



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"  
HOSPITAL DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA No. 3  
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD**

**NUMERO DE REGISTRO R-2012-3504-16**

**TESIS DE POSGRADO**

**RESISTENCIA A LA INSULINA EN PACIENTES INFERTILES CON  
ANOVULACION CRONICA.**

**PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN  
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA**

**PRESENTA:**

**DR. CRISTOREY CARRILLO MARTINEZ**

**ASESOR: DR. VICTOR SAUL VITAL REYES**

**MEXICO, DF. 2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**“ RESISTENCIA A LA INSULINA EN PACIENTES INFERTILES CON  
ANOVULACION CRONICA.”**

**PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN  
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA**

**PRESENTA: DR. CRISTOREY CARRILLO MARTINEZ**

**AUTORIZACIONES:**

---

**DR. JUAN CARLOS HINOJOSA CRUZ**  
**DIRECTOR DE EDUCACION E INVESTIGACION EN SALUD**

---

**DRA. MARIA GUADALUPE VELOZ MARTINEZ.**  
**JEFE DE DIVISION DE EDUCACION EN SALUD**

---

**DR. VICTOR SAUL VITAL REYES**  
**ASESOR DE TESIS**

---

**DR. CRISTOREY CARRILLO MARTINEZ**  
**MEDICO RESIDENTE DE SEGUNDO AÑO ESPECIALIDAD BIOLOGIA DE LA  
REPRODUCCION HUMANA**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Agradezco a Dios por darme la oportunidad de lograr una meta más en mi vida.**

**Agradezco a mi familia por su paciencia y apoyo incondicional en transcurso de la especialidad en especial a mi hija Leslie Angeliq por ser mi inspiración en cada uno de mis metas.**

**Agradezco a todos los médicos del UMAE la Raza, del servicio de Biología de la Reproducción por su enseñanza en el trayecto de la especialidad.**

**Agradezco al personal de Nutrición e investigación del siglo XXI IMSS, Dra. Mardia López, Dra. Azucena Mtz. Y resto del personal por su apoyo en esta investigación.**

## INDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>3</b>
<b>MARCO TEORICO .....</b>	<b>5</b>
<b>JUSTIFICACION .....</b>	<b>9</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>10</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>11</b>
<b>MATERIAL Y METODOS .....</b>	<b>12</b>
<b>VARIABLES DE ESTUDIO .....</b>	<b>14</b>
<b>PROCEDIMIENTO .....</b>	<b>16</b>
<b>ANALISIS ESTADISTICO .....</b>	<b>18</b>
<b>ASPECTOS ETICOS .....</b>	<b>19</b>
<b>RECURSOS HUMANOS Y FINANCIEROS .....</b>	<b>19</b>
<b>CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES .....</b>	<b>20</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>21</b>
<b>DISCUSION .....</b>	<b>23</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>25</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>26</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>30</b>

## RESUMEN

Resistencia a la insulina en pacientes infértiles con anovulación crónica.

**Antecedentes:** El síndrome de ovario poliquístico (SOP) se considera la anormalidad metabólica más común en mujeres jóvenes. Afecta del 6 al 10% de mujeres en edad reproductiva y es la causa más común de infertilidad femenina ya que representa aproximadamente del 50 al 60% de los casos. Su presencia incrementa el riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular y diabetes. Cuando se han excluido otras causas como hiperplasia suprarrenal e hiperprolactinemia, sus principales características son la anovulación crónica y el hiperandrogenismo. La Resistencia a la insulina (RI) se ha observado consistentemente asociada con el SOP, pero no se incluye como criterio diagnóstico principalmente porque no se puede identificar en todos los casos. Existen varios métodos diagnósticos para valorar la RI en la clínica por su facilidad y disponibilidad, como la relación glucosa/insulina y el índice HOMA, pero estos métodos son muy poco precisos. El estándar de oro para evaluar la sensibilidad a la insulina es la técnica del Clamp Hiperinsulinémico-euglicémico (CHE), pero es un método invasivo y complejo por lo que se utiliza solamente para investigación.

**Objetivo:** Determinar la frecuencia de RI utilizando el CHE, en un grupo de pacientes con anovulación crónica e infertilidad.

**Material Y Métodos:** Se realizó un estudio clínico, transversal, observacional y descriptivo en pacientes que acudieron al Departamento de Biología de la Reproducción en el Hospital de Gineco-Obstetricia #3 de CMN "La Raza". Se seleccionaron 21 mujeres de 18-38 años con diagnóstico de anovulación crónica e infertilidad, que acudieron a la pre-consulta entre el 1° de abril al 30 octubre del 2012 a las cuales se les realizó el CHE). Para el análisis estadístico se calculó la proporción de pacientes con RI.

**Resultados.** Se estudiaron 21 pacientes que llenaron los criterios de inclusión. La edad de las pacientes fue de  $29.5 \pm 4.8$  años, e IMC de  $27.2 \pm 3.08$ . De acuerdo a los criterios de Rotterdam para SOP el 85.7% cumplió los tres criterios y 14.3% cumplió 2 criterios. Se encontró resistencia a la insulina por la técnica de Clamp en el 90.4% y con la relación glucosa/insulina en el 33.3%, con la utilización de la fórmula de HOMA en el 66.6% y con la insulina basal en el 47.6%.

**Conclusiones.** La RI en pacientes infértiles con SOP utilizando el estándar de oro es mucho mayor que lo reportado en la literatura. Lo que sugiere que las alteraciones metabólicas en el ovario poliquístico deberían de tomarse en cuenta dentro de los criterios de clasificación de SOP.

## **ABSTRACT.**

Insulin resistance in chronic anovulatory infertile patients.

**Background:** Polycystic ovary syndrome (PCOS) is considered the most common metabolic abnormality in young women. It affects 6 to 10% of women of reproductive age and is the most common cause of female infertility accounting for about 50 to 60% of cases. Their presence increases the risk for developing cardiovascular disease and diabetes. When other causes have been excluded as adrenal hyperplasia and hyperprolactinemia, its main features are chronic anovulation and hyperandrogenism. The insulin resistance RI has been observed consistently associated with PCOS, but is not included as a diagnostic criterion mainly because you can identify in all cases. Several diagnostic methods to assess insulin resistance in the clinic for their ease and availability, as the glucose / insulin and HOMA index, but these methods are not very accurate. The gold standard for assessing insulin sensitivity is the hyperinsulinemic clamp technique-euglycemic (CHE), but it is an invasive and complex so it is used only for research.

**Objective:** To determine the frequency of RI using the CHE, in a group of patients with chronic anovulation and infertility.

**Methods:** We performed a clinical trial, observational, and descriptive in patients attending the Department of Reproductive Biology in Obstetrics and Gynecology Hospital # 3 of CMN "La Raza". We selected 21 women of 18-38 years diagnosed with chronic anovulation and infertility, who attended the pre-consultation between 1 and 30 April 2012 in which they performed the (CHE). For statistical analysis, we calculated the proportion of patients with RI.

