

Síndrome de ovario poliquístico: del diagnóstico clínico y ecográfico al molecular

Polycystic ovary syndrome: from clinical and echographic to molecular diagnosis

CAMILO ANDRÉS AGUDELO-VÉLEZ¹, LINA MARÍA MARTÍNEZ-SÁNCHEZ², GABRIEL JAIME RENDÓN-PEREIRA³.
Forma de citar: Agudelo CA, Martínez LM, Rendón GJ. Síndrome de ovario poliquístico: del diagnóstico clínico
y ecográfico al molecular. Rev CES Med 2010;24(1):53- 62

RESUMEN

El síndrome de ovario poliquístico es una endocrinopatía común y de etiología desconocida, que afecta hasta el 10 % de las mujeres, y cuyas manifestaciones clínicas incluyen irregularidades menstruales, signos de hiperandrogenismo y obesidad. Se ha encontrado asociación con resistencia a la insulina, con incremento del riesgo de diabetes mellitus tipo 2 y eventos cardiovasculares. Así mismo, se describe riesgo de preeclampsia, hiperplasia endometrial, cáncer endometrial e infertilidad. Este síndrome es un desorden heterogéneo, con evidencia genética basada en estudios de familias con herencia autosómica dominante y se ha identificado un alto número de genes candidatos, tres de los más estudiados han sido el gen del receptor de insulina, la región codificadora de globulina fijadora de hormonas sexuales y el gen relacionado con el receptor de andrógenos.

-
- 1 Médico y Cirujano. Candidato a MSc Administración en Salud. Escuela de Ciencias de la Salud. Clínica Universitaria Bolivariana. Grupo de investigación: Ginecología y Obstetricia. Escuela de Ciencias de la Salud UPB
 - 2 Bacterióloga. Especialista en Hematología. Escuela de Ciencias de la Salud. Clínica Universitaria Bolivariana. Grupo de investigación: Ginecología y Obstetricia. Escuela de Ciencias de la Salud UPB
 - 3 Residente Segundo año de Ginecología y Obstetricia UPB.

Recibido: marzo de 2010. Revisado: mayo 5 de 2010. Aceptado: mayo 10 de 2010

PALABRAS CLAVE

Síndrome de ovario poliquístico

Genética

Receptor de insulina

Técnicas diagnósticas

ABSTRACT

The polycystic ovary syndrome is a common endocrine disorder of unknown etiology, which affects 10% of the women, whose clinical manifestations include menstrual irregularities, signs of hyperandrogenism and obesity. It has been found associations with resistance to the insulin with increase risk of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. Likewise risk is described of preeclampsia, endometrial hyperplasia, endometrial cancer and infertility. This syndrome is a heterogeneous disorder, with genetic evidence based on studies of families with inheritance autosomal dominant and has themselves identifying a high candidates genes number. Three of the most studied have been the gene of the receiver of insulin, the region encode of sex hormone binding globulin and the gene related to the receiver of androgens.

KEY WORDS

Polycystic ovary syndrome

Genetics

Insulin receptor

Diagnostic Technics

INTRODUCCIÓN

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es el desorden endocrino más común de las mujeres

en edad reproductiva, caracterizado por hiperandrogenismo y anovulación crónica. Aunque su causa es desconocida, en su etiopatología se ha asociado cada día más la resistencia a la insulina debido a un defecto en el receptor de dicha hormona. Su prevalencia varía entre 5 - 10 % en la edad reproductiva (1,2). En 1990, el "National Institute of Child Health and Human Development" (NIH/NICHD) estableció por consenso los criterios del SOP, haciéndole énfasis a los trastornos menstruales (oligomenorreas o amenorreas) y a los signos de hiperandrogenismo (hirsutismo y acné) y/o a la hiperandrogenemia; pero no incluía como criterio diagnóstico la presencia ecográfica de ovarios poliquísticos (3).

