



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y
NUTRICIÓN
“SALVADOR ZUBIRÁN”**

**“SIGNIFICADO CLÍNICO DE LAS CONCENTRACIONES
MAYORES O IGUALES DE 17 ALFA HIDROXIPROGESTERONA
EN PACIENTES CON SÍNDROME DE OVARIOS
POLIQUÍSTICOS”**

T E S I S

QUE PRESENTA

DRA. YURIRIA VALLE CARMONA

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD EN
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN
HUMANA**

ASESORES DE TESIS

DR. JULIO CÉSAR ROBERTO MAYORGA CAMARGO

MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS
MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVDOR ZUBIRAN”**

**“SIGNIFICADO CLÍNICO DE LAS CONCENTRACIONES MAYORES
O IGUALES DE 17 ALFA HIDROXIPROGESTERONA EN PACIENTES
CON SÍNDROME DE OVARIOS POLIQUÍSTICOS”**

ALUMNO:

Dra. Yuriria Valle Carmona

Residente de 2o. Año de Biología de la Reproducción Humana
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
“Salvador Zubirán”

TUTOR PRINCIPAL

Dr. Julio César Mayorga Camargo

Médico Especialista en Endocrinología
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
“Salvador Zubirán”

DR. SERGIO PONCE DE LEÓN ROSALES
JEFE DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
“SALVADOR ZUBIRÁN”

DR. FERNANDO LARREA GALLO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE BIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA
JEFE DE SERVICIO
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
“SALVADOR ZUBIRÁN”

TUTOR

DR. JULIO CESAR ROBERTO MAYORGA CAMARGO
MÉDICO ESPECIALISTA EN ENDOCRINOLOGÍA
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
“SALVADOR ZUBIRÁN”

ÍNDICE

	Pág.
MARCO TEÓRICO.....	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	15
HIPÓTESIS.....	15
JUSTIFICACIÓN.....	15
OBJETIVO GENERAL.....	15
MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
Diseño del estudio.....	16
Criterios de selección de las pacientes.....	16
Protocolo.....	16
Variables secundarias.....	20
Análisis estadístico.....	20
Definición de las variables.....	22
RESULTADOS.....	25
DISCUSIÓN.....	31
CONCLUSIONES.....	35
BIBLIOGRAFÍA.....	36

Datos del Autor	
Apellido Paterno:	Valle
Apellido Materno:	Carmona
Nombre:	Yuriria
Teléfono:	(55) 5635 04 06
Universidad:	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad:	Facultad de Medicina
Especialidad:	Biología de la Reproducción Humana
No. De Cuenta:	50822535
Datos del Asesor	
Apellido paterno:	Mayorga
Apellido Materno:	Camargo
Nombre:	Julio César Mayorga Camargo
Datos de la Tesis	
Título:	SIGNIFICADO CLÍNICO DE LAS CONCENTRACIONES MAYORES O IGUALES DE 17 ALFA HIDROXIPROGESTERONA EN PACIENTES CON SÍNDROME DE OVARIOS POLIQUÍSTICOS
No. de páginas:	34 p.
Año:	2013.

MARCO TEÓRICO

El síndrome de ovarios poliquísticos es una de las alteraciones endocrinológicas más comúnmente encontradas en mujeres en edad reproductiva. Es un problema de la práctica médica ya que representa una de las enfermedades endocrinológicas más frecuentes.

La primera descripción del síndrome fue realizada en la década de los 30's, por Stein y Leventhal, se caracterizaba por: amenorrea, hirsutismo, obesidad y poliquistosis ovárica.¹ A través de los años, con el desarrollo de novedosas herramientas diagnósticas de laboratorio, y de gabinete, específicamente el ultrasonido, permitieron incorporar criterios hormonales y características morfológicas de los ovarios a la descripción original del síndrome. A pesar de estos avances ha sido difícil establecer criterios precisos debido a la heterogeneidad de las características clínicas. Desde entonces, se han realizado tres consensos por organismos y expertos internacionales, con el objetivo de formular nuevos y mejores criterios diagnósticos del SOP.

El primer consenso, se realizó por los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de Norteamérica (NIH) en 1990, concluyeron que los criterios diagnósticos obligados en orden de importancia eran: 1) hiperandrogenismo (acné, hirsutismo, alopecia androgénica) o hiperandrogenemia, 2) disfunción ovulatoria caracterizada por alteraciones menstruales y 3) exclusión de causas secundarias.²

El segundo consenso, se realizó en Rotterdam en el 2003, el cual fue promovido por la Sociedad Europea de Embriología y Reproducción Humana junto con la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva, donde se estableció que para hacer el diagnóstico de SOP se debía tener al menos dos de los siguientes criterios: 1) disfunción ovulatoria, 2) hiperandrogenismo o hiperandrogenemia y 3) poliquistosis ovárica. También se consideró la exclusión de otras causas, tales como disfunción tiroidea, hiperprolactinemia, hiperplasia suprarrenal congénita por deficiencia de 21 hidroxilasa variedad no clásica (HSC-NC), neoplasias productoras de andrógenos, síndrome de Cushing y acromegalia.³

La diferencia entre estos dos criterios fue que en los propuestos por Rotterdam, se identificó a un mayor número de mujeres afectadas en comparación a los criterios más restrictivos propuestos por los NIH, 12% versus 3-7%, respectivamente. Al identificar más casos, generó un impacto en la estimación de la prevalencia de la enfermedad. El hecho de identificar más mujeres afectadas, pudo interpretarse como una estimación real de la prevalencia, o por el contrario sobreestimarla. El significado de este impacto sobre la prevalencia no ha sido aclarado hasta la fecha. Sin embargo, un organismo internacional no gubernamental denominado Sociedad de Andrógenos y Síndrome de Ovarios

Poliquísticos (AE-PCOS) en el 2003, propuso una revisión de cada uno de los criterios de los dos consensos previos con el objetivo de incluir en la definición de la enfermedad, solo aquellas características clínicas y bioquímicas en las que existiera evidencia sólida de su asociación con la entidad. Esta revisión concluyó que el diagnóstico es sindromático y que los criterios para establecerlo deben incluir: 1) hiperandrogenismo definido como hirsutismo y/o hiperandrogenemia y 2) disfunción ovárica definida como oligo-amenorrea y/o poliquistosis ovárica. Al igual que los dos consensos previos se confirma que la entidad tiene una expresión clínica variable y que el diagnóstico es de exclusión, y deberá buscarse intencionadamente, además de las entidades previamente mencionadas excluyendo la acromegalia, el uso o abuso de anabólicos o andrógenos y el síndrome de hiperandrogenismo resistencia a la insulina y acantosis nigricans (HAIR-AN). Sin embargo, el SOP se encontrará en el 95 % de los casos de las mujeres que tengan disfunción ovulatoria junto con hiperandrogenismo y/o hiperandrogenemia⁴.

Epidemiología

El SOP se considera una patología multifactorial en donde factores génicos, étnicos y ambientales juegan un papel importante para su desarrollo. Por tales motivos, la prevalencia varía de acuerdo a la región geográfica y al estilo de vida de las mujeres afectadas. Además de éstos existen otros factores relacionados al diseño de los estudios que pueden influir en la estimación de la prevalencia, tales como número y edad de pacientes estudiadas, heterogeneidad de los síntomas y signos en la inclusión de pacientes, distintos criterios diagnósticos empleados, entre otros. Todos estos factores pueden explicar la inconsistencia en la estimación de la prevalencia descrita por distintos grupos de investigadores en diversas poblaciones del mundo. (Tabla 1).

Tabla. 1 Prevalencia de Síndrome de Ovarios Poliquísticos, según diferentes autores					
Autor	Año	País	Población	Consenso	Prevalencia
<i>Diamanti-Kandarakis E.</i> ⁵	1999	GRECIA	Griegas (n=192)	NIH	6.70%
<i>Asuncion M.</i> ⁶	2000	ESPAÑA	Caucásicas (n=154)	NIH	6.50%
<i>Azzis R.</i> ⁷	2004	EUA	Raza: Negra (n=223) Blanca (n=166) Otras razas (n=11)	NIH	Total: 6.6% Negra 8.0% Blanca 4.8%
<i>Goodarzi M.</i> ¹²	2005				
<i>Kumarapeli V.</i> ⁸	2008	SRI LANKA	Sri Lanka (n=2,915)	Rotterdam	6.30%
<i>Moran C.</i> ⁹	2010	MEXICO	Mexicanas (n=150)	NIH	6.00%
<i>March WA.</i> ¹⁰	2010	AUSTRALIA	Australianas (n=728) 94% raza caucásica	NIH Rotterdam AE-PCOS	8.7 + 2.0* 11.9 + 2.4* 10.25 + 2.2*
<i>Gabrielli L.</i> ¹¹	2012	BRAZIL	Brasileñas (n=859) 90% raza negra	Rotterdam	8.50%

Diagnóstico diferencial con la deficiencia de 21-hidroxilasa variedad no clásica

Como se mencionó con anterioridad, el SOP es una entidad con heterogeneidad clínica en donde pueden agruparse diferentes fenotipos, por lo que comparte manifestaciones clínicas con las distintas enfermedades antes mencionadas. En el caso específico del hiperandrogenismo y la hiperandrogenemia, son elementos comunes que comparte con la deficiencia de 21-hidroxilasa variedad no clásica (HSC-NC), por lo que dificulta la diferenciación entre ambas entidades.

