de AMP cíclico. (85). En el hipotálamo actúa sobre el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal, estimulando la liberación de hormona liberadora de corticotropina.

3. Hipótesis de trabajo:

3.1 Hipótesis de trabajo:

La presencia de SOP está asociada a un aumento del riesgo cardiovascular por sí mismo e independiente de otros factores metabólicos conocidos como la obesidad o la inflamación crónica.

3.2 Objetivos:

Objetivo principal:

Caracterización del riesgo cardiovascular en mujeres con SOP en función del perfil metabólico y de los marcadores de inflamación para identificar si existen alteraciones que se asocien de forma independiente a un aumento del riesgo cardiovascular.

Objetivos secundarios:

- Construcción de un modelo matemático que permita el cálculo individualizado del riesgo cardiovascular de las pacientes con SOP.
- Crear grupos de riesgo bien definidos que permitan ajustar estrategias de prevención y seguimiento.

4.- Material y métodos:

Diseño: Estudio longitudinal prospectivo y comparativo no randomizado de 2 años de duración.

Ámbito: Unidad de referencia de reproducción humana asistida de hospital universitario terciario: Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Universitario La Fe.

Pacientes: La selección de las pacientes se realizó entre pacientes estériles de la Unidad de Reproducción Humana. Se incluyeron 64 pacientes entre 20 a 39 años. De éstas, 20 se asignaron al grupo control y 44 al grupo SOP que, asimismo fue subdividido en función del IMC, en:

Grupo SOP con $IMC \geq 30$, formado por 23 pacientes

Grupo SOP con $IMC < 30$, formado por 21 pacientes

Los criterios de selección de los pacientes fueron:

Grupo SOP: pacientes diagnosticadas de Síndrome de ovario poliquístico (SOP) según los criterios de Rotterdam. Las pacientes cumplían los 3 criterios (Fenotipo A)(8).

- Se ha considerado como oligo-anovulación cuando el tiempo entre menstruaciones era mayor o igual a 45 días.

- Para considerar los ovarios de aspecto poliquístico mediante control ecográfico estos tenían que presentar 12 o más folículos menores a 10 mm en ausencia de folículo dominante.

-El hirsutismo se valoró con la escala de Ferriman-Gallwey modificado (FGm) (Figura 6) que realizaron las propias pacientes en caso de que acudieran con depilación previa para lo cual fueron adecuadamente instruidas. En el resto de los casos FGm fue realizado un único explorador. Se considera que existe hirsutismo clínico si la puntuación total fue mayor de 8.

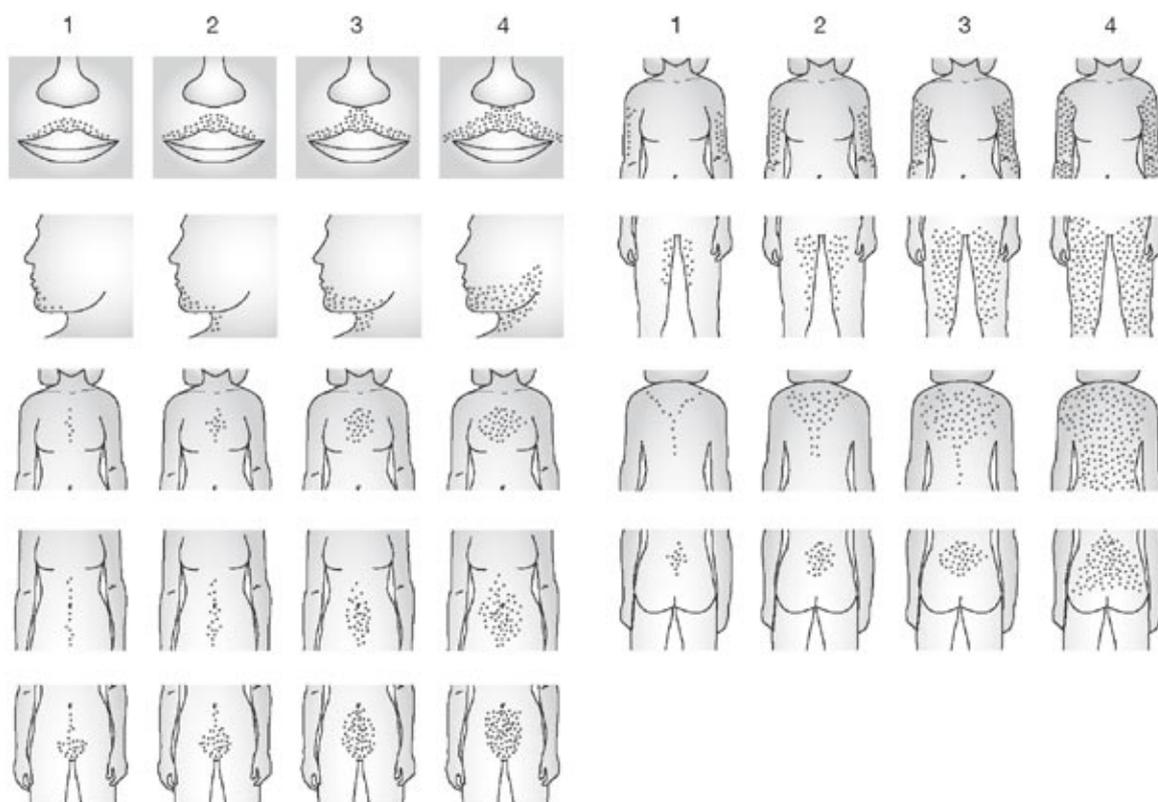


Figura 6:escala Ferriman Gallwey modificada. (18).

Grupo Control: formado por 20 pacientes entre 20 a 39 años con esterilidad únicamente por causa masculina. Todas ellas presentaban ciclos ovuladores regulares y permeabilidad tubárica bilateral. En todas, el IMC fue menor de 30.

Criterios de inclusión generales: independientemente del diagnóstico o no de SOP, las pacientes incluidas en este estudio debían cumplir estos criterios de inclusión (**Tabla 9**):

Tabla 9 Criterios de inclusión	
	Edad: 20-39 años.
	Ausencia de patología orgánica anexial actual o previa.
	Leer y firmar el Consentimiento informado.

Criterios de exclusión: Asimismo se aplicaron los siguientes criterios de exclusión (Tabla 10):

Tabla 10 Criterios de exclusión	
	Patología anexial previa o actual.
	Alteraciones de la morfología uterina.
	Drilling ovárico previo.
	Niveles séricos de 17hidroxiprogesterona, TSH o PRL patológicos.

INTERVENCIONES:

Esquema de visitas.- Se realizaron dos visitas.

En la primera, se llevó a cabo la anamnesis completa con antecedentes familiares, médicos generales, medicamentosos y ginecológicos. Se registró la edad de la menarquia, la evolución de los ciclos desde la misma, el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, la duración actual del ciclo, las intervenciones ginecológicas y los tratamientos médicos actuales o pasados que había seguido.

Además, se llevó a cabo una exploración física completa con cuantificación antropométrica, la determinación de tensión arterial y valoración del vello corporal. La valoración del vello corporal la realizaron las propias pacientes según la escala de Ferriman Gallwey modificada (FGm) previamente adiestradas en el caso de que hubieran habido técnicas depilatorias previas. Se realizó toma de tensión arterial tras 5 minutos en reposo.

En esta primera visita, se invitó a las pacientes participar en el estudio mediante consentimiento informado. Aquellas que aceptaron participar en el estudio y firmaron el consentimiento fueron citadas a una segunda visita coincidiendo entre el segundo y el quinto día de un ciclo menstrual espontáneo. En el caso de que presentaran una amenorrea superior a 90 días, fueron citadas en ausencia de menstruación. Además, se realizó una exploración ginecológica que incluyó la ecografía

transvaginal para descartar patología orgánica uterina y anexial y hacer una valoración inicial para asignar a las pacientes a uno de los grupos.

En la segunda visita se procedió a la extracción sanguínea en los días 2º a 5º de una menstruación espontánea o en día aleatorio si los ciclos eran superiores a 90 días. Este día se procedió a la realización una ecografía transvaginal para realizar un recuento de folículos antrales y confirmar el criterio ecográfico de ovarios poliquísticos o grupo control.

Resumen datos recogidos en las visitas (Tabla 11 y 12):

Tabla 11 Primera visita	
Anamnesis	Antecedentes familiares. Antecedentes médicos generales. Antecedentes ginecológicos.
Exploración física	Medidas antropométricas. Toma de TA. Valoración vello: FGm
Exploración ginecológica	Asignación inicial al grupo Descartar patología orgánica
Consentimiento informado	Firma.

Tabla 12 Segunda visita	
	Extracción sanguínea
	Estudio ecográfico

Instrumentación: El peso fue registrado en kilogramos y la talla en metros con dos decimales. La medición de la cintura y cadera se realizó en centímetros. Se calculó el índice cintura cadera. Se calculó el IMC según su fórmula internacional:

$$\text{IMC: peso (kg)/talla}^2 \text{ (m}^2\text{)}.$$

A todas las pacientes se les realizó un estudio ecográfico transvaginal en la primera visita y al inicio de la fase folicular. Se valoró la morfología uterina, la homogeneidad de la línea endometrial, la normalidad de las trompas, la morfología ovárica y el número y tamaño de los folículos antrales.

La toma de tensión arterial se realizó en milímetros de mercurio (mmHg) en posición sentada tras 5 minutos de reposo.

Variables del estudio.-

En las tablas 13-18 quedan reflejadas las variables recogidas durante el estudio tanto físicas como analíticas. Se expresan agrupadas como variables clínicas (Tabla 13), determinaciones hormonales (Tablas 14), determinaciones hemtaologicas y bioquímicas ordinarias (Tabla 15), determinaciones del metabolismo hidrocarbonado (Tabla 16), determinaciones metabolismo lipídico (Tabla 17) y determinaciones metabolismo adipocitario (Tabla 18).

Tabla 13 Variables clínicas y antropométricas		
	Unidades	Tipo de variable
Edad	Años (a)	Cuantitativa continua
Duración del ciclo	Días (d)	Cuantitativa continua
Peso	Kilogramos (kg)	Cuantitativa continua
Talla	Metros (m)	Cuantitativa continua
IMC	Kg/(m ²)	Cuantitativa continua
TAS	Milímetros de mercurio (mmHg)	Cuantitativa continua
TAD	Milímetros de mercurio (mmHg)	Cuantitativa continua
Cintura	Centímetros (cm)	Cuantitativa continua
Cadera	Centímetros (cm)	Cuantitativa continua
Índice cintura/cadera	N/A	Cuantitativa continua
Hirsutismo	FGm	Cuantitativa continua

Tabla 14 Determinaciones hormonales		
Determinaciones hormonales	Unidades	Tipo variable
FSH	mUI/ml	Cuantitativa continua
LH	mUI/ml	Cuantitativa continua
SHBG	nmol/L	Cuantitativa continua
PRL	ng/ml	Cuantitativa continua
TSH	mUI/L	Cuantitativa continua
17-OH progesterona	ng/dL	Cuantitativa continua

Tabla 15 Variables hematológicas y bioquímicas ordinarias		
	Unidades	Tipo variable
Leucocitos	10^3 c/ μ L	Cuantitativa continua
Neutrófilos	%	Cuantitativa continua
PCRus	mg/l	Cuantitativa continua

Tabla 16 Variables metabolismo hidrocarbonado		
	Unidades	Tipo variable
Glucosa	mg/dl	Cuantitativa continua
Insulina	μ UI/ml	Cuantitativa continua
HOMA	N/D	Cuantitativa continua
HbA1c	%	Cuantitativa continua

Tabla 17 Variables metabolismo lipídico		
Metabolismo lipídico	Unidades	Tipo variable
CT	mg/dl	Cuantitativa continua
HDL-Col	mg/dl	Cuantitativa continua
LDL-Col	mg/dl	Cuantitativa continua
VLDL-Col	mg/dl	Cuantitativa continua
TG	mg/dl	Cuantitativa continua

Tabla 18 Variables metabolismo adipocitario		
	Unidades	Tipo variable
Adiponectina	µg/dl	Cuantitativa continua
Leptina	ng/ml	Cuantitativa continua
Resistina	ng/ml	Cuantitativa continua
TNF-α	pg/ml	Cuantitativa continua

La segunda visita se realizó entre los días 2º a 5º de la regla para la extracción de analítica en ayunas. Todas estas determinaciones se realizaron por el laboratorio de análisis clínicos del H.U.P. La Fe.

El índice HOMA fue calculado según la fórmula:

$$\text{HOMA} = (\text{Glucosa (mg/dl)} \times \text{Insulina (\mu UI/ml)}) / 405.$$

Las determinaciones bioquímicas se realizaron a cargo del Laboratorio de Biopatología y Análisis Clínicos del H.U.P La Fe mediante el analizador AU 5400 Beckman Coulter:

GLUCOSA: Prueba UV enzimática (método de hexocinasa). Sensibilidad 1 mg/dL.

COLESTEROL TOTAL (CT): Prueba de colorimetría enzimática mediante colesterol oxidasa y colesterol esterasa. Sensibilidad 1 mg/dL.

HDL-COLESTEROL (HDL-Col): Prueba de colorimetría enzimática mediante colesterol oxidasa y colesterol esterasa con anticuerpo de lipoproteína B antihumano. Sensibilidad 1 mg/dL.

LDL-C (LDL-Col): Prueba de colorimetría enzimática con agente protector de LDL (que impide afectación enzimática de LDL) mediante colesterol oxidasa y colesterol esterasa. Sensibilidad 1 mg/dL.

Triglicéridos (TG): Prueba de colorimetría enzimática mediante lipasa y glicerol quinasa. Sensibilidad 1 mg/dL.

Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR-us): Prueba inmunoturbidimetría mediante anticuerpo recubierto con partículas de látex. Sensibilidad 0.02 mg/L.

Las determinaciones hormonales se realizaron en el Laboratorio de Biopatología y Análisis Clínicos del H.U.P La Fe mediante quimioluminiscencia. Para la determinación de FSH se usó el kit de Abbott FSH Architect system B7K750 con sensibilidad 0,05mUI/mL y linealidad de 150mUI/mL. Para la determinación de LH se usó el kit de Abbott LH Architect system B2P400 con sensibilidad 0, 0,09mUI/mL y linealidad de 250mUI/mL. Para la determinación de estradiol se usó el kit de Abbott Estradiol Architect system B7K720 con sensibilidad 10 ng/mL y linealidad 1000 pg/mL. Para la determinación de prolactina se usó el kit de Abbott Prolactin Architect system B7K760 con sensibilidad 0,6 ng/mL 200 ng/mL. Para la determinación de progesterona (P₄) se usó el kit de Abbott Progesterone Architect system B7K770 con sensibilidad 0,1 ng/mL y linealidad 40 ng/mL. Para la determinación de TSH se usó el kit de Abbott TSH Architect system B7K623 con sensibilidad 0,002 μUI/mL y linealidad 100000 μUI/mL. Para la determinación de testosterona se usó el kit de Abbott Testosterone 2nd generation Architect system B2P130. Para la determinación de insulina se usó el kit de Siemens Insulin Immulite 2000 con sensibilidad 2μUI/mL y linealidad 300μUI/mL. Para la determinación de SHBG se usó el kit de Siemens Insulin Immulite 2000 con sensibilidad 0,02nmol/L y linealidad 180nmol/L.

Las determinaciones de Leptina (ng/ml), Resistina, Adiponectina (μg/ml) y TNF-α (pg/ml) fueron realizadas en el Laboratorio de Endocrinología Experimental de la

cátedra de Endocrinología de la Universidad Complutense de Madrid, bajo la responsabilidad del Dr. J.A.F. Tresguerres. Todas estas determinaciones se determinaron mediante ELISA, utilizándose anticuerpos específicos. Para la determinación de TNF- α se ha utilizado el test ELISA de B-Bridge International USA/ Japan con una sensibilidad de 1ng/ml y comercializado por Leti España. Para la determinación de resistina se ha utilizado el test ELISA de B Bridge International con una sensibilidad de 250 pg/ml comercializado por Leti España. El test utilizado para la detección de leptina es ELISA Sandwich, DRG diagnostics, Germany y tiene una sensibilidad de 250 pg/ml. Finalmente el de Adiponectina es ELISA de B Bridge International y tiene una sensibilidad de 25 pg/ml.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Objetivos:

- Crear un modelo matemático predictivo del RCV en pacientes con SOP.
- Diseñar herramientas de uso clínico para el cálculo del riesgo individualizado.

Para facilitar el análisis correcto de los datos, la información recogida de cada caso se introdujo en un ordenador personal tipo PC, quedando estructurada en la forma de una base de datos.

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa estadístico y sus aplicaciones Rcmdr y RcmdrPlugin.EZR (179). Además, se utilizó el Programa SPSS para Windows versión 6.1.2. de SPSS Inc. Para el diseño de tablas dinámicas se utilizó el programa Microsoft Office Excel versión 2013.

A continuación se detallan los tipos de análisis estadísticos que se han utilizado con el fin de alcanzar los objetivos propuestos por el estudio

El análisis estadístico se llevó a cabo de forma secuencial y comprendió:

1º) Univariante descriptivo de las variables cuantitativas y cualitativas del estudio;

2º) Análisis comparativo o inferencial bivariante para el estudio de la asociación y relación entre pares de variables y, por último,

3º) Análisis multivariante para llevar a cabo un proceso de modelización matemática para determinar qué variables presentan capacidad predictiva de RCV y permita crear grupos de riesgo bien diferenciados.

Análisis univariante descriptivo.- Para conocer la distribución y frecuencia de las variables así como para detectar posibles errores, datos faltantes y outliers se llevó a cabo un análisis descriptivo que incluyó el cálculo de distintos estadísticos de distribución (media, mediana, intervalo, desviación típica) y frecuencia de sucesos en distintas clases mediante las fórmulas habituales.

Análisis comparativo bivariante.- Para estudiar la asociación entre variables cualitativas se realizó la prueba de Chi-Cuadrado mediante la creación de tablas de contingencia y se comparó las proporciones de las características consideradas. En aquellos casos en que la frecuencia observada en alguna de las casillas de la tabla de contingencia fuera inferior a 5 se utilizó la prueba exacta de Fisher. Para la comparación de medias muestrales entre variables continuas cuantitativas se utilizó la prueba de la t de Student para grupos independientes. Cuando la variable de referencia tenía más de dos categorías se utilizó un análisis de la varianza de una vía (test de ANOVA). Previamente a la comparación de medias, se llevó a cabo un test kolmogorov-Smirnov para comprobar la normalidad y un test de test F de Snedecor para comprobar la homogeneidad de las varianzas. En caso de incumplimiento de condiciones de aplicabilidad, se utilizaron los test no paramétricos de Mann-Whitney y test de Kruskal-Walis.

Análisis multivariante predictivo de RCV.- Teniendo en cuenta que, el objetivo de nuestro estudio era analizar si el SOP representa un factor de RCV por sí mismo e independiente de otros factores reconocidos que pudieran actuar como confundientes, era necesario llevar a cabo un análisis multivariante que tuviera en

cuenta el grado de asociación entre los diferentes factores de RCV considerados. Por lo tanto, se realizaron las siguientes tareas:

- 1º) Diseño de un modelo matemático predictivo (modelización),
- 2º) Evaluación de la bondad ajuste global del modelo a los datos observados;
- 3º) Estimación de coeficientes,
- 4º) Análisis diagnóstico del modelo;
- 5º) Estimación de predicciones individuales;
- 6º) Evaluación de la seguridad del modelo como herramienta predictiva;
- 7º) Diseño de herramientas de uso clínico para el cálculo predictivo individualizado de RCV en pacientes con SOP.