El abordaje conceptual se desarrollará en dos tiempos. El primero da cuenta de la descripción general de los principios diagnósticos que, hasta ahora, se encuentran en el arsenal clínico y paraclínico del profesional médico para la aproximación nosológica del síndrome. Esta perspectiva incluye los criterios diagnósticos producto del consenso de expertos y las ayudas diagnósticas complementarias como la medición basal de glucemia e insulinemia con sus respectivas correcciones y formulaciones, y los hallazgos ecográficos más representativos para orientar la impresión diagnóstica, el inicio de tratamiento y el seguimiento del mismo. El segundo, recoge los hallazgos más significativos de la literatura médica a razón de la correlación genética y molecular que explica los cambios fisiológicos y patológicos secundarios a la presentación del síndrome. Se describe el papel de los polimorfismos hallados en el receptor de insulina del tejido periférico, las alteraciones estructurales y funcionales de la proteína transportadora de hormonas sexuales y las múltiples disfunciones celulares y moleculares en la señalización, procesamiento y traducción de vías significativas, como la de la esteroidogénesis. Finalmente, la sumatoria de ambos enfoques, el diagnóstico clínico y ecográfico y el molecular, permite esbozar algunas orientaciones terapéuticas que se han citado en las conclusiones.

Por ello, el objetivo del presente artículo de revisión se centra en realizar un recorrido bibliográ-

fico no sistemático de la transición en el diagnóstico del síndrome, pasando de la ecografía y las correlaciones clínicas más representativas, a la identificación molecular de patrones heredables de susceptibilidad para el desarrollo de las manifestaciones clínicas del mismo.

GENERALIDADES DIAGNÓSTICAS

Debido al amplio espectro de síntomas y signos que acompañan dicho síndrome, en el 2003, de nuevo se reunieron los expertos en Rotterdam para tratar de definir el síndrome y se estableció que para el diagnóstico de SOP se deben cumplir dos de los tres siguientes criterios (4): oligo y/o anovulación; signos clínicos y/o bioquímicos de hiperandrogenismo; hallazgos de ovarios poliquísticos por ecografía. Se deben excluir otras causas de anovulación (enfermedades tiroideas, de la suprarrenal e hiperprolactinemia).

A diferencia del Consenso de 1990, en este último, los expertos consideran como uno de los posibles criterios de SOP, el aspecto morfológico de los ovarios en la ecografía pero cumpliendo estrictamente con uno de los siguientes criterios: presencia de 12 o más folículos en cada ovario que midan entre dos y nueve milímetros de diámetro y/o un aumento del volumen ovárico mayor de 10 ml. La presencia de un sólo ovario de aspecto poliquístico es suficiente para el diagnóstico (5,6).

Existe evidencia que sugiere que la resistencia a la insulina (RI) juega un papel significativo en la presentación clínica de este síndrome (1,7). La razón para sugerir esta relación de causalidad es la disminución de la sensibilidad a la insulina que es secundaria al efecto fisiológico de la insulina sobre la síntesis hepática de proteínas de fase aguda como la proteína C reactiva (PCR). Adicionalmente, citoquinas como IL -1, IL-6 y FNT alfa aumentan la síntesis hepática de sustancias pro inflamatorias. Los hallazgos más

recientes sugieren que existe una correlación entre la vasodilatación dependiente del endotelio y las concentraciones de PCR en mujeres con SOP que además cursan con RI. Los factores de inflamación crónica relacionados con enfermedad coronaria, como PCR y homocisteína se encuentran elevados en mujeres con SOP. El síndrome también se ha asociado con alteración en la fibrinólisis, con niveles altos del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) y de la endotelina 1, factores relacionados con la RI (8-12).