La deficiencia de 21-hidroxilasa no clásica (HSC-NC), es la forma más común de hiperplasia suprarrenal, la cual ocurre entre el 1 y 5% de las mujeres con hiperandrogenismo. Esta se origina por alteraciones en el gen que codifica a la enzima (*CYP21*), cuya función es catalizar la bio-transformación de 17α -hidroxiprogesterona (17α -OHP₄) a 11-desoxicortisol y de progesterona (P₄) a 11-desoxicorticosterona, lo cual produce una disminución en la síntesis de cortisol y/o aldosterona. En muchas ocasiones, el cuadro clínico puede ser indistinguible de aquellas pacientes que tienen SOP.

La herramienta diagnóstica para el escrutinio de esta entidad, consiste en la cuantificación de 17α -OHP₄ en suero en condiciones basales, idealmente en dos tomas separadas. El rendimiento de la prueba, considerando como punto de corte <2 ng/mL, excluye la enfermedad, con una especificidad y valor predictivo negativo (VPN) cercanos al 100%. Cuando la concentración es ≥ 2 ng/mL la sensibilidad es del 19% y el valor predictivo positivo (VPP) es cercano al 43%, por lo que la proporción de falsos positivos es muy alta. Por lo tanto, en esta situación, se requiere de otra herramienta para confirmar el diagnóstico. Esta, se realiza mediante la estimulación con 0.25 mg de hormona adrenocorticotrópica (ACTH)¹³. El rendimiento de la prueba, utilizando como punto de corte ≥ 10 ng/mL ha mostrado una sensibilidad del 100% y VPP del 83%. Una concentración <10 ng/mL tiene una especificidad y VPN del 100%¹⁴. Los datos anteriores muestran que la prueba de estimulación con ACTH es una herramienta valiosa en la confirmación o exclusión de la enfermedad. En el caso de confirmarse la enfermedad, idealmente deberá identificarse la mutación génica del *CYP21* mediante estudio molecular.

De acuerdo con lo descrito en la literatura, existe una proporción de entre el 6 y 25% de pacientes con diagnóstico de SOP que tienen concentraciones de 17α -OHP₄ ≥ 2 ng/mL en suero en condiciones basales en fase folicular temprana. En este grupo de mujeres, solo en el 20% se confirma el diagnóstico de deficiencia de 21-hidroxilasa variedad no clásica, después de la estimulación con ACTH. El 80% de las mujeres restantes, tienen concentraciones de 17α -OHP₄ ≥ 2 ng/mL en condiciones basales pero < 10 ng/mL después de la estimulación.¹³

Por citar un ejemplo, Pall M. y colaboradores, realizaron un estudio que incluyó a pacientes con SOP obesas, SOP delgadas, mujeres con HSC-NC y mujeres sanas. Se encontró que la proporción de pacientes en cada uno de los grupos con concentraciones basales de $17\alpha\text{-OHP}_4 \geq 2$ ng/mL fue del 20%, 25%, 87% y 7%, respectivamente¹⁵.

Origen del incremento en las concentraciones de $17\alpha\text{-OHP}_4$ en el SOP

La hiperandrogenemia en el SOP ha sido ampliamente estudiada, se ha identificado que se origina principalmente por aumento en la producción ovárica y que en un sub grupo de pacientes existe además una contribución de andrógenos por parte de la por la glándula suprarrenal.

En el caso específico del aumento de las concentraciones de $17\alpha\text{-OHP}_4$ en las mujeres con SOP, se han propuesto y estudiado diversos mecanismos, tales como el estado de heterocigocidad para las mutaciones del *CYP21*, disfunción hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y defecto ovárico intrínseco en la producción de andrógenos.

Heterocigocidad del *CYP21*

Existen algunos estudios en donde se ha estudiado si la heterocigocidad del *CYP21* se asocia a las concentraciones de $17\alpha\text{-OHP}_4$ en pacientes con SOP. Los resultados de éstos estudios son inconsistentes, debido a que en cada uno de ellos el número de pacientes estudiadas fue limitado, el fenotipo de SOP variable y a que no se evaluaron todas las posibles mutaciones ya descritas.

En un estudio reciente elaborado por Settas y colaboradores¹⁶, buscaron las 14 mutaciones más frecuentes del *CYP21* en 197 mujeres con criterios de SOP según los criterios de NIH y en 68 mujeres sanas. Las mujeres afectadas, tenían una concentración basal en suero de $17\alpha\text{-OHP}_4 < 2$ ng/mL, y/o < 10 ng/mL después de la estimulación con ACTH. Se encontró que en 15 (7.6%) del grupo de mujeres con SOP, tuvieron alguna mutación, mientras que en el grupo control, se identificaron 4 (5.9%), sin diferencia estadísticamente significativa entre ellos ($p=0.66$). En este estudio no se analizó la prevalencia de las mutaciones entre aquellas que tenían $17\alpha\text{-OHP}_4 < 2$ versus ≥ 2 ng/mL, sin embargo se sabe que no existe una correlación entre el estado de heterocigocidad con una prueba de ACTH no confirmatoria.

En este sentido, en el estudio realizado por Glintborg y colaboradores¹⁷ incluyó a 337 mujeres con hirsutismo y a 252 mujeres sanas, con el objetivo de valorar la asociación entre la respuesta de $17\alpha\text{-OHP}_4$ al estímulo con ACTH y el estado de heterocigocidad. Las mujeres hirsutas fueron clasificadas en: hirsutismo idiopático (HI) (n=180) y SOP (n=157). No se encontró diferencias entre los grupos en $17\alpha\text{-OHP}_4$ basal. Sin embargo, en ambos grupos existían mayores concentraciones de $17\alpha\text{-OHP}_4$ posterior a la estimulación en comparación al

grupo de mujeres sanas. El estudio molecular mostró que la prevalencia de mutaciones del *CYP21* en las mujeres con SOP, HI y las mujeres sanas fue de 7.3, 9.9 y 6.3%, respectivamente. No hubo diferencia en la frecuencia de los casos con mayores concentraciones basales y post-estímulo de 17α -OHP₄, entre las SOP portadoras del defecto génico y las no portadoras. Por lo tanto el estado de portador, parece que no explica el incremento de las concentraciones de 17α -OHP₄ en condiciones basales ni la mayor proporción de respuesta máxima estimulada en mujeres hirsutas.

Disfunción del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal

Como ya se mencionó, el principal órgano en donde se origina el exceso de andrógenos en las pacientes con SOP es el ovario, sin embargo, se ha descrito que entre el 40 y 70% de las pacientes, tienen un exceso de andrógenos de origen suprarrenal, particularmente la dehidroepiandrosterona sulfatada (DHEA-S). Esta observación ha llevado a considerar que puede existir una disfunción del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, secundario a una secreción exagerada de ACTH, o que exista un aumento en la sensibilidad a la respuesta de eje suprarrenal al estímulo de ACTH o ambas situaciones.

Diversos estudios, han mostrado que en reposo, las concentraciones de ACTH en pacientes con SOP, no difieren a las de mujeres sanas, sin embargo, éstas puede tener una respuesta exagerada al estrés o a otro estímulo central, dando como resultado hiperfunción de la corteza suprarrenal. Azzis y colaboradores¹⁶, realizaron un estudio con el objetivo de evaluar el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal mediante pruebas de estimulación con hormona estimulante de corticotropina (CRH) y ACTH. Seleccionaron a 11 mujeres sanas, 24 mujeres con SOP que fueron subdivididas en dos grupos de acuerdo a las concentraciones de DHEA-S, aquellas con exceso de andrógenos de origen suprarrenal (n=12) y sin exceso (n=12). Los resultados mostraron que aquellas mujeres con exceso de andrógenos de origen suprarrenal no tuvieron una diferencia en la respuesta máxima después de una estimulación con hormona liberadora de corticotropina (CRH), en términos de ACTH, dehidroepiandrosterona (DHEA), androstendiona (Δ -A₄) o cortisol en comparación a las mujeres sin exceso suprarrenal. Sin embargo, se observó que las mujeres con hiperandrogenismo suprarrenal tuvieron una mayor relación DHEA/cortisol, área bajo la curva (ABC) de DHEA (DHEA_{ABC}) y DHEA_{ABC}/cortisol_{ABC} en comparación con las pacientes sin exceso de andrógenos de origen suprarrenal y las mujeres sanas. Los resultados de la prueba de estimulación con ACTH mostraron que sólo existía una mayor relación de los incrementos proporcionales de DHEA/cortisol en las mujeres con hiperandrogenemia suprarrenal en comparación a los otros dos grupos. En conclusión, existe una mayor secreción intrínseca de la suprarrenal de DHEA y A₄, pero no una respuesta alterada hipofisaria a la CRH ni mayor sensibilidad suprarrenal a la ACTH.

En otro estudio realizado por Moran y colaboradores¹⁷, estudiaron a 18 mujeres con SOP, divididas en dos grupos de 9 pacientes cada uno de acuerdo a

la concentración basales de DHEA-S y un grupo control de 12 mujeres sanas. Las pacientes con DHEA-S $\geq 253\mu\text{g/dL}$ fueron consideradas como exceso de andrógenos de origen suprarrenal en éste grupo se observó que tenían mayores concentraciones de DHEA y A4 después de la estimulación con ACTH, en comparación con las mujeres con DHEA-S $< 253\mu\text{g/dL}$. Existe una aumento de los C21 hidroxilados vs C21 no hidroxilados, lo que sugiere una actividad aumentada de 17 - hidroxilada (Δ^5 17-OH), responsable del exceso de andrógenos de origen suprarrenal. En condiciones basales, ni post estímulo la 17 α – OHP fue diferente entre los grupos, por lo que el aumento de 17 α – OHP > 2 en condiciones basales no se explica con el exceso de andrógenos de origen suprarrenal.