**Results.** We studied 21 patients who met the inclusion criteria age of patients was  $29.5 \pm 4.8$  years, and BMI of  $27.2 + 3.08$ . According to the Rotterdam criteria for PCOS 85.7% met all three criteria and 14.3% met two criteria. It was found by insulin resistance clamp technique in the 90.4% and the glucose / insulin 33.3% with the use of HOMA formula and 66.6% in the basal insulin 47.6%.

**Conclusions.** The RI in infertile PCOS patients using the gold standard is much higher than reported in the literature. Suggesting that the metabolic disturbances in polycystic ovary should be taken into account in the classification criteria of SOP.

## MARCO TEORICO

La descripción inicial Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) por Irving F. Stein y Michael L. Leventhal en 1935<sup>1</sup>. El síndrome de ovario poliquístico (SOP) se considera la anormalidad metabólica más común en mujeres jóvenes. Afecta del 6 al 10% de mujeres en edad reproductiva y es la causa más común de infertilidad femenina ya que representa aproximadamente del 50 al 60% de los casos, y su presencia incrementa el riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular y diabetes.

En la mujer adulta el SOP se caracteriza por la asociación de Hiperandrogenismo e hiperinsulinismo y anovulación crónica. Se considera que la secreción excesiva de andrógenos ováricos es estimulada por insulina y factores relacionados como IGF-1<sup>2</sup>. El diagnóstico se basa en criterios clínicos que inicialmente fueron considerados por consenso para el diagnóstico de SOP: 1) Hiperandrogenismo (acné, hirsutismo, alopecia), o hiperandrogenemia, 2) Oligoanovulación, 3) otros trastornos conocidos y posiblemente 4) Ovarios Poliquísticos al ultrasonido<sup>3</sup>. Posteriormente se modificaron los criterios así: 1) Oligoanovulación o Anovulación, 2) Hiperandrogenismo clínico o bioquímico donde hiperandrogenemia refiere aumento de andrógenos circulantes como testosterona total o libre y se encuentra en 60-80 % de las pacientes y la T libre es el andrógeno que más frecuente está aumentado, aproximadamente 50-60% con SOP, 3) Ovarios Poliquísticos; se propuso que se debe descartar otras etiologías y se requiere por lo menos dos de los tres criterios mencionados<sup>4-5</sup>.

Los Ovarios Poliquísticos por ultrasonido se presentan en el 55%. La definición actual del OP considera 12 o más folículos de 2-9 mm de diámetro, ya que se ha demostrado que esta combinación es la que tiene mayor sensibilidad y especificidad y/o un volumen mayor a 10 cc. Recientemente se ha demostrado que en el SOP se encuentran elevados algunos marcadores de inflamación crónica, como la Proteína C. Reactiva (PCR), la interleucina-6 (IL-6) y el recuento leucocitario<sup>6</sup>.

**Componente neuroendocrino/anovulación.** El componente fisiopatológico neuroendocrino en pacientes con anovulación e infertilidad parece consistir en un incremento en la frecuencia de pulsos de secreción de la hormona liberadora de

gonadotropinas (GnRh). Lo cual genera una mayor liberación de LH pero no de FSH, en una proporción mayor de dos<sup>7</sup>. Sin embargo, la disociación basal LH/FSH no siempre puede demostrar en una sola muestra de suero, ya que solo se ha encontrado en 20-40% de las pacientes con SOP<sup>8</sup>. La LH estimula en las células de teca una mayor producción de andrógenos y testosterona. Se ha propuesto que el hiperandrogenismo dentro del ovario puede promover el desarrollo folicular temprano llevando exceso de folículos pequeños (2-5mm) y el consiguiente número excesivo de folículos puede inhibir el proceso de selección de un folículo dominante<sup>9</sup>.

También se ha encontrado la resistencia a la insulina en 50-70% de las mujeres con síndrome de ovario poliquístico, dependiendo de la sensibilidad del método de detección utilizado<sup>10-11</sup>. La resistencia a la insulina se presenta en mujeres con síndrome de ovario poliquístico tanto con peso adecuado, como con sobrepeso u obesidad<sup>12</sup>. Existen varios métodos para determinar la RI como el índice glucosa (mg/dl)/ insulina (un/ml) en el cual un valor menor de 4.5 se considera como indicativo de resistencia a la insulina<sup>13</sup>. Sin embargo, su sensibilidad es baja, detectando resistencia a la insulina en aproximadamente 50% de las pacientes con SOP<sup>14</sup>. Otros métodos diagnósticos utilizados con frecuencia son el HOMA (por sus siglas en inglés Homeostasis Model Assessment) propuesto por el Dr. Mathews y colaboradores en 1985<sup>15</sup>. Este índice se deriva de la interacción entre la función celular B y la sensibilidad a la insulina, en un modelo matemático donde se utilizan las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno. El modelo funciona con la siguiente formula.  $HOMA-IR = (FPI \times FPG) / 22.5$  donde (FPI= insulina plasmática en ayuno (uu/ml y FPG= glucosa plasmática en ayuno (mmol/l) utiliza como puntos de corte para considerar resistencia a la insulina  $>3.5$ <sup>16</sup>. Existen alteraciones en la interacción de la insulina y su receptor en diversos tejidos, como una disminución en la autofosforilación de tirosina en el receptor de insulina, así como incremento de la fosforilación en serina, pero no se han encontrado en todas la pacientes con SOP<sup>17</sup>. Se ha observado que la insulina estimula en forma sinérgica con la LH la producción de andrógenos por las células de la teca y la hiperinsulinemia condiciona mayor producción de andrógenos en mujeres con hiperandrogenismo<sup>18</sup>.

## **Resistencia a la insulina.**

La sensibilidad a la insulina se define como la eficacia de la insulina para reducir la glucemia, al promover: 1) captación de glucosa por las células de músculo y del tejido adiposo, 2) la producción hepática de glucógeno y 3) la reducción en la producción hepática de glucosa<sup>19</sup>. En cambio, la RI se define como una respuesta biológica atenuada a la acción de la insulina, sin importar su concentración. Un defecto en el transporte/fosforilación de glucosa estimulado por la insulina en el músculo estriado es el principal factor responsable de la resistencia a la insulina a nivel muscular y representa un evento temprano en el desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2. En la resistencia a la insulina el músculo estriado la síntesis de glucógeno también se encontrará disminuida, como consecuencia de la pobre translocación de GLUT 4. De igual forma en el tejido adiposo la recaptura de glucosa se verá disminuida y esto obedece a los mismos mecanismos que en el tejido muscular, es decir translocación de GLUT 4 e inhibición de PI 3-K<sup>20</sup>.