1.- Diseño de un modelo matemático predictivo multivariante (modelización).

a) Elección del modelo: El modelo de análisis multivariante más adecuado para analizar la contribución predictiva independiente de una variable, o conjunto de variables que pudieran actuar con un efecto de confusión, sobre una variable respuesta de carácter dicotómico, con dos únicos valores posibles, y mutuamente excluyente, es la regresión logística (RL). La RL expresa la probabilidad de que un evento ocurra (variable de respuesta o dependiente) en función de ciertas variables, que se presumen relevantes o influyentes (variables explicativas o independientes). Si al evento que queremos modelizar o predecir lo representamos por Y, y las k variables explicativas se designan por X1, X2, X3,...,Xk, la ecuación general (o función logística) es:

$$P(Y=1) = \frac{1}{1 + \exp^{(\alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \dots + \beta_k X_k)}}$$

α , β_1 , β_2 , β_3 , β_k son los parámetros del modelo, y exp denota la función exponencial. Esta función exponencial es una expresión simplificada que corresponde a elevar el

número e a la potencia contenida dentro del paréntesis, siendo e el número o constante de Euler, o base de los logaritmos neperianos (cuyo valor aproximado a la milésima es 2,718).

Las condiciones que debe cumplir la variable respuesta para que pueda aplicarse la RL son: rango de valores comprendido entre 0 y 1, distribución binomial y varianza dependiente sólo de la media. Para su interpretación clínica se calcula el logaritmo natural de la odds de la variable respuesta, también conocido como *logit*, que puede tomar cualquier resultado desde menos 1 hasta infinito. La odds ratio de cada variable es la probabilidad de presentar RCV dividido por la probabilidad de no presentar RCV y sólo puede tener un valor entre 0 y 1.

b) Definición e inclusión de variables.- Para llevar a cabo el análisis, en primer lugar, se determinaron las variables respuesta y explicativas y sus tipos de medición. Como variable respuesta se consideró la presencia o no RCV. La definición de RCV se estableció siguiendo los criterios de la ADA y la EASD. De tal forma que aquellas pacientes con perímetro abdominal mayor o igual a 80 cm, más, como mínimo, uno de los criterios siguientes: LDL \geq 130 mg/dl, TG \geq 150 mg/dl, tensión arterial sistólica mayor o igual a 130 mm Hg, tensión arterial diastólica mayor o igual a 80 mmHg o HDL \leq 50 mg/dl se consideró como pacientes con RCV.

Tabla 19 Variable respuesta	
Criterio principal	Cintura \geq 80 cm
Criterios secundarios	Glucosa en ayunas \geq 100 mg/dl Triglicéridos \geq 150 mg/dl Tensión arterial sistólica \geq 130 mmHg Tensión arterial diastólica \geq 80 mmHg Colesterol HDL \leq 50 mg/dl Colesterol LDL \geq 130 mg/dl

Antes de iniciar el proceso de modelización, las variables explicativas se definieron de forma adecuada. Hay dos tipos de variables de las que puede depender

el *logit*: variables continuas (variables cuantitativas) y los factores (variables discretas nominales y ordinales). No se incluyeron en el modelo las variables que se utilizaron para la definición de la variable respuesta. Por lo tanto, como variables explicativas se introdujeron las siguientes: índice de masa corporal de entre las antropométricas, el índice HOMA, PCRus, resistina, leptina y adiponectina.

Todas las variables explicativas se introdujeron directamente de manera continua y con sus correspondientes unidades de medición. Sin embargo, para detectar cambios sensibles y apreciar el impacto sobre el RCV, se realizó el análisis de RL introduciendo las variables explicativas con las categorizaciones expuestas en las tablas 20 y 21.

Tabla 20 Categorización de variables cuantitativas		
Variablen	Valor 0	Valor 1
PCR US	<3 mg/dl	≥3 mg/dl
Adiponectina	<3.30 μg/ml	≥ 3.30 μg/ml

Tabla 21 Variables dummy con mas de dos categorías		
Variables indicadores (<i>dummy</i>)		
Ferriman	Ferriman2	Ferriman3
1-8	0	0
9-12	1	0
13-x	0	1

Las variables explicativas con dos categorías fueron codificadas como 0 y 1 y consideradas como binarias. En las variables explicativas con más de dos categorías, se crearon n-1 variables *dummy* tomando el primer valor como categoría de referencia. De esta forma se pudo estimar el diferente efecto de pasar de una categoría a otra sobre la variable respuesta.

c.- Selección de las variables con capacidad predictiva independiente de RCV.-

Previo a la RL, se llevó a cabo un análisis de correlación bivalente para detectar

variables con elevada correlación y evitar la multicolinealidad y ajustar la tolerancia del análisis. De tal forma que, se eliminaron aquellas variables con una correlación superior al 85%. Aunque se llevó a cabo un procedimiento por pasos (stepwise) hacia adelante condicional (forward) y hacia atrás (backward) para detectar cualquier evento de interacción o confusión, la selección de variables para el modelo final fue manual observando los cambios en los coeficientes y en la reducción de deviance residual. Se analizaron todos los conjuntos posibles de variables con un criterio de selección de $p < 0.05$.

Las variables explicativas que entraron a formar parte del modelo por aportar información predictiva independiente se seleccionaron a través de un proceso sistemático de introducción y eliminación de variables comparándolas en cada paso con los dos modelos anidados obtenidos. Para conocer si las variables independientes incluidas en el modelo se asociaban a la variable respuesta mejor que lo esperado por el azar, se realizó el test de la razón de verosimilitud (likelihood ratio test) y se estimó el estadístico Wald. De tal forma que, en dos modelos anidados, M1 y M2 donde M2 contiene los mismos parámetros que M1 más k parámetros adicionales se testa si la adicción de nuevas variables supone una mejoría (reducción en el valor del -2 Log neperiano de la función de verosimilitud) significativa en el ajuste del modelo. La diferencia entre las desviaciones de los dos modelos sigue una distribución aproximada de ji cuadrado con k grados de libertad.

d) Estimación de coeficientes.- Para el análisis de la relación de cada variable predictiva con la variable respuesta (ajustando el resto de variables independientes) se llevó a cabo la estimación de coeficientes o parámetros del modelo mediante el método de máxima verosimilitud. Según dicho método se obtienen los estimadores máximo verosímiles como funciones de la muestra que hacen que se maximice la función de verosimilitud asociada a la nuestra. Para testar la hipótesis de que los coeficientes obtenidos eran diferentes a 0, se utilizó el estadístico de Wald que corresponde al valor del coeficiente obtenido dividido por su error estándar al cuadrado. Para una mejor interpretación clínica de los coeficientes, se calculó su odds ratio con sus correspondientes intervalos de confianza con la siguiente fórmula:

$$\text{Odds ratio} = e^{(\text{coeficiente})}$$

Una vez realizada la modelización se obtuvo el modelo predictivo definitivo para el RCV en donde quedaron recogidos los coeficientes estimados para las variables seleccionadas, sus correspondientes errores estándar, el estadístico Wald con su p-valor asociado, el valor estimado de exp (B) y su intervalo de confianza al 95%.

2.- Evaluación de la bondad de ajuste global del modelo seleccionado.-

Se entiende como bondad de ajuste global al proceso de evaluar hasta qué punto un determinado modelo se ajustaba a los datos observados (tomando todas las variables independientes juntas). Para ello, se utilizó la prueba de la razón de verosimilitud (likelihood-ratio test) en la que se testaba si las variables con capacidad independiente estaban asociadas al RCV en mayor medida que la esperada por el azar. El $-2 \log$ de la verosimilitud ($-2LL$) mide hasta qué punto un modelo se ajusta bien a los datos.

Para poder interpretar los resultados de la bondad de ajuste en términos de variabilidad explicada entre dos modelos, se transformó la razón de verosimilitud en deviance (desviación) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Deviance} = -2 \log n \frac{\text{Probabilidad del modelo}}{\text{Probabilidad del modelo saturado}}$$

De tal forma que, la bondad de ajuste del modelo se llevó a cabo estimando la magnitud de discrepancia entre lo predicho y lo observado con el valor de la deviance. Valores pequeños de deviance indican un buen ajuste del modelo y que se desvía poco del modelo saturado. Cuando se evalúa la distribución de X^2 . Los valores no significativos indican que queda poca variabilidad por explicar y, por tanto, que el modelo se ajusta bien. Por el contrario, un X^2 significativo indica que hay variabilidad pendiente de explicar.

Además, se estimaron la R cuadrado de Cox y Snell y la R cuadrado de Nagelkerke. La primera es un coeficiente de determinación generalizado que se utiliza para estimar la proporción de variabilidad de la variable dependiente explicada por las variables independientes. La segunda es una versión corregida de la primera.

Por último, para la selección del modelo definitivo, se utilizó el criterio de información de Akaike (AIC). Dicho criterio tiene la misma utilidad que la test de la razón de verosimilitud. Sin embargo, la razón de verosimilitud es válida sólo para los modelos anidados mientras que la AIC no tiene dicha limitación. El criterio AIC selecciona el modelo que minimiza la pérdida de información. De tal forma que, dicho criterio se utiliza para comparar modelos y se encuentra penalizado por el número de variables introducidas en el modelo con la expresión $-2(\text{Log}(L)-n^{\circ} \text{ variables})$. El criterio de selección fue escoger el modelo con valores más bajos de AIC.

3.- Análisis diagnóstico del modelo creado.- Se llevó a cabo mediante un análisis de los residuos de la deviance estimando los valores residuales mínimo, primer cuartil, mediana, tercer cuartil y máximo. Además, se llevó a cabo una identificación de outliers y medidas de influencia a través de gráficos específicos. Se consideró outliers a los casos que no se ajustaban al modelo seleccionado. Es decir, casos correspondientes a pacientes cuya probabilidad estimada por el modelo estaba muy desajustada a la observada. Por otra parte, se consideró caso influyente a las observaciones con capacidad para modificar significativamente el ajuste del modelo. Es decir, que su eliminación era capaz de cambiar el sentido o la magnitud de los valores de los coeficientes estimados.

Para la identificación de los casos outliers, además de los residuos crudos, se realizaron transformaciones de los mismos mediante la estandarización y estudentización. Por otra parte, para identificar los casos influyentes, se llevó a cabo un análisis del efecto de apalancamiento o leverage y se calcularan las Distancias de Cook.

4.- Interpretación clínica de coeficientes.- La interpretación de los coeficientes para cada una de las variables seleccionadas fue directa y expresan el cambio producido en el *logit* de la variable respuesta por cada unidad de cambio en una

variable explicativa determinada. Los coeficientes positivos indican que cuando la variable, aumenta el *logit* (el logaritmo natural de la odds) de la variable respuesta. Por lo que, se considera una variable de riesgo. Un coeficiente negativo significa que conforme la variable aumenta el *logit* disminuye y se considera como factor que disminuye el riesgo o protector. Teniendo en cuenta que la magnitud del coeficiente no es representativa del grado de asociación con la variable respuesta ni sirve para comparar entre variables a menos que todas hayan sido medidas en las mismas unidades y tengan el mismo grado de precisión. El error estándar del coeficiente nos informa del grado de precisión de la medición.

La *odds ratio* se calculó mediante el exponencial del coeficiente con sus correspondientes intervalos de confianza al 95% para permitir su interpretación en términos clínicos. La *odds ratio* informa de la magnitud del cambio en la probabilidad de presentar la variable respuesta cuando existe una unidad de cambio en la variable explicativa. De tal forma que, su valor es el factor por el cual se multiplica la probabilidad (*odds ratio*) de presentar la variable respuesta estudiada (en nuestro caso pacientes con RCV y codificada como 1), al incrementarse en una unidad el valor de la variable explicativa manteniendo controladas o ajustadas los valores del resto de variables incluidas en el modelo respecto a aquellos pacientes que no la presentan (en nuestro caso pacientes sin RCV y codificada como 0). Los valores superiores a 1 indican que el riesgo aumenta y los valores inferiores a 1 indican que el riesgo disminuye. Los intervalos de confianza informan del grado de precisión de la Odds ratio. Cuando son anchos indican que existen errores en la medición, insuficiente muestra o que la distribución de las variables explicativas es muy asimétrica.

5.- Estimación individual de la probabilidad de RCV.- Una vez elegido el modelo predictivo, se resolvió su ecuación calculando la probabilidad estimada de RCV para cada paciente individualmente. De esta forma, cada paciente dispuso de un valor de probabilidad estimada de RCV entre 0 y 1. Posteriormente, se categorizó de acuerdo al siguiente criterio: los casos con valor de probabilidad estimada < 0.5 se clasifican como de RCV = 0 (sin RCV), y los casos con probabilidad estimada es ≥ 0.5 se clasificaron como RCV = 1 (con RCV). De esta forma, el modelo creado puede verse como una herramienta clínica predictiva semejante a un test o prueba diagnóstica que

clasifica a los pacientes como sanos o patológicos. Por lo que, la evaluación de su rendimiento predictivo se lleva a cabo de forma semejante al de una prueba diagnóstica.

7.- Evaluación del modelo como herramienta predictiva (seguridad predictiva).- Una vez elegidos los puntos de cortes y clasificados a los pacientes con y sin RCV de acuerdo a las probabilidades estimadas frente a los criterios establecidos, se llevaron a cabo las siguientes evaluaciones de su rendimiento como modelo predictivo.

a) Construcción de tabla de clasificación de 2 x 2 comparando los datos observados y los predichos por el modelo. De tal forma que, se clasificaron a todos los individuos de la muestra según la concordancia de los valores observados con los valores predichos o estimados por el modelo de forma similar a como se evalúan las pruebas diagnósticas. A partir de esta tabla, se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, seguridad diagnóstica global, razón de probabilidad para test positivo y razón de probabilidad para test negativo con las formulas habituales. Se interpretó como una ecuación sin poder de clasificación aquella con una especificidad, sensibilidad y total de clasificaciones correctas igual al 50% (por el simple azar). Un modelo se consideró aceptable si tanto la especificidad como la sensibilidad tienen un nivel alto, de al menos, el 75%.

b) Construcción de curvas ROC y evaluación de la capacidad discriminativa del modelo mediante estimación del área bajo la curva.- La discriminación evalúa el grado en que el modelo distingue correctamente entre pacientes con riesgo CV o no. Se construyeron curvas ROC y se estimó el área por debajo de la misma (AUC) para cuantificar la capacidad discriminativa del modelo y su seguridad predictiva global. El AUC se expresa con valores entre 0 y 1. Por general, se considera que la relación entre el AUC y la seguridad predictiva es la siguiente: AUC = 0.9 – 1.0: excelente; AUC = 0.8 - 0.9: muy Buena; AUC= 0.7 - 0.8: buena; AUC= 0.6 - 0.7: suficiente y AUC= 0,5: modelo sin capacidad predictiva. Un modelo con seguridad entre 70–80% significa que en 20-30% de 100 pacientes el modelo no realizará predicciones correctas de RCV.

c) **Calibración del modelo.**- La calibración es la capacidad del modelo para hacer estimaciones fiables de los resultados para grupos heterogéneos de pacientes. Al no disponer de una muestra amplia y ser el número de observaciones para cada combinación de valores de las variables explicativas bajo, se llevó a cabo la calibración de la herramienta predictiva mediante el test de Hosmer–Lemeshow test. Este test es una modificación del estadístico Chi cuadrado que divide la misma muestra en 10 grupos de pacientes con probabilidad estimada de presentar RCV creciente. De tal forma que, el primer grupo queda compuesto por el 10% de los pacientes con probabilidad estimada de presentar RCV más bajo, en el segundo grupo contiene el 10% de los pacientes con la segunda probabilidad estimada de presentar RCV y así sucesivamente. Se considera que un modelo se encuentra bien ajustado o calibrado si la probabilidad estimada se encuentra estrechamente cercana a la observada. Aplicando el test de Chi cuadrado, valores pequeños corresponde a p no significativas, lo que indica que el las probabilidades estimadas por el modelo no se alejan significativamente de las probabilidades observadas. Además del valor de p, se llevó a cabo una tabla comparando la probabilidad estimada por el modelo con la probabilidad observada en los 10 grupos de pacientes.

7.- Diseño de herramientas de uso clínico para el cálculo del RCV individualizado en pacientes con SOP.

Se diseñaron tres herramientas clínicas para el cálculo individual de RCV: tabla de grupos de RCV, tabla dinámica digital y nomograma.

a) **Tabla de grupos de riesgo.**- Es un método de fácil aplicabilidad clínica por su rapidez de cálculo y memorización. Se basa en una estimación cualitativa de los signos y magnitud de los coeficientes del modelo categorizado. De tal forma que, si el coeficiente es positivo se considera al factor como de RCV y si es negativo como protector de RCV. Por otra parte, según la magnitud de los coeficientes y del cambio que producen en la Odds Ratio, se definen a los factores de riesgo como de moderado y elevado impacto sobre el RCV.

b) **Tabla dinámica digital de cálculo individual del RCV.** Mediante una hoja de cálculo del programa Excell de Microsoft, se diseñó una tabla dinámica digital con las

fórmulas matemáticas en las que se basa el modelo de RL para calcular automáticamente el RCV individualizado. Para apreciar mejor los cambios en el RCV se han utilizado los coeficientes del modelo categorizado. La tabla se ha diseñado de tal forma que, en las columnas se encuentran: cada una de las variables del modelo categorizado, sus coeficientes, el valor categorizado de cada variable, la función lineal del producto de las variables, el exponencial de la función lineal, la probabilidad estimada individual, el valor de 1-Probabilidad estimada, la odds ratio y la log de la odds ratio y la ecuación general. El contenido de las celdas de las variables y los coeficientes es fijo siempre que se mantenga el mismo modelo, el contenido de las celdas de los valores categorizados de cada variable está abierto y el resto de celdas se cumplimentan automáticamente. De tal forma que, una vez diseñada, la única información que hay que introducir es el valor del código en que se ha categorizado las diferentes variables para un paciente individual. El resto de celdas se rellenan automáticamente al introducir los valores de las X al resolverse cada una de las fórmulas específicas. De esta forma, si queremos conocer la probabilidad de RCV individualiza para un determinado paciente, debemos sustituir los valores de las variables por 0 vs 1 y, de forma automática, se obtendrá la probabilidad de RCV.

c) Nomograma.- Es una herramienta gráfica para manejo clínico que permite una estimación rápida de la probabilidad. Se construye de tal forma que, el efecto de cada variable predictiva sobre la variable respuesta se representa en forma de líneas axiales y se atribuyen los puntos de riesgo correspondientes de acuerdo al peso predictivo de cada variable en la línea más superior del gráfico. El total de puntos representa la estimación del efecto de todas las variables combinadas sobre la probabilidad de presentar la variable respuesta y se dibuja en la línea axial inferior. Una diferencia única del formato del nomograma es que permite combinar múltiples variables continuas o varias variables categóricas codificadas. Lo cual no es posible con las otras herramientas de cálculo donde no es posible introducir variables continuas y el número de variables del modelo limita el grado de estratificaciones posibles.

5.-Resultados:

El número total de pacientes fue de 64. Se comprobó la distribución de las variables y ésta fue normal excepto en la duración del ciclo menstrual que fue normal en el grupo control pero no en el grupo SOP.

5.1 *Análisis descriptivo univariante:* la distribución de las variables queda reflejada en la tabla 22 expresado en media y desviación estándar.