Defecto ovárico intrínseco en la producción de andrógenos

Además del hiperandrogenismo suprarrenal funcional, se ha estudiado el hiperandrogenismo de origen ovárico, el cual afecta hasta dos terceras partes de las mujeres que tienen hiperandrogenismo y oligomenorrea. Este se define como una mayor respuesta al estímulo con un agonista de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en términos de andrógenos de la vía de los Δ_4 o bien a una falta de supresión de estos andrógenos con dexametasona.¹⁸

Un trabajo que ejemplifica este posible tercer mecanismo de la elevación de la 17 α -OHP₄, es el realizado por Rosenfield y colaboradores¹⁹ en donde se evaluó la respuesta ovárica a nafarelina y la aparente relación dependiente de la elevación de LH a la producción esteroideogénica ovárica. Se compararon mujeres sanas (n = 18), dos grupos de pacientes con respuesta exagerada de 17-hidroxiprogesterona con (n=19) y sin elevación de LH (n=18) respectivamente, y un grupo sin respuesta exagerada a la administración de nafarelina (n=15), posterior a la administración de dexametasona. Aquellas pacientes con respuesta exagerada, se nominaron como: hiperandrogenismo ovárico funcional (HOF). Independientemente de la respuesta de LH, hubo un exceso de y 17-OH y la proporción 17 α -OHP₄/Androstendiona (A Δ_4) en las pacientes con HOF, hubo además una respuesta elevada tanto de DHEA como la A₄ con la administración de nafarelina, así como de testosterona. Los pacientes con hiperandrogenismo ovárico, tienen una sobre actividad esteroideogénica tecal, independiente de la concentración de LH. Estas pacientes tienen sobreproducción de 17- α OHP₄ y una regulación a la baja incompleta a la estimulación de LH en las células de la teca para la producción de 17-OHP, A₄ y Testosterona.

Origen común de la hiperandrogenemia: actividad diferencial del CYP450c17.

Actualmente, existe evidencia que muestra que la actividad de las enzimas involucradas en la esteroideogénesis podría estar regulada por la insulina. Por lo tanto en estados en donde exista aumento de esta, podría afectar la funcionalidad enzimática. La resistencia a la insulina, junto con el hiperinsulinismo compensatorio son fenómenos que se observan muy frecuentemente en mujeres con SOP.

El mecanismo común que podría explicar la hiperandrogenemia, tanto de origen ovárico como suprarrenal en todas las situaciones antes descritas es la actividad diferencial del citocromo P450c17 regulada por la insulina.

Resistencia a la insulina e hiperinsulinismo en el SOP

Distintos investigadores han demostrado que en la mayoría de las pacientes con SOP, ya sean delgadas u obesas, cursan con hiperinsulinemia.

La insulina actúa como regulador de la homeostasis de la glucosa, facilita su consumo por tejidos blanco (adipocitos, músculo cardíaco y esquelético), suprime la producción hepática de glucosa. Además, suprime la lipólisis y disminuye los niveles de ácidos grasos libres. La resistencia a la insulina se define como la disminución en la capacidad de la insulina para mediar estas acciones metabólicas (consumo, producción y/o lipólisis). Esta se caracteriza por aumento en los niveles circulantes de insulina, de forma basal y posterior a una carga oral de glucosa, si la función de la célula β esta conservada.

La hiperinsulinemia en mujeres con SOP, se debe a dos mecanismos: defecto en la señalización post receptor de insulina secundario a un aumento en la fosforilación del sustrato 1 de serina, en donde selectivamente se afecta la vía metabólica, pero no la mitogénica en los tejidos blanco de insulina (adipocito, músculo esquelético) y en el ovario (células granulosa-luteínicas). La otra alteración es la activación constitutiva de las cinasas de serina en la vía de señalización de las MAPK-ERK que contribuye a la resistencia a la insulina en el músculo esquelético. Por último, se ha demostrado disfunción de la célula β pancreática y disminución en el aclaramiento de insulina²⁰.

Las mujeres con SOP, tienen fundamentalmente hiperglucemia postprandial, lo que refleja resistencia a la insulina, particularmente del músculo esquelético. Por lo tanto, una curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 horas es la herramienta ideal para diagnosticar intolerancia a los carbohidratos y diabetes tipo 2 en el SOP.

El estándar de oro para valorar la resistencia a la insulina es el clamp hiperinsulinémico euglucémico. Esta técnica valora cuantitativamente la acción de la insulina sobre el consumo de glucosa corporal. Se infunde una dosis de insulina y se mantiene la euglucemia utilizando una tasa de infusión variable de glucosa. En el estado constante, la cantidad de glucosa infundida, es igual a la consumida por los tejidos periféricos y esto puede ser utilizado como una medida de sensibilidad periférica a la insulina, conocida como disposición de glucosa mediado por insulina (IMGD).

Debido a la complejidad y costo del clamp hiperinsulinémico euglucémico para evaluar la resistencia a la insulina, se han diseñado diversas herramientas diagnósticas, que son prácticas y económicas, y que funcionan como subrogados.

Éstas se pueden clasificar en dos grupos, las que utilizan sólo valores aislados de glucosa, insulina y triglicéridos en muestras de suero obtenidas en ayuno y aquellas que utilizan valores de glucosa e insulina en muestras de suero obtenidas en ayuno y durante una curva de tolerancia oral a la glucosa. Las que pertenecen a la primera categoría son el *Homeostatic Model Assessment Insulin Resistance (HOMA-IR)*²¹, el *Quantitative Insulin sensitivity Check Index (QUICKI)*²², y el índice del producto triglicéridos-glucosa²³, entre otros. En el caso de los que pertenecen a la segunda categoría podemos mencionar al índice de Matsuda²⁴, entre otros. La diferencia entre estos métodos radica en que los primeros brindan información acerca de la sensibilidad hepática a la insulina, en comparación a los de la segunda categoría, que dan información sobre la resistencia hepática y periférica a la insulina. Todos estos métodos han sido validados para ser aplicados a en distintos grupos étnicos a individuos de ambos sexos sanos, obesos y diabéticos. También han sido validados en mujeres con SOP delgadas, obesas, con y sin diabetes mellitus tipo 2.

Efectos de la insulina en la esteroidogénesis ovárica

Se ha demostrado que la insulina estimula la esteroidogénesis ovárica *in vitro*. La insulina aumenta la producción de andrógenos en células ováricas cultivadas de mujeres con SOP, comparado con mujeres sanas. El efecto sinérgico de LH e insulina en concentraciones fisiológicas aumentan la biosíntesis en los tejidos ováricos.

En las células normales de la teca, la insulina en sinergismo con LH activa la actividad de 17 α -hidroxilasa o P450c17, a través de la señalización de PI3-K, inhibición de la señalización MAPK-ERK 1/2 sin efecto en la actividad de 17 α – hidroxilasa. McAllister y colaboradores sugirieron que la actividad de la señalización MAPK-ERK 1/2, inhibe la expresión y actividad del mRNA P450c17. La disminución de la fosforilación de MEK 1/2 y MAPK-ERK 1/2 en pacientes con SOP en comparación de controles de células de la teca cultivadas, se asocia a una mayor expresión del CYP450c17.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existe un grupo de mujeres con diagnóstico de SOP que tienen concentraciones de 17α -hidroxiprogesterona $\geq 2\text{ng/mL}$ en las que se ha descartado HSC-NC por deficiencia de 21-hidroxilasa mediante la prueba de ACTH. En la actualidad existe una falta de conocimiento en relación a las causas que originan mayores concentraciones de 17α -hidroxiprogesterona en estas pacientes. No se sabe si este subgrupo forma parte del espectro clínico del síndrome, ni tampoco si las alteraciones metabólicas, como la resistencia a la insulina, están implicadas en una mayor producción de 17α -hidroxiprogesterona.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Las pacientes con SOP con concentraciones de 17α -hidroxiprogesterona $\geq 2\text{ng/mL}$ en condiciones basales presentan en mayor grado resistencia a la insulina en comparación con aquellas que tienen concentraciones $< 2\text{ng/mL}$?

HIPÓTESIS

Las pacientes con SOP con concentraciones de 17α -hidroxiprogesterona $\geq 2\text{ng/mL}$ tienen mayor resistencia a la insulina en comparación a las mujeres con SOP con concentraciones $< 2\text{ng/mL}$.

JUSTIFICACIÓN

El conocimiento de las características metabólicas en el subgrupo de mujeres con SOP con concentraciones de 17α -hidroxiprogesterona $\geq 2\text{ng/mL}$ es escaso debido a que no existen estudios similares en la literatura. El conocer si existe asociación con las manifestaciones metabólicas, particularmente la resistencia a la insulina, en este subgrupo de pacientes, permitirá comprender la enfermedad de manera integral y de esta manera brindar una mejor atención médica.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar las características del metabolismo de la glucosa en términos de insulina y resistencia a la insulina en mujeres con SOP con concentraciones de 17α -hidroxiprogesterona $\geq 2\text{ng/mL}$.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Estudio transversal, observacional y comparativo.

La muestra se conformó por pacientes atendidas en la Clínica de Salud Reproductiva del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, durante el período comprendido del 1 enero del 2009 al 31 de mayo del 2013 con el diagnóstico de síndrome de ovarios poliquísticos (SOP) utilizando los criterios del National Institutes of Health (NIH).