La resistencia a la insulina se caracteriza por 1) la disminución de la captura de glucosa, 2) la disminución en la síntesis hepática de glucógeno y 3) el aumento en la producción hepática de glucosa. En la mayoría de los casos esto resulta de una mayor producción de insulina para mantener la euglucemia situación que se conoce como hiperinsulinismo compensatorio<sup>21</sup>. El hiperinsulinismo compensatorio representa un fallo en la secreción de insulina<sup>22</sup>.

La resistencia a la insulina se ha observado consistentemente asociada con el síndrome de ovario poliquístico, pero no se incluye en los criterios diagnósticos<sup>23</sup>. Sin embargo, la mayor prevalencia de RI, de intolerancia a los carbohidratos, de DM2 y de dislipidemia y factores de riesgo cardiovascular, ha dado lugar a que este síndrome se considere un complejo desajuste metabólico, con repercusiones significativas en salud pública<sup>24</sup>.

## **Técnica Clamp**

La Técnica del Clamp es el estándar de oro para el diagnóstico de resistencia a la insulina y fue propuesta por el Dr. Ralph A. de Fronzo y colaboradores en 1979<sup>25</sup>. Se trata de una técnica muy compleja e invasiva, que prácticamente no tiene aplicación clínica<sup>26</sup>. Sin embargo como nos permite conocer tanto la sensibilidad tisular a la insulina (hepática y muscular) como la respuesta de la célula B a la glucosa, es frecuentemente utilizado en investigación. Existen 2 variantes: el Clamp hiperinsulémico que nos permite cuantificar la utilización global de glucosa bajo un estímulo de hiperinsulinemia y el Clamp hiperglucémico, que nos permite medir la respuesta pancreática a la glucosa bajo condiciones de hiperglucemia. El Clamp Hiperinsulinémico-Euglicémico se basa en el siguiente concepto: bajo niveles constantes de hiperinsulinemia, la cantidad de glucosa captada por los tejidos insulino-dependientes será proporcional a la tasa de infusión de glucosa exógena necesaria para mantener constante la concentración de glucosa circulante. La meta del Clamp es aumentar la concentración de insulina en  $100\mu\text{u/ml}$  sobre el valor basal y mantener constante la concentración de glucosa en sangre en  $90\text{mg/dl}$  mediante ajustes periódicos en una infusión de glucosa. Para analizar los resultados de un Clamp se emplean las mediciones obtenidas durante el periodo de estabilidad para calcular 2 valores: el valor M que es una medida de tolerancia a la glucosa y está dado por la tasa de infusión de glucosa administrada durante este periodo ( $\text{mg/kg/min}$ ) y 2) el valor de ISI (por sus siglas en inglés Insulin sensitivity index) también llamado relación M/I. Este último es un reflejo de la cantidad de glucosa metabolizada (M) por unidad de insulina plasmática (i) y representa un índice de sensibilidad tisular a la insulina ( $\text{mg/kg-min por } \mu\text{u/ml}$ )<sup>25</sup>.

## **JUSTIFICACION:**

La anovulación crónica asociada al SOP es una alteración que afecta entre el 6-10% de las mujeres en edad fértil y es causante del 40-60% de infertilidad, siendo la causa endocrina más común de infertilidad.

Se ha reportado una prevalencia de 40-50% de RI en mujeres con anovulación crónica asociada al SOP. Sin embargo, los métodos para detectarla en la clínica (relación insulina/glucosa y el HOMA o insulina basal), tienen una baja precisión para determinarla por lo que es probable que la frecuencia de RI y con esto las alteraciones metabólicas en el ovario en estas pacientes sean mayores. Es importante determinar la frecuencia de RI estas pacientes y observar si pudiera considerarse un criterio más de SOP.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

La identificación de RI, en pacientes anovulatorias es de la mayor trascendencia porque su presencia y la alteración metabólica-endocrina ovárica puede estar en mayor porcentaje. Existen algunos métodos diagnósticos para valorar la RI que son utilizados en la práctica médica común en pacientes con anovulación crónica e infertilidad, como la relación glucosa/insulina y el índice HOMA o insulina basal, pero son métodos poco precisos, lo que limita su confiabilidad. Por esta razón, la frecuencia reportada de RI en este tipo de pacientes no está bien determinada.

En este estudio se propuso determinar la frecuencia de RI utilizando la técnica de Clamp en pacientes con anovulación e infertilidad.

Pregunta:

¿Cuál es la frecuencia de la Resistencia a la Insulina en pacientes infértiles con anovulación crónica asociada al SOP determinada el estándar de oro como la técnica de Clamp?

## **OBJETIVO GENERAL:**

Determinar la frecuencia de RI con técnica del Clamp en pacientes con diagnóstico de anovulación crónica e infertilidad relacionado con síndrome de ovario poliquístico.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

1. Determinar la prevalencia de RI en pacientes con anovulación crónica e infertilidad mediante la técnica de Clamp Hiperinsulinemico-Euglicémico.
2. Comparar la incidencia de RI con técnica de Clamp Hiperinsulinemico-Euglicémico, comparado con el HOMA y relación Glucosa e Insulina.

## MATERIAL Y METODOS:

**Diseño:** Estudio clínico, transversal, observacional y descriptivo.

**Población:** Mujeres con diagnóstico de anovulación crónica e infertilidad que sean derechohabientes del IMSS y que sean valoradas en el servicio del servicio de Biología de la Reproducción del IMSS del Centro Médico Nacional la Raza # 3 en México Distrito Federal en el periodo comprendido del 1 de abril del 2012 al 30 de octubre del 2012.

### Tamaño de la muestra:

Se utilizó la fórmula para calcular la proporción de una población tomando en cuenta el intervalo de confianza: <sup>27</sup>

$\pi$  = Proporción de la población.

$$\pi = .95$$

$$Z\alpha = 1.96$$

Intervalo de confianza que se espera = 0.10

$E^2$  = Intervalo de confianza

$$n = \frac{Z\alpha^2 \pi (1 - \pi)}{E^2}$$

$$n = \frac{1.96^2 (0.95) (0.05)}{(0.10)^2}$$

$$n = \frac{(3.84) (0.0475)}{0.01} = \frac{0.1824}{0.01} = 18.24$$

n = 18 pacientes

Se agregaron 3 pacientes más (calculando 10% de perdidas), teniendo un tamaño de la muestra final de 21 pacientes.

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN:**

### **Inclusión:**

Mujeres de 18-38 años de edad con diagnóstico de anovulación crónica e infertilidad, con Índice de Masa Corporal  $>18.5 \text{ kg/m}^2$ .

### **Exclusión:**

1. Diagnóstico previo de Diabetes Mellitus.
2. Consumo de Hipoglucemiantes orales.
3. Consumo de medicamentos que alteren el metabolismo de la glucosa (esteroides).
4. Diagnóstico previo de cualquier enfermedad que altere el metabolismo de la glucosa.
5. Anovulación crónica por otra causa endocrina (hiperprolactinemia, tumor).