El método para medir la sensibilidad tisular a la insulina más aceptado es el *clamp* euglicémico hiperinsulinémico, considerado la prueba de oro, pero es inaplicable en la clínica por sus altos costos y complejidad, por lo cual han surgido una serie de métodos más simples. La mayor parte de estos, se basan en los valores de insulina plasmática, que varían significativamente entre distintos laboratorios, lo que aporta un grado importante de incertidumbre en las estimaciones. Entre estas pruebas, las más utilizadas son la relación glicemia/insulina en ayunas, la cual cae por debajo de 4,5 en pacientes resistentes a la insulina. Aunque desafortunadamente, este sólo da un valor en el tiempo y puede fallar en la detección de RI. Además, la relación no es válida si la función de la célula beta está deteriorada y la intolerancia ya está presente. El método *Homeostasis Model Assesment* (HOMA), desarrollado por Matthews en 1985, ha sido útil y ha correlacionado bien con los resultados del *clamp*, aunque se basa en una sola muestra de glicemia e insulinemia en ayunas: (glicemia mg/dl por insulinemia μ U/ml/405) (13-15).

Se puede considerar que probablemente 60 a 70 % de las pacientes con SOP presentarían RI y/o hiperinsulinemia según algunos estudios (15). Por otro lado, en un estudio de corte transversal, 31,1 % de las mujeres afectadas por SOP presentaba una intolerancia a la glucosa y otro 7,5 % presentaba una diabetes mellitus tipo 2. En el mismo estudio, mujeres no obesas con SOP, el 10,3 % presentaban intolerancia a la glucosa y 1,5 % fueron diabéticas; tasas tres veces más

que las mujeres normales. Por otra parte, dos estudios han demostrado que entre 21 y 27 % de las diabéticas tipo 2 en edad reproductiva presentan simultáneamente un SOP (16-18).

En Latinoamérica, más específicamente en Chile, se evaluó el metabolismo de los carbohidratos por medio de la relación glicemia/insulina en ayunas y se realizó test de tolerancia a la insulina (TTI) como marcador de resistencia a la insulina en 31 mujeres con SOP. Así, el 66,7 % de las mujeres evaluadas tuvieron una relación glicemia/insulina alterada y 61,3 % tenía TTI dos desviaciones estándar por debajo del valor normal (19).

Como se ha mencionado, la resistencia a la insulina se ha relacionado con hipertensión, diabetes y enfermedades cardiovasculares, complicaciones del SOP. Es reconocido, que la distribución de grasa visceral corporal, común en el SOP, es el mayor causante de los efectos metabólicos de resistencia a la insulina más que la obesidad por sí misma (20).

La combinación de aumento de triglicéridos y disminución de HDL está fuertemente relacionada con enfermedad cardiovascular. Diferencias significativas en los valores de los lípidos entre pacientes con SOP y grupos control, pareadas por edad o peso, se encuentran desde la pubertad (21). Se podría presentar en las mujeres con SOP en su vida adulta, un aumento del riesgo cardiovascular debido a las alteraciones de los lípidos. Las mujeres con SOP también han mostrado concentraciones elevadas del PAI-1, un potente inhibidor de fibrinólisis, el cual se considera como predictor de infarto de miocardio. La supresión de la hiperandrogenemia con el uso de análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), tiene poco efecto sobre la resistencia a la insulina y la dislipidemia, sugiriendo que las anomalías del perfil lipídico son independientes del aumento de la concentración de andrógenos. En un estudio se encontró alteraciones en los parámetros del perfil lipídico en mujeres con el síndrome: 35 % tenía aumentado el colesterol y el LDL, y 29 %

disminuido el HDL; modificaciones que las han relacionada con un aumento de la enfermedad cardiovascular (19,21-25).

Varios estudios han demostrado que las pacientes con SOP tienen un riesgo mayor de presentar preclampsia, hiperplasia endometrial y cáncer de endometrio (26,27). El desequilibrio hormonal al cual está sometida la paciente con SOP incrementa los factores de crecimiento y afecta considerablemente la función de los genes supresores, expresando una proliferación no controlada de las células endometriales.

Se ha observado también el componente familiar del síndrome que incluye alteraciones genéticas en el metabolismo y vías de regulación de la síntesis de hormonas esteroideas, regulación de la acción de la gonadotropina, vías de señalización de la insulina y vías de la regulación del peso corporal (28-33).