Tabla 22	Grupo SOP	Grupo control
	Media±DS	Media±DS
Edad (años)	31,09±3,44	32,25±2,69
Peso (kg)	78,91±18,49	59,89±7,54
Talla (m)	1,60±0,07	1,63±0,06
IMC (Kg/m²)	30,65±7,18	22,45±2,16
Cintura (cm)	90,22±17,32	69,40±5,62
Cadera (cm)	111±10,52	99,42±8,87
ICC	0,80±0,11	0,70±0,05
FGm	13,52±2,30	3,90±1,68
TAS (mmHg)	115,18±14,65	108,05±9,76
TAD (mmHg)	76,63±9,96	67,60±6,76
Leucocitos (10³c/μl)	9432,55±2730	6105,26±1333
Neutrofilos (%)	64,95±9,25	56,03±7,68
PCRus (mg/l)	4,26±4,18	1,59±1,48
Glucosa (mg/dl)	90,04±16,95	79,50±13,83
Insulina (μUI/ml)	12,52±5,93	4,99±1,91
HOMA	2,85±1,92	0,96±0,38
CT (mg/dl)	216,70±45,28	186,20±30,89
HDL-Col (mg/dl)	59,84±12,50	65,05±15,27
LDL-Col (mg/dl)	135,47±38,61	107,35±26,51
VLDL-Col (mg/dl)	24,06±18,57	13,25±3,16
TG (mg/dl)	120,34±87,12	64,85±16,64
Adiponectina (μg/dl)	3,10±0,31	3,26±0,25
Resistina (ng/ml)	1,42±0,41	1,24±0,30
Leptina (ng/ml)	1,73±0,48	1,21±0,41
TNF-α (pg/ml)	0,15±0,04	0,13±0,03

5.2 Análisis comparativo bivariante

La edad media de las pacientes y las variables antropométricas por grupo quedan reflejadas en **tabla 23**. No hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto a la edad entre los 3 grupos.

Tabla 23 Variables antropométricas				
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Valor
	SOP+IMC\geq30	SOP+IMC<30	Control	p
	Media\pmDS	Media\pmDS	Media\pmDS	
Edad (años)	30,14 \pm 2,93	31,95 \pm 3,71	32,50 \pm 2,69	0,074
Talla (m)	1,59 \pm 0,65	1,61 \pm 0,07	1,63 \pm 0,60	0,025
Peso (Kg)	93,39 \pm 15,26	65,69 \pm 8,62	59,89 \pm 7,54	<0,001 ^{1,2}
IMC (Kg/m²)	36,66 \pm 5,06	25,16 \pm 3,38	22,45 \pm 2,16	<0,001 ^{3,4}
Cintura (cm)	104,47 \pm 11,21	77,21 \pm 10,07	69,40 \pm 5,62	<0,001 ^{5,6,7}
Cadera (cm)	118,47 \pm 8,95	104,17 \pm 6,42	99,42 \pm 8,87	<0,001 ^{8,9}
ICC	0,88 \pm 0,06	0,73 \pm 0,07	0,71 \pm 0,06	<0,001 ^{10,11}

¹SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p<0,001; ²SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

³SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p<0,001; ⁴SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

⁵SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p<0,001; ⁶SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

⁷SOP+IMC<30 vs. Control p=0,025;

⁸SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p<0,001; ⁹SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

¹⁰SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p<0,001; ¹¹SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

Sin embargo, aunque la talla fue similar en los tres grupos, el resto de variables antropométricas mostraron diferencias estadísticamente significativas. Obviamente las diferencias observadas con respecto a peso e IMC se deben al diseño del estudio. El índice cintura/cadera fue significativamente superior en el grupo de pacientes con SOP y obesidad respecto a los otros dos.

De hecho, en mujeres obesas con SOP, la distribución troncular de la grasa es un rasgo que se asocia a mayor riesgo de enfermedad vascular, dislipemias y mayor probabilidad de presentar diabetes mellitus. Cuando se realizó una comparación intergrupos mediante el test de Bonferroni se observó que no existían diferencias entre los grupos 2 y 3 con respecto al peso, el IMC, el ICC y diámetro de la cadera siendo significativamente mayores estas variables en el grupo 1.

Las cifras de tensión arterial quedan reflejadas en la **tabla 24**.

Tabla 24 Cifras de tensión arterial				
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Valor
	SOP+IMC\geq30	SOP+IMC<30	Control	p
	Media\pmDS	Media\pmDS	Media\pmDS	
TAS (mmHg)	122,47 \pm 16,54	108,52 \pm 8,58	108,05 \pm 0,76	<0,001 ^{1,2}
TAD (mmHg)	81,14 \pm 10,67	72,52 \pm 7,30	67,60 \pm 6,76	<0,001 ^{2,3}

¹ SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p=0,001; ²SOP+IMC \geq 30 vs. Control p=0,001.

³ SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p=0,004; ⁴SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

La media de tensión arterial sistólica (TAS) y diastólica (TAD) mostró diferencias estadísticas entre los grupos. Las pacientes con SOP+IMC \geq 30 presentaban una media de TAS significativamente superior que las pacientes con función reproductora normal y también con respecto a las pacientes con SOP+IMC<30. Cuando se realizó la comparación intergrupos se comprobó que la tensión arterial era significativamente mayor en el grupo 1 que en los demás grupos.

En la **tabla 25** quedan agrupadas las variables Índice de Ferriman Gallwey modificado (FGm) y duración del ciclo menstrual (DCM).

Tabla 25 Valores de Índice de Ferriman y duración del ciclo menstrual

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Valor p
	SOP+IMC\geq30	SOP+IMC<30	Control	
	Media\pmDS	Media\pmDS	Media\pmDS	
FGm	14,38 \pm 2,08	12,73 \pm 2,26	3,90 \pm 1,68	<0,001 ^{1,2,3}
DCM (días)	80 (135) ⁺	60 (45) ⁺	28,65 \pm 1,38	<0,001 ^{4,5,6}

⁺ Valores expresados mediante mediana y rango intercuartilico.

¹SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p=0,029; ²SOP+IMC \geq 30 vs. Control p<0,001. ³ SOP+IMC<30 vs. Control p< 0,001.

⁴ SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p=0,035; ⁵SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

⁶ SOP+IMC<30 vs Control p< 0,001.

El FGm fue significativamente mayor en el grupo 1 con respecto a los otros grupos al igual que duración del ciclo menstrual.

Los valores medios de PCR ultrasensible (PCRus) y la serie blanca quedan reflejados en la **tabla 26**:

Tabla 26 Valores serie blanca y de PCRus

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Valor p
	SOP+IMC\geq30	SOP+IMC<30	Control	
	Media\pmDS	Media\pmDS	Media\pmDS	
PCRus (mg/dl)	6,26 \pm 4,47	1,77 \pm 1,90	1,59 \pm 1,48	<0,001 ^{1,2}
Leucocitos	9989,1 \pm 2457,1	8956,5 \pm 2917,6	8412,9 \pm 2837,3	<0,001 ^{3,4}
Neutrófilos (%)	64,78 \pm 9,31	64,42 \pm 9,42	56,03 \pm 7,68	0,003 ^{5,6}

¹ SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p<0,001; ²SOP+IMC \geq 30 vs. Control p<0,001.

³SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p=0,029; ⁴SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

⁵SOP+IMC \geq 30 vs Control p=0,01. ⁶SOP+IMC<30 vs Control p=0,008.

Todos los factores reflejados en la **tabla 26** se consideran marcadores inflamatorios. Tanto los valores de PCRus como de leucocitos y neutrófilos presentaron

diferencias estadísticamente significativas entre los grupos que al realizar el test de Bonferroni sólo se mantuvieron al comparar el grupo 1 con los demás grupos.

En la **tabla 27** se reflejan los valores medios de las determinaciones del metabolismo hidrocarbonado.

Tabla 27 Estudio del metabolismo hidrocarbonado				
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Valor p
	SOP+IMC\geq30	SOP+IMC<30	Control	
	Media\pmDS	Media\pmDS	Media\pmDS	
Glu (mg/dl)	93,40 \pm 22,32	87,13 \pm 9,96	79,50 \pm 13,83	0,013 ¹
Ins (mg/dl)	16,50 \pm 5,87	8,90 \pm 2,92	4,99 \pm 1,91	<0,001 ^{2,3,4}
HOMA	3,89 \pm 2,29	1,90 \pm 0,66	0,96 \pm 0,38	<0,001 ^{5,6}

¹ SOP+IMC \geq 30 vs Control p=0,01.

²SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p<0,001;³SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.⁴SOP+IMC<30 vs. Control p=0,006.

⁵ SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p<0,001;⁶SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

Hay que destacar que los valores medios en todos los grupos de las variables del metabolismo hidrocarbonado se encuentran dentro del rango de normalidad de acuerdo a nuestro laboratorio. Se evidenciaron niveles de glucosa en sangre significativamente mayores en las pacientes con SOP obesas respecto a las pacientes con función reproductora normal. La comparación de los valores de insulina también queda reflejada en esta tabla. Tanto en el grupo 2 como 3 los valores se encuentran dentro de la normalidad. En 95% de las pacientes del grupo SOP y obesidad presentaron un valor de insulina superior al límite establecido como rango normal por nuestro laboratorio (2-14 μ UI/ml). Esto apoya la asociación que hay entre la obesidad y la hiperinsulinemia. Independientemente de que los valores estuvieran dentro de la normalidad, las pacientes con SOP y obesidad presentaron valores entre dos y cuatro veces superiores a las pacientes no obesas (grupos 2 y 3). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas. El índice HOMA fue significativamente mayor en el grupo 1 cuando se comparó con los demás grupos.

Tabla 28 Estudio del metabolismo lipídico

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Valor p
	SOP+IMC\geq30	SOP+IMC<30	Control	
	Media\pmDS	Media\pmDS	Media\pmDS	
CT (mg/dl)	218,47 \pm 54,12	215,23 \pm 36,59	186,20 \pm 30,89	0,03 ¹
HDL-Col (mg/dl)	52,00 \pm 9,37	67,00 \pm 10,65	65,05 \pm 15,27	<0,001 ^{2,3}
LDL-Col (mg/dl)	152,33 \pm 38,51	120,08 \pm 32,36	107,35 \pm 26,51	<0,001 ^{4,5}
VLDL-Col(mg/dl)	23,86 \pm 10,72	16,22 \pm 5,83	13,25 \pm 3,16	<0,001 ^{6,7}
TG (mg/dl)	157,38 \pm 110,84	86,52 \pm 34,06	64,85 \pm 16,64	<0,001 ^{8,9}

¹ SOP+IMC \geq 30 vs Control p=0,019.

² SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p<0,001;³SOP+IMC \geq 30 vs. Control p=0,003.

⁴ SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p<0,001;⁵SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

⁶ SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p=0,003;⁶SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

⁵ SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p=0,003;⁶SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001.

La comparación de las determinaciones del metabolismo lipídico (colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol y triglicéridos) se exponen en la tabla 28. La media de colesterol fue superior en el grupo de pacientes con SOP respecto a las pacientes del grupo control. Respecto a los valores de HDL-Col, el grupo de SOP con obesidad presentó valores significativamente más bajos comparándolos con los otros dos grupos. Las pacientes con SOP y obesidad presentaron valores significativamente superiores de LDL-Col y triglicéridos comparados con los de otros dos grupos.

Hay que destacar que las pacientes que presentaron IMC \geq 30 presentaron niveles más elevados de HOMA, insulina basal, LDL-Col y triglicéridos que las pacientes con IMC<30 independientemente de si presentaban SOP o función reproductora normal.

Tabla 29 Estudio del metabolismo adipocitario

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Valor p
	SOP+IMC\geq30	SOP+IMC<30	Control	
	Media\pmDS	Media\pmDS	Media\pmDS	
Adiponectina (μg/ml)	3,03 \pm 0,30	3,16 \pm 0,31	3,26 \pm 0,25	0,045 ¹
Resistina (ng/ml)	1,47 \pm 0,36	1,38 \pm 0,45	1,24 \pm 0,30	0,177
Leptina (ng/ml)	1,96 \pm 0,37	1,51 \pm 0,48	1,12 \pm 0,41	<0,001 ^{2,3,4}
TNF-α (pg/ml)	0,16 \pm 0,05	0,13 \pm 0,03	0,14 \pm 0,03	0,042

¹ SOP+IMC \geq 30 vs Control p=0,043.

²SOP+IMC \geq 30 vs. SOP+IMC<30 p=0,04; ³SOP+IMC \geq 30 vs. Control p< 0,001. ⁴SOP+IMC<30 vs Control p=0,011.

En la **tabla 29** se exponen los valores de las variables que dependen del metabolismo adipocitario. Los valores medios de leptina presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos y en la comparación intergrupo. Los valores de TNF α fueron mayores en el grupo SOP con obesidad, seguidos del grupo SOP sin obesidad y del grupo control, con diferencias estadísticamente significativas. Los valores de resistina fueron similares en los tres grupos de estudio.

5.3 Análisis multivariante.-

1.- Diseño de un modelo matemático predictivo multivariante (modelización del RCV).

Tras la elección del modelo multivariante, la definición de variables y su inclusión en el análisis de regresión logística, se llevaron a cabo dos modelos: uno introduciendo las variables predictivas de forma continua (modelo continuo) y otro introduciéndolas de acuerdo a las categorizaciones ya expuestas previamente (categorizado). En las **tablas 30 y 31** se muestran los resultados de ambos análisis multivariantes especificándose las variables seleccionadas con información predictiva

independiente junto a la constante, los valores estimados de los coeficientes, los errores estándar de cada estimación, el estadístico del test de Wald y su significación junto con la odds ratio y su intervalo de confianza al 95%.

Tabla 30: Resultados análisis de RL modelo continuo

Variable	Coeficiente B	Error Standard	Wald X ²	Valor p	Odds ratio	IC 95% inferior	IC95% superior
Constante	2,67	4,61	0,38	0,58	14,5		
Adiponectina	-3,51	1,62	4,9	0,03	0,03	0,01	0,54
PCRus	0,43	0,19	8,4	<0,01	1,54	1,12	2,46
FGm	0,62	0,20	9,71	0,02	1,87	1,36	3,06

Entre las 6 variables introducidas como variables explicativas en el análisis, tres han sido seleccionadas por aportar información predictiva independiente de riesgo cardiovascular de forma significativa en ambos modelos: Ferriman, PCR ultrasensible y la adiponectina. La diferencia fundamental es que, para poder interpretar los parámetros (coeficientes) estimados para el modelo con variables categorizadas hay que tener en cuenta las variables indicadoras (*dummy*) diseñadas con sus correspondientes códigos: el Ferriman, para la que se definieron dos variables Ferriman2 y Ferriman3 (**tabla 31**).

Tabla 31: Resultados análisis de RL modelo categorizado*							
Variable	Coeficiente	Error	Wald	Valor p	Odds	IC 95%	IC95%
	B	Standard	X ²		ratio	inferior	superior
Constante	-2,59	1,00	-2,58	0,09	0,07	0,007	0,41
Ferriman2 (9-12)	2,32	1,03	2,25	0,02	10,27	1,61	105
Ferriman3 (<13)	4,90	1,28	3,18	<0,001	135	15,2	2777
PCRus (≥3mg/dl)	2,17	0,87	2,5	0,01	8,8	1,8	60
Adiponectina (≥3,30 µg/ml)	-1,8	0,88	-2,02	0,04	0,16	0,03	0,84

*Variables introducidas en el modelo de forma categorizada de acuerdo a: PCRus: <3 mg/dl versus ≥3 mg/dl; Adiponectina: <3.30 ng/ml versus ≥ 3.30 ng/ml; Ferriman: categoría de referencia = 0-8 versus 9-12 versus > 13-36.

2.- Bondad de ajuste del modelo y selección de modelos definitivos.-

En las **tablas 32 y 33** se presentan los resultados de los estadígrafos utilizados para valorar el ajuste del modelo global a los datos observados. Se muestran: la evolución de la deviance, el Cox & Snell R Square, el Nagelkerke R Square y el AIC, de acuerdo a cada paso de la inclusión secuencial de variables con información predictiva independiente para el modelo con variables continuas y el de variables categóricas. Estas tablas aportan información sobre el ajuste del modelo con las estimaciones de los coeficientes. Es decir, la probabilidad de los resultados observados en el estudio, dadas las estimaciones de los coeficientes. Se puede apreciar que el ajuste de ambos modelos es bueno con una reducción significativa de la deviance. De los dos modelos, el que mejor se ajusta y presenta menor deviance residual (variabilidad sin explicar) es

el modelo con las variables continuas reduciendo en 60 puntos el valor de la deviance (Nulldeviance 88.66, Residual Deviance = 27.74), si bien, es apenas ligeramente superior al modelo con variables categóricas (Nulldeviance 88.47, Residual Deviance = 39.01).

Con el modelo de variables continuas se consigue explicar una proporción del 61% de la variabilidad observada lo que permite decir que la bondad de ajuste y la validez global del modelo es adecuada (Test de Cox & Snell R Square = 0.61). Dicho porcentaje alcanza prácticamente el 82% cuando se corrige con la R cuadrado de Nagelkerke (Nagelkerke R Square= 0.819). Con el modelo de variables categóricas el porcentaje de variabilidad explicada es del 54% y el corregido del 72% (Test de Cox & Snell R Square = 0.54 y Nagelkerke R Square= 0.72).

Del conjunto de variables, la que más capacidad de explicación tiene de la variable respuesta y, por consiguiente, mayor reducción de la deviance, fue el FGm. Es decir, que a partir de una deviance nula de 88,66 pasa a una de 46.40 con su sola inclusión en el modelo. La segunda es la PCRus que, de una deviance nula de 88,60 pasa a una de 65.00 con su sola inclusión en el modelo. Por último, la variable que menos explica es la Adiponectina que, partiendo de una deviance nula = 88,60 pasa a una deviance de 80.39 con su inclusión única en el modelo.

Tabla 32 Estadígrafos de bondad de ajuste global del modelo continuo.				
Variabes del modelo	2 Log likelihood (Deviance)	Cox & Snell R Square	Nagelkerke R Square	AIC
Constante	88,60 ¹			92,8
FGm	46,40	,483	,645	54
FGm+PCRus	34,04	,574	,766	46
FGm+PCRus+Adiponectina	27,73 ²	,614	,819	35,7

¹ Deviance nula ² Deviance residual

Tabla 33 Estadígrafos de bondad de ajuste global del modelo categorizado.

Variabes del modelo	2 Log likelihood (Deviance)	Cox & Snell R Square	Nagelkerke R Square	AIC
Constante	84,4 ¹			72,8
FGm	56,5	,39	,52	53,1
FGm+PCRus	42,4	,51	,68	50,4
FGm+PCRus+Adiponectina	39,6 ²	,54	,72	47,1

¹ Deviance nula ² Deviance residual

El modelo predictivo continuo elegido según el criterio de Akaikey que minimiza la pérdida de información fue el siguiente:

$$Y = \exp(2.67 + 0.48xFerriman + 1.28PCRus - 2.68x Adiponectina).$$

El modelo predictivo categorizado elegido según el criterio de Akaike fue el siguiente:

$$Y = \exp(-2.59 + 2.32x Ferriman2 + 4.9xFerriman3 + 2.17x PCRus - 1.8x Adiponectina).$$

3.- Interpretación clínica de los coeficientes

De acuerdo a los coeficientes en ambos modelos podemos decir que la adiponectina se comporta como un factor protector, puesto que su coeficiente tiene un valor negativo, y tanto el Ferriman como la PCR ultrasensible se comportan como factores de RCV.

El análisis de la asociación entre cada una de las variables predictivas con la variable respuesta ajustada por el resto variables proporcionó los resultados que se detallan a continuación. En el modelo continuo, ajustando el valor de adiponectina y de la PCR ultrasensible, por cada unidad de aumento de Ferriman los pacientes multiplican la probabilidad de RCV por 1.61 (Odds ratio 1.61, IC95: 1.27-2.31). En términos porcentuales podemos expresarlo de manera que, por cada punto que el índice de Ferriman aumenta, el RCV de las pacientes con SOP aumenta un 61%.

Ajustando el valor de adiponectina y del índice de Ferriman, por cada unidad de aumento de PCR ultrasensible las pacientes multiplican la probabilidad de RCV por 3.44 (Odds ratio 3.44, IC95: 1.61-9.22). Y por último, ajustando el valor de la PCR ultrasensible y del Ferriman, por cada unidad de aumento de adiponectina las pacientes disminuyen la probabilidad de RCV por 0.07 (Odds ratio 0.07, IC95: 0.01-0.8).