### **Eliminación:**

1. Hipoglucemia sintomática en cualquier momento de la prueba.
2. Estudio incompleto (Clamp).

## DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

### VARIABLES UNIVERSALES.

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	ESCALA DE MEDICION	DEFINICION OPERATIVA	UNIDAD DE MEDICIÓN
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.	Cuantitativa	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	Años
Peso	Volumen de un cuerpo expresado en kilos	Cuantitativa De razón	Peso corporal de un individuo	Kg.
Talla	Medida de la estatura del cuerpo humano desde los pies hasta el techo de la bóveda del cráneo.	Cuantitativa De razón	Estatura de un individuo	M.
Índice de masa corporal (IMC)	Es una medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo	Cuantitativa	Método práctico de relación del peso de un individuo con la altura para evaluar el grado de riesgo asociado al sobrepeso u obesidad.	Kg/m <sup>2</sup> .
Índice de cintura cadera	Índice que se obtiene al medir perímetro de la cintura a nivel de última costilla flotante y el perímetro de la cadera nivel de los glúteos	Cuantitativa	Relación que resulta de dividir el perímetro de la cintura de una persona por el perímetro de su cadera.	Cm

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	ESCALA DE MEDICION	DEFINICION OPERATIVA	UNIDAD DE MEDICIÓN
Anovulación	Disfunción ovárica capaz de alterar la producción madurez y liberación de óvulos, caracterizado clínicamente por Oligomenorrea y/ o amenorrea y bioquímicamente con disminución de progesterona en fase lútea.	Nominal	Presencia de ciclos menstruales de > 35 días. Ausencia de menstruación > 90 días. Disminución progesterona <5 ng/ml	No = 0 Si = 1
Hiperandrogenismo	Clínico=hirsutismo, acné, alopecia. Bioquímico=incremento andrógenos	Nominal	Manifestaciones clínicas de hirsutismo, acné alopecia evaluado con Ferriman con punto de corte > 8.	No = 0 Si = 1
Ovario Poliquístico	Determinado por ultrasonido por presencia de múltiples folículos e incremento de tamaño del volumen ovárico	Cuantitativa	Imagen ultrasonográfica de 12 o más quistes de 2-8 mm uno o ambos ovarios y volumen ovárico mayor de 10mm <sup>3</sup> .	Número mm.
Resistencia a la Insulina	Es una respuesta biológica atenuada a la acción de la insulina, sin importar su concentración.	Cuantitativa De Razón	Disminución de la respuesta Biológica celular a la actividad de la insulina.	Modo M/I del Clamp= <6. Mg/kg-min X μU/ml
Relación Glucosa / Insulina	Relación matemática utilizada para determinar RI si el resultado es por debajo de un puntos de corte.	Nominal	Resultado de la división entre glucosa (mg/dl) e insulina en ayuno. Punto de Cohorte <4.5	No = 0 Si = 1
HOMA	Homeostasis Model Assessment, modelo matemático que deriva de la interacción entre la función celular B y la sensibilidad a la insulina.	Nominal	Método utilizado para diagnosticar RI. Que utiliza concentración de insulina y glucosa en ayuno. Punto de Cohorte >3.5	No = 0 Si = 1

## **PROCEDIMIENTOS:**

Se acudió diariamente al servicio de Biología de la Reproducción a partir de las 14:00 de lunes a viernes y se seleccionó a las pacientes que cumplieron con los criterios de selección; una vez seleccionadas se le invitó a participar. A las que aceptaron participar se les pidió que firmaran la carta de consentimiento informado y se les dio una cita para la elaboración del clamp.

El día de la cita se inició la técnica de Clamp como sigue: Se presentaron a las 08:00 después de 12 hrs de ayuno (debiendo tomar una cena ligera entre 9 y 10 PM). Se les colocó un catéter intravenoso a la altura de la muñeca para extraer muestras de sangre cada 5 minutos (1 ml) para determinar glucosa, y cada 30 minutos (6 ml) para determinar insulina, hasta completar 3 hrs. Un segundo catéter se colocó en el pliegue del codo para administrar una infusión de insulina y una infusión de glucosa al 20%. Durante el estudio la paciente permaneció acostada; al término del estudio se les ofreció un almuerzo hipercalórico y una vez estabilizada la glucosa se dio de alta.

## **TÉCNICA DE MEDICIÓN:**

Clamp Hiperinsulinémico-Euglicémico:

Se basa en el concepto de que bajo niveles constantes de hiperinsulinemia, la cantidad de glucosa captada por los tejidos insulino-dependientes será proporcional a la tasa de infusión de glucosa exógena necesaria para mantener constante la concentración de glucosa circulante. La meta del Clamp es aumentar la concentración de insulina en 100  $\mu$ u/ml sobre el valor basal y mantener constante la concentración de glucosa en sangre en 90 mg/dl mediante ajustes periódicos en una infusión de glucosa. Previo a la realización de esta técnica es necesario canalizar al paciente en dos vías; una vía antecubital y una vía distal. La vía distal, empleada para recolectar las muestras de sangre, se coloca en posición retrógrada a la altura de la muñeca y con la extremidad dentro de una caja de calentamiento, esto con el objetivo de arterializar la sangre venosa. La vía antecubital se utiliza para administrar una infusión constante de insulina y una infusión variable de glucosa. Una vez que el paciente ha sido canalizado y que se cuenta con tres determinaciones basales de glucosa se inicia la infusión de insulina. Durante los primeros

10 minutos se infunden dos bolos de insulina y posteriormente se mantiene la infusión en una tasa constante. La infusión de insulina se calcula en base a la superficie corporal del paciente, según lo propuesto por el Dr. DeFronzo ( $40\mu\text{u}/\text{m}^2\cdot\text{min}$ )<sup>25</sup>. Las determinaciones de glucosa se realizan a intervalos de 5 minutos durante el tiempo que dure el Clamp y la infusión de glucosa se ajusta en base a estas determinaciones para mantener la concentración de glucosa en un valor de  $-90\text{mg}/\text{dl}$ .

Para analizar los resultados se emplean las mediciones obtenidas durante el periodo de estabilidad para calcular 2 valores: el valor M que es una medida de tolerancia a la glucosa y está dado por la tasa de infusión de glucosa administrada durante este periodo ( $\text{mg}/\text{kg}/\text{min}$ ) y 2) el valor de YSI (por sus siglas en inglés Insulin Sensitivity Index) también llamado relación M/I. Este último es un reflejo de la cantidad de glucosa metabolizada (M) por unidad de insulina plasmática (i) y representa un índice de sensibilidad tisular a la insulina ( $\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{min}$  por  $\mu\text{u}/\text{ml}$ ).

Laboratorio: Se realizaron mediciones por duplicado y se colocaran muestras en microviales.