GENÉTICA DEL SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO

Existe evidencia del componente genético en el SOP basado en la clasificación de casos familiares y en hallazgos encontrados *in vitro* que sugieren que, aunque su expresión ocurre generalmente en la pubertad, la historia natural de la enfermedad inicia en la vida intrauterina por un ambiente de exceso de andrógenos, codificado genéticamente (34-37). La mayor parte de la evidencia se soporta en una forma de herencia autosómica dominante con baja penetrancia y expresión variable. Este modo de herencia puede ser consistente con la variabilidad de hallazgos clínicos en el SOP, sin embargo, la herencia poligénica, multifactorial o la heterogeneidad genética no pueden ser excluidas (38-40).

En el primer estudio genético se evaluaron 18 pacientes con síndrome de Stein-Levental. La

oligomenorrea, el hirsutismo y los ovarios de gran tamaño fueron mucho más comunes en hermanas de los casos que en las hermanas de los controles (38). De otra parte, en un estudio realizado en las hermanas de los casos índices, fueron clasificadas en cuatro fenotipos de SOP: pacientes con hiperandrogenemia con oligo o amenorrea crónica; un segundo fenotipo con hiperandrogenemia y ciclos menstruales regulares; otro fenotipo de mujeres sin signos clínicos o bioquímicos de hiperandrogenemia; y un último fenotipo cuyas características no aplican a los patrones anteriores (39). En un artículo reciente adicionan a los criterios del NIH/NICHD de 1993 tres fenotipos: primero mujeres con hirsutismo, hiperandrogenemia y oligoanovulación; segundo mujeres con hirsutismo y oligoanovulación; y tercero mujeres con hiperandrogenemia y oligoanovulación. La importancia de esta descripción radica en el aumento de la prevalencia de este síndrome en la población (41,42,46).

En los años 70's, la Universidad de Tennessee, publicó reportes que indicaban que el SOP podía ser heredado como un factor dominante ligado al cromosoma X. En el primer reporte describieron dos familias en las cuales varios individuos en más de dos generaciones estaban afectados. En una familia, las mujeres afectadas experimentaron infarto de miocardio en su quinta década, acantosis nigricans, resistencia a la insulina e hipertensión en varios miembros de la familia. Muchos sujetos fueron afroamericanos. Se excluyeron los casos índices y encontraron que el 47 % de las progenitoras de las mujeres afectadas también estaban enfermas. En el Reino Unido estudiaron 381 pacientes con hirsutismo y/o oligomenorrea, comparándolas con un grupo control de 179 mujeres. La tendencia fue mayor en el grupo que presentaba hirsutismo y ovarios aumentados de tamaño. De 188 pacientes con hirsutismo y ovarios grandes, en primer grado de consanguinidad, 38 tenían hirsutismo, 30 oligomenorrea y 19 infertilidad. De 96 pacientes con hirsutismo pero con ovarios de tamaño normal, presentaron 73, 15 y 20, respectivamente, con relación al primer grado de consanguinidad. En los 179 controles los resultados fueron 7, 8 y 8 respectivamente (34,38).

La utilización del criterio del ultrasonido e hiperandrogenemia o hipersecreción de hormona luteinizante (HL) para determinar la frecuencia de SOP en relación a los casos afectados también ha sido estudiada. El SOP se encontró en 87 % de las hermanas de las pacientes estudiadas y en 67 % en las madres. La frecuencia en relación a los afectados fue dramáticamente alta con respecto a 50 % que ellos tenían de predicción para la herencia autosómica dominante o ligada al cromosoma X aumentando las dudas de la especificidad de los criterios diagnósticos (38).

GENES CANDIDATOS.

Un número de genes han mostrado patrones de alteración que sugieren la expresión de anomalías genéticas en el SOP, afectando las señales de control de las vías de traducción de la expresión de algunas familias de genes, así como la expresión anormal de la codificación de un solo gen a una sola enzima esteroidogénica. Consistente con esto, estudios citogenéticos han fallado en identificar anomalías cariotípicas comunes. Una aberración observada consistentemente que se caracteriza por un punto de quiebre específico que podría indicar la localización de un gen causal (38).