En el modelo con las variables introducidas de forma categórica, ajustando el valor de adiponectina y de la PCR ultrasensible, un aumento en el índice de Ferriman de 0-8 a 9-12, multiplica la probabilidad de RCV por 10.27 (Odds ratio 10,27, IC95: 1.61-105). Igualmente, al pasar de un índice de Ferriman de 8-12 a superior a 13, multiplica la probabilidad de RCV por 135 (Odds ratio 135 IC95: 15.2-2277). Ajustando el valor de adiponectina y del Ferriman, pacientes con valores de PCR ultrasensible superiores a 3 mg/dl multiplican la probabilidad de RCV por 8.8 (Odds ratio 8.8, IC95: 1.8-68). Y por último, ajustando el valor de la PCR ultrasensible y el Ferriman, pacientes con valores de adiponectina superiores a 3.30 µg/ml reducen la probabilidad de RCV en 1.18 (Odds ratio -1,18, IC95: 0.03-0.84).

4.- Análisis diagnóstico de los modelos creados

Tras los ajustes de ambos modelos se llevó a cabo un análisis de diagnóstico de los mismos. El método básico para confirmar que un modelo es adecuado es realizar un análisis de los residuos. Los residuos representan las desviaciones que los valores predichos (estimados) presentan de los valores observados por la variable respuesta. Cuando el valor observado es mayor que el valor estimado, el residuo es positivo y cuando es menor, el residuo es negativo. Se han utilizado métodos gráficos y test estadísticos para el análisis de los residuos. En la tabla 34 se exponen los valores de los

residuales de deviance mínimo, primer cuartil, mediana, tercer cuartil y máximo tanto para el modelo continuo como categorizado. Respecto al modelo continuo, se observa que los residuos de la deviance tienen un mínimo de -1.90 y un máximo de 1.61, lo que a priori indica que los valores se ajustan bien globalmente, ya que no existen residuales superiores a ± 2 . Respecto al modelo categorizado, se aprecia que podría llegar a haber valores que alterarían el ajuste global, en particular por la derecha (máximo 2.24). Sin embargo, los valores del primer y tercer cuartil ($1^{\text{er}}Q=-0.19$ y $3^{\text{er}}Q=0.39$) se encuentran relativamente lejanos de 2 en valor absoluto y la mediana es de 0.14. Por lo que, en conjunto, se tiene la certeza de que al menos la mitad de los valores están bastante por debajo del máximo permitido y además se deduce que la mayoría del resto de los casos seguirá estando probablemente por debajo de 2. En la figura 7 se representan los casos cuyos residuos excedían de 2 de forma individualizada y que corresponden a los de mayor desajuste. Para el modelo continuo, se identificaron 3 casos del total de 64 (casos números 19, 54 y 62) y, para el modelo categorizado, otros 3 (casos números 19,50 y 58).

No obstante, a pesar de que esta situación no es alarmante, se han analizado si estos casos presentaban una influencia significativa en el modelo mediante gráficos que muestran el efecto de apalancamiento o leverage y la distancia de Cook. En la figura 8 se observa que, si bien el caso 19 se encuentra en el límite, ninguno de los casos identificados sobrepasa el valor de 1 y, por tanto, podemos aceptar que no ejercen un efecto influyente determinante. Por todo lo cual, podemos concluir en este apartado de diagnóstico que el exceso detectado en los residuos no es significativo y se puede dar por validados nuestros modelos.

Tabla 34 Análisis de residuos deviance de los modelos.					
Modelo	Mínimo	1^{er}Q	Mediana	3^{er}Q	Máximo
Continuo	-1,9	-0,07	0,04	0,32	1,61
Categorizado	-2,0	-0,19	0,14	0,39	2,24

$\text{glm}(\text{rcv} \sim \text{ferriman} + \text{adipon}_1 + \text{lognpcrus})$

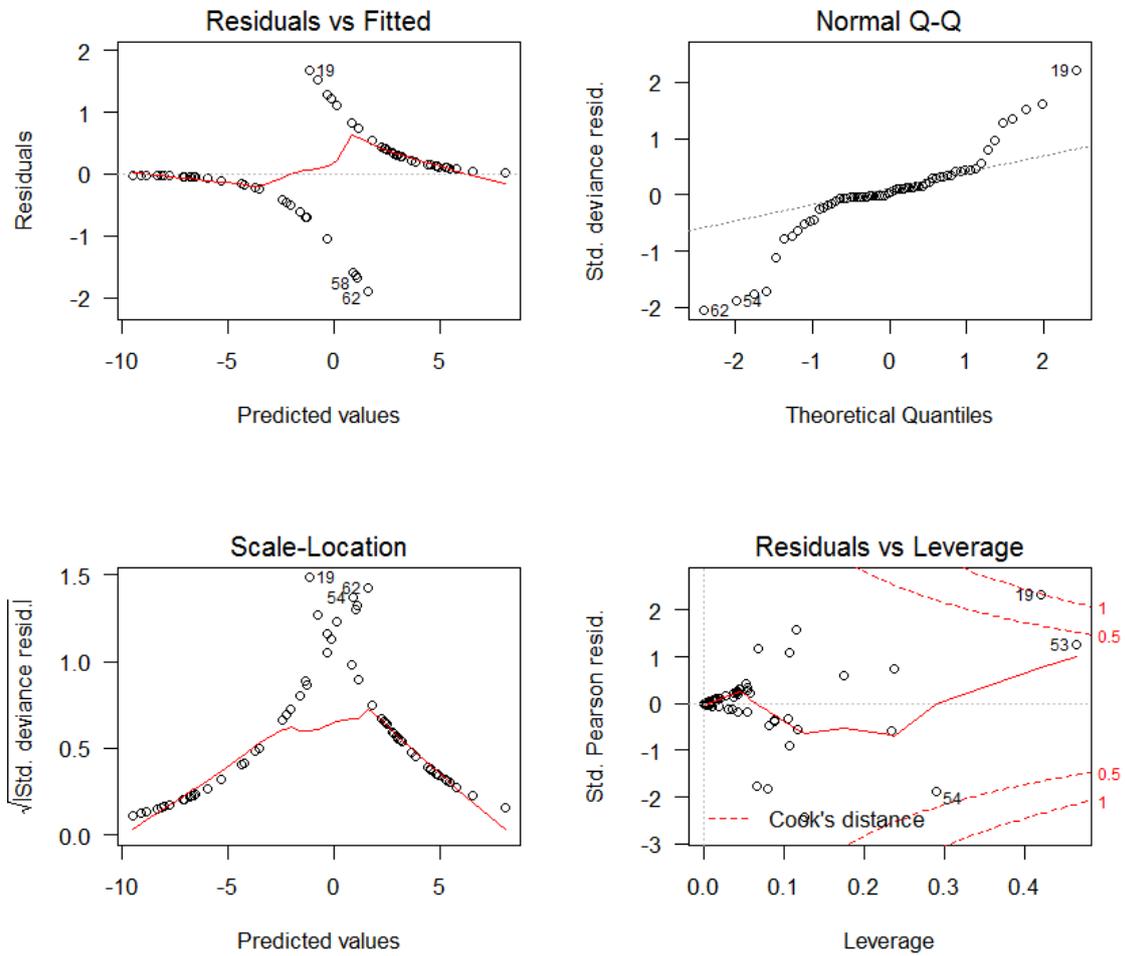


Figura 7: Gráficos de diagnóstico del modelo continuo. Gráficos de análisis de residuos, identificación de outliers y puntos de influencia.

glm(rcv ~ adipocfac + ferrimanfac + pcrusfact + adipocfac)

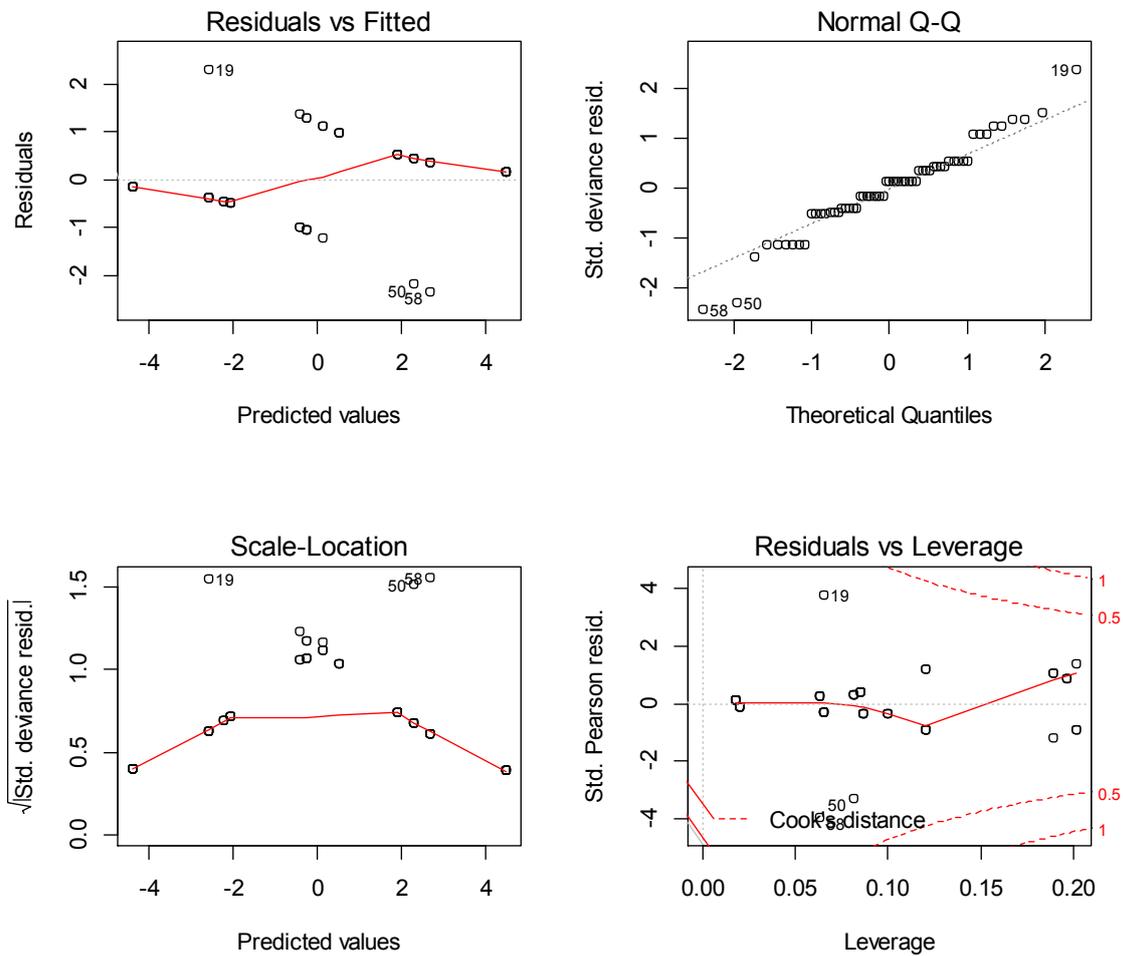


Figura 8: Gráficos de diagnóstico del modelo categorizado. Gráficos de análisis de residuos, identificación de outliers y puntos de influencia.

5.- Estimación individual de la probabilidad de RCV

Una vez seleccionado el modelo predictivo definitivo, comprobado su correcto ajuste y que cumple con las asunciones de aplicación, se llevó a cabo una estimación individual de la probabilidad de RCV con la fórmula de la regresión logística y en función de los valores para cada una de las variables seleccionadas. Se estimaron dos

probabilidades de RCV de acuerdo a los modelos creados. Para el modelo continuo mediante la siguiente fórmula:

$$P(\text{RCV}=\text{Si})=\frac{1}{1 + \exp (2.58 +0,48 \times \text{Ferriman} + 1,28 \times \text{PCRus} - 2,68 \times \text{adiponectina})}$$

Para el modelo categorizado, resolviendo la siguiente fórmula:

$$P(\text{RCV}=\text{Si})=\frac{1}{1 + \exp (-2.59 +2,32 \times \text{Ferriman2} + 4,9 \times \text{Ferriman3} +2,17 \times \text{PCRus} - 1,8 \times \text{adiponectina})}$$

De tal forma que, la resolución de la fórmula para cada paciente nos proporcionó un valor estimado por el modelo de la probabilidad de RCV, es decir, la probabilidad predicha por el modelo del RCV. De acuerdo con la función de la regresión logística, se consideró que una probabilidad predicha inferior 0,5 clasificaba a la paciente sin RCV y una probabilidad igual o superior a 0,5 indicaba que la paciente presentaba RCV. De tal forma que, el modelo predijo 34 con RCV y los 30 restantes sin RCV. En la figura 9 se muestra la distribución de densidad de la probabilidad estimada de la población de pacientes con y sin RCV. Se aprecia la buena diferenciación entre las dos poblaciones con un ligero entrecruzamiento.

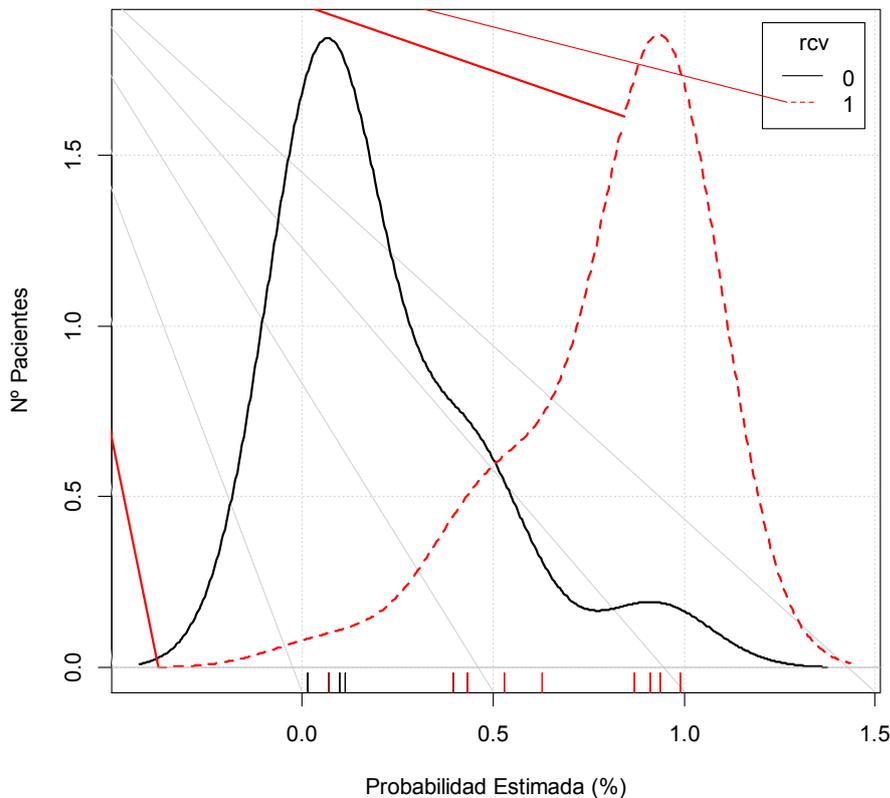


Figura 9: Distribución de densidad de la probabilidad estimada de la población de estudio en relación a la presencia de RCV.

6.- Análisis del modelo como herramienta predictiva: análisis de la seguridad diagnóstica

6.1.- Evaluación del modelo como herramienta predictiva mediante construcción de tabla de clasificación de 2 x 2.- En la **tabla 35** se exponen los resultados de la comparación entre los datos observados y los predichos por el modelo de variables continuas y en la **tabla 36** se muestran los resultados del análisis de la validez y seguridad del modelo como herramienta diagnóstica y las razones de probabilidad positiva y negativa calculados a partir de ella. Se puede apreciar que únicamente 4 de 34 fueron predichos erróneamente como de RCV y no lo fueron (falsos positivos). Por otra parte, 4 de 30 predichos como de no RCV si lo presentaron.

Tabla 35 Comparación de datos observados y predichos de RCV por el modelo continuo.

Modelo	Observado	Observado	Total
	RCV+	RCV-	
Predicho RCV+	30	4	34
Predicho RCV-	4	26	30
Total	34	30	64

Punto de corte: 50%

Con estos datos, el modelo predictivo tiene una sensibilidad del 88% y una especificidad de 86%. Esto significa que de 100 pacientes con RCV observado, el modelo predice correctamente a 88 (tasa de verdaderos positivos del 88%) y que, de 100 pacientes sin RCV observado, el modelo predice 86 correctamente (tasa de verdaderos negativos del 86%). El porcentaje global de predicciones correctas es de 87%, lo que expresa una seguridad de predicción del modelo elevada.

La razón de probabilidad positiva combina la sensibilidad y la especificidad en un mismo número. De tal forma que, relaciona la probabilidad de que un paciente con RCV+ sea clasificado correctamente por el modelo, con la probabilidad de que un paciente sin RCV sea clasificado por el modelo correctamente. En nuestro caso una razón de probabilidad positiva del 6.61 indica que un caso predicho por el modelo como RCV+ es 6.61 veces más probable que realmente se observe RCV que en pacientes sin RCV.

Tanto la sensibilidad como la especificidad son características intrínsecas del rendimiento predictivo del modelo y son independientes de la prevalencia del RCV. La verdadera utilidad de un modelo predictivo aplicado a un paciente individual depende de la prevalencia de RCV de la población aplicada. Dicho de otra forma, la probabilidad de que un modelo predictivo clasifique a un paciente como de RCV depende de la prevalencia del RCV en la población de pacientes estudiados. Cuando la prevalencia es elevada es mayor la probabilidad que si es baja. La prevalencia de la enfermedad se

combina con la sensibilidad y la especificidad para proporcionar dos medidas de seguridad diagnóstica como son los valores predictivo positivo y negativo. En nuestra muestra, la prevalencia de pacientes con RCV es de 53%, por lo que, tanto el valor predictivo positivo como el negativo son de 88% y 86% respectivamente. Es decir, de 100 pacientes, 88 en los que el modelo clasifica como RCV+ tienen realmente RCV. Por otra parte, de 100 pacientes, 86 en los que el modelo clasifica como de no RCV, realmente no presentan RCV (**Tabla 36**).

Tabla 36: Resumen de las características diagnósticas del modelo continuo como herramienta predictiva.

	Estimación	IC95% inferior	IC95% superior
Prevalencia	0,53	0,40	0,65
Sensibilidad	0,88	0,72	0,96
Especificidad	0,86	0,69	0,96
Valor predictivo +	0,88	0,72	0,96
Valor predictivo -	0,86	0,69	0,96
Seguridad diagnóstica	0,87	0,76	0,94
Razón de probabilidad para test +	6,61	2,63	16,61
Razón de probabilidad para test -	0,13	0,05	0,34

En la **tabla 37** se resumen los resultados de la comparación entre los datos observados y los predichos por el modelo de variables categóricas y en la **tabla 38** se exponen los resultados del análisis de la validez y seguridad del modelo como herramienta diagnóstica y las razones de probabilidad positiva y negativa calculadas a partir de ella. Se aprecia un ligero empeoramiento en las tasa de falsos positivos (6 de 34) lo que provoca una disminución de todos los valores de las características que resumen el rendimiento predictivo del modelo.

Tabla 37 Comparación de datos observados y los predichos por el modelo de variables categóricas.

Modelo	Observado RCV si	Observado RCV no	Total
Predicho RCV+	28	6	34
Predicho RCV-	4	26	30
Total	32	32	64

Punto de corte: 50%

Tabla 38 Resumen de las características diagnósticas del modelo con variables categóricas como herramienta predictiva

	Estimación	IC95% inferior	IC95% superior
Prevalencia	0,53	0,40	0,65
Sensibilidad	0,87	0,71	0,96
Especificidad	0,81	0,63	0,92
Valor predictivo +	0,82	0,65	0,93
Valor predictivo -	0,86	0,69	0,96
Seguridad diagnóstica	0,84	0,73	0,92
Razón de probabilidad para test +	4,6	2,24	9,71
Razón de probabilidad para test -	0,15	0,06	0,39

6.2.- Evaluación la capacidad discriminativa del modelo mediante construcción de curvas ROC y estimación del AUC.-

Como medida de discriminación se utilizó el área bajo la curva ROC que representa para todos los pares posibles de individuos formados por un individuo con RCV y sin RCV, la proporción de los pacientes que el modelo predice mayor probabilidad de RCV y que realmente se observó RCV. En la figura 10 se muestran las curvas ROC superpuestas correspondiente a los modelos de RL con variables continuas y categóricas. Como puede apreciarse existen mínimas diferencias (valor de $p = 0,368$). Ambos modelos presentan una excelente capacidad de discriminación alcanzando el 90% con AUC de 0,92 (95% IC 86-98, De Long) y de 0,90 (95% IC 85-95%) respectivamente.