Criterios de selección de las pacientes

Criterios de inclusión: Mujeres adultas entre 18 y 35 años de edad, con diagnóstico de síndrome de ovarios poliquísticos con diagnóstico realizado después del primero de enero del 2009, que no hubieran recibido previo al estudio, anticonceptivos hormonales durante los últimos tres meses, ni sensibilizadores o secretagogos de insulina en el último mes.

Criterios de exclusión: Mujeres que tuvieran las siguientes enfermedades: HSC-NC por deficiencia de 21-hidroxilasa, diabetes mellitus, enfermedades tiroideas no controladas, hiperprolactinemia, anemia, insuficiencia renal (creatinina sérica >1.5 mg/dL) o hepática, anorexia nervosa, cirrosis biliar primaria, y/o acromegalia.

Protocolo

Los datos clínicos y demográficos fueron extraídos del expediente clínico y algunos durante la consulta, incluyeron fecha de nacimiento, somatometría, datos clínicos de hiperandrogenismo (acné e hirsutismo) e historia ginecológica. Se obtuvo muestra sanguínea en días +2 a +5 de un episodio de sangrado endometrial para cuantificar prolactina (PRL), tirotrófina (TSH), triyodotironina total (TT3), tetrayodotironina total (TT4), hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), estradiol (E2), 17- α hidroxiprogesterona, dehidroepiandrosteona (DHEA), androstendiona (Δ 4-A) y testosterona total (TT). Las pacientes que tenían amenorrea se les indujo sangrado endometrial mediante la administración oral de acetato de medroxiprogesterona: 10mg/día/10 días. Tanto la información clínica como los resultados de laboratorio se registraron en formatos de concentrado, previamente validados.

Las pacientes se clasificaron en dos grupos de acuerdo a las concentraciones en suero de 17 α -hidroxiprogesterona. El grupo 1 lo conformaron aquellas mujeres que tuvieron concentraciones \geq 2ng/mL en quienes se descartó hiperplasia suprarrenal congénita variedad no clásica (HSRC-NC) por deficiencia de 21-hidroxilasa, mediante una prueba de estimulación con hormona

adrenocorticotrópica (ACTH) con un valor de 17OHP4 <10ng/mL a los 60 minutos.

El grupo 2 lo conformaron aquellas mujeres que tuvieron concentraciones <2ng/mL. Las pacientes fueron pareadas con las mujeres del grupo 1, por edad \pm 3 años, e IMC \pm 3 kg/m².

Los datos que fueron extraídos de los expedientes clínicos de todas las pacientes fueron: colesterol total, (c-HDL), c-LDL, triglicéridos, resultados de curva de tolerancia oral a la glucosa (CTOG) con 75grs de glucosa de tres horas y curva de insulina de tres horas, obtenidas a intervalos de 30 minutos. El resultado obtenido en cada individuo se interpretó según los criterios de la American Diabetes Association (ADA) 2013²⁵, considerado como normal o como alteración en el metabolismo de los carbohidratos.

Análisis hormonal

Las determinaciones hormonales se realizaron mediante la técnica de inmunometría (IRMA: ImmunoRadioMetric Assay), inmunocompetencia (RIA=RadioImmuno Assay) y quimioluminiscencia (QL), dependiendo de la hormona. La androstendiona fue extraída del suero por cromatografía y cuantificada mediante quimioluminiscencia.

IRMA

Las hormonas que se cuantificaron mediante la técnica de IRMA fueron: PRL, TSH, LH, FSH. Se utilizaron estuches comerciales SIEMENS Healthcare Diagnostics Ltd.

RIA

Las hormonas que se cuantificaron mediante el principio de RIA son: TT y TL utilizando estuches SIEMENS Healthcare Diagnostics Ltd. Las determinaciones de 17-OH-P4, P4 y DHEA se realizaron con estuches comerciales Diagnostic System Laboratories, INC (DSL-5000).

Quimioluminiscencia

Las hormonas que se cuantificaron mediante el principio de QL fueron: cortisol y Δ 4-A. Los estuches comerciales empleados fueron IMMULITE1000 systems, SIEMENS Healthcare Diagnostics Ltd.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica de cada estudio hormonal se muestra en el siguiente cuadro.

Hormona	Sensibilidad analítica
Tirotrófina (TSH), μUI/mL	0.03
Tiroxina (T4), nmol/L	
Trionina (T3), nmol/L	
Prolactina (PRL), ng/mL	0.1
17-hidroxiprogesterona (17-OHP4), ng/mL	0.01
Testosterona total (TT), ng/mL	0.15
Testosterona libre (TL), pg/mL	0.15
Androstendiona ($A\Delta$-4), pg/mL	300
Dehidroepiandrosterona (DHEA), ng/mL	0.02
Dehidroepiandrosterona sulfatada	3
Cortisol (F), ng/mL	20
Progesterona (P4), ng/mL	0.02
Estradiol (E2), pg/mL	8
Hormona luteinizante (LH), mUI/mL	0.15
Hormona folículo-estimulante (FSH), mUI/mL	0.06

Valores proporcionados por los fabricantes

Valores de referencia

Los valores de referencia de las distintas hormonas para mujeres de 20 a 35 años en fase folicular se muestran en el siguiente cuadro.

Hormona	Valores de referencia
Tirotrofina (TSH), μ UI/mL	0.34-5.6
Tiroxina (T4), nmol/L	78.38-157.4
Trionina (T3), nmol/L	1.34-2.73
Prolactina (PRL)	3.1-16.5
17-hidroprogesterona (17-OHP4), ng/mL	0.40-1.02
Testosterona total (TT), ng/mL	ND-0.81
Androstendiona ($A\Delta$ -4), pg/mL	700-200
Dehidroepiandrosterona (DHEA), ng/mL	0.8-10.5
Cortisol (F), ng/mL	50-250
Progesterona (P4)	0.15-1.4
Estradiol (E2), pg/mL	<20-50
Hormona luteinizante (LH), mUI/mL	0.6-6.2
Hormona folículo-estimulante (FSH), mUI/mL	3.3-8.8

Valores proporcionados por el fabricante

Análisis químico

El análisis de glucosa, insulina y perfil de lípidos se realizó mediante espectrofotometría. Se utilizaron estuches comerciales y técnicas previamente estandarizadas en los laboratorios de rutina del Instituto.

Variables secundarias

Para los datos obtenidos de glucosa e insulina de la CTGO se generaron las siguientes variables secundarias: Gran promedio post-estimulación, área bajo la curva (ABC), $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$.

Los índices de resistencia a la insulina que se calcularon en este estudio se muestran en el siguiente cuadro.

Índice	Punto de corte para establecer resistencia a la insulina	Correlación con el clamp r (p)
HOMA-IR ²¹	≥ 2.5	0.88 (<0.0001)
QUICKI ²²	≥ 0.33	0.78 (<0.0001)
Producto triglicéridos-glucosa ²³	≥ 4.68	0.68 (<0.005)
Índice de Matsuda ²⁴	≤ 3.0	0.73 (0.0001)

Análisis estadístico

La información colectada se concentró en una base de datos para su análisis. Los datos obtenidos fueron explorados para evaluar su distribución, en caso de tener distribución no paramétrica se utilizaron medianas e intervalos intercuartilares. Las variables nominales fueron resumidas en porcentajes. La comparación de las medianas entre los dos grupos se realizó mediante prueba de U de Mann-Whitney y la comparación entre las proporciones mediante la prueba de χ^2 . Se realizó correlación mediante el método de Spearman entre las concentraciones de 17α -OHP4 y las distintas variables. Se utilizó el valor de $p < 0.05$ para establecer las diferencias estadísticamente significativas. El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico SPSS (StatisticalPackageforthe Social Sciences) versión 17.

DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

Variable	Definición	Categoría	Escala	Unidad de medición
Acantosis nigricans	Hiperqueratosis e hiperpigmentación en los pliegues cutáneos del cuello, axilas, ingles	Cualitativa nominal dicotómica	NA	Presencia o ausencia
Galactorrea	Secreción anormal por los pezones	Cualitativa nominal dicotómica	NA	Presencia o ausencia
Hirsutismo	Crecimiento excesivo del vello terminal en la mujer con patrón de distribución andrógeno-dependientes: patillas, barbilla, areolas mamarias, tórax, parte posterior de brazos, área superior e inferior al ombligo y muslo	Cualitativa nominal dicotómica	Escala de Ferriman-Gallwey: Rango de 0-.... en donde los Valores ≥ 8 corresponden a hirsutismo.	Presencia o ausencia
Regularidad menstrual	Frecuencia con la que ocurren los sangrados menstruales espontáneos, se considera como normal de acuerdo a la OMS de 25-35 días. Lo que sobrepase estos límites se considera anormal, por lo que puede existir: Oligomenorrea: los sangrados espontáneos ocurren a intervalos ≥ 36 días pero < 6 meses. Polimenorrea: los sangrados espontáneos ocurren a intervalos < 25 días. Amenorrea: cuando no ha ocurrido sangrado espontáneo en un período ≥ 6 meses o cuando el intervalo de aparición de sangrado espontáneo es mayor a este tiempo.	Cualitativa nominal	Menograma	Presencia o ausencia