La glucosa se determinó por método colorimétrico en  $10\mu\text{L}$  de plasma (Spinereact, Sant Esteve de Bas, Spain). La insulina en  $400\mu\text{L}$  de suero por radioinmuno ensayo usando estuches comerciales (DiaSorin, s,r,l., Saluggia, Italy) .



Bomba de Infusión de Glucosa e Insulina



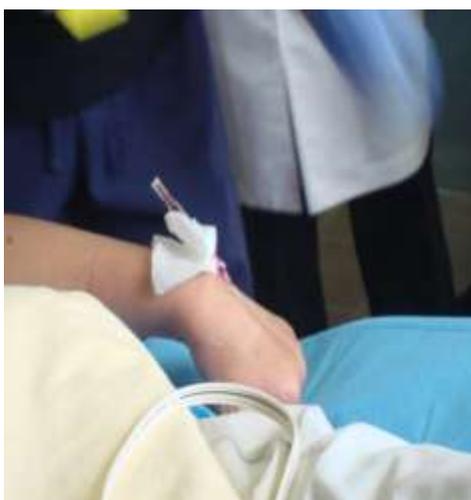
Centrifuga y aparato YSI para medición de glucosa



Calibración infusión glucosa e insulina Brazo derecho



Toma muestra C/5min brazo izquierdo.



Colocación catéter retrogrado.



### **Análisis estadístico.**

Para el análisis estadístico se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión (mediana y valores mínimo y máximo) para describir la distribución de las variables, así como frecuencias en porcentaje para definir la prevalencia.

## **CONSIDERACIONES ETICAS**

Todos los procedimientos estuvieron de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

Título segundo, Capítulo I, Artículo 17, Sección II, investigación con riesgo mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado.

## **RECURSOS HUMANOS**

Los recursos humanos estarán conformados de la siguiente manera:

Dr. Víctor Saúl Vital Reyes, Jefe del Departamento de Biología de la Reproducción del UMAE la Raza, quien asignara 2hr semana para revisión protocolo.

Dr. Cristorey Carrillo Martínez Residente 6 de Subespecialidad de Biología de la Reproducción quien asignara 8hr diarias de lunes a viernes, quien encargara captación de pacientes en la preconsulta de Biología de la Reproducción en UMAE La raza.

## **Recursos financieros**

Se requirieron material para elaboración de historia clínica, hojas consentimiento informado, y reactivos para la elaboración del Clamp (Pinza). Los cuales fueron financiados por los mismos investigadores.



## RESULTADOS.

Se estudiaron un total de 21 pacientes que fueron seleccionadas en el servicio de Biología de la Reproducción Humana del Centro Médico Nacional La Raza. En periodo comprendido del 1 de abril del 2012 al 30 de octubre del 2012. El rango de edad de las pacientes fue de 19 a 38 años, con un promedio de  $29.5 \pm 4.8$  años, en relación a la talla fueron rangos de 1.47 a 1.66 con un promedio de  $1.56 \pm 0.05$  en su mayoría de las pacientes presentaban infertilidad primaria 85.7% (18 pacientes) secundaria (3-14.3%) y el tiempo que presentaban de infertilidad en su mayoría fue de 7 años. El estado nutricional la mayoría presentaba sobrepeso con promedio de IMC de  $27.2 \pm 3.08$  en rangos desde IMC de 23-34, con una desviación estándar de 3.07. El índice cintura/ cadera mayor a 88cm fue en el 61.9% (13 pacientes) con obesidad predominio androide (Tabla. 1).

La caracterización del síndrome de ovario poliquístico fue utilizando los criterios de Rotterdam, y el 100% de las pacientes cumplieron tales criterios. De los cuales el 86.8% (18 de las pacientes) presentaban Oligoanovulación, hiperandrogenismo clínico y datos ultrasonográficos de poliquistosis, el 9.5% (2 pacientes) presentaron Oligoanovulación y hiperandrogenismo clínico y solo el 4.7% Oligoanovulación y datos Ultrasonográficos. Al realizar comparación con otros criterios propuestos para diagnóstico de SOP como instituto nacional de salud de los Estados Unidos (NIH) solo el 86.8% (18 pacientes) cumplieron y por los propuestos por la sociedad de exceso de andrógenos (AE-PCOS) solo 90.4% (19 pacientes) cumplieron criterios para su diagnóstico.

El androgenismo clínico fue determinado con una puntuación de Ferriman Gatwey mayor de 8, donde el 90.4 % (19 pacientes) lo presentaban, así como acné donde el 57.7% presentaban.

Los datos Ultrasonográficos de ovario poliquístico fue en 90.4% (19 pacientes) de los cuales 68.4% (13 pacientes) tenían patrón poliquístico y 36.6% (6 pacientes) presentaban un volumen mayor de 10cc y el 9.6% (2 pacientes) no cumplió criterio ultrasonográfico. La progesterona anovulatoria fue en promedio 0.83 anovulatorias en las 21 pacientes.

La resistencia a la Insulina (RI) fue detectada en el 33.3% (7 pacientes) utilizando la relación glucosa/insulina y en el 66.6% (14 pacientes) no fue detectada con esta fórmula. El porcentaje de pacientes con resistencia a la insulina fue mayor cuando se utilizó la fórmula de HOMA y se detectó la (RI) en el 66.6% (14 pacientes) y no fue detectada en el 33.3% (7 pacientes).

Este porcentaje fue aún mayor cuando se utilizó la técnica de Clamp Hiperinsulinemico-Euglicémico donde se detectó la RI en el 90.4% (19) con valor MI (índice de sensibilidad a la insulina) promedio de  $3.7 \pm 1.4$  y rangos de 1.5-6.8 y con un valor M (medida de tolerancia a la glucosa) promedio de  $4.18 \pm 1.2$  con rangos de 2.3 a 7.1 y solo en el 9.5% (2) no presentó resistencia a la insulina (Figura 1).

Se realizó una comparación de la RI presente en las pacientes con criterios para síndrome de ovario poliquístico por las diferentes asociaciones estando presente la RI en el 76.1% con técnica de Clamp cuando se caracterizó por criterios de NIH. En el 61.9% con HOMA y 33.3% cuando se utilizó relación glucosa/insulina. Cuando se caracterizó las pacientes con SOP con criterios de sociedad de exceso de andrógenos (AE-SOP) se presentó la RI en 85.7% con Clamp, en 61.9% con HOMA y en el 33.3% con la relación glucosa/insulina.

La insulina basal encontrada en las pacientes en promedio fue de  $22 \text{ U/ml} \pm 11.2$  con rangos desde 12 a 59 U/ml, en donde el 47.6% (10 pacientes) presentaba insulina basal mayor a 20 U/ml, que se tomó como Resistencia a la Insulina como lo marca la literatura, cuando se presentan cifras por arriba de este parámetro (Figura 2).