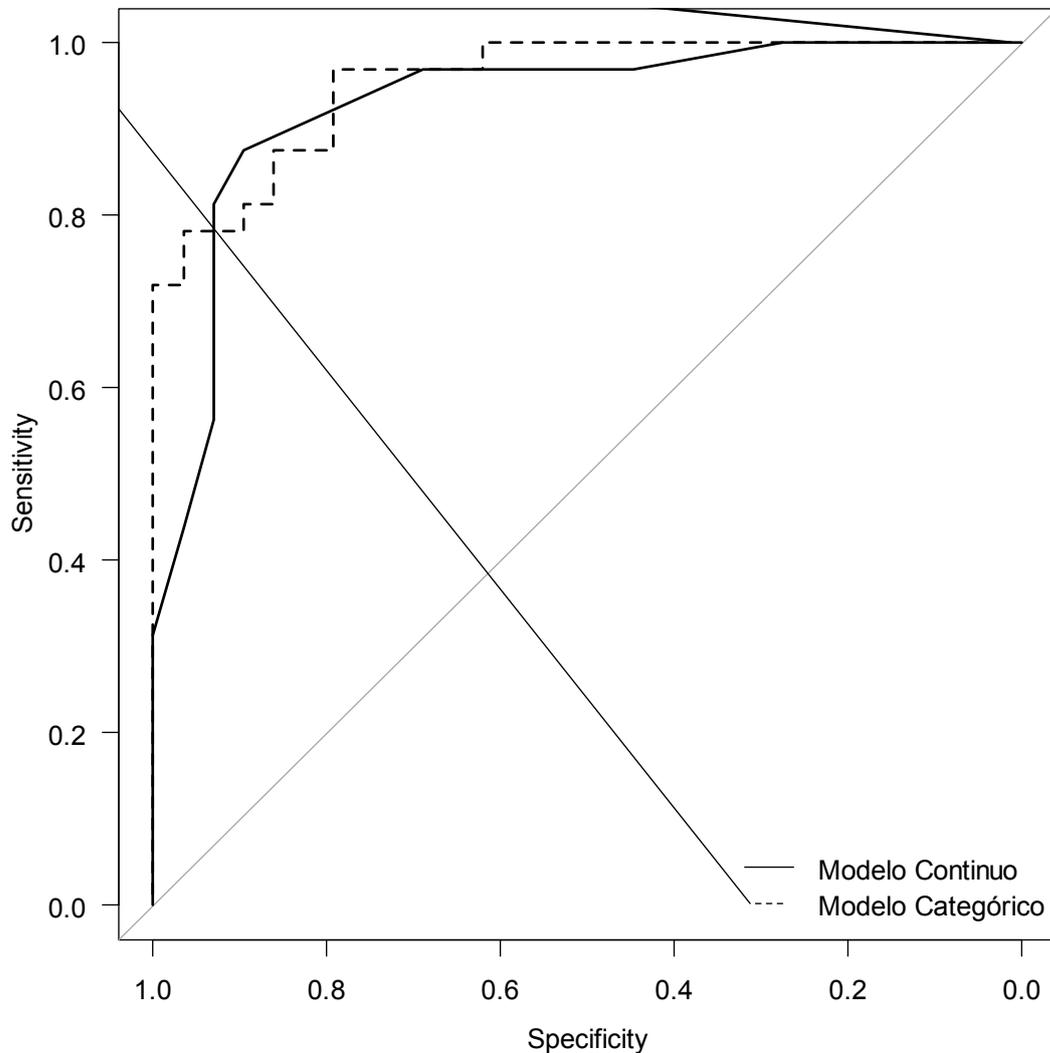


Figura 10: Curva ROC comparativa para los modelos de RL logística con variables continuas (AUC= 92%, 95% IC=86-98) y variables categóricas (AUC= 90% (95% IC 85-95%).

6.3 Calibración.-En las **tablas 39 y 40** se muestra la comparación de los valores estimados (predichos por el modelo) y los observados por grupos de pacientes ordenados por diferentes probabilidades de RCV. Tanto para el modelo con variables continuas (**tabla 39**) como para las variables categóricas (**tabla 40**) muestran una buena calibración como muestra el resultado del test de Hosmer-Lemeshow con valor

de $p = 0,979$ y $0,689$ respectivamente (recordar que en este test valores de $p > 0,05$, a diferencia de lo habitual, indica buena calibración). Se aprecia que en la comparación entre las frecuencias esperadas y las frecuencias observadas para cada uno de los grupos creados no existen grandes diferencias. Lo cual indica que, ambos modelos son capaces de realizar predicciones correctas en todos los grupos de pacientes.

Tabla 39.

Tabla de contingencia. Calibración del modelo continuo

Grupo	RCV=0 (No)		RCV=1 (Si)		
	Observado	Esperado	Observado	Esperado	
1	6	5,9	0	,01	6
2	6	5,9	0	,05	6
3	6	5,7	0	,20	6
4	5	5	1	,96	6
5	3	3,5	3	2,4	6
6	3	2,0	3	3,9	6
7	1	,81	5	5,1	6
8	0	,47	6	5,5	6
9	0	,21	6	5,7	6
10	0	,12	10	9,8	10

Test de Hosmer y Lemeshow; valor de $p = 0,979$ (X^2 cuadrado = 2,060, 8 GL).

Tabla 40.

Tabla de contingencia. Calibración del modelo categorizado

Grupo	RCV=0 (No)		RCV=1 (Si)		
	Observado	Esperado	Observado	Esperado	
1	8	7,9	0	,03	6
2	5	4,8	0	,12	6
3	7	6,4	0	,57	6
4	4	3,9	2	2,0	6
5	2	3,6	4	3,3	6
6	3	2,2	6	6,7	6
7	0	,35	5	4,6	6
8	1	,37	5	5,6	6
9	0	,12	12	11,8	6

Test de Hosmer y Lemeshow; valor de p =,689 (X cuadrado =4,67, 7 GL).

7.- Herramientas clínicas para el cálculo individual del RCV en pacientes con SOP.

Se diseñaron tres herramientas clínicas para el cálculo individual de RCV: tabla de grupos de RCV, tabla dinámica digital y nomograma.

Tabla de grupos de riesgo.- Se basan en una estimación cualitativa de los signos y magnitud de los coeficientes del modelo categorizado. De tal forma que, si el coeficiente es positivo se considera al factor como de RCV y si es negativo como protector de RCV. Por otra parte, según la magnitud de los coeficientes y del cambio que producen en la Odds Ratio, se definen a los factores de riesgo como de moderado y elevado impacto sobre el RCV. De esta forma, para la construcción de la tabla los factores quedaron finalmente catalogados de la siguiente forma: adiponectina ≥ 3.30 $\mu\text{m}/\text{ml}$ como factor protector de RCV; PCR_{us} ≥ 3 mg/dl e FGM entre 9-12 como factores de RCV moderado y, por último, un FGM ≥ 13 como factor de RCV elevado.

Para la confección de esta tabla de grupos de riesgo, se tuvo en cuenta el efecto protector tan importante que supone la adiponectina. Puesto que es capaz de neutralizar el efecto de los dos factores de RCV moderado y, de forma parcial, reduciéndolo significativamente, el efecto del factor de RCV elevado ($FGm \geq 13$). Como regla general, la presencia de uno de los factores de RCV moderado ($PCRus \geq 3$ mg/dl o FGm entre 9-12) no aumenta significativamente el RCV. Todo ello, independientemente del nivel de la adiponectina. La presencia los dos factores de RCV moderado asociado a un nivel de adiponectina $< 3,30$ $\mu m/ml$ multiplican el RCV por 7 pero con un nivel de adiponectina ≥ 3.30 $\mu m/ml$ el RCV queda neutralizado y no varía. La presencia de un factor de RCV elevado multiplica el RCV por 10. Si bien, se neutraliza parcialmente, si el nivel de adiponectina es ≥ 3.30 $\mu m/ml$, multiplicándolo únicamente por 2. La presencia de un factor de RCV elevado asociado a un nivel de $PCRus \geq 3$ mg/dl multiplican el RCV por más de 30. Sin embargo, niveles de adiponectina ≥ 3.30 $\mu m/ml$ consiguen neutralizar el efecto de esta combinación reduciendo su riesgo al multiplicarlo x10.

Con todas estas consideraciones se establecieron los siguientes grupos de riesgo: bajo, intermedio y elevado RCV que se exponen en la tabla 41. La probabilidad de RCV aumenta progresivamente a lo largo de los grupos establecidos y es claramente diferente. De tal forma que, para el grupo de bajo riesgo se encuentra entre el 1 y 10%, para el grupo de riesgo intermedio entre el 40-65% y para el grupo de riesgo elevado entre 80-100%.

Tabla 41		Grupos de RCV		
Grupo RCV	Factores de RCV ¹	Factor protector Adiponectina ²	Odds ratio	Probabilidad
Bajo	No	Si	0,01	0,01
	No	No	0,08	0,07
	1 moderado	Si	0,13	0,11
Intemedio	1 moderado	No	<1	0,43
	2 moderados	Si	x1	0,52
	FGm \geq 13	Si	x2	0,62
Elevado	2 moderados	No	x7	0,87
	PCRus>3 mg/dl + FGm \geq 13	Si	x15	0,94
	PCRus>3 mg/dl + FGm \geq 13	No	x30	0,99

¹ Factores de RCV. Impacto moderado= PCR US \geq 3 mg/dl y Ferriman= 9-12. Impacto elevado: Ferriman \geq 13.

² Factor protector RCV. Adiponectina \geq 3.30 μ g/ml

Tabla dinámica digital de cálculo individual del RCV. Mediante una hoja de cálculo del programa Excel de Microsoft, se ha diseñado una tabla dinámica digital con las fórmulas matemáticas en las que se basa el modelo de regresión logística para calcular automáticamente el RCV individualizado. Para apreciar mejor los cambios en el RCV se han utilizado los coeficientes del modelo categorizado. La tabla se ha diseñado de tal forma que, en las columnas se encuentran: cada una de las variables del modelo categorizado, sus coeficientes, el valor categorizado de cada variable, la función lineal del producto de las variables, el exponencial de la función lineal, la probabilidad estimada individual, el valor de 1-Probabilidad estimada, la odds ratio y la log de la odds ratio y la ecuación general. El contenido de las celdas de las variables y los coeficientes es fijo siempre que se mantenga el mismo modelo, el contenido de las celdas de los valores categorizados de cada variable está abierto y el resto de celdas se cumplimentan automáticamente. De tal forma que, una vez diseñada, la única información que hay que introducir es el valor del código en que se ha categorizado las diferentes variables para un paciente individual. El resto de celdas se rellenan automáticamente al introducir los valores de las X al resolverse cada una de las fórmulas específicas. De esta forma, si queremos conocer la probabilidad de RCV individualiza para un determinado paciente, debemos sustituir los valores de las variables por 0 vs 1 y, de forma automática, se obtendrá la probabilidad de RCV. En la figuras 11,12 y 13 se exponen tres ejemplos de cálculo individualizado para pacientes con RCV bajo, intermedio y alto.

CÁLCULO RIESGO INDIVIDUAL DE PROGRESIÓN

CATEGORÍA (Valor X): 1 (Presente) 0 (Ausente)

RIESGO (Odds ratio): Bajo (≤ 1) Intermedio (2-7) Alto (> 10)

Variables	Coef B	Valor X	1+B2X2	EXP-(Z)	Probab	1-P	Odds ratio	Log odds
Constante	-2,59	0	2,68	0,07	0,94	0,06	14,59	2,68
Ferriman 1(9-12)	2,32	0						
Ferriman 2 (≥ 13)	4,9	1						
PCRus (≥ 3 mg/dl)	2,17	1						
Adiponectina ($\geq 3,30$ mg/dl)	-1,8	1						

Figura 11. Tabla dinámica digital para cálculo individual del RCV. Ejemplo de paciente con riesgo elevado con odds ratio de 14,59; Adiponectina ≥ 3.30 $\mu\text{g/ml}$, PCRus ≥ 3 mg/dl e FGm ≥ 13 .

CÁLCULO RIESGO INDIVIDUAL DE PROGRESIÓN

CATEGORÍA (Valor X): 1 (Presente) 0 (Ausente)

RIESGO (Odds ratio): Bajo (≤ 1) Intermedio (2-7) Alto (> 10)

Variables	Coef B	Valor X	1+B2X2	EXP-(Z)	Probab	1-P	Odds ratio	Log odds
Constante	-2,59	0	0,1	0,90	0,52	0,48	1,11	0,1
Ferriman 1(9-12)	2,32	1						
Ferriman 2 (≥ 13)	4,9	0						
PCRus (≥ 3 mg/dl)	2,17	1						
Adiponectina ($\geq 3,30$ mg/dl)	-1,8	1						

Figura 12. Tabla dinámica digital para cálculo individual del RCV. Ejemplo de paciente con riesgo bajo con odds ratio de 1,11; Adiponectina ≥ 3.30 $\mu\text{g/ml}$, PCRus ≥ 3 mg/dl y FGm 9-12.

CÁLCULO RIESGO INDIVIDUAL DE PROGRESIÓN

CATEGORÍA (Valor X): 1 (Presente) 0 (Ausente)

RIESGO (Odds ratio): Bajo (≤ 1) Intermedio (2-7) Alto (>10)

Variables	Coef B	Valor X	$1+B2X2$	EXP-(Z)	Probab	1-P	Odds ratio	Log odds
Constante	-2,59	0	1,9	0,15	0,87	0,13	6,69	1,9
Ferriman 1(9-12)	2,32	1						
Ferriman 2 (≥ 13)	4,9	0						
PCRus (≥ 3 mg/dl)	2,17	1						
Adiponectina ($\geq 3,30$ mg/dl)	-1,8	0						

Figura 13. Tabla dinámica digital para cálculo individual del RCV. Ejemplo de paciente con riesgo intermedio con odds ratio de 6,69; Adiponectina $< 3.30 \mu\text{g/ml}$, PCRus ≥ 3 mg/dl e FGM 9-12.

Nomograma.- En la figura se expone el nomograma diseñado para el cálculo individual RCV. El cálculo del RCV se realiza mediante un gráfico de líneas basado en la función de RL en la que se basa el modelo. El efecto de las variables del modelo (factores de RCV) sobre la variable respuesta (RCV) se representan en forma de ejes y se atribuyen puntos de riesgo de acuerdo a la importancia (coeficiente) de cada factor predictivo. La línea de suma total de puntos se utiliza para estimar el efecto combinado de todas las variables del modelo (factores predictivos de RCV) sobre la probabilidad de la variable respuesta (RCV). La ventaja de los nomogramas sobre las anteriores herramientas clínicas de cálculo es que permite combinar el efecto de variables continuas junto a categorizadas. Puesto que, en los anteriores no es posible utilizar variables continuas porque no pueden ser procesadas y no es posible la estratificación. Esta herramienta está diseñada para extraer el máximo de información de los datos con el fin de conseguir predicciones seguras.

El modo de uso es el siguiente:

- Se localizan los valores individuales del paciente en las líneas de cada una de las variables del modelo.
- Para saber cuántos puntos se le atribuyen los valores asignados a cada variable, se dibuja una línea vertical al eje de puntos.
- El RCV se calcula sumando el total de puntos. En las figuras 38y 39 se representan los nomogramas referidos a dos casos de pacientes de RCV bajo y RCV elevado.

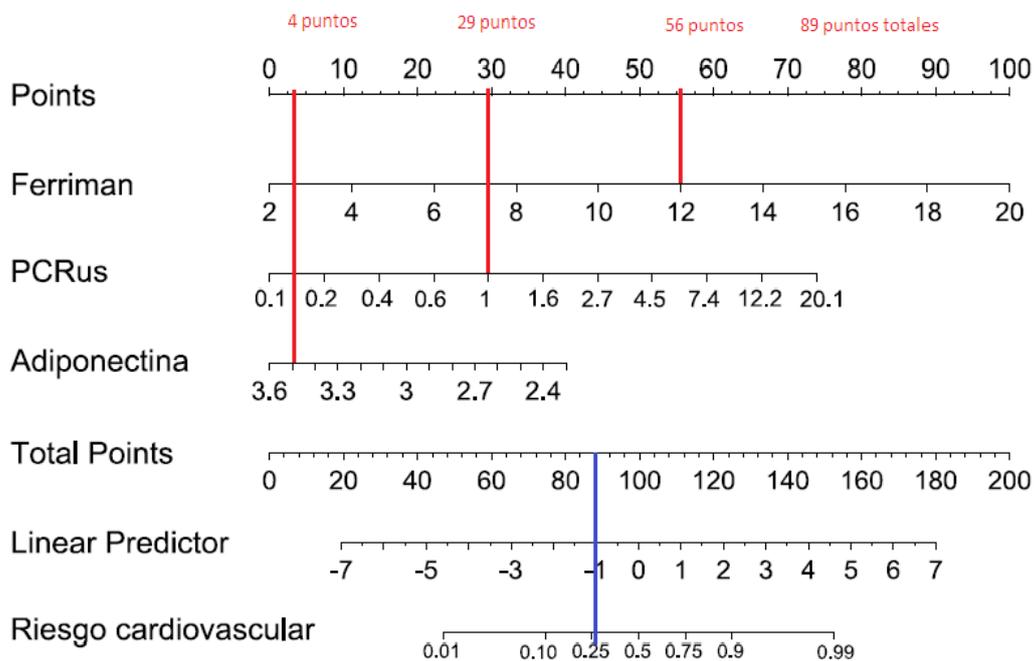


Figura 14. Nomograma de cálculo individualizado de RCV en pacientes con SOP.- Las líneas de color rojo representan los puntos asignados a cada valor de las variables predictoras. La suma total es de 89 puntos. Línea azul representa la probabilidad de RCV asignada de acuerdo a los puntos totales. Probabilidad 0,25. Con un punto de corte de 0,50, se le cataloga como sin RCV.

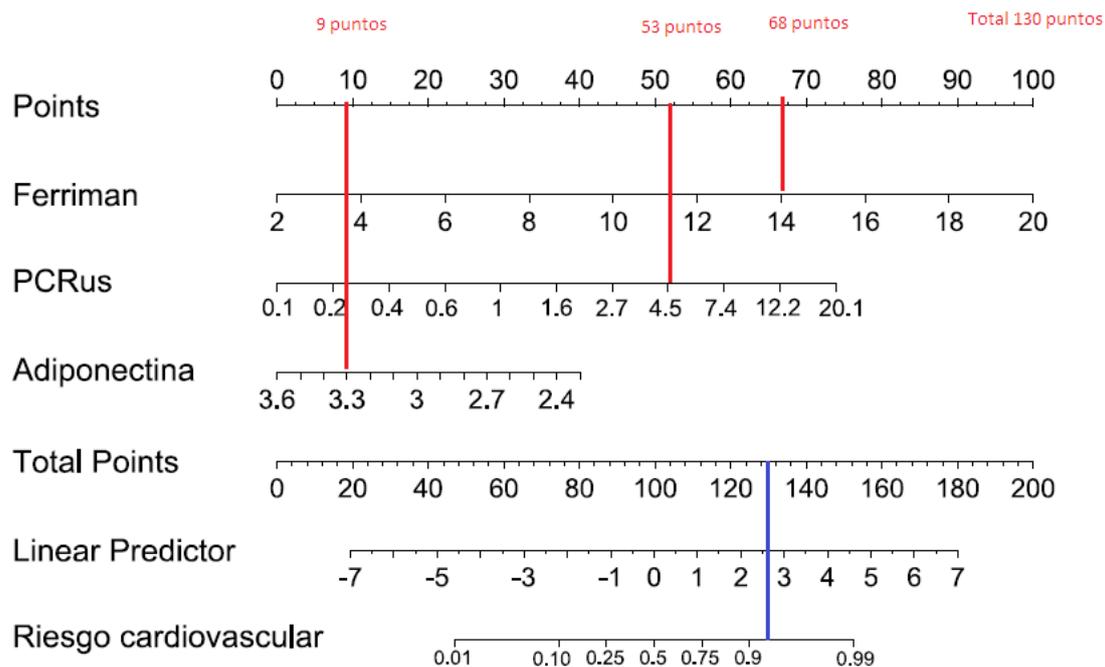


Figura 15. Nomograma de cálculo individualizado de RCV en pacientes con SOP.- Las líneas de color rojo representan los puntos asignados a cada valor de las variables predictoras. La suma total es de 130 puntos. Línea azul representa la probabilidad de RCV asignada de acuerdo a los puntos totales. Probabilidad 0,93. Con un punto de corte de 0,50, se le cataloga como con RCV.