Las anomalías en la esteroidogénesis son las principales características del SOP, los investigadores (39) tuvieron una larga búsqueda de ligamiento o asociación entre SOP y los varios genes involucrados en las vías de la biosíntesis de los andrógenos o en las vías metabólicas de la acción de la insulina. Los análisis de ligamiento se usan para demostrar la co-segregación de las variantes genéticas y de los *locus* de la enfermedad. Las pruebas de desequilibrio de ligamiento en familias determinan cuáles padres son heterocigotos para una enfermedad que se transmite por un alelo mutado, el cual es más común en los niños afectados que el alelo normal (39).

Asimismo, en relación con el incremento de estudios para dilucidar el componente genético,

se ha encontrado el papel protagónico de factores como la adiponectina (40) y la resistinina (41); en las poblaciones estudiadas se encuentra un incremento en los niveles de resistinina y un descenso estadísticamente significativo de la adiponectina que se relaciona inversamente al índice de masa corporal.

Receptor de andrógenos

Urbanek y col. estudiaron 150 familias y fallaron en encontrar la evidencia para la asociación del trinucleótido CAG como polimorfismo repetido en el receptor androgénico asociado al cromosoma X y el SOP. Sin embargo, este pequeño trinucleótido CAG se ha visto asociado inversamente con los niveles de andrógenos de acuerdo al número de repeticiones observadas (31).

Globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG)

Varios investigadores identificaron un polimorfismo en la región codificadora de la SHBG que está relacionada con una mutación, P156L, en cuatro de 482 mujeres con SOP, hirsutismo o disfunción ovárica. Así mismo, se demostró la asociación entre el polimorfismo (TAAAA) en la SHBG y el SOP (38).

Receptor de la insulina

Dunaif y otros investigadores encontraron que aproximadamente 50 % de las mujeres con SOP muestran un incremento en la fosforilación de serina del receptor de insulina en células de músculo esquelético y fibroblastos. En un estudio reciente, la autofosforilación del receptor de insulina se encontró disminuida en ovarios de mujeres con SOP (2,38,42,43). En tanto, otros estudios mostraron una asociación entre un polimorfismo de único nucleótido C/T y el dominio de tirosín-kinasa del gen del receptor de insulina y SOP (38,42,43).

Dos estudios separados han encontrado ligamiento y asociación entre un marcador (D19S884 y el cromosoma 19p 13.3) localizado cerca del

gen del receptor de insulina y SOP (42,43). En el intervalo entre el gen del receptor de la insulina y el marcador D19S884 hay un gen candidato para SOP. Este gen codifica la resistinina que es una proteína hormonal que fue descubierta en ratones por un tamizaje para genes que fueron inducidos durante la diferenciación de adipocitos y una disminución en los adipocitos maduros tratados con tiazolidinedionas. Se justifica su relación con SOP a la luz de dos razones: primero, el mapeo de las 420 kilo-bases (kb) del marcador D19S884 que muestra ligamiento y desequilibrio de ligamiento con SOP en estudios de familias y en un estudio de casos y controles. Segundo, el papel de la molécula de resistinina en la sensibilidad a la insulina que lo hace pausable como gen candidato para SOP (43,44).

El estudio del Programa Cooperativo Nacional en Investigación en Infertilidad que buscó estudios de ligamiento y asociación para determinar genes candidatos en una cohorte de familias caucásicas, evidenció por ligamiento y asociación una región del cromosoma 19p 13.3 y un estrecho ligamiento para el marcador D19S884 (45,47,48).