## DISCUSIÓN.

La Resistencia a la insulina se ha definido como una respuesta biológica atenuada a la acción de la insulina, sin importar su concentración. Se ha observado que existen alteraciones en la interacción de insulina y su receptor en diversos tejidos, caracterizados por una disminución en la autofosforilación de tirosina en el receptor de insulina, así como incremento en la fosforilación en serina<sup>20</sup>. Esta entidad se ha encontrado asociado en un porcentaje importante en pacientes con síndrome de ovario poliquístico en el 50-70%<sup>11</sup> dependiendo de la sensibilidad el método de detección utilizado y está presente en mujeres con peso adecuado, así como con sobrepeso u obesidad<sup>12</sup>. Siendo más común en pacientes con obesidad. Se ha observado que la insulina estimula en forma sinérgica con la LH la producción de andrógenos por las células de la teca y la hiperinsulinemia condiciona mayor producción de andrógenos en mujeres con hiperandrogenismo. Este hiperandrogenismo se ha propuesto que dentro del ovario puede promover el desarrollo folicular temprano, llevando a un exceso de folículos pequeños y el consiguiente número excesivo de folículos puede inhibir el proceso de selección de un folículo dominante ocasionando anovulación en estas pacientes<sup>9</sup>.

Esta investigación tuvo como propósito identificar la incidencia de resistencia de insulina con los diferentes métodos diagnósticos conocidos en la práctica común y compararlos con el método de Clamp que es el estándar de oro para determinar la resistencia a la insulina en pacientes con infertilidad y anovulación relacionada con el síndrome de ovario poliquístico. Se observó que la resistencia a la insulina que se presenta en estas pacientes con SOP es mayor que lo que refiere en la diversa literatura utilizando un método diagnóstico más sensible y específico como el método de Clamp Hiperinsulinémico Euglucémico. Además observamos y comparamos con otros métodos diagnósticos comunes utilizados para su detección como fueron relación glucosa/insulina y HOMA. La resistencia a la insulina se presentó en el (90.4%) de las pacientes, cuando utilizamos como método el Clamp Hiperinsulinemico-Euglicémico, que es el gold estándar para el diagnóstico en comparación con la literatura que reporta en frecuencia desde 50 al 70% como máximo. Sin embargo estos porcentajes reportados en la bibliografía son resultado de la detección que es realizada con métodos, como relación glucosa/insulina y

HOMA que no son tan precisos para la detección de RI. Coincidimos como se ha reportado en literatura que la resistencia a la insulina puede presentarse tanto en mujeres con sobrepeso como con obesidad o peso normal y que presente el síndrome de ovario poliquístico.

Encontramos que la resistencia a la insulina utilizando relación glucosa/insulina fue menor a la que se reporta en literatura para estas pacientes donde refiere presentarse desde el 40 al 50%, y en este estudio utilizando esta fórmula se encontró en el 33.3%. Sin embargo con la ecuación de Homeostasis Model Assessment (HOMA) los porcentajes fueron muy parecidos a los reportados en otros estudios que son del 50 al 70% para el diagnóstico de resistencia a la insulina y en este estudio se encontró en el 66.6% mediante esta técnica. Y con la determinación de la insulina basal, se detectó la resistencia a la insulina en el 47.6% presentándose para detectar la resistencia que la relación glucosa/insulina.

Se realizó determinación de la frecuencia de la resistencia a la insulina por diferentes fenotipos según la NIH Y AE-SOP y Rotterdam encontrando ser más común cuando se realiza en diagnóstico por los criterios de Rotterdam hasta el 90.4%, seguido por síndrome de exceso de andrógenos que se encontró en el 85.7% y por último con los de la NIH.

Con estos resultados determinamos en este estudio, que la resistencia a la insulina es más frecuente en estas pacientes con anovulación por síndrome de ovario poliquístico cuando se realiza por técnica de Clamp Hiperinsulinémico- euglicémico, en comparación por otros métodos, de práctica común donde un porcentaje de pacientes tiene esta alteración, pero no es detectada por métodos con insulina basal, HOMA o relación glucosa/insulina. Estos resultados son importantes, porque se puede dar un mejor pronóstico reproductivo y preventivo de enfermedades crónicas en estas pacientes y al otorgar medidas y tratamientos dirigidos en mejorar la resistencia a la insulina podrían tener mejor pronóstico y abriría una ventana para considerarlo un criterio más, del síndrome de ovario poliquístico.

## **CONCLUSIONES.**

1.- Se demostró en este estudio que la resistencia a la insulina calculada con técnica de Clamp Hiperinsulinémico euglicémico es más frecuente cuando se mide por esta técnica por lo que su incidencia es mayor a la referida en la literatura presentándose en este estudio en el 90.4%.

2.- Los otros métodos como relación glucosa/insulina son menos sensibles para la detección de resistencia a la insulina en estas pacientes con infertilidad y anovulación presentándose con una frecuencia a la mencionada a la literatura. Así como el cálculo por la fórmula de HOMA no son tan precisos para diagnosticar resistencia a la insulina en pacientes con anovulación relacionada con SOP.

3.- La detección de la resistencia a la insulina y el dar un tratamiento médico así como cambios en el estilo de vida y nutricional mejoraría el pronóstico de fertilidad así como prevendría la presencia de enfermedades crónico-degenerativas como Diabetes Mellitus, Patología Cardiovascular, Dislipidemia, que son patologías con alta morbi-mortalidad en nuestra población

4.- Podría considerarse en un futuro por los resultados obtenidos en este estudio que la resistencia a la insulina es una alteración muy frecuente que se presenta en pacientes con anovulación relacionado al síndrome de ovario poliquístico, como un criterio más para la caracterización del síndrome de ovario poliquístico, sin embargo hace falta más estudios con una mayor población para llegar a considerarlo.



Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS)

UMAE Hospital de Gineco-obstetricia No.3 C.M.N LA RAZA.  
Dr. Víctor Manuel Espinoza de los Reyes Sánchez.

**ANEXO 1. Carta de Consentimiento Informado para participar en el protocolos de investigación :**

**Resistencia a la insulina en pacientes infértiles con anovulación crónica**

México, D.F a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 2012. Número de registro. \_\_\_\_\_

Solicitamos su autorización para que usted \_\_\_\_\_

Participe en un proyecto de investigación cuyo objetivo es investigar la frecuencia de la función inadecuada de la insulina, hormona importante para la utilización de azúcar por la célula (conocido como resistencia a la insulina) en pacientes que no se pueden embarazar, por problema de quistes en ovarios. Esto es importante porque esta alteración se asocia con mayor dificultad para lograr el embarazo.