Infertilidad	Incapacidad de lograr un embarazo después de ≥ 12 meses de tener relaciones sexuales regularmente, sin emplear ningún método anticonceptivo.	Cualitativa nominal	NA	Presencia o ausencia
Sobrepeso y obesidad	Enfermedad crónica caracterizada por acumulación excesiva de grasa o hipertrofia general del tejido adiposo en el cuerpo.	Cuantitativa continua	Índice de masa corporal (IMC)= peso en kilogramos/(estatura en metros) ² Sobrepeso: $IMC \geq 27$ y $< 30 \text{ kg/m}^2$ Obesidad: $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$	Presencia o ausencia
Alteración del metabolismo de los carbohidratos	Enfermedad caracterizada por hiperglucemia que se debe a un deterioro absoluto o relativo de la secreción y/o acción de la insulina.	Cualitativa categórica	Criterios de clasificación de la American Diabetes Association de acuerdo a valores anormales en las concentraciones de glucosa en ayuno o a las 2 horas después de la administración oral de 75 gramos de glucosa anhidrida (CTGO 2hrs). Normal: Glucosa en ayuno $< 100 \text{ mg/dL}$ Glucosa 2h posterior a la carga de glucosa $< 140 \text{ mg/dL}$ Prediabetes: Glucosa de ayuno alterada ≥ 100 y $< 126 \text{ mg/dL}$ Intolerancia a los carbohidratos Glucosa 2h posterior a la carga de glucosa ≥ 140 y $< 200 \text{ mg/dL}$ Diabetes mellitus tipo 2 Glucosa en ayuno $\geq 126 \text{ mg/dL}$ Glucosa	Presencia o ausencia

Resistencia a la insulina	Inadecuada captación de la glucosa dependiente de insulina por parte de los tejidos, en especial del hígado, músculo y tejido adiposo.	Cualitativa nominal	<p>Índices que utilizan las concentraciones de glucosa, insulina y triglicéridos en ayuno HOMA= (glucosa*insulina)/405 ≥ 2.5 QUICKI=1/(log_{insulina}+log_{glucosa}) ≥ 0.3 Relación glucosa/triglicéridos=ln[(triglicéridos*glucosa)/2] ≥ 4.68</p> <p>Índices que utilizan las concentraciones de glucosa e insulina obtenidas durante la CTGO2hrs Índice de Matsuda=1000/ $\sqrt{Glucosa0 * Insulina0 * Glucosa2h * Insulina2h}$ ≤ 3.0</p> <p>Los puntos de corte mostrados son aplicables a sujetos no diabéticos</p>	Presencia o ausencia
---------------------------	--	---------------------	--	----------------------

Resultados

Se incluyó un total de 20 pacientes que cumplieron con los criterios de selección. El primer grupo fue conformado por mujeres que tenían una concentración en suero de 17 hidroxiprogesterona ≥ 2 ng/mL, en condiciones basales. El segundo grupo fue conformado por aquellas mujeres cuya concentración de 17 hidroxiprogesterona fue < 2 ng/mL en muestras obtenidas bajo las mismas condiciones que en el grupo anterior. En la tabla 1 se resumen las principales características clínicas de las pacientes. Como puede observarse la edad al estudio fue similar en los dos grupos (mediana 21 vs, 22 años, respectivamente), y no hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto a la edad a la menarca, la edad al inicio de las irregularidades menstruales ni la proporción de pacientes con acné o puntaje en la escala de Ferriman-Gallwey ≥ 8 . La única diferencia con significancia estadística fue la proporción de pacientes con acantosis nigricans, que fue mayor en las mujeres del grupo 1 que en las del grupo 2. (90% vs. 30%, $p=0.02$). Este hallazgo es relevante ya que sugiere la existencia de resistencia a la insulina en el grupo 1, dado que la acantosis nigricans se acepta como un marcador de la misma. En cuanto a las características somatométricas, no hubo diferencia significativa en cuanto al peso y el índice de masa corporal entre los dos grupos. Esta circunstancia es importante para el análisis, dado que la obesidad es una condición relacionada con la resistencia a la insulina.

Todas las pacientes tuvieron presión arterial dentro del rango normal. De las 4 mujeres que buscaron embarazo, 1 (10%) en el grupo 1 y 3 (30%) tuvieron antecedente de infertilidad en el grupo 2.

Tabla. 1 Características clínicas de las mujeres con diagnóstico de síndrome de ovarios poliquísticos según las concentraciones basales de 17 α -hidroxiprogesterona (17 α -OHP4) en suero.

	Grupo 1 17 α -OHP4 ≥ 2 ng/mL <i>n</i> =10	Grupo 2 17 α -OHP4 < 2ng/mL <i>n</i> =10	<i>P</i>
Edad, años*	21 (19-30)	22 (19-28)	0.94
Edad a la menarca, años*	12.6 (12-14)	12.5 (12-14)	0.28
Edad de inicio de las irregularidades menstruales, años*	13 (12-15)	13.7 (12-20)	0.81
Alteraciones menstruales, n (%)	10 (100)	10 (100)	0.08
Puntaje de la escala de Ferriman-Gallwey*	8 (6-11)	5 (3-13)	0.46
≥ 8 puntos, n (%)	8 (80)	3 (42.8)	0.50
Acné, n (%)	7 (70)	8 (80)	1.00
Acantosis nigricans, n (%)	9 (90)	3 (30)	0.02
Peso, Kg	70 (56-80)	73 (59-82)	0.68
IMC, Kg/m ²	26 (23-31)	31.5 (23-34)	0.82
Presión arterial sistólica, mmHg	110 (110 – 120)	110 (102 – 117)	0.74
Presión arterial diastólica, mmHg	70 (65-77)	65 (60-77)	0.64

* Valores expresados en medianas (intervalo intercuartilar)

IMC=índice de masa corporal, kg=kilogramos, m²= metros cuadrados, mmHg= milímetros de mercurio.

En la tabla 2, se muestran las concentraciones hormonales basales, incluidas gonadotropinas, relación LH/FSH y estradiol. En ninguna variable hubo diferencia significativa entre los dos grupos. De acuerdo al protocolo, las pacientes presentaron prolactina normal y ausencia de disfunción tiroidea.

Tabla 2. Concentraciones hormonales basales de las pacientes con diagnóstico de síndrome de ovarios poliquísticos, según las concentraciones basales de 17 α -hidroxiprogesterona (17 α -OHP4) en suero.

	Grupo 1 17 α -OHP4 ≥ 2 ng/mL n=10	Grupo 2 17 α -OHP4 < 2ng/mL n=10	<i>p</i>
FSH, mUI/mL	5.8 (4.9-6.2)	3.9 (1.3-6.5)	0.82
LH, mUI/mL	6.3 (4.4-9.0)	5.2 (1.5-16)	0.88
Relación LH/FSH	0.99 (0.72-1.4)	1.3 (0.66-1.6)	0.70
Estradiol, pg/mL	33 (28-39)	30 (18-105)	0.32
Prolactina, ng/mL	17 (12-25)	15 (11-17)	0.13
TSH, mUI/mL	2.3 (1.8-3.6)	1.4 (1.3-2.7)	1.00

Valores expresados en medianas(intervalo intercuartilar)

FSH=hormona folículo estimulante, LH= hormona luteinizante, TSH= hormona estimulante de tiroides.

Aunque en las concentraciones hormonales basales no existieron diferencias significativas, si hubo en las concentraciones de andrógenos entre los grupos. Observamos que como era de esperarse de acuerdo al protocolo de estudio, las concentraciones de 17 α -OHP4 fueron diferentes entre ambos grupos (2.4 vs 1.25 ng/mL, $p=0.0001$, grupo 1 vs grupo 2, respectivamente). El único andrógeno diferente entre ambos grupo fue testosterona total, observando valores más altos en el grupo 1(0.77 vs 0.49 ng/mL, $p=0.001$), lo cual es consistente con la mayor concentración de 17-OHP₄ en el grupo 1. No observamos tales diferencias estadísticas significativas entre ambos grupos en términos de DHEA, ni androstendiona (Tabla 3).

Tabla 3. Concentraciones de andrógenos basales de las pacientes con diagnóstico de síndrome de ovarios poliquísticos, según las concentraciones basales de 17 α -hidroxiprogesterona (17 α -OHP4) en suero.

	Grupo 1 17 α -OHP4 ≥ 2 ng/mL n=10	Grupo 2 17 α -OHP4 < 2ng/mL n=10	<i>p</i>
17 α -OHP4,ng/mL	2.4 (2.1-2.7)	1.25 (0.91-1.54)	0.0001
Testosterona total,ng/mL	0.77 (0.68-1.08)	0.49 (0.47-0.55)	0.001
DHEA,ng/mL	11.52 (8.79-21.53)	17.7 (8.3-24.4)	0.88
A Δ_4 A,ng/mL	0.76 (0.42-1.35)	1.11 (0.88-1.35)	0.11

Valores expresados en medianas (intervalo intercuartilar).

DHEA= dehidroepiandrosterona, Δ_4 A= androstendiona.

En cuanto a la evaluación de la glucosa, no observamos diferencias significativas entre los grupos en relación a la secreción total, concentración máxima, ni tiempo al que se alcanzó la concentración máxima de glucosa. Tampoco observamos diferencias entre ambos grupos en la proporción de mujeres con alteraciones del metabolismo de los carbohidratos. (Tabla 4)

Las diferencias más importantes entre ambos grupo las observamos en relación a la insulina. A pesar de que no hubo diferencias significativas entre las concentraciones de insulina basal, observamos que las mujeres del grupo 1 tuvieron una mayor secreción de insulina (ABC), además de tener tanto una mayor concentración a los 120 minutos como de concentración máxima alcanzada durante la CTGO y esta se alcanzó más tardíamente en comparación a las mujeres del grupo 2. (Tabla 4). Estos datos sugieren que el grupo 1 tiene mayor secreción de insulina, mayor resistencia a la insulina y mayor disinsulinismo.