6.- Discusión:

El SOP es la endocrinopatía más frecuente en la mujer en edad reproductiva. Muchos son los estudios que se han realizado para poder identificar si la presencia del SOP es *per se* un factor de riesgo cardiovascular. El hecho de que el SOP presente una serie de patologías asociadas que son factores de riesgo cardiovascular hace que sea complicado esclarecer si la elevación del riesgo cardiovascular en estas pacientes se debe fundamentalmente al síndrome. La presencia de factores de confusión como la obesidad y la insulino-resistencia y las interacciones entre ellas y con otros factores de riesgo hacen difícil esta tarea.

Los resultados de nuestro estudio indican que las pacientes con SOP presentan perfil lipídico aterogénico (elevación de TG y LDL-Col y descenso de HDL-Col), tendencia a la IOG y a la DMT2 (índice HOMA elevado), elevación de marcadores de inflamación crónica (leucocitosis, neutrofilia y elevación de la PCRus), tendencia a la obesidad centrípeta, elevación de las cifras de TAS y TAD y alteración de las citocinas adipocitarias (elevación de leptina y disminución de adiponectina) en comparación con los controles. Esta situación se ve intensificada con la presencia de obesidad. Todos estos factores se consideran marcadores de riesgo cardiovascular.

La asociación entre riesgo cardiovascular elevado y SOP está estudiada ampliamente. En 2012 ya se redactó un documento de consenso (17) indicando lo siguiente:

- El SOP presenta niveles elevados de factores de riesgo cardiovascular a cualquier edad y pueden presentarse en ausencia de obesidad aunque se encuentran magnificados por ésta (Nivel B).
- La dislipemia, IOG y la DMT2 (marcadores clásicos de RCV y de arteriosclerosis) son más prevalentes en las pacientes con SOP incluso si las aparejamos por peso con los controles (Nivel B).

- Las alteraciones de los niveles de LDL, HDL y Apolipoproteína A y B son más prevalentes en mujeres con SOP y más severos si existe hiperandrogenemia (Nivel B).
- Actualmente se recomienda para la valoración del riesgo cardiovascular a cualquier edad la medición de la cintura y de la tensión arterial junto con la valoración del perfil lipídico, de la glucosa plasmática, la actividad física, nutrición, grado de estrés y tabaquismo (Nivel C).
- Debido a que los FRCV se elevan con la edad se recomienda hacer esta evolución periódicamente.

Es decir, está demostrado que las pacientes con SOP presentan elevación de los factores de riesgo cardiovascular.

Es por esto que son necesarias nuevas aproximaciones diagnósticas con una alta fiabilidad para poder instaurar estrategias de prevención y terapéuticas que consigan disminuir el RCV. Como ginecólogos tenemos una posición privilegiada con respecto a este problema. Estas pacientes presentan alteraciones del ciclo menstrual y esterilidad que son motivos frecuentes de consulta ginecológica. Esta situación nos permite la posibilidad de instaurar estrategias de prevención y tratamiento para disminuir el riesgo cardiovascular incluso en edad temprana.

La mayoría parte de los estudios sobre el RCV y el SOP se basan en análisis bivariante. Las conclusiones que se obtienen de estos estudios presentan una baja potencia estadística (fiabilidad estadística) ya que en la mayor parte de los casos existe una correlación muy intensa entre todos los factores por lo que se generan factores de confusión. Para evitar estos factores de confusión y su influencia en los resultados finales se realizan análisis multivariantes.

El análisis multivariante es un método estadístico utilizado para determinar la contribución de varios factores en un simple evento o resultado. Su objetivo radica en un mejor entendimiento del objeto del estudio y obtiene información que los análisis univariantes y bivariantes no pueden conseguir.

Son pocos los estudios multivariantes predictivos que han estudiado la relación entre el SOP y el RCV.

Es por esto que se ha creado un modelo matemático predictivo para calcular de manera individualizada el riesgo cardiovascular de cada paciente. De manera que, conociendo la valoración del índice de Ferriman y los valores de PCRus y adiponectina podemos calcular el riesgo cardiovascular de una paciente y saber si está elevado.

6.1 Análisis bivariante:

Una vez recopilados los datos y realizado el análisis estadístico bivariante nos encontramos con que las pacientes del estudio presenta rangos de edad entre los grupos sin significación estadística, es decir son similares. Esto es importante de cara al resultado de las moléculas estudiadas ya que los parámetros pueden variar de la pubertad a la edad adulta y de esta a la premenopausia.

Existieron diferencias con respecto al IMC. Esto se debe al diseño del estudio.

Al comparar los valores medios del ICC nos encontramos que son significativamente mayores en el grupo SOP; pero cuando realizamos la comparación intergrupo los valores solo permanecen elevados, significativamente, en el grupo de obesidad. Es decir la comparación del ICC entre los grupos con $IMC < 30$ no presenta diferencias. Es importante recalcar que las pacientes con SOP presentan tendencia a acumular grasa en la cintura y este acúmulo está asociado al desarrollo de hiperandrogenemia, DMT2, HTA y dislipemia (142). Al presentar valores medios de ICC similares se evita el sesgo que supondría la presencia de obesidad centrípeta sólo en uno de los grupos.

Nuestros resultados aportan que tanto la TAS como la TAD son significativamente mayores en las pacientes con SOP. Pero cuando realizamos la comparación de medias intergrupo los valores solo permanecen elevados, de forma significativa, en las pacientes con $IMC \geq 30$ apoyando la teoría de que la elevación de la TA en las pacientes con SOP se debe fundamentalmente a la obesidad. Estos resultados concuerdan con otros estudios (143, 144) pero difieren de estudios más antiguos en los cuales no se diferenciaban a las pacientes por IMC (145-147).

Los valores de PCRus son significativamente mayores en las pacientes con SOP y obesidad. Pero estas diferencias desaparecen cuando comparamos al grupo control con el grupo SOP sin obesidad. Estos resultados concuerdan con autores que reflejan que los valores de PCRus van correlacionados con el grado de obesidad y no con la presencia de SOP (72, 148). También se ha evidenciado que los valores de PCRus dependen del grado de insulino-resistencia. No hay que olvidar que la Odds Ratio en pacientes delgadas con SOP para desarrollar intolerancia oral a la glucosa es del 3.22 (95% CI 1.26–8.24) (149). Por lo que, si la elevación de los niveles de PCRus dependen también de las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado, no se puede descartar que en las pacientes con SOP sin obesidad los tengan elevados ya que presentan mayor riesgo de padecer IOG y DMT2 que la población general (149).

Los valores plasmáticos de leucocitos son significativamente mayores en las pacientes con SOP y obesidad. Estas diferencias no se mantienen si comparamos a las pacientes sin obesidad. Estos resultados son contradictorios con estudios donde se evidencia que las pacientes con SOP presentan valores de leucocitos mayores que las pacientes control emparejadas por edad e IMC (5, 148).

Según nuestros resultados el porcentaje de neutrófilos es significativamente mayor en las pacientes con SOP y obesidad. Estos valores son muy similares si comparamos a las pacientes sin obesidad aunque son significativamente mayores en las pacientes con SOP.

No existen diferencias significativas entre los tres grupos con respecto a los valores de TNF- α . Estos resultados concuerdan con un meta-análisis publicado en el 2011 donde no se encontraron diferencias con respecto a los controles (148).

Al realizar la comparación de los valores de colesterol (CT) no existen diferencias cuando comparamos a las pacientes sin obesidad. Los valores medios de LDL-Col son significativamente mayores en el grupo de SOP y obesidad. Estos valores ascienden conforme introducimos la variable de SOP y más si se eleva el IMC. Estos resultados apoyan, por una parte, la hipótesis de que el SOP sería un factor de riesgo para la hiperlipidemia y ésta, estaría intensificada por la obesidad. Sin embargo, los valores de HDL-Col son significativamente mayores en las pacientes con SOP sin

obesidad que en los controles. Estos resultados son discordantes con los de la mayoría de los autores que concluyen que los valores de HDL-Col son menores en las pacientes con SOP independientemente del IMC (65).

Los niveles de TG son significativamente mayores en las pacientes con SOP y obesidad. Cuando comparamos los valores de las pacientes sin obesidad no existen diferencias. Estos resultados apoyarían la hipótesis de que los niveles de TG en las pacientes con SOP están fundamentalmente determinados por el IMC más que por la presencia del síndrome en sí mismo. Sin embargo, nuestros resultados difieren de los publicados ampliamente en la literatura que informan que las pacientes con SOP presentan niveles de TG mayores que los controles independientemente de su IMC (65, 150).

Como se ha resumido anteriormente, estas pacientes presentan fenotipo de lipoproteínas aterogénicas que consiste en niveles de TG y LDL-Col elevados y disminuidos de HDL-Col. Este patrón es similar al encontrado en pacientes DMT2. Esta alteración es consecuencia fundamentalmente de la insulino-resistencia, que disminuye la capacidad de la insulina para suprimir la lipólisis y en consecuencia aumenta la movilización libre de AG de las reservas adiposas. También se producen alteraciones en el catabolismo mediado por la insulina de las VLDL-Col aumentando su concentración plasmática. Estas alteraciones están presentes más frecuentemente en pacientes con obesidad siendo ésta otro factor agravante de la dislipemia.

Los niveles de glucosa son significativamente mayores en las pacientes con obesidad y SOP. Sin embargo si comparamos los valores de las pacientes sin obesidad estas diferencias no se mantienen apoyando la hipótesis de que la elevación de la glucosa en ayunas depende fundamentalmente de la presencia de obesidad.

Nuestros resultados evidencian que los valores de insulina son significativamente mayores en las pacientes con SOP y obesidad. Estos valores se elevan conforme añadimos la variable SOP pero lo hacen con más intensidad con la elevación del IMC. Estos resultados sugieren que la presencia de SOP favorece la elevación de insulina y que esta elevación se intensifica con la presencia de obesidad sobre todo central como ya han publicado otros autores (151).

Los valores HOMA fueron significativamente mayores en el grupo de SOP y obesidad. Sin embargo, cuando comparamos los grupos sin obesidad estas diferencias desaparecen. Estos resultados concuerdan con los de otros autores (152) que evidencian que los niveles de IR están íntimamente relacionados con la obesidad y la hiperandrogenemia.

En nuestro estudio, los niveles de adiponectina son mayores en las pacientes sin SOP. En las pacientes con SOP los valores descienden de manera significativa conforme aumenta el IMC. Sin embargo si realizamos la comparación intergrupo solo existen diferencias significativas entre los controles y las pacientes con obesidad. Estos resultados difieren de estudios que evidencian que los niveles de adiponectina son mayores en las pacientes con SOP si las ajustamos por IMC(153). Sin embargo otros estudios aportan resultados que evidencian que la hipoadiponectinemia en las pacientes con SOP es independiente del IMC (101). Existe un factor de confusión en la relación SOP y adiponectina que es la obesidad.

No existen diferencias significativas con respecto a los valores de resistina en nuestro estudio. Estos resultados concuerdan con los de otros autores (101, 154). Sin embargo existen otros estudios que evidencian que los niveles de resistina son mayores en las pacientes con SOP y obesidad (155).

Los niveles de leptina son estadísticamente mayores en las pacientes con SOP y obesidad. Los valores medios de leptina son más elevados si le añadimos la variable SOP y se intensifican con el aumento del IMC. Estos resultados sugieren que la presencia de SOP incrementa los niveles y se éstos se refuerzan con la obesidad. Nuestros resultados concuerdan con los de otros autores (156-158) y están avalados por una base fisiopatológica, ya que esta citokina se produce en el tejido adiposo y presenta una correlación positiva con el mismo. Además las pacientes con SOP y obesidad presentan niveles elevados de marcadores inflamatorios y de leptina que estimula la adhesión endotelial provocando la unión de neutrófilos y leucocitos. Sin embargo existen estudios en las que los niveles de leptina son similares en la población con y sin SOP (113, 114).

6.2 Análisis multivariante:

En las pacientes con SOP hay un aumento de la prevalencia de factores de riesgo CV clásicos y no clásicos. Una de las alteraciones repetidamente demostrada es la alteración endotelial en la dilatación de la arterial braquial que se presenta en edad temprana y que se ha confirmado por un meta-análisis en 2012 (159). Además se ha demostrado una alta prevalencia en pacientes jóvenes en el deterioro precoz de la pared vascular, signos morfológicos de aterogénesis temprana mediante un aumento en el grosor de la intima de las arterias carótidas (160). Todavía no ha sido aclarado si esto se traduce en un aumento de la morbi-mortalidad por causa cardiovascular ya que los estudios al respecto no son prospectivos y los datos sobre eventos cardiovasculares en pacientes con SOP utilizan diferentes criterios diagnósticos para clasificar a las pacientes.

Una estimación precisa del éxito del tratamiento, las complicaciones y la morbilidad a largo plazo son informaciones esenciales para el paciente de cara a la toma de decisiones sobre su enfermedad. Un paciente que está bien informado estará más receptivo de cara a cumplimentar el tratamiento.

Antiguamente el criterio médico era la base para la estimación de riesgo, el asesoramiento del paciente y la toma de decisiones. Pero este criterio puede estar sesgado debido a factores de confusión, tanto subjetivos como objetivos. La percepción de todos los casos no es igual para un médico; determinados casos pueden destacar más y ejercer una influencia excesivamente grande de cara a la predicción de resultados futuros. Además, el número de variables predictoras que son importantes para la toma de decisiones clínicas es creciente y es difícil su integración por parte del médico en la práctica clínica. Por esta razón, y por la necesidad de obtener predicciones más precisas y confiables se han desarrollado herramientas de pronóstico o predictivas basadas en modelos estadísticos.

Tres son las variables que han demostrado aportar información predictiva de manera independiente: PCRus, FGM y adiponectina.

6.2.1 PCRus:

La mayoría de los estudios informan que los niveles de PCRus, marcador de inflamación crónica y mediador de enfermedad arteriosclerótica, están elevados en las pacientes con SOP (71) siendo una minoría los que reflejan que no existen diferencias con respecto al grupo control (72). Es importante recalcar que existen evidencias de que la elevación de la PCRus en estas pacientes va asociada a obesidad y no a SOP y que existe correlación entre los valores de PCRus y la circunferencia abdominal reforzando la asociación con obesidad abdominal e insulino-resistencia (72). De hecho, la administración de fármacos sensibilizantes a la insulina, disminuye el valor de PCRus en estas pacientes (74) y en pacientes con diabetes tipo 2. Estos resultados indican que la reducción de la resistencia a la insulina presenta un efecto cardioprotector en pacientes con SOP sin obesidad (75).

En nuestro modelo la PCRus esta considerado como una variable que incrementa el riesgo cardiovascular. Se ha tomado como punto de corte el valor de 3 mg/ml siguiendo las recomendaciones de la American Heart Association (AHA) (161).

Actualmente se considera que el valor superior a 3 mg/ml de PCRus es un factor de riesgo cardiovascular en la población general. De hecho se ha evidenciado correlación entre el nivel de PCRus y la grasa visceral siendo esta correlación independiente del grado de adiposidad corporal (73). Existe un estudio que aconseja el uso de estatinas en pacientes de niveles elevados de PCRus incluso con perfil lipídico normal (75).

6.2.2 Adiponectina:

Es una citokina segregada por el tejido adiposo de manera casi exclusiva. Está relacionada con la insulino resistencia ya que ejerce un efecto sensibilizante sobre la insulina y presenta además acción antiaterogénica y antiinflamatoria (108).

Los niveles plasmáticos se encuentran disminuidos en pacientes con insulino-resistencia. También se ha visto los niveles están influenciados a la baja por la testosterona tanto en animales como en humanos (108).

Los niveles de adiponectina se encuentran disminuidos en las pacientes con SOP ya que confluyen dos circunstancias como son la presencia de adiposidad elevada que deriva en IR y de andrógenos elevados. Esta hipótesis ha quedado avalada por numerosos estudios (101, 162) aunque existen otros donde no se evidencian diferencias en los niveles plasmáticos con respecto a los controles (162) Existe un meta-análisis de 2009 en el que se concluye que los niveles de adiponectina en pacientes con SOP son menores que en los controles (163). Estos resultados han sido refrendados en 2014 y se mantienen si ajustamos a las pacientes según edad, IMC e insulino-resistencia mediante índice HOMA (164).

Existen publicaciones en las que relacionan niveles bajos de adiponectina con progresión hacia diabetes tipo 2. Se desconoce si los bajos niveles de adiponectina son causa o consecuencia de la hipoadiponectinemia. Existen estudios donde se evidencia que la administración de fármacos sensibilizantes a la insulina elevan los niveles de adiponectina además de disminuir la secreción de insulina(165, 166) apoyando la asociación entre IR y niveles bajos de adiponectina.

Sin embargo no hay que despreciar la influencia de la carga genética en estas pacientes ya que se ha evidenciado que los niveles en pacientes con SOP delgadas y sin insulino-resistencia también se encuentran disminuidos y que presentan una asociación familiar (164).

Es decir, los niveles disminuidos de adiponectina en las pacientes con SOP están influenciados por la presencia de insulino resistencia, de obesidad y la carga genética.

En nuestro modelo los valores elevados de adiponectina se consideran factor protector de riesgo cardiovascular. Este hecho esta avalado ya que los valores de adiponectina se encuentran disminuidos en situaciones de obesidad, IR e hiperandrogenemia.

6.2.3 Hirsutismo:

Clásicamente se ha asociado al hiperandrogenismo clínico como un factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares ya que se considera que la testosterona provoca un perfil aterogénico y de alteración de metabolismo hidrocarbonado.

Es importante reseñar que baja incidencia de acontecimientos cardiovasculares en mujeres premenopáusicas y la rápida elevación tras la menopausia hace presuponer el papel protector de los estrógenos enfermedad cardiovascular. Los beneficios de los estrógenos se deben fundamentalmente a la mejora del perfil lipídico, a la prevención de la oxidación de las partículas LDL-Col y al efecto directo sobre el endotelio vascular que inhibe la adhesión celular y además promueve la vasodilatación(167) . Las pacientes con SOP presentan niveles de andrógenos elevados junto con niveles elevados de estradiol.

Se ha confirmado que los riesgos cardiometabólicos son mayores en los grupos de pacientes con SOP que presenta hiperandrogenemia (86). Y que las lesiones en los vasos sanguíneos están directamente correlacionadas con los niveles de testosterona (168).

Los mecanismos por los cuales la exposición mantenida a andrógenos deteriora el perfil lipídico están mediados por los receptores androgénicos y por la actividad de la lipoprotein-lipasa.

Se ha evidenciado un patrón de LDL-Col más aterogénico basado en que la exposición a andrógenos en la vida temprana modifica el patrón de LDL en las pacientes con SOP (169). Las pacientes con SOP presentan un aumento en la producción de radicales libres y una disminución en la producción de antioxidantes incluso en ausencia de obesidad (170).