Si usted desea participar, se le medirán el peso, la talla, la circunferencia de cintura y se realizará una técnica conocida como Pinza; que es para determinar la resistencia a la insulina y que consiste en colocar un catéter intravenoso a la altura de la muñeca para extraer muestras de sangre, y otro catéter en el brazo opuesto para aplicarle insulina y glucosa. Durante este tiempo su mano deberá permanecer dentro de una caja de calentamiento con la finalidad de obtener mediciones más exactas. El estudio dura cuatro horas durante el cual se obtendrán 50-60 ml en total, lo cual no representa ningún riesgo para su salud. Una vez concluido el estudio usted deberá comer un almuerzo sustancioso para recuperar la glucosa en sangre.

Los riesgos que conlleva la técnica de la Pinza incluyen: dolor o equimosis (moretón) en el sitio donde se coloquen los catéteres. En ocasiones aisladas puede haber síntomas de hipoglucemia (disminución de la glucosa) sin embargo las determinaciones de glucosa que se hacen cada 5 minutos ayudan a mantener este riesgo al mínimo. Los resultados obtenidos de este estudio son confidenciales y su participación no tiene ningún costo. Además usted puede abandonar este estudio en el momento que lo decida sin que afecte la atención médica que recibe en su clínica. En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a: Dr. Víctor Saúl Vital Reyes y Dr. Cristorey Carrillo Martínez. Matricula; 99053313 teléfono: 57245900. Ext. 23719

Después de haber leído y comprendido este documento, es mi deseo participar en dicho protocolo de investigación.

No autorizo que se tome muestra de sangre.

Si autorizo tome muestra de sangre para el estudio.

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma del PACIENTE

\_\_\_\_\_  
Nombre Y Firma quien Obtiene Consentimiento.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del TESTIGO 1

\_\_\_\_\_  
Nombre Y Firma TESTIGO 2.



Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS)

UMAE Hospital de Gineco-obstetricia No.3 C.M.N LA RAZA.  
Dr. Víctor Manuel Espinoza de los Reyes Sánchez.  
México, D.F a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 2012.

## ANEXO 2. HOJA DE CAPTURA.

Nombre: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_ P: \_\_\_\_ T: \_\_\_\_ IMC \_\_\_\_ Cadera: \_\_\_\_ Cintura: \_\_\_\_ ICC: \_\_\_\_

Años Infertilidad \_\_\_\_ Primaria \_\_\_\_ Secundaria \_\_\_\_

Menarquía: \_\_\_\_ Ciclo menstrual \_\_\_\_ Oligoanovulación \_\_\_\_

Amenorrea \_\_\_\_

Ferriman: \_\_\_\_ acné: \_\_\_\_ Alopecia: \_\_\_\_

Acantosis Nigricans: \_\_\_\_\_

Insulina \_\_\_\_ Glucosa \_\_\_\_ Progesterona \_\_\_\_

Testosterona \_\_\_\_ FSH: \_\_\_\_ LH: \_\_\_\_

Ultrasonido:

Ovario Derecho Tamaño: \_\_\_\_\_ Volumen: \_\_\_\_\_

Numero folículos: \_\_\_\_\_ Localización: \_\_\_\_\_

Ovario Izquierdo Tamaño: \_\_\_\_\_ Volumen: \_\_\_\_\_

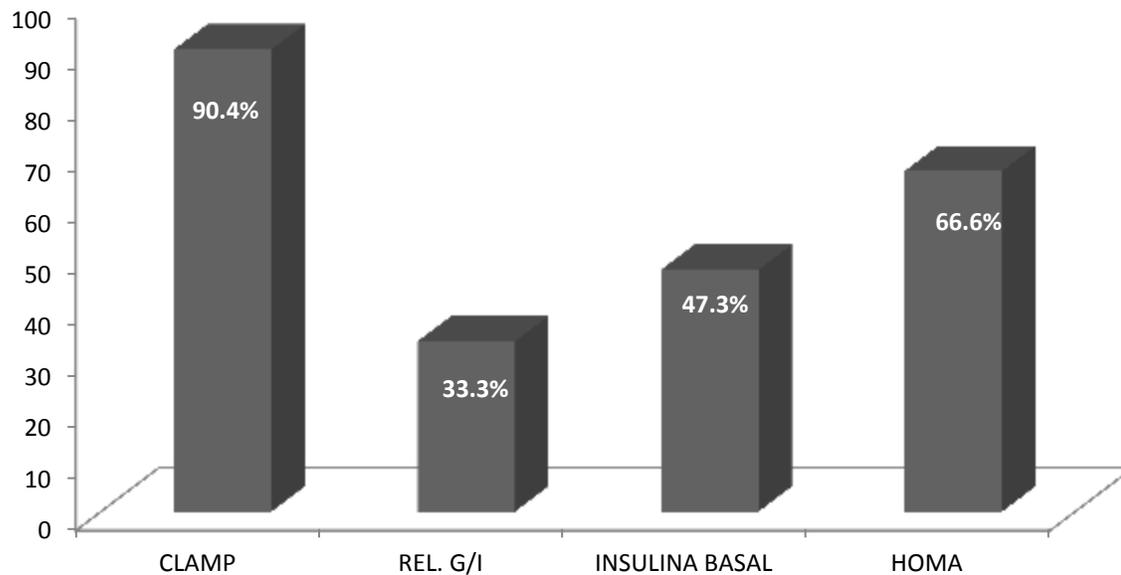
Numero folículos: \_\_\_\_\_ Localización: \_\_\_\_\_

**TABLA 1.**

CARACTERISTICAS DE PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE OVARIO POLIQUISTICO						
	EDAD	IMC	P 4	CICLOS	HIRSUTISMO	Us
Promedio	29.5	27.7	2.96	86.1	11.4	11
Rango	19-38	23-34	0.37-11.1	36-365	4-15	5-14
Desviación estándar	4.8	3.07	2.84	77.74	2.83	2.65