Tabla 4. Concentraciones de glucosa e insulina obtenidas durante la curva de tolerancia oral a la glucosa (CTGO), según las concentraciones basales de 17 α -hidroxiprogesterona (17 α -OHP4) en suero.

	Grupo1 17 α -OHP4 ≥ 2 ng/mL n=10	Grupo2 17 α -OHP4 < 2ng/mL n=10	<i>p</i>
Glucosa basal, mg/dL	85 (81-90)	88 (72-99)	1.00
Normal, n (%)	10 (100%)	8 (80%)	0.13
Anormal, n (%)	0	2 (20%)	
Glucosa _{+120 min} , mg/dL	130 (111-156)	113 (80-153)	0.26
Glucosa _{+120min} Normal, n (%)	7 (70)	8 (80)	0.61
Intolerancia a la glucosa, n (%)	3 (30)	2 (20)	
Glucosa _{ABC} , mg/dL*min	17,310 (13,995-19,792)	12,900 (9,540-17,745)	0.17
Glucosa _{Cmáx} , mg/mL	173 (131-206)	121 (91-171)	0.17
Glucosa _{Tmáx} , min	60 (30-60)	75 (37-157)	0.23
Insulina basal, UI/L	12 (9-18)	11 (7-16)	0.36
Insulina _{+120min} , UI/L	135 (98-170)	69 (25-130)	0.03
Insulina _{ABC} I, UI/L*min	12,829 (10,702-14,548)	6,801 (3,208-10,528)	0.03
Insulina _{Cmáx} , mg/dL	135 (118-178)	91 (42-138)	0.05
Insulina _{Tmáx} , min	120 (75-120)	75 (37-112)	0.03
≥ 60 min, n (%)	8(80)	4(40)	0.06

Valores expresados en medianas (intervalo intercuartil). ABC= área bajo la curva, Glucosa₊₁₂₀= concentración de glucosa a los 120 minutos post-administración oral de 75grs de glucosa durante la curva de tolerancia oral (CTGO), Insulina₊₁₂₀= concentración de insulina a los 120 minutos durante la CTGO. Cmáx= concentración máxima de glucosa durante la CTGO, Tmáx= tiempo al que se alcanzó la Cmáx durante la CTGO.

En cuanto a la evaluación de resistencia a la insulina, se observó que no hubo diferencias entre los grupos en relación a los índices de resistencia a la insulina HOMA-IR ni QUICKI, así como tampoco diferencias en la proporción de mujeres con resistencia a la insulina utilizando ambos métodos. Sin embargo, mediante el índice de Matsuda, observamos que las mujeres del grupo 1 en comparación a las del grupo 2, tenían en promedio menor en el índice de Matsuda y mayor proporción de resistencia a la insulina, estas diferencias fueron estadísticamente significativas. (Tabla 5). Con base en estos resultados, podemos concluir en el grupo 1 existió mayor resistencia a la insulina periférica en comparación al grupo 2, estos datos son consistentes con la hipótesis de estudio de que las mujeres con mayores concentraciones de 17-OHP4 tienen en mayor proporción resistencia a la insulina.

Por otro lado, observamos que en el grupo 1, existían mayores concentraciones de triglicéridos y de colesterol LDL, así como menores concentraciones de colesterol de alta densidad (HDL), en comparación al grupo 2. Este patrón de lípidos es el que caracteriza a los estados de resistencia a la insulina. (Tabla 6)

Tabla 5. Índices de resistencia a la insulina en las pacientes con diagnóstico de síndrome de ovarios poliquísticos, según las concentraciones basales de 17α-hidroxiprogesterona (17α-OHP4) en suero.			
	Grupo 1 17 α -OHP4 ≥ 2 ng/mL <i>n</i> =10	Grupo 2 17 α -OHP4 < 2ng/mL <i>n</i> =10	<i>p</i>
HOMA-IR	2.8 (1.8-3.8)	2.5 (1.3-3.8)	0.41
≥ 2.5 , n (%)	7 (70)	4(40)	0.18
Índice de QUICKI	0.33 (0.31-0.35)	0.33 (0.31 - 0.37)	0.41
≥ 0.33 , n (%)	6(60)	4(40)	0.37
Índice de Matsuda	2.5 (1.8-2.8)	4.4 (1.8-10.0)	0.03
≤ 3.0 , n (%)	9(90)	4(40)	0.02
TyG	9.0 (8.8-9.1)	8.2 (8.1-8.7)	0.02

Valores expresados en medianas (intervalo intercuartilar).

HOMA-IR= homeostasis model assessment of insulin resistance, QUICKI=Quantitative Insulin sensitivity Check Index,

TyG= Triglycerides and glucose index.

Tabla 6. Concentraciones de lípidos y lipoproteínas de las pacientes con diagnóstico de síndrome de ovarios poliquísticos, según las concentraciones basales de 17 α -hidroxiprogesterona (17 α -OHP4) en suero.

	Grupo 1 17 α -OHP4 ≥ 2 ng/mL <i>n</i> =10	Grupo 2 17 α -OHP4 < 2ng/mL <i>n</i> =10	<i>p</i>
Colesterol, mg/mL	204 (186-226)	193 (178-220)	0.19
c-HDL, mg/dL	38 (33-43)	54 (45-73)	0.04
c-LDL, mg/dL	142 (118-147)	118 (109-130)	0.03
Triglicéridos, mg/dL	190 (151-216)	93.5 (74-145)	0.05

Valores expresados en medianas (intervalo intercuartilar).

c-HDL= colesterol de alta densidad, c-LDL= colesterol de baja densidad.

Se observó que existe una correlación directamente proporcional con significancia estadística entre las concentraciones de 17 α - hidroxiprogesterona y testosterona total, lo cual es consistente con los hallazgos que observamos de que las mujeres del grupo 1 tenían mayores concentraciones de testosterona en comparación a las del grupo 2. Un dato muy interesante es que existió correlación positiva entre la insulina a los 120 minutos, secreción total de insulina e índice de Matsuda, con la 17-OHP4. Estos datos sugieren que una asociación entre la resistencia a la insulina y disinsulinismo con las concentraciones de 17-OHP4. (Tabla 7).

Tabla 7. Coeficientes de correlación entre andrógenos, parámetros de insulina e índice de Matsuda

	17 α -OHP4	Testosterona total	Insulina _{+120min}	Insulina _{ABC}	Índice de Matsuda
17 α -OHP4	1.00	0.63**	0.40**	0.44*	-0.46**
Testosterona total		1.00	0.14	0.11	0.03
Insulina _{+120min}			1.00	0.96**	-0.92**
Insulina _{ABC}				1.00	-0.82**
Índice de Matsuda					1.00

p*<0.05, *p*<0.01

17 α -OHP4=17 α -hidroxiprogesterona, ABC= área bajo la curva, Insulina+120= concentración de insulina a los 120 minutos durante la curva de tolerancia oral (CTGO).

DISCUSIÓN

Los datos disponibles en la literatura en relación al significado clínico de las mayores concentraciones de 17OHP₄ encontradas en mujeres con SOP, a quienes se les ha descartado HSC-NC, son escasos. Éste trabajo es de los pocos que han tratado de explorar su asociación con alteraciones metabólicas, específicamente las relacionadas a la insulina. Para probar la hipótesis de que el incremento de 17 OHP₄ se relaciona directamente con la presencia de hiperinsulinismo evaluamos el metabolismo de carbohidratos e insulina en pacientes con SOP con características clínicas similares pero diferentes concentraciones de 17 OHP₄. Las pacientes con concentraciones de dicha hormona a ≥ 2 ng/mL se asignaron al grupo 1, y aquellas con valores menores a 2ng/mL constituyeron el grupo 2.

Los resultados obtenidos fueron consistentes y en apoyo a la hipótesis de trabajo. Clínicamente se observó mayor prevalencia de acantosis nigricans en el grupo 1, con respecto al grupo 2, y aun cuando el tamaño de la muestra fue pequeño, la diferencia alcanzó significancia estadística ($p=0.02$) Este signo se correlaciona de manera directa con la resistencia a la insulina en mujeres con SOP²⁶. Los estudios de resistencia periférica a la insulina tuvieron resultados concordantes con la presencia de acantosis nigricans.

Al evaluar el estado de resistencia a la insulina mediante el índice de Matsuda se observó que en el total de las pacientes estudiadas existía una frecuencia de resistencia a la insulina de 65% ($n=13$), lo cual es mayor a lo identificado por los índices que sólo consideran valores de glucosa e insulina en ayuno. En comparación a las mujeres del grupo 1, las mujeres del grupo 2 tuvieron un valor menor de índice de Matsuda (2.5 vs. 4.4, $p=0.03$) y una mayor prevalencia resistencia a la insulina (90 vs 30%, $p=0.02$).

La resistencia a la insulina (RI), identificada mediante los índices QUICKI ($n=10$) y HOMA-IR ($n=11$) respectivamente, se observó en el 50-55% de todas las mujeres estudiadas, lo que concuerda con lo reportado en la literatura (44-70%), ya que no es una característica universal del síndrome^{27, 28, 29}. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los valores de HOMA y/o QUICKI, ni entre la frecuencia de RI entre ambos grupos.