Unos de los tratamientos para incrementar la libido en las pacientes postmenopáusicas es la administración de testosterona ya sea vía oral, intramuscular, subcutánea o transdérmica. Existen estudios donde se ha evidenciado que los tratamiento con testosterona en las pacientes sometidas a tratamiento hormonal para cambio de sexo mujer a hombre presentan niveles elevados de LDL-C, apolipoproteina B y triglicéridos y disminución de los niveles de HDL-C. Cuando la administración de testosterona se practica vía oral en mujeres postmenopáusicas el efecto negativo fundamental se reduce a la disminución de HDL-C (171).

Sin embargo existen un meta-análisis del 2014 que demuestra que el tratamiento con testosterona en mujeres postmenopáusicas es seguro a largo plazo y no eleva la probabilidad de tener eventos cardiovasculares aunque contiene estudios donde se incluye el tratamiento conjunto de estrógenos y testosterona por lo que el efecto podría estar contrarrestado (172).

La gradación del hirsutismo mediante la escala de FGm es fácil pero cuenta con inconvenientes: las técnicas de depilación definitiva limitan la valoración por lo que se indica a las pacientes a que la hagan ellas mismas. Esto aporta una valoración es subjetiva, cada etnia tiene una percepción diferente de la cantidad de vello corporal.

En nuestro modelo el índice de FGm superior a 8 es una variable que aumenta el riesgo cardiovascular. Es la variable que mas capacidad de explicación tiene llegando al 52%. Es decir que con ella sola se explican el 52% de los resultados sobre la elevación del riesgo cardiovascular.

Uso de nomogramas:

Los nomogramas, tanto predictivos como pronósticos, se han introducido recientemente para poder predecir riesgos individualizados de cada paciente. Estos modelos predictivos son igual de efectivos que el juicio clínico al predecir las probabilidades de resultado. Pero la valoración médica es esencial para la medición de las variables que se utilizan en el modelo de predicción y es imprescindible para la interpretación y la aplicación en la práctica clínica (173).

Un nomograma es la representación gráfica de una fórmula o función matemática como la regresión logística, o los modelos de regresión de Cox. Los nomogramas están ideados para poder extraer la máxima cantidad de información con el objetivo de obtener predicciones mas precisas. Normalmente suele incorporar variables continuas o categóricas. El efecto de las variables sobre el resultado de interés se representa en formato de ejes y los puntos de riesgo dependen de la importancia pronóstica de la variable interés. El formato de nomograma es único ya que permite la combinación de varias variables continuas codificadas o de variables codificadas categóricamente. Este formato se distingue de los arboles de decisión en

que en estos últimos no se pueden procesar variables continuas codificadas y presenta una limitación en la disponibilidad de los datos para evitar las ramas sin salida.

En nuestro modelo se ha creado un nomograma de fácil aplicación en la práctica clínica diaria que incluye las tres variables que han aportado información predictiva de manera independiente.

Evaluación predictiva del modelo: existen varias herramientas para la evaluación predictiva:

Exactitud: La precisión de un modelo es su característica más importante. El gold standard para valorar la exactitud de la predicción es la validación externa y se ha de realizar en una cohorte externa. En nuestro caso este paso esta pendiente de realizar.

La validación interna representa una buena alternativa. Ningún modelo es perfecto y los rangos de precisión aceptados están entre el 70 al 80%. Esto implica que el porcentaje de pacientes clasificado erróneamente es del 20 al 30 %. Si tomamos como ejemplo el modelo categorizado la sensibilidad de nuestro modelo es del 87%, la especificidad del 81%, el valor predictivo positivo del 82% y el valor predictivo negativo del 86%. Es decir nuestro modelo se encuentra dentro de los rangos de precisión aceptados.

Calibración: consiste en la evaluación de las características de rendimiento de un modelo. Los resultados de la calibración muestran la relación entre las probabilidades predichas y las observadas. El gráfico de un modelo que predice perfectamente bien presenta una línea de 45%, lo que indica una relación perfecta entre las tasas predichas y las observadas. Si tomamos como ejemplo el modelo categorizado nuestra correspondencia entre predicho y observado es de 28/34 es decir, de un 82,35%. Es preceptivo que los médicos conozcamos las características de rendimiento de un modelo que utilizamos de manera rutinaria debido a que algunos modelos presentar menor rendimiento en las muestras externas.

6.3 Limitaciones del estudio y aspectos metodológicos:

Evidentemente toda investigación clínica es subsidiaria de ser mejorada y así obtener mejores datos y conclusiones más potentes. Es importante recalcar que con este objetivo se obtienen, en ocasiones, estudios interminables que no llegan a resultado alguno.

Las limitaciones de este estudio son:

6.3.1 Tamaño muestral: El hecho de que la muestra total conste solo de 64 pacientes limita la precisión de los resultados. Con un número mayor de pacientes se podrían haber estudiado más variables. Se escogió este tamaño muestral por referencia con estudios previos (153, 174).

6.3.2 Validación externa: para poder comprobar la eficacia del modelo predictivo se debería de hacer una validación externa con nuevos pacientes y en otros centros. Esta validación se realizará con posterioridad.

6.3.3 Variabilidad en el diagnóstico: Existen diferentes clasificaciones para diagnosticar a una paciente de SOP. Dependiendo de la clasificación utilizada la prevalencia varía (Tabla 42.).

Tabla 42.**Prevalencia de SOP dependiendo de los diferentes criterios diagnosticos**

Fuente	Número de pacientes y procedencia	NIH/ NICHD	ESHRE/ ASRM Rotterdam	AES and PCOS society
March et al	728 Australia	8,7%	17,8%	12%
Mehrabian et al	820 Irán	7%	15,2%	7,92%
Tehrani et al	929 Irán	7,1%	14,6%	11,7%
Yildiz et al	392 Turquía	6,1%	19,9%	15,3%

Las pacientes incluidas en este estudio han sido diagnosticadas de SOP mediante los criterios de Rotterdam. Con estos criterios se intenta eliminar el sobrediagnóstico que generan los hallazgos ecográficos y potenciar la base endocrinológica que causa el síndrome.

Una de las críticas más importantes que se le hace a esta clasificación es la posibilidad de diagnosticar de SOP a una paciente que no presenta el aspecto más relevante del síndrome: la hiperandrogenemia(175). Por ello, dentro de los 4 fenotipos posibles del diagnóstico de SOP mediante los criterios de Rotterdam, solo se han incluido en este estudio a pacientes con el fenotipo A. Estas pacientes serían diagnosticadas de SOP también según los criterios de NIH y de la AES.

El fenotipo A es el más frecuente de todos alcanzando en algunas series hasta un 62% (176). Al presentar los tres criterios se considera el fenotipo más característico pero a su vez presenta niveles más elevados de insulino resistencia fundamentalmente por la presencia de un porcentaje más elevado de pacientes obesas (177). Este problema se ha subsanado con la separación en dos grupos de las pacientes con SOP según su IMC.

6.1.4 La autogradación del Índice de Ferriman-Gallway: para la valoración del hirsutismo se pidió a las pacientes que valorasen ellas mismas es grado de vello que presentaban. Se les insistió que debía ser el de antes de los tratamientos depilatorios

en caso de que los hubiera. Por esto fueron instruidas previamente. En el caso de que no hubieran habido técnicas depilatorias previas, la valoración la realizó un solo explorador.

Hay que recalcar que la autovaloración es subjetiva ya que cada persona tiene una percepción distinta de la intensidad del vello que esta muy marcada por la etnia de la que procede.

7.- Conclusiones:

Las conclusiones de nuestro estudio son:

1. Las pacientes con SOP presentan alteraciones en el metabolismo hidrocarbonado, adipocitario y en los marcadores de inflamación crónica que suponen un aumento del riesgo cardiovascular en relación a los controles.
2. Las pacientes con SOP y obesidad presentan un perfil lipídico aterogénico y mayor tendencia a la hipertensión que incrementan el riesgo cardiovascular con respecto a las no obesas.
3. Para el cálculo del riesgo cardiovascular se ha creado un modelo predictivo de alta fiabilidad y seguridad en el que sólo son necesarias tres variables: índice de Ferriman Gallwey modificado, PCRus y adiponectina.
4. El índice de Ferriman Gallwey modificado y la PCRus incrementan el riesgo cardiovascular en pacientes con SOP.
5. Niveles de adiponectina superiores a 3,3 µg/ml disminuyen la probabilidad de riesgo cardiovascular.

8.- Bibliografía

1. Azziz R, Woods K, Reyna R, Key T, Knochenhauer E, Yildiz B. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2745 - 9.
2. Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med.* 2010;8:41.
3. Yen S. The polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol.* 1980;12:177-207.
4. Legro R. Polycystic ovary syndrome. Phenotype to genotype. *Endocrinol Metab Clin of North Am.* 1999;28:379 - 96.
5. Orio FJ, Palomba S, Cascella T, Di Biase S, Manguso F, Tauchmanová L, et al. The increase of leukocytes as a new putative marker of low-grade chronic inflammation and early cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:2 -5.
6. Samy N, Hashim M, Sayed M, Said M. Clinical significance of inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: their relationship to insulin resistance and body mass index. *Dis Markers.* 2009;26:163 - 70.
7. Stein I, Leventhal M. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol.* 1935;29:181 - 91.
8. Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2004;19:41 - 7.
9. Asunción M, Calvo R, San Millán J, Sancho J, Ávila S, Escobar-Morreale H. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected caucasian women from Spain. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2434 - 48.
10. March W, Moore V, Willson K, Phillips D, Norman R, Davies M. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod.* 2010;25:544 – 51.
11. Carmina E, Koyama T, Chang L, Stancky FZ, Lobo R. Does ethnicity influence the prevalence of adrenal hyperandrogenism and insulin resistance in polycystic ovary syndrome? *Am J Obstet Gynecol.* 1992;167:1807 - 12.

12. Hague W, Honour J, Adams J, Vecsei P, Jacobs H. Steroid responses to ACTH in women with polycystic ovaries. *Clin Endocrinol*. 1989;30:355 – 65.
13. Elting M, Korsen T, Rekers-Mombarg L, Schoemaker J. Women with polycystic ovary syndrome gain regular menstrual cycles when ageing. *Hum Reprod*. 2000;15:24 - 8.
14. Vecchio F, Guarrera M, Rebora A. Perception of baldness and hair density. *Dermatology*. 2002;204:33 - 6.
15. Eden J. The polycystic ovary syndrome presenting as resistant acne successfully treated with cyproterone acetate. *Med J Aust*. 1991;155:677 - 80.
16. Hayashi N, Akamatsu H, Kawashima M, Group AS. Acne Study Group. Establishment of grading criteria for acne severity. *J Dermatol*. 2008;35:255 - 60.
17. Fauser B, Tarlatzis B, Rebar R, Legro R, Balen A, Lobo R, et al. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril*. 2012;97:28 - 38.
18. Ferriman D, Gallwey J. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1961;21:1440-7.
19. Lunde O, Magnus P, Sandvik L, Høglø S. Familial clustering in the polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Obstet Invest*. 1989;28:23 - 30.
20. Kashar-Miller M, Azziz R. Heritability and the risk of developing androgen excess. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1999;69:261 - 8.
21. Cooper H, Spellacy W, Prem K, Cohen W. Hereditary factors in the Stein-Leventhal syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1968;100:371 - 87.
22. Govind A, Obhrai M, Clayton R. Polycystic ovaries are inherited as an autosomal dominant trait: analysis of 29 polycystic ovary syndrome and 10 control families. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:38 - 43.
23. Cooper R. Gene-environment interactions and the etiology of common complex disease. *Ann Intern Med*. 2003;139:437 - 40.
24. Escobar-Morreale H, Luque-Ramírez M, San Millán J. The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev*. 2005;26:251 - 82.

25. Wateworth D, Bennett S, Gharani N, McCarthy M, Hague S, Batty S, et al. Linkage and association of insulin gene VNTR regulatory polymorphism with polycystic ovary syndrome. *Lancet*. 1997;349:986 - 90.
26. Ibañez L, Potau N, Ferrer A, Rodriguez-Hierro F, Marcos M, De Zegher F. Anovulation in eumenorrheic, nonobese adolescent girls born small for gestational age: insulin sensitization induces ovulation, increases lean body mass, and reduces abdominal fat excess, dyslipidemia, and subclinical hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:5702 – 5.
27. Waterland R. Is epigenetics an important link between early life events and adult disease? *Horm Res*. 2009;71(Suppl 1):13 - 6.
28. Li Z, Huang H. Epigenetic abnormality: a possible mechanism underlying the fetal origin of polycystic ovary syndrome. *Med Hypotheses*. 2008;70:638 - 42.
29. Eagleson C, Gingrich M, Pastor C, Arora T, Burt C, Evans W, et al. Polycystic ovarian syndrome: evidence that flutamide restores sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:4047 - 52.
30. Anttila L, Ding Y-Q, Ruutiainen K, Erkkola, R, Irjala K, Huhtaniemi I. Clinical features and circulating gonadotropin, insulin and androgen interactions in women with polycystic ovarian disease. *Fertil Steril*. 1991;55:1057-61.
31. Skorupskaitė K, George J, Anderson R. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Hum Reprod Update*. 2014;20:485 - 500.
32. Waldstreicher J, Santoro N, Hall J, Filicori M, Crowley WJ. Hyperfunction of the hypothalamic-pituitary axis in women with polycystic ovarian disease: indirect evidence for partial gonadotroph desensitization. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988;66:165 - 72.
33. Dalkin A, Haisenleder D, Ortolano G, Ellis T, Marshall J. The frequency of gonadotropin-releasing-hormone stimulation differentially regulates gonadotropin subunit messenger ribonucleic acid expression. *Endocrinology*. 1989;125:917 - 24.
34. Lockwood G. The role of inhibin in polycystic ovary syndrome. *Hum Fertil (Camb)*. 2000;3:86 - 92.

35. Welt C, Taylor A, Martin K, Hall J. Serum inhibin B in polycystic ovary syndrome: regulation by insulin and luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:5559 - 65.
36. Edwards A, Hammond H, Jin L, Caskey C, Chakraborty R. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics* 1992 Feb;12(2):241-53. 1992;12:241 - 53.
37. Chamberlain N, Driver E, Miesfeld R. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res.* 1994;22:3181 - 6.
38. Ibáñez L, Ong K, Mongan N, Jääskeläinen J, Marcos M, Hughes I, et al. Androgen receptor gene CAG repeat polymorphism in the development of ovarian hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:3333 - 8.
39. Calvo R, Asunción M, Sancho J, San Millán J, Escobar-Morreale H. The role of the CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene and of skewed X-chromosome inactivation, in the pathogenesis of hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1735 - 40.
40. Hogeveen K, Cousin P, Pugeat M, Dewailly D, Soudan B, Hammond G. Human sex hormone-binding globulin variants associated with hyperandrogenism and ovarian dysfunction. *J Clin Invest.* 2002;109:973 - 81.
41. Instituto Nacional de Estadística. Notas de prensa. Defunciones según la causa de muerte. Año 2008. <http://www.inec.es/prensa/np588pdf>. 2010.
42. Chen M, Yang W, Yang J, Chen C, Ho H, Yang Y. Relationship between androgen levels and blood pressure in young women with polycystic ovary syndrome. *Hypertension.* 2007;49:1442 - 7.
43. Holte J, Gennarelli G, Berne C, Bergh T, Lithell H. Elevated ambulatory day-time blood pressure in women with polycystic ovary syndrome: a sign of a pre-hypertensive state? *Hum Reprod.* 1996;11:23 - 8.
44. Lind L, Andersson P, Andrén B, Hänni A, Lithell H. Left ventricular hypertrophy in hypertension is associated with the insulin resistance metabolic syndrome. *J Hypertens.* 1995;13:433 - 8.

45. Martins WP, Soares G, Vieira C, dos Reis R, de Sa M, Ferriani R. Resistencia a insulina em mulheres com síndrome dos ovários policísticos modifica fatores de risco cardiovascular. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2009;31:111 - 6.
46. Agarwal N, Rice S, Bolusani H, Luzio S, Dunseath G, Ludgate M, et al. Metformin reduces arterial stiffness and improves endothelial function in young women with polycystic ovary syndrome: a randomized, placebo-controlled, crossover trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:722 - 30.
47. Lim S, Davies M, Norman R, LJ M. Overweight, obesity and central obesity in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2012;18:618 - 37.
48. Laitinen J, Taponen S, Martikainen H, Pouta A, Millwood I, Hartikainen A, et al. Body size from birth to adulthood as a predictor of self-reported polycystic ovary syndrome symptoms. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27:710 – 5.
49. Tousignant B, Faraj M, Conus F, Garrel D, Brochu M, Rabasa-Lhoret R, et al. Body fat distribution modulates insulin sensitivity in post-menopausal overweight and obese women: a MONET study. *Int J Obes.* 2008;32:1626 - 32.
50. Poretsky L, Cataldo N, Rosenwaks Z, Giudice L. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocr Rev.* 1999;20:535 – 82.
51. Stewart C, Rotwein P. Growth, differentiation, and survival: multiple physiological functions for insulin-like growth factors. *Physiol Rev.* 1996;76:1005 - 26.
52. Nestler J, Jakubowicz D, de Vargas A, Brik C, Quintero N, Medina F. Insulin stimulates testosterone biosynthesis by human thecal cells from women with polycystic ovary syndrome by activating its own receptor and using inositolglycan mediators as the signal transduction system. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:2001 - 5.
53. Dunaif A, Segal K, Shelley D, Green G, Dobrjansky A, Licholai T. Evidence for distinctive and intrinsic defects in insulin action in polycystic ovary syndrome. *Diabetes.* 1992;41:1257 - 66.
54. Preziosi P, Barrett-Connor E, Papoz L, Roger M, Saint-Paul M, Nahoul K, et al. Interrelation between plasma sex hormone-binding globulin and plasma insulin in healthy adult women: the telecom study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76:283 - 7.

55. Pasquali R, Casimirri F. The impact of obesity on hyperandrogenism and polycystic ovary syndrome in premenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1993;39:1 - 16.
56. Rosenfield R. Ovarian and adrenal function in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol Metab North Am*. 1999;28:265 - 93.
57. Kiddy D, Sharp P, White D, et al. Differences in clinical and endocrine features between obese and non-obese subjects with polycystic ovary syndrome: an analysis of 263 consecutive cases. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1990;32:213-20.
58. Holte J, Bergh T, Gennarelli G, Wide L. The independent effects of polycystic ovary syndrome and obesity on serum concentrations of gonadotrophins and sex steroids in premenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994;41:473 - 81.
59. Morales A, Laughlin G, Bützow T, Maheshwari H, Baumann G, Yen S. Insulin, somatotrophic, and luteinizing hormone axes in lean and obese women with polycystic ovary syndrome: common and distinct features. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:2854 - 64.
60. Pasquali R, Cantobelli S, Casimirri F, Bortoluzzi L, Boschi S, Capelli M, et al. The role of the opioid peptides in the development of hyperinsulinemia in obese women with abdominal body fat distribution. *Metabolism*. 1992;41:763 - 7.
61. Pasquali R, Cantobelli S, Casimirri F, et al. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in obese women with different patterns of body fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77:341 - 6.
62. Pasquali R, Antenucci D, Melhionda N, Fabri R, Venturoli S, Patrono D, et al. Sex hormones in obese premenopausal women and their relationships to body fat mass and distribution, β cell function and diet composition. *J Endocrinol Invest*. 1987;10:345.
63. Rodin A, Thakkar H, Taylor N, Clayton R. Hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. Evidence of dysregulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *N Engl J Med*. 1994;330:460 - 5.
64. Björntorp P. The regulation of adipose tissue distribution in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1996;20:291 - 302.
65. Wild R, Rizzo M, Clifton S, Carmina E. Lipid levels in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2011;95:1073 - 9.