Así mismo, las investigaciones actuales no sólo han identificado genes candidatos, sino que además han dilucidado blancos terapéuticos. Es ese el caso de las células madre, que han sido protagónicas en la terapéutica actual dado que, en el caso particular del SOP, las células potipotenciales somáticas participan en su patogénesis (49). De igual forma, al identificarse diferentes polimorfismos asociados con el síndrome, se avanza substancialmente a la génesis del síndrome con el subsecuente mejoramiento de las técnicas diagnósticas y del pronóstico, ya que la manifestación de la alteración de la respuesta ovárica a la estimulación hormonal depende de la activación y/o supresión génica con expresiones variables (50,51) como lo demuestra el estudio de Frank y col, donde dicha expresión variable en la morfología ovárica se convierte en un marcador de asociación familiar del SOP (52).

CONCLUSIÓN

Después de hacer un recorrido por los aspectos genéticos, moleculares y hormonales del trastorno endocrino con mayor presentación clínica en mujeres jóvenes, podemos concluir la importancia genérica de determinar la transición o la inclusión diagnóstica de marcadores moleculares -que expresan un riesgo elevado de desarrollo del síndrome secundario a la activación génica por los factores ambientales- debido a la representación de grandes potencialidades médicas y terapéuticas de aplicación en el quehacer del médico general y del especialista. Con ello, se posibilita una aproximación diagnóstica integradora y completa en un futuro mediato, con fácil acceso y oportunidad para las pacientes y sus familias.

Como producto de dicha transición, emerge la necesidad de implementar medidas preventivas orientadas al cambio en los estilos de vida que incluyen el control médico de peso, actividad física regulada e ingesta calórica que responda al perfil metabólico de cada paciente. Con ello, se impacta en la salud pública en relación a la enfermedad cardiovascular, principal causa de mortalidad en nuestro medio, y permite al personal de salud establecer acciones diagnósticas tempranas, iniciar un tratamiento oportuno y propender por una rehabilitación ampliada.

REFERENCIAS

1. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In Dunaif A, Givens JR, Haseltine F, Merriam GR. Polycystic ovary syndrome. Boston: Blackwell Scientific Publications 1992; 377 – 384.
2. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanisms and implications for pathogenesis. *Endocr Rev.* 1997 Dec;18(6):774-800.

3. Jonard S, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Pigny P, Decantre C, Dewailly D. Ultrasound examination of polycystic ovaries: is it worth counting the follicles? *Hum Reprod.* 2003 Mar;18(3):598-603.
4. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004 Jan;19(1):41-7.
5. Balen AH, Laven JS, Tan SL, Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum Reprod Update* 2003 Nov-Dec;9(6):505-14
6. Hopkinson Z, Sattar N, Fleming R, Greer I. Polycystic ovarian syndrome: the metabolic syndrome comes to gynaecology. *BMJ* 1998 Aug 1;317(7154):329-32.
7. Sinha R, Fisch G, Teague B, Tamborlane WV, Banyas B, Allen K, et al. Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. *N Engl J Med.* 2002 Mar 14;346(11):802-10.
8. Kelly CC, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM, Sattar N. Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Jun;86(6):2453-5.
9. Loverro G, Lorusso F, Mei L, Depalo R, Cormio G, Selvaggi L. The plasma homocysteine levels are increased in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Obstet Invest.* 2002;53(3):157-62.
10. Atiomo WU, Bates SA, Condon JE, Shaw S, West JH, Prentice AG. The plasminogen activator system in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 1998 Feb;69(2):236-41.
11. Sampson M, Kong C, Patel A, Unwin R, Jacobs HS. Ambulatory blood pressure profiles