La discordancia observada en la comparación entre los grupos con los diferentes métodos de evaluación de la RI se explica por la información que nos brindan cada uno de ellos. Los índices obtenidos a partir de los valores de las concentraciones de glucosa e insulina en suero en ayuno (HOMA y QUICKI) o en ayuno y posterior a la carga de glucosa oral (Matsuda) han sido validados como subrogados del estándar de oro, que es el clamp hiperinsulinémico euglucémico, para identificar la resistencia a la insulina. En el primer caso, tanto el HOMA como el QUICKI nos dan información sobre la producción hepática de glucosa y por lo tanto indirectamente de resistencia hepática a la insulina. Por el contrario, el índice de Matsuda al tomar valores de glucosa a insulina posterior al estímulo de la carga

de glucosa oral, brinda información acerca de la sensibilidad periférica a la insulina, específicamente muscular. Los mecanismos que generan resistencia a la insulina a nivel hepático y muscular son diferentes. Se ha postulado que la resistencia a la insulina del músculo es muy parecida a la observada en el tejido ovárico en las mujeres con SOP³⁰, por lo tanto nuestros hallazgos estarían en apoyo a dicha observación.

Por otro lado, es importante mencionar que las mujeres del grupo 2 presentaron mayor secreción de insulina (ABC) y mayores concentraciones de insulina posprandial (a los 120 minutos de la administración de glucosa), con respecto al grupo 1, y que además esta respuesta de la célula β -pancreática fue más tardía. Estos datos están de acuerdo con el estado de resistencia a la insulina de las pacientes comentado previamente.

Lípidos: La hipertrigliceridemia y las menores concentraciones de colesterol de alta densidad, que frecuentemente se asocian a la resistencia a la insulina, fueron más frecuentes en el grupo 2.

Andrógenos: La hiperandrogenemia se identificó en el 85%(n=17) de todas las pacientes, ésta fue en 55%(n=11) a expensas de la testosterona total y el restante 30%(n=6) a expensas de DHEA, sin embargo a diferencia de lo reportado en la literatura no identificamos ninguna paciente con exceso de androstendiona. Observamos una correlación positiva entre la concentración de andrógenos y la concentración de insulina. La asociación entre la hiperinsulinemia y resistencia a la insulina con la hiperandrogenemia

El defecto molecular que caracteriza a la resistencia a la insulina es la alteración en la activación del receptor de insulina para iniciar la señalización intracelular mediante segundos mensajeros y cumplir sus funciones relacionadas al metabolismo de la glucosa, sin embargo preserva la funcionalidad para cumplir con sus efectos pleiotrópicos. Los estudios que han evaluado la resistencia a la insulina en tejido de músculo estriado obtenido por biopsias de mujeres con SOP, han mostrado que existe este defecto en la señalización intracelular³¹.

La insulina ejerce su acción mediante la unión a su receptor en las células de la teca y de la granulosa a nivel ovárico. La insulina actúa sola o en sinergismo con la LH para aumentar la síntesis de andrógenos en las células de la teca y la luteinización de las células de la granulosa, así como de manera sinérgica con la FSH para aumentar la producción de estrógenos³². Se ha observado que los efectos de insulina pueden ser generados también por la unión con el receptor de IGF-1 (del inglés *insulin-like growth factor-1*). Existe evidencia de que a nivel ovárico existe resistencia a la insulina preferentemente hacia los efectos metabólicos, similar a lo observado a nivel muscular, y que existe preservación de los efectos sobre la esteroidogénesis³³.

Los resultados de los estudios que han evaluado el efecto que la insulina ejerce sobre la esteroidogénesis a nivel ovárico han concluido que éstos son primordialmente en las células de la teca y que los efectos son ejercidos por

segundos mensajeros. Al parecer la insulina por sí sola o en sinergismo con la LH, es capaz de aumentar la actividad de 17-hidroxilasa del CYP17³⁴⁻³⁶. El mecanismo por el que la insulina aumenta la actividad de LH, es favoreciendo la acumulación de cAMP en la células de la teca, lo cual ejerce un efecto directo en la esteroidogénesis. La estimulación crónica de LH, insulina en ha sido implicada en la respuesta exagerada ovárica en la secreción de andrógenos.

Un punto interesante fue que en el grupo 2, con mayor resistencia a la insulina e hiperinsulinismo, se observó mayor hiperandrogenemia estadísticamente significativa a expensas de testosterona total en comparación a las mujeres del grupo 1. No hubo diferencia en relación a las concentraciones de DHEA, ni de Δ -A, sin embargo las concentraciones de ésta última fueron menores en comparación al grupo 1. Este fenómeno podría explicarse con datos generados por algunos autores que han descrito que además de existir un efecto de la insulina sobre el CYP17, puede también ejercer un efecto inhibitorio sobre la funcionalidad de la enzima 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (HSD3B) ocasionando menor biotransformación de los esteroides Δ 5 a Δ 4³⁷.

Los efectos de la insulina en la producción de andrógenos por la suprarrenal son menos claros, al parecer la insulina en la suprarrenal funciona en sinergismo con la ACTH para aumentar la producción de andrógenos y no se ha asociado con una disregulación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal³⁸.

También se ha estudiado por distintos grupos el estado de heterocigocidad de mutaciones del CYP21 y no se ha encontrado asociación con las concentraciones de 17 α -OHP₄.

Por otro lado, la insulina puede modificar la pulsatilidad de las células generadoras de GnRH modificando la secreción de LH y FSH. Sin embargo en nuestras pacientes, no hubo diferencias entre ambos grupos con respecto a las concentraciones de LH ni de la relación LH/FSH.

Los datos obtenidos en nuestro estudio permiten proponer que la hiperinsulinemia y el disinsulinismo, consecuencia de la resistencia a la insulina, podrían ser factores que actúen principalmente a nivel ovárico para favorecer un mayor grado de hiperandrogenemia.

El efecto en la reducción de insulina ha mostrado que las concentraciones de andrógenos en las mujeres con SOP. Nestler y colaboradores observaron que al disminuir las concentraciones de insulina con diazóxido en mujeres con SOP, disminuyeron la concentración de testosterona e incrementó la de SHBG³⁹.

Se han diseñado diversos estudios con el objetivo de evaluar el efecto de la reducción y corrección de la hiperinsulinemia sobre la producción ovárica de andrógenos. Se ha descrito que los agentes sensibilizadores como la metformina y las tiazolidinedionas, reducen los niveles de andrógenos, aumentan las concentraciones de SHBG y restauran los ciclos ovulatorios en mujeres con SOP.

En estos estudios la característica de todos es que las concentraciones de 17 α -OHP₄ en promedio son menores a 2ng/mL a diferencia de nuestro estudio. Las concentraciones a los 60 minutos posteriores a la administración de ACTH fueron menores al finalizar el tratamiento con metformina, lo que sugiere que las anomalías aparentes en la actividad 17,20 desmolasa mejoran en paralelo con la reducción en la concentración de insulina³⁹. En la actualidad existe evidencia de que tanto la metformina como las tiazolidinedionas, inhiben directamente la esteroidogénesis de las células de la teca^{40, 41}.

Dentro de las fortalezas de este estudio podemos mencionar que las pacientes estuvieron pareadas por edad e IMC, debido a que estas dos variables pueden influir en la presencia de resistencia a la insulina de manera independiente, de tal manera que se controla una distribución sesgada de ambas variables que interfiere con la interpretación de los datos. Se utilizó el criterio diagnóstico más estricto, con un fenotipo homogéneo. Esto es adecuado para interpretar los estudios hormonales y metabólicos, aunque limita la generalización de los datos a pacientes con fenotipos de SOP diferentes.

Otro punto relevante, es que no se realizó cuantificación de 17 α -hidroxipregnenolona (mejor indicador de la deficiencia de HSD3B) y que no se realizó estimulación con ACTH en las pacientes del grupo 1. Creemos que sería importante evaluar en este grupo la respuesta en términos de andrógenos para poder comparar a ambos grupos y definir si las mayores concentraciones de 17 α -hidroxiprogesterona son solo en condiciones basales o existe diferencia en la respuesta a ACTH, lo cual podría plantear la posibilidad de participación suprarrenal.

Finalmente, si consideramos los distintos fenotipos de SOP que se han descrito en los últimos años, debemos puntualizar que nuestras pacientes sólo tienen algunos de los fenotipos caracterizados por la disfunción ovárica (alteraciones menstruales en todas ellas) con hiperandrogenismo y/o hiperandrogenemia, por lo que nuestras observaciones pueden ser solo aplicables para este grupo de pacientes.

Los resultados de este trabajo muestran que las mujeres con SOP con mayores concentraciones de 17-OHP₄ tienen mayor resistencia a la insulina y disinsulinismo. Además de existir correlación directa entre las concentraciones de esta hormona y el estado de la insulina en las mujeres con SOP. Diversa evidencia muestra que existe plausibilidad biológica de que la insulina actúe a diversos niveles para favorecer una mayor producción ovárica de 17-OHP₄.