66. Conway G, Agrawal R, Betteridge D, Jacobs H. Risk factors for coronary artery disease in lean and obese women with the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992;37:119 - 25.
67. Recabarren S, Smith R, Rios R, Maliqueo M, Echiburu B, Codner E. et al. Metabolic profile in sons of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:1820 - 6.
68. Sam S, Legro R, Essah P, Apridonidze T, Dunaif A. Evidence for metabolic and reproductive phenotypes in mothers of women with polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:7030 - 5.
69. Lee H, Oh J, Sung Y, Chung H, Cho W. The prevalence and risk factors for glucose intolerance in young Korean women with polycystic ovary syndrome. *Endocrine*. 2009;36:326 - 32.
70. McMillan-Price J, Petocz P, Atkinson F, O'Neill K, Samman S, Steinbeck K, et al. Comparison of 4 diets of varying glycemic load on weight loss and cardiovascular risk reduction in overweight and obese young adults: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med*. 2006;166:1466 - 75.
71. Oh J, Lee J, Lee H, Oh J, Sung Y, Chung H. Serum C-reactive protein levels in normal-weight polycystic ovary syndrome. *Korean J Intern Med*. 2009;24:350 - 5.
72. Möhlig M, Spranger J, Osterhoff M, Ristow M, Pfeiffer A, Schill T, et al. The polycystic ovary syndrome per se is not associated with increased chronic inflammation. *Eur J Endocrinol*. 2004;150:525 - 32.
73. Lemieux I, Pascot A, Prud'homme D, Alméras N, Bogaty P, Nadeau A, et al. Elevated C-reactive protein: another component of the atherothrombotic profile of abdominal obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:961 - 7.
74. Azziz R, Ehrmann D, Legro R, Whitcomb R, Hanley R, Fereshetian A, et al. PCOS/Troglitazone Study Group. Troglitazone improves ovulation and hirsutism in the polycystic ovary syndrome: a multicenter, double blind, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:1626 - 32.
75. Haffner S, Greenberg A, Weston W, Chen H, Williams K, Freed M. Effect of Rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation*. 2002;106:679 - 84.

76. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA*. 1998;279:1477 - 82.
77. Fried S, Bunkin D, Greenberg A. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:847 - 50.
78. Hotamisligil G, Murray D, Choy L, Spiegelman B. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91:4854 - 8.
79. Prins J. Adipose tissue as an endocrine organ. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2002;16:639 - 51.
80. Hotamisligil G, Shargill N, Spiegelman B. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993;259:87 - 91.
81. Garg A. Regional adiposity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4206 - 10.
82. Trujillo M, Scherer P. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endocr Rev*. 2006;27:762 - 78.
83. Ryden M, Jocken J, van Harmelen V, Dicker A, Hoffstedt J, Wahren M. et al. Comparative studies of the role of hormone-sensitive lipase and adipose triglyceride lipase in human fat cell lipolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;292:E1847 - 55.
84. Ehrmann D, Barnes R, Rosenfield R, Cavaghan M, Imperial J. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care*. 1999;22:141 - 6.
85. Kershaw E, Flier J. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2548 - 56.
86. Carmina E, Campagna A, Lobo R. Emergence of ovulatory cycles with aging in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) alters the trajectory of cardiovascular and metabolic risk factors. *Hum Reprod*. 2013;28:2245 - 52.
87. Boudreaux M, Talbott E, Kip K, Brooks M, Witchel S. Risk of T2DM and impaired fasting glucose among PCOS subjects: results of an 8-year follow-up. *Curr Diab Rep*. 2006;6:77 - 83.
88. Achard C, Thiers J. Le virilisme pileux et son association à l'insuffisance glycolytique. *Bull Acad Natl Med (Paris)*. 1921;86:51 - 5.

89. Burghen C, Givens J, Kitabchi A. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980;50:113 - 6.
90. Mannerås-Holm L, Leonhardt H, Kullberg J, Jennische E, Odén A, Holm G, et al. Adipose tissue has aberrant morphology and function in PCOS: enlarged adipocytes and low serum adiponectin, but not circulating sex steroids, are strongly associated with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:E304 -11.
91. Davoren J, Kasson B, Li Cea. Specific insulin-like growth factor (IGF) I and -II binding sites on rat granulosa cells: relation to IGF action. *Endocrinology.* 1986;119:2155 - 62.
92. Nagamani M, Hannigan E, Dinh T, Stuart C. Hyperinsulinemia and stromal luteinization of the ovaries in postmenopausal women with endometrial cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;67:144 - 8.
93. Reaven G. The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2004;33:283 - 303.
94. Pasquali R, Fabbri R, Venturoli S, Paradisi R, Antenucci D, Melchionda N. Effect of weight loss and antiandrogenic therapy on sex hormone blood levels and insulin resistance in obese patients with polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol.* 1986;154:139 - 44.
95. Dunaif A, Green G, Futterweit W, Dobrjansky A. Suppression of hyperandrogenism does not improve peripheral or hepatic insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70:699-704.
96. Pratipanawatr W, Pratipanawatr T, Cusi K, Berria R, Adams J, Jenkinson C, et al. Skeletal muscle insulinresistance in normoglycemic subjects with a strong family history of type 2 diabetes is associated with decreased insulin-stimulated insulin receptor substrate-1 tyrosine phosphorylation. *Diabetes.* 2001;50:2572 - 8.
97. Luque-Ramirez M, Alvarez-Blasco F, Botella-Carretero J, Martinez-Bermejo E, Lasuncion M, Escobar-Morreale H. 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.* 2007;92:2453 - 61.

98. Banaszewska B, Pawelczyk L, Spaczynski R, Duleba A. Effects of simvastatin and metformin on polycystic ovary syndrome after six months of treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:3493.
99. Steppan C, Bailey S, Bhat S, Brown E, Banerjee R, Wright C, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature.* 2001;409:307 - 12.
100. Remsberg K, Talbott E, Zborowski J, Evans R, McHugh-Pemu K. Evidence for competing effects of body mass, hyperinsulinemia, insulin resistance, and androgens on leptin levels among lean, overweight, and obese women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2002;78:479 – 86.
101. Escobar-Morreale H, Villuendas G, Botella-Carretero J, Alvarez-Blasco F, Sanchon R, Luque-Ramirez M, et al. Adiponectin and resistin in PCOS: a clinical, biochemical and molecular genetic study. *Hum Reprod.* 2006;21:2257 - 65.
102. Legro R. Obesity and PCOS: Implications for Diagnosis and Treatment. *Semin Reprod Med.* 2012;30:496 - 506.
103. Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura N, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem (Tokyo).* 1996;120:803 - 12.
104. Guerre-Millo M. Adiponectin: an update. *Diabetes Metab.* 2008;34:12 - 8.
105. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S. et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003;423:762 - 9.
106. Kubota M, Yamasaki Y, Sekiya M, et al. Portal insulin delivery is superior to peripheral delivery in handling of portally delivered glucose. *Metabolism.* 1996;45:150-4.
107. Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Kobayashi M, Takazawa T, Iwabu M. et al. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med.* 2007;13:332 - 9.
108. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2006;116:1784 - 92.
109. Gavrilu A, Peng C, Chan J, Mietus J, Goldberger A, Mantzoros C. Diurnal and ultradian dynamics of serum adiponectin in healthy men: comparison with leptin,

circulating soluble leptin receptor, and cortisol patterns. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:2838 - 43.

110. Bottner A, Kratzsch J, Muller G, Kapellen T, Bluher S, Keller E. et al. Gender differences of adiponectin levels develop during the progression of puberty and are related to serum androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:4053 - 61.

111. Page S, Herbst K, Amory J, Coviello A, Anawalt B, Matsumoto A. et al. Testosterone administration suppresses adiponectin levels in men. *J Androl.* 26:85 - 92.

112. Campos D. The “beneficial” adipokines in reproduction and fertility. *Int J Obes (Lond).* 2008;32:223 - 31.

113. Carmina E, Bucchieri S, Mansueto P, Rini G, Ferin M, Lobo R. Circulating levels of adipose products and differences in fat distribution in the ovulatory and anovulatory phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2009;91:1332 - 5.

114. Svendsen P, Christiansen M, Hedley P, Nilas L, Pedersen S, Madsbad S. Adipose expression of adipocytokines in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2012;98:235 - 41.

115. Smith-Kirwin S, O’Connor D, De Johnston J, Lancey E, Hassink S, Funanage V. Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:1810 - 3.

116. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med.* 1997;3:1029 - 33.

117. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau J, Bortoluzzi M. et al. The stomach is a source of leptin. *Nature.* 1998;394:790 - 3.

118. Mantzoros C. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. *Ann Intern Med.* 1999;130:671 - 80.

119. Sahu A. Minireview: a hypothalamic role in energy balance with special emphasis on leptin. *Endocrinology.* 2004;145:2613 - 20.

120. Licinio J, Negrao A, Mantzoros C, Kaklamani V, Wong M, Bongiorno P. et al. Synchronicity of frequently sampled, 24-h concentrations of circulating leptin, luteinizing hormone, and estradiol in healthy women. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:2541 - 6.

121. Laughlin G, Yen S. Hypoleptinemia in women athletes: absence of a diurnal rhythm with amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:318 - 21.
122. Iuorno M, Islam L, Veldhuis P, Boyd D, Farhy L, Johnson M. et al. Leptin secretory burst mass correlates with body mass index and insulin in normal women but not in women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism.* 2007;56:1561 - 5.
123. Sinha M, Opentanova I, Ohannesian J, Kolaczynski J, Heiman M, Hale J. et al. Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest.* 1996;98:1277 - 82.
124. Tartaglia L. The leptin receptor. *J Biol Chem.* 1997;272:6093 - 6.
125. Lee M, Wang Y, Ricci M, Sullivan S, Russell C, Fried S. Acute and chronic regulation of leptin synthesis, storage, and secretion by insulin and dexamethasone in human adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292:E858 - 64.
126. Papathanassoglou E, El-Haschimi K, Li X, Matarese G, Strom T, Mantzoros C. Leptin receptor expression and signaling in lymphocytes: kinetics during lymphocyte activation, role in lymphocyte survival, and response to high fat diet in mice. *J Immunol.* 2006;176:7745 - 52.
127. Tartaglia L, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R. et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell.* 1995;83:1263 - 71.
128. Seufert J, Kieffer T, Habener J. Leptin inhibits insulin gene transcription and reverses hyperinsulinemia in leptin-deficient ob/ob mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96:674 - 9.
129. Geithovell F, Jochmann N, Widjaja A, Horn R, Brabant G. Serum pattern of circulating free leptin, bound leptin, and soluble leptin receptor in the physiological menstrual cycle. *Fertil Steril.* 2004;81:398 - 402.
130. Quinton N, Laird S, Okon M, Li T, Smith R, Ross R. et al. Serum leptin levels during the menstrual cycle of healthy fertile women. *Br J Biomed Sci.* 1999;56:16 - 9.
131. Cervero A, Horcajadas J, Mart J, Pellicer A, Simon C. The leptin system during human endometrial receptivity and preimplantation development. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2442 - 51.

132. Huang H, Wang B, Yang X, Luo Q, Sheng J. Nitric oxide mediates inhibitory effect of leptin on insulin-like growth factor I augmentation of 17beta-estradiol production in human granulosa cells. *Biol Reprod.* 2005;72:102 - 6.
133. Kim K, Lee K, Moon Y, Sul H. A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem.* 2001;276:11252 - 6.
134. Yannakoulia M, Yiannakouris N, Bluher S, Matalas A, Klimis-Zacas D, Mantzoros C. Body fat mass and macronutrient intake in relation to circulating soluble leptin receptor, free leptin index, adiponectin, and resistin concentrations in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:1730 - 6.
135. Tilg H, Moschen A. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol.* 2006;6:772 - 83.
136. Caja S, Puerta M. Control by reproduction-related hormones of resistin expression and plasma concentration. *Horm Metab Res.* 2007;39:501 - 6.
137. Chen Y, Lee M, Chang H, Hung P, Kao Y. 17 beta-estradiol stimulates resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes via the estrogen receptor, extracellularly regulated kinase, and CCAAT/enhancer binding protein-alpha pathways. *Endocrinology.* 2006;147:4496 - 504.
138. Seow K, Juan C, Hsu Y, Ho L, Wang Y, Hwang J. Serum and follicular resistin levels in women with polycystic ovarian syndrome during IVF-stimulated cycles. *Hum Reprod.* 2005;20:117 - 21.
139. Munir I, Yen H, Baruth T, Tarkowski R, Azziz R, Magoffin D. et al. Resistin stimulation of 17alpha-hydroxylase activity in ovarian theca cells in vitro: relevance to polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:4852 - 7.
140. Seow K, Juan C, Ho L, Hsu Y, Lin Y, Huang L. et al. Adipocyte resistin mRNA levels are down-regulated by laparoscopic ovarian electrocautery in both obese and lean women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2007;22:1100 - 6.
141. Carswell E, Old L, Kassel R, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1975;72:3666 - 70.
142. Diamanti-Kandarakis E. Role of obesity and adiposity in polycystic ovary syndrome. *Int J Obes (Lond).* 2007;31(Suppl 2):S8 - 13.

143. Vrbíková J, Cífková R, Jirkovská A, Lánská V, Platilová H, Zamrazil V, et al. Cardiovascular risk factors in young Czech females with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2003;18:980 - 4.
144. Orbetzova M, Shigarminova R, Genchev G, Milcheva B, Lozanov L, Genov N, et al. Role of 24-hour monitoring in assessing blood pressure changes in polycystic ovary syndrome. *Folia Med (Plovdiv).* 2003;45:21 - 5.
145. Cibula D, Cífková R, Fanta M, Poledne R, Zivny J, Skibová J. 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.* 2000;15:785 - 9.
146. Zimmermann S, Phillips R, Dunaif A, Finegood D, Wilkenfeld C, Ardeljan M, et al. Polycystic ovary syndrome: lack of hypertension despite profound insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;75:508 - 13.
147. Sampson M, Kong C, Patel A, Unwin R, Jacobs H. Ambulatory blood pressure profiles and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) activity in lean women with and without the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1996;45:623 - 9.
148. Escobar-Morreale H, Luque-Ramírez M, González F. Circulating inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: a systematic review and metaanalysis. *Fertil Steril.* 2011;95:1048 - 58.
149. Moran L, Misso M, Wild R, Norman R. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2010;16:347 - 63.
150. Orio FJ, Palomba S, Spinelli L, Cascella T, Tauchmanová L, Zullo F, et al. The cardiovascular risk of young women with polycystic ovary syndrome: an observational, analytical, prospective case-control study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:3696- 601.
151. Corbould A. Insulin resistance in skeletal muscle and adipose tissue in polycystic ovary syndrome: are the molecular mechanisms distinct from type 2 diabetes? *Panminerva Med.* 2008;50:279 - 94.
152. Chae S, Kim J, Choi Y, Hwang K, Jee B, Ku S, et al. Clinical and biochemical characteristics of polycystic ovary syndrome in Korean women. *Hum Reprod.* 2008;23:1924 - 31.

153. Panidis D, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Rousso D, Koliakos G. Serum adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2003;18:1790 - 6.
154. Seow K, Juan C, Wu L, Hsu Y, Yang W, Tsai Y, et al. Serum and adipocyte resistin in polycystic ovary syndrome with insulin resistance. *Hum Reprod.* 2004;19:48 - 53.
155. Panidis D, Koliakos G, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Rousso D. Serum resistin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2004;81:361 - 6.
156. Brannian J, Hansen K. Leptin and ovarian folliculogenesis: implications for ovulation induction and ART outcomes. *Semin Reprod Med.* 2002;20:103 - 12.
157. Pehlivanov B, Mitkov M. Serum leptin levels correlate with clinical and biochemical indices of insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2009;14:153 - 9.
158. Yildizhan R, Ilhan G, Yildizhan B, Kulusari A, Adali E, Bugdayci G. Serum retinol-binding protein 4, leptin, and plasma asymmetric dimethylarginine levels in obese and nonobese young women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2011;96:246 - 50.
159. Sprung V, Atkinson G, Cuthbertson D, Pugh C, Aziz N, Cable N, et al. Endothelial function measured using flow-mediated dilation in polycystic ovary syndrome: a meta-analysis of the observational studies. *Clin Endocrinol.* 2012;78:438 - 46.
160. Bajuk Studen K, Jensterle Sever M, Pfeifer M. Cardiovascular risk and subclinical cardiovascular disease in polycystic ovary syndrome. *Front Horm Res.* 2013;40:64 - 82.
161. Pearson T, Mensah G, Alexander R, Anderson J, Cannon Rr, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation.* 28:499 - 511.
162. Barber T, McCarthy M, Franks S, Wass J. Metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome. *Endokrynol Pol.* 2007;58:34 - 41.
163. Toulis K, Goulis D, Farmakiotis D, Georgopoulos N, Katsikis I, Tarlatzis B, et al. Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and a meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2009;15:297 - 307.

164. Mirza S, Shafique K, Shaikh A, Khan N, Anwar Qureshi M. Association between circulating adiponectin levels and polycystic ovarian syndrome. *J Ovarian Res* 2014;7:7-18.
165. Majuri A, Santaniemi M, Rautio K, Kunnari A, Vartiainen J, Ruokonen A, et al. Rosiglitazone treatment increases plasma levels of adiponectin and decreases levels of resistin in overweight women with PCOS: a randomized placebo-controlled study. *Eur J Endocrinol*. 2007;156:263 - 9.
166. Glintborg D, Frystyk J, Højlund K, Andersen K, Henriksen J, Hermann A, et al. Total and high molecular weight (HMW) adiponectin levels and measures of glucose and lipid metabolism following pioglitazone treatment in a randomized placebo-controlled study in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;68:165 - 74.
167. Nathan L, Chaudhuri G. Estrogens and atherosclerosis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1997;37:477 - 515.
168. Shaw L, Bairey Merz C, Azziz R, Stanczyk F, Sopko G, Braunstein G, et al. Postmenopausal women with a history of irregular menses and elevated androgen measurements at high risk for worsening cardiovascular event-free survival: results from the National Institutes of Health--National Heart, Lung, and Blood Institute sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:1276 - 84.
169. Pirwany I, Fleming R, Greer I, Packard C, Sattar N. Lipids and lipoprotein subfractions in women with PCOS: relationship to metabolic and endocrine parameters. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;54:447 - 53.
170. Macut D, Simic T, Lissounov A, Pljesa-Ercegovac M, Bozic I, Djukic T, et al. Insulin resistance in non-obese women with polycystic ovary syndrome: relation to byproducts of oxidative stress. *Exp Clin Endocrinol Diab*. 2011;119:451 - 5.
171. Braunstein G. Safety of testosterone treatment in postmenopausal women. *Fertil Steril*. 2007;88:1 - 17.
172. Elraiyah T, Sonbol M, Wang Z, Khairalseed T, Asi N, Undavalli C, et al. Clinical review: The benefits and harms of systemic testosterone therapy in postmenopausal women with normal adrenal function: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:3543 - 50.

173. DeLong E, DM D, Clarke-Pearson D. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics*. 1988;44:837 - 45.
174. Arikan S, Bahceci M, Tuzcu A, Kale E, Gökalp D. Serum resistin and adiponectin levels in young non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2010;26:161 - 6.
175. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale H, Futterweit W, et al. Androgen Excess Society. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:4237 - 45.
176. Carvajal R, Herrera C, Porcile A. Espectro fenotípico del Síndrome de Ovario Poliquístico. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2010;75:124 - 32.
177. Franks S. Controversy in clinical endocrinology: diagnosis of polycystic ovarian syndrome: in defense of the Rotterdam criteria. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:786 - 9.
178. Banegas JR, Villar F, Graciani A, Rodríguez-Artalejo F. Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares en España. *Rev Esp Cardiol Supl*. 2006;6(G):3-12.
179. Team 2010 y sus aplicaciones Rcmdr y RcmdrPlugin.EZR-Y Kanda, Investigation of the free and available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplantation* (2013) 48, 452–458. (<http://www.r-project.org>).