- and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) activity in lean women with and without the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996 Nov;45(5):623-9.
12. Diamanti-Kandaridis E, Spina G, Kouli C, Migdalis I. Increased endothelin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Oct;86(10):4666-73.
 13. Goodarzi M, Korenman S. The importance of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2003 Aug;80(2):255-8.
 14. 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 Aug;83(8):2694-8.
 15. 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 concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul;28(7):412-9.
 16. Carmina E, Koyama T, Chang L, Stanczyk F, Lobo R. Does ethnicity influence the prevalence of adrenal hyperandrogenism and insulin resistance in polycystic ovary syndrome? *Am J Obstet Gynecol*. 1992 Dec;167(6):1807-12.
 17. Farah L.A, Black VY, Zayed A, Hines GA, Azzis R. Prevalence of insulin resistance in polycystic ovary syndrome (PCOS) patients in Alabama. Abstracts of the Scientific Oral and Poster Sessions. *Fertil Steril*. 1998; 86(3): S396.
 18. Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Jan;84(1):165-9.
 19. Villaseca P, Hormaza P, Cárdenas I, Oesterreicher E, Manzur A, Arteaga E. Frecuencia de insulina-resistencia y dislipidemia en mujeres jóvenes con síndrome de ovarios poliquistico. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 1999; 64(6):431-7.
 20. Zulian E, Sartorato P, Schiavi F, Moghetti P, Castello R, Mantero F, et al. The M235T polymorphism of the angiotensinogen gene in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2005 Nov;84(5):1520-1.
 21. Douchi T, Ljuin H, Nakamura S, Oki T, Yamamoto S, Nagata Y. Body fat distribution in woman with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol*. 1995 Oct;86(4 Pt 1):516-9.
 22. Wild RA. Metabolic aspects of polycystic ovary syndrome. *Semin Reprod Endocrinol*. 1997 May;15(2):105-10.
 23. Talbott E, Guzick D, Clerici A, Berga S, Detre K, Weimer K, et al. Coronary heart disease risk factors in women with polycystic ovary syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995 Jul;15(7):821-6.
 24. Hopkinson ZE, Sattar N, Fleming R, Greer IA. Polycystic ovarian syndrome: the metabolic syndrome comes to gynaecology. *BMJ*. 1998 Aug 1;317(7154):329-32
 25. Velásquez EM, Mendoza SG, Wang P, Glucck CJ. Metformin therapy is associated with a decrease in plasma plasminogen activator inhibitor-1, lipoprotein(a), and immunoreactive insulin levels in patients with the polycystic ovary syndrome. *Metabolism*. 1997 Apr;46(4):454-7.
 26. Dahlgreen E, Johansson S, Lindstedt G, Knutsson F, Oden A, Janson PO et al. Women with polycystic ovary syndrome wedge resec-

ted in 1956 to 1965: a long-term follow-up focusing on natural history and circulating hormones. *Fertil Steril*. 1992 Mar;57(3):505-13

27. Dahlgreen E, Janson PO, Johansson S, Lapidus L, Oden A. Polycystic ovary syndrome and risk for myocardial infarction. Evaluated from a risk factor model based on a prospective population study of women. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1992 Dec;71(8):599-604.
28. Berkowitz KM. Insulin resistance and pre-eclampsia. *Clin Perinatol*. 1998 Dec;25(4):873-85
29. Legro RS, Spielman R, Urbanek M, Driscoll D, Strauss JF 3rd, Dunaif A. Phenotype and genotype in polycystic ovary syndrome. *Recent Prog Horm Res*. 1998;53:217-56.
30. Carey AH, Waterworth D, Patel K, White D, Little J, Novelli P, et al. Polycystic ovaries and premature male pattern baldness are associated with one allele of the steroid metabolism gene CYP17. *Hum Mol Genet*. 1994 Oct;3(10):1873-6.
31. Urbanek M, Woodroffe A, Ewens KG, Diamanti-Kandarakis E, Legro RS, Strauss JF 3rd, et al. Candidate gene region for polycystic ovary syndrome on chromosome 19p13.2. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Dec;90(12):6623-9.
32. Franks, S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 1995 Sep 28;333(13):853-61.
33. Ciaraldi TP, el-Roeiy A, Madar Z, Reichart D, Olefsky JM, Yen SS. Cellular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992 Aug;75(2):577-83.
34. Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Bush A, Short F, Anyaoku V, Reed MJ, et al. Improvement in endocrine and ovarian function during dietary treatment of obese women with polycystic ovary syndrome *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992 Jan;36(1):105-11.
35. Zulian E, Sartorato P, Schiavi F, Moghetti P, Castello R, Mantero F, et al. The M235T polymorphism of the angiotensinogen gene in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2005 Nov;84(5):1520-1.
36. Vink JM, Sadrzadeh S, Lambalk CB, Boomsma DI. Heritability of polycystic ovary syndrome (PCOS) in a Dutch twin-family study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Jun;91(6):2100-4.
37. Xita N, Tsatsoulis A. Review: fetal programming of polycystic ovary syndrome by androgen excess: evidence from experimental, clinical, and genetic association studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 May;91(5):1660-6.
38. Hickey Te, Legro RS, Norman RJ. Epigenetic modification of the X chromosome influences susceptibility to polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Jul;91(7):2789-91.
39. Escobar-Morreale HF, Luque-Ramírez M. The Molecular-Genetic Basis of functional hyperandrogenism and PCOS. *Endocrine Reviews*. 2005 May 26(2): 251-282.
40. Escobar-Morreale HF, Villuendas G, Botella-Carretero JJ, Alvarez-Blasco F, Sanchón R, Luque-Ramírez M, et al. Adiponectin and resistin in PCOS: a clinical, biochemical and molecular genetic study. *Hum Reprod*. 2006 Sep;21(9):2257-65.
41. Heinonen S, Korhonen S, Helisalmi S, Koivunen R, Tapanainen J, Hippeläinen M, et al. Associations between two single nucleotide polymorphisms in the adiponectin gene and polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2005 Sep;21(3):165-9.
42. Amato P, Simpson JL. The genetics of polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2004 Oct;18(5):707-18