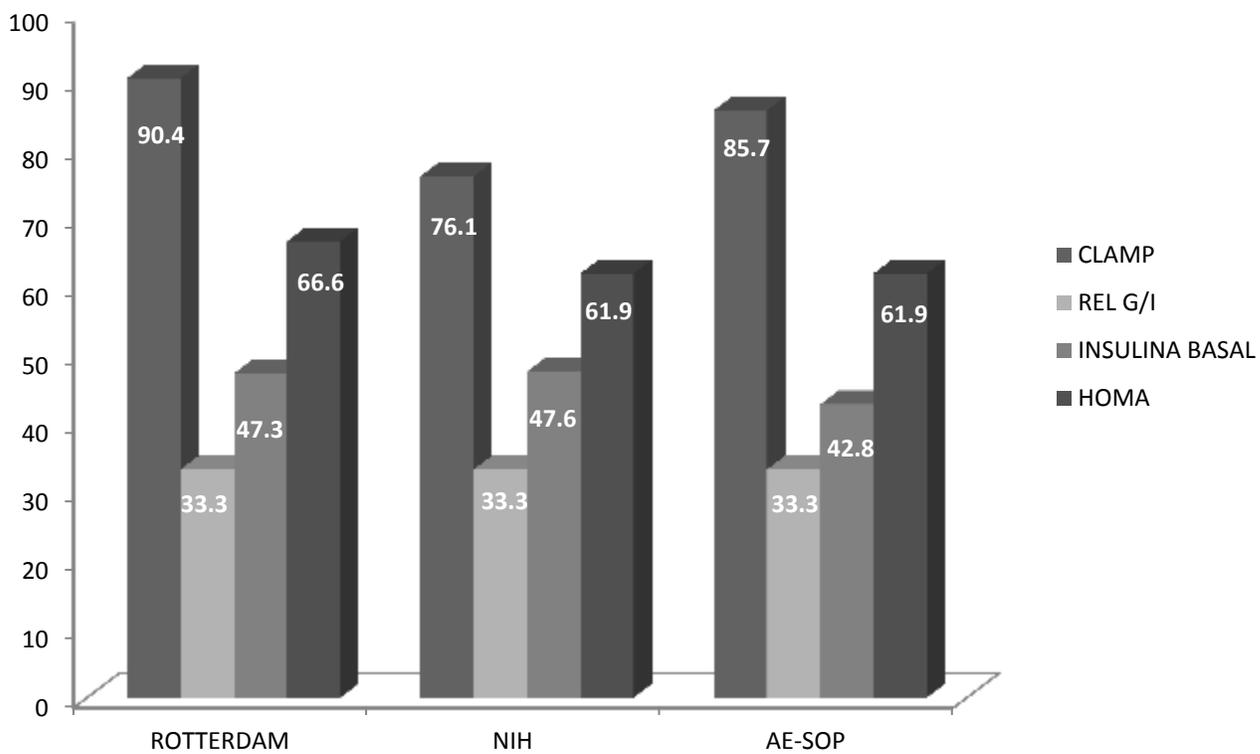
**Fig. 1**

**Porcentajes De La Resistencia a la Insulina por Diferentes Métodos Diagnósticas. Comparados con el Estándar de Oro (Clamp)**



**Figura 2.**

**Porcentajes de RI por Diferentes Métodos De Detección Correlacionados con los diferentes criterios diagnósticos propuestos NIH (Instituto Nacional de Salud), AE-SOP (Sociedad de Exceso de Andrógenos). Rotterdam e Insulina basal.**



## REFERENCIAS.

1. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries .  
Am J Obstet Gynecol. 1935;29:181-191.
2. Revista de Endocrinología y Nutrición 2006;14 (1):Enero-Marzo 2006 .13-19.  
Síndrome de ovario poliquístico en la adolescencia. Posición de la sociedad  
Mexicana de Nutrición y Endocrinología.
3. Zawadski Jk, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary síndrome :towards a  
rational approach . In Dunaif A. Givens JR. Haseltine FP. Merriam GR. Polycystic  
ovary syndrome. Blackwell Scientific Publications. Boston USA 1992 Ch.32.
4. The Rotterdam ESHRE / ASRM- Sponsored PCOS Consensus Workhop Group .  
Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to  
polycystic ovary syndrome Fertil steril 2004;81:19-25.
5. Azzis R,Sanchez LA,Knochenhauer ES,Moran C,Lazanby J. Androgen excess in  
women: experience with over 1,000 consecutive patiens. J.Clin Endocrinol Metab  
2004;89:453-462.
6. Sharpless JL. Polycystic ovary síndrome and metabolic síndrome Clinical Diabetes  
2003;21 154-161.
7. Yen SSC,Vela P, Rankin J. Inappropriate secretion of follicle stimulatiiing hormone  
and luteinizing hormone in polycystic ovarían disesease. J. Clin Endocrinol  
1970;30:435-442.
8. Moran C, Garcia –hernandez E, Barahona E, Gonzalez S, JA. Relationship between  
insulin resistence and gonadotropin dissociation in obese and nonobese women with  
polycystic ovary síndrome. Fertil steril 2003;80:1466-1472.
9. Jonard S, Dewally D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra-  
ovarian hiperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. Human  
reprod Update 2004;10:107-117.
10. Romaguera J.Moran C. Diaz-Montes TP, Hines GA, Cruz RI, Prevalence of 21-  
hydroxylase-deficient nonclassic adrenal hiperplasia and insulin resistance among  
hirsute women from Puerto Rico. Fertile Steril 2000;74:59-62.

11. Carmina E, Koyama T, Chang L. Does ethnicity influence the prevalence of adrenal hyperandrogenism and insulin resistance in polycystic ovary syndrome? *Am J Obstet gynecol* 1992 ;167;1807-1812.
12. Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL. Insulin Resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;57:356-359.
13. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 ;83;2694 -2698.
14. Moran C, Garcia-Hernandez E, J. Relationship between insulin resistance and gonadotropin dissociation in obese and nonobese women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003;80:1466-1472.
15. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Insulin Resistance and B cell Dysfunction From fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia*;28;412-419, 1985.
16. Abdul-Ghani MA, Matsuda M, Bogdan Balas, De Fronso RA. Muscle and liver Insulin Resistance indexes Obtained From the oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes Care* ;30;89-94, 2007.
17. Moran C, Huerta R, Conway-Myers BA, Hines GA Altered Autophosphorylation of the insulin receptor in the ovary of a woman with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2001;75 ;625-628.
18. Stuard CA, Prince MJ, Peter EJ, Meyer WJ Hyperinsulinemia and hyperandrogenemia; in vivo androgen response to insulin infusion. *Obstet Gynecol* 1987 ;69;921-925.
19. Katsutaro M, Petersen KF, Shulman IG. Molecular Mechanisms of insulin resistance in human and their potential links with mitochondrial dysfunction. *Diabetes*;55:509-515,2006.
20. Wilcox G. Insulin and insulin Resistance. *Clin Biochem Rev*; 26:19-35,2005.
21. Trout KK, Homko C, Takas NC. Methods of Measuring Insulin sensitivity. *Biol Res Nurs*;8;305-318, 2007.

22. Sinha R, Fisch G, Teague B, Tamborlane W, prevalence of Impaired Glucose Tolerance Among Children And Adolescents with marked obesity. *N Engl J Med*; 346:802-820, 2002.
23. Lane DE. Polycystic ovary syndrome and its differential diagnosis. *Obstet Gynecol Surv* 2006;61:125-135
24. Ehrmann DA. Polycystic Ovary Syndrome. *N. Engl J Med* ;352:1223-1236, 2005.
25. Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin Sensitivity Indices Obtained From Oral Glucose Tolerance Testing. *Diabetes care*. 22:1462-1470, 1999.
26. Dariush E. In Praise of the Hyperglycemic Clamp : A Method for Assessment of Beta –Cell sensitivity and insulin Resistance . *Diabetes Care*;19(3) 278-286, 1996.
27. An Introduction to Statistical Methods And data analysis. TR Lyman Ott. Fourth Edition.