Conclusiones

Las mujeres con SOP con concentraciones de 17 α - hidroxiprogesterona ≥ 2 ng/mL en condiciones basales tienen en mayor proporción resistencia a la insulina e hiperinsulinismo compensatorio. Es necesario identificar la presencia de resistencia periférica a la insulina e hiperinsulinismo. Se requieren estudios prospectivos que evalúen intervenciones que tengan como objetivo el mejorar la resistencia a la insulina y sus efectos sobre las concentraciones de los andrógenos en condiciones basales

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Stein I, Leventhal M. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935; 29:181–5.
- 2.- Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GR, eds. *Polycystic ovary syndrome*. Boston, MA: Blackwell Scientific Publications, 1992:377–84.
- 3.- ESHRE/ASRM. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81:19–25.
- 4.- Azzis R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report, 2009; 91(2): 456-88.
- 5.- Diamanti-Kanarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, Filandra FA, Tsianateli TC, Spina GC et al. A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. *J ClinEndocrinolMetab*, 1999; 84(11): 4006-11.
- 6- Asunción M, Calvo RM, San Millán JL, Sancho J, Avila S, Escobar-Morreale HF. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *J ClinEndocrinolMetab*, 2000; 85(7): 2434-8.
- 7.-Azzis R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The Prevalence and Features of the Polycystic Ovary Syndrome in an Unselected Population. *Endocrine Care*, 2004; 89(6): 2745-9.
- 8.- Kumarapeli V, Seneviratne R de A, Wijeyaratne CN, Yapa RMSC, Dodampahala SH. A Simple Screening Approach for Assessing Community Prevalence and Phenotype of Polycystic Ovary Syndrome in a Semiurban Population in Sri Lanka. *American Journal of Epidemiology* 2008; 168 (3): 321-8.
- 9.- Moran C, Tena G, Moran S, Ruiz P, Reyna R, Duque X. Prevalence of polycystic ovary syndrome and related disorders in Mexican women. *GynecolObstet Invest*, 2010; 69(4): 274-80.
- 10.-March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DIW, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Human Reproduction*, 2010; 25(2): 544-51.
- 11- Gabrielli L, Aquino Estela ML. Polycystic ovary syndrome in Salvador, Brazil: a prevalence study in primary healthcare. *BiolEndocrinol*, 2012; 96 (10): 1-10.

- 12.- Goodarzi M, Quiñones MJ, Azzis R, Rotter JI, Hsue WA, Yang H. Polycystic ovary syndrome in Mexican-Americans: prevalence and association with the severity of insulin resistance, 2005; 84(3): 766-8.
- 13.-Azzis R, Hincapie LA, Knochenhauer ES, Dewailly K, Fox L, Boots LR. Screening for 21-hydroxylase-deficient nonclassic adrenal hiperplasia among hyperandrogenic women: a prospective study. *Fertility and Sterility*, 1999; 72 (5): 915-25.
- 14.-Escobar-Morreale HF, Sanchón R, San Millán JL. A Prospective Study of the Prevalence of Nonclassical Congenital Adrenal Hyperplasia among Women presenting with Hyperandrogenic Symptoms and Signs. *J ClinEndocrinolMetab*, 2008; 93 (2): 527-33.
- 15.-Pall M, Azzis R, Beires J, Pignatelli D. The phenotype of hirsute women: a comparision of polycystic ovary syndrome and 21-hidroxilase-deficient nonclassic adrenal hiperplasia. *Fertility and Sterility*, 2010; 94 (2): 684-9.
- 16.- Settas N, Dracopoulou-Vabouli M, Dastamani A, Katsikis I, Chrousos G, Panidis D. *CYP21A2* Mutations in Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *HormMetab Res*, 2013; 45: 383-6.
- 17.-Glintborg D, Hermann AP, Brusgaard K, Hangaard J, Hagen C, Andersen M. Significantly Higher Adrenocorticotropin-Stimulated Cortisol and 17-Hydroxyprogesterone Levels in 337 Consecutive, Premenopausal, Caucasian, Hirsute Patients Compared with Healthy Controls. *J ClinEndocrinolMetab*, 2005; 90 (3): 1347-53.
- 16.-Azziz R, Black V, Hines G.A, Fox L.M, Boots L.R. Adrenal Androgen Excess in the Polycystic Ovary Syndrome: Sensitivity and Responsivity of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998; 83(7): 2317-23.
- 17.- Moran C, Reyna R, Boots L.S, Azziz R. Adrenocortical hyperresponsiveness to corticotropin in polycystic ovary syndrome patients with adrenal androgen excess. *Fertility and Sterility*, 2004; 81(1): 126-30.
- 18.-Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL. Polycystic Ovary Syndrome as a Form of Functional Ovarian Hyperandrogenism Due to Dysregulation of Androgen Secretion.*EndocrineReviews*, 1995; 16 (3): 322-53.
- 19.-Rosenfield RL, Barnes RB, Ehrmann DA. Studies of the Nature of 17-Hydroxyprogesterona Hyperresponsiveness to Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Challenge in Functional Ovarian Hyperandrogenism, 1994; 79 (6): 1686-92.

- 20.-Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin Resistance and the Polycystic Ovary Syndrome Revisited: An Update on Mechanisms and Implications. *Endocrine Reviews*, 2012; 33(6): 981–1030.
- 21.- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski As, Naylor BA, Treacher Df, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia* 1985; 28:412-9.
- 22.-Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, Quong MJ. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurated method fro assessing sensitivity in humnas. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 2402-10.Guerrero-
- 23.- Romero F, Simental-Mendía LE, González-Ortiz M, Martínez-Abundis E, Ramos-Zavala MG, Hernández-González SO. The Product of Triglycerides and Glucose, a Simple Measure of Insulin Sensitivity.ComparisonwiththeEuglucemi-HyperinsulinemicClamp, 2010; 95(7): 3347-51.
- 24.- Matsuda M, DeFronzo A. insulin sensitivity index obtained from oral glucose tolerance: comparison with the euglycemic clamp. *Diabetes Care* 1999; 1462-70.
- 25.- America Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes 2013. *Diabetes Care* 2013; 36(Supp1):S11-66.
- 26.- Dunaif A, Green G, Phelps RG, Lebwohl M, Futterweit W, Lewy L. Acanthosis nigricans, insulin action, and hyperandrogenism: clinical, histological, and biochemical findings. *J Clin Endocrinol Metab*1991; 73:590-5.
- 27.- Azzis R. Prevalence of insulin resistance in PCOS patients using the Homeostatic Measurement Assesment (HOMA-IR).*J Clin Endocrinol Metab* 2003; 80 (Suppl 3):S274-5.
- 28.- DeUgarteCM, Bartolucci AA, Azzis R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary síndrome using the homeostatic model assessment. *Fertil Steril* 2005; 83:1454-60.
- 29.- Kauffman RP, Baker VM, Dimarino P, Gimpel T, Castracane VD. Polycystic ovarian syndrome and insulin resistance in white and Mexican American women: a comparison of two distinct populations. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187:1362-9.
- 30.- Rice S, Christoforidis N, Gadd C, Nikolaou D, Seyani L, Donaldson A, Margara R, Hardy K, Franks S. Impaired insulin-dependent glucose metabolism in granulosa-lutein cells from anovulatory women with polycystic ovaries. *Hum Reprod* 2005; 20:373–81.

- 31.- Corbould A, Kim YB, Youngren JF, Pender C, Kahn BB, Lee A, Dunaif A. Insulin resistance in the skeletal muscle of women with PCOS involves intrinsic and acquired defects in insulin signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288:E1047–54.
- 32.- Rice S, Christoforidis N, Gadd C, Nikolaou D, Seyani L, Donaldson A, et al. Impaired insulin-dependent glucose metabolism in granulosa-lutein cells from anovulatory women with polycystic ovaries. *Hum Reprod* 20:373–381.
- 33.- Wu XK, Zhou SY, Liu JX, Pöllänen P, Sallinen K, Mäkinen M, Erkkola R. Selective ovary resistance to insulin signaling in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003; 80:954–965.
- 34.- Nestler JE, Kakubowicz DJ. Lean women with polycystic ovary syndrome respond to insulin reduction with decrease in ovarian P450C17 α activity and serum androgens. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 81: 4075-9.
- 35.- Nelson-Degrave VL, Wickenheisser JK, Hendricks KL, Asano T, Fujishiro M, Legro RS, Kimball SR, Strauss 3rd JF, McAllister JM. Alterations in mitogen-activated protein kinase and extracellular regulated kinase signaling in theca cells contribute to excessive androgen production in polycystic ovary syndrome. *Mol Endocrinol* 2005; 19:379–390.
- 36.- Weitsman SR, Agarwal SK, Magoffin DA. Insulin augmentation of 17 α -hydroxylase activity is mediated by phosphatidyl inositol 3-kinase but not extracellular signal-regulated kinase-1/2 in human ovarian theca cells. *Endocrinology* 2004; 145:175–183.
- 37.- . Carbanaru G, Prasad P, Sciccia B, Shea P, Hopwood N, Ziai F, et al. The hormonal phenotype of non-classic 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD3B) deficiency in hyperandrogenic females is associated with insulin resistant polycystic ovary syndrome and is not a variant of inherited HSD3B deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 783-94.
- 38.- Dunaif A, Graf M. Insulin administration alters gonadal steroid metabolism independent of changes in gonadotropin secretion in insulin-resistant women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1989; 83:23–9.
- 39.- . Nestler JE, Kakubowicz DJ. Decreases in ovary cytochrome P450c17 α activity and serum free testosterone after reduction of insulin secretion. *N Eng J Med* 1996; 335: 617-23.
- 40.- . Velazquez EM, Mendoza S, Hamer T, Sosa F, Glueck CJ. Metformin therapy in polycystic ovary syndrome reduces hyperinsulinemia, insulin resistance, hyperandrogenemia, and systolic blood pressure, while facilitating normal menses and pregnancy. *Metabolism* 1994; 43:647–54.

41.- Dunaif A, Scott D, Finegood D, Quintana B, Whitcomb R. The insulin-sensitizing agent troglitazone improves metabolic and reproductive abnormalities in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3299–306.