43. Urbanek M, Legro RS, Driscoll DA, Azziz R, Ehrmann DA, Norman RJ, et al. Thirty-seven candidate genes for polycystic ovary syndrome: strongest evidence for linkage is with follistatin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Jul 20;96(15):8573-8.
44. Strauss JF 3rd, Dunaif A. Molecular mysteries of polycystic ovary syndrome. *Mol Endocrinol*. 1999 Jun;13(6):800-5.
45. Corbould A, Kim YB, Youngren JF, Pender C, Kahn BB, Lee A, et al. Insulin resistance in the skeletal muscle of women with PCOS involves intrinsic and acquired defects in insulin signaling *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005 May;288(5):E1047-54.
46. Legro RS, Kunesman AR, Demers L, Wang SC, Bentley-Lewis R, Dunaif A. Elevated dehydroepiandrosterone sulfate levels as the reproductive phenotype in the brothers of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 May;87(5):2134-8.
47. Chang WY, Knochenhauer ES, Bartolucci AA, Azziz R.. Phenotypic spectrum of polycystic ovary syndrome: clinical and biochemical characterization of the three major clinical subgroups. *Fertil Steril*. 2005 Jun;83(6):1717-23.
48. Tucci S, Futterweit W, Concepcion ES, Greenberg DA, Villanueva R, Davies TF, et al. Evidence for association of polycystic ovary syndrome in caucasian women with a marker at the insulin receptor gene locus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Jan;86(1):446-9.
49. Waterworth DM, Bennett ST, Gharani N, McCarthy MI, Hague S, Batty S, et al. Linkage and association of insulin gene VNTR regulatory polymorphism with polycystic ovary syndrome. *Lancet*. 1997 Apr 5;349(9057):986-90.
50. Tilly JL, Rueda BR. Minireview: stem cell contribution to ovarian development, function, and disease. *Endocrinology*. 2008 Sep;149(9):4307-11.
51. Simoni M, Tempfer CB, Destenaves B, Fauser BC. Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: Part I: Polycystic ovary syndrome and ovarian response.. *Hum Reprod Update*. 2008 Sep-Oct;14(5):459-84.
52. Franks S, Webber LJ, Goh M, Valentine A, White DM, Conway GS, Wiltshire S, et al. Ovarian morphology is a marker of heritable biochemical traits in sisters with polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Sep;93(9):3396-402.

