

Revisiones

POLYCYSTIC OVARY SYNDROME: NEW APPROACHES

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a highly prevalent disorder in young women and is the most common cause of female infertility due to anovulation. According to the revised 2003 consensus, this disorder can be diagnosed by the presence of two out of three characteristic features: oligo/anovulation, hyperandrogenism (clinical and/or biochemical) and polycystic ovaries. This disorder is also associated with an increased risk of type 2 diabetes mellitus and, possibly, cardiovascular disease. These associations are most likely due to a cluster of metabolic abnormalities with insulin resistance as a fundamental feature in most affected women. These metabolic comorbidities have several clinical implications. First, obese women with PCOS should be assessed for metabolic syndrome (serum glucose, lipids, blood pressure and abdominal obesity), including glucose tolerance (i.e. a serum glucose 2 hours after ingestion of a 75 g glucose load). No consensus has been reached on the utility of these test in non-obese women with PCOS. Second, long-term treatment of PCOS should focus not only on traditional outcome (regularization of menses or improvement of hirsutism) but should also attempt to reduce the risk of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. Finally, insulin-sensitizing drugs should be used as adjuvants to general lifestyle improvements (improved diet and increased exercise) to prevent these risks.

Key words: Polycystic ovary syndrome. Insulin-resistance. Cardiovascular disease. Type 2 diabetes mellitus.

Síndrome del ovario poliquístico: nuevas perspectivas

F. PAZOS Y A. RODRÍGUEZ-CABALLERO

Sección de Endocrinología. Hospital Valdecilla. Santander. Cantabria. España.

El síndrome del ovario poliquístico (SOP) es un trastorno muy prevalente, en mujeres jóvenes, que se presume como la causa más frecuente de infertilidad por anovulación. Un nuevo consenso en 2003 ha establecido como diagnóstico la presencia de 2 de los 3 criterios que caracterizan este síndrome: oligo/anovulación, hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico, y ovario poliquístico. Pero este síndrome también está asociado con un aumento en el riesgo de presentar diabetes mellitus tipo 2 y, posiblemente, enfermedad cardiovascular. En un gran porcentaje de mujeres con SOP se identifican una serie de alteraciones metabólicas o síndrome metabólico en cuya base se encuentra la resistencia a insulina. Este síndrome metabólico asociado a SOP modifica profundamente nuestro enfoque clínico y terapéutico. En primer lugar, un cribado de síndrome metabólico (glucemia basal, perfil lipídico, presión arterial y obesidad abdominal) y prueba de tolerancia a la glucosa, se recomienda en todas las mujeres con SOP y obesidad, si bien la utilidad de estos estudios no está bien determinada en el normopeso. En segundo lugar, aparte del tratamiento del hirsutismo y de la alteración menstrual, los objetivos de tratamiento se deben centrar en la prevención de la diabetes mellitus tipo 2 y posiblemente la enfermedad cardiovascular. Finalmente, en el objetivo de la prevención de diabetes mellitus tipo 2, la modificación de hábitos dietéticos y ejercicio físico son el pilar del tratamiento, y actualmente los fármacos hipoglucemiantes que aumentan la sensibilidad a insulina tienen un papel adyuvante.

Palabras clave: Síndrome del ovario poliquístico. Resistencia a la insulina. Enfermedad cardiovascular. Diabetes mellitus tipo 2.

DEFINICIÓN Y DIAGNÓSTICO

El síndrome del ovario poliquístico (SOP) es un síndrome de disfunción ovárica, un proceso heterogéneo cuyos síntomas (irregularidad menstrual, de exceso androgénico y obesidad) se expresan en las mujeres afectadas en intensidad variable y número, y su etiopatogenia es multifactorial y poligénica^{1,2}. El Consenso de Rotterdam, elaborado por un comité de expertos pertenecientes a American Society for Reproductive Medicine (ASRM) y la European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE)³, ha establecido para el diagnóstico de SOP, el cumplimiento de 2 de los 3 componentes básicos:

- Oligo y/o anovulación.
- Hiperandrogenismo (clínico y/o bioquímico).

Correspondencia: Dr. F. Pazos Toral.
Sección de Endocrinología. Hospital Marqués de Valdecilla.
39008 Santander. Cantabria. España.

Manuscrito recibido el 9-03-2004; aceptado para su publicación el 5-04-2004.

– Ovario poliquístico (OP), definido por la presencia de 12 o más folículos (diámetro entre 2 a 9 mm) y/o un volumen ovárico mayor de 10 mm³⁻⁵.

La poliquistosis ovárica no se había considerado un elemento esencial por el consenso establecido por el National Institute of Health (NIH) de Estados Unidos en 1990. El debate se centra, en primer lugar, en la dificultad técnica del diagnóstico ecográfico; en segundo lugar, en que el OP se encuentra en el 23% de mujeres no seleccionadas⁶ y, finalmente, en que el 25% de mujeres con OP son asintomáticas⁷. El cuadro mantiene, así, el calificativo de síndrome donde no es posible definirlo mediante un único criterio y, siempre, tras haber excluido otras entidades que simulan la sintomatología y fenotipo del SOP tales como la hiperprolactinemia, la hiperplasia suprarrenal congénita, los tumores productores de andrógenos o el síndrome de Cushing.

SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO Y RESISTENCIA A LA INSULINA

La prevalencia de la resistencia a la insulina (RI) y la hiperinsulinemia se sitúa entre el 50 y el 70% en mujeres diagnosticadas de SOP⁸, significativamente más alta que en la población general, del 10 al 20%^{9,10}, por lo que se les atribuye un papel importante en el síndrome. Dado que la acción de insulina es un proceso complejo, diversos mecanismos se han atribuido como causa de RI en mujeres con SOP, algunos de los cuales se presumen intrínsecos al síndrome y otros relacionados con la adiposidad, dado que la obesidad es una de las manifestaciones clínicas asociadas más frecuentes¹⁰. En estas mujeres, la acción antilipolítica aparecen alteradas, y la unión al receptor permanece intacta^{11,12}. Mutaciones en diferentes áreas en los mecanismos de acción de insulina no han resuelto las causas de RI en la mayoría de SOP¹³. La hiperinsulinemia participa en el síndrome al reducir los valores de las proteínas transportadoras de andrógenos y del factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-I)^{14,15} y al estimular la producción androgénica ovárica. Se especula como causa de acantosis nigricans o hipertecosis ovárica¹⁶, y finalmente, se relaciona la hiperinsulinemia con disfunción endotelial y dislipemia.

De las diferencias en prevalencia de RI en SOP se ha responsabilizado, por una parte, la ausencia de uniformidad en criterios diagnósticos y, por otra, de los diferentes métodos de determinación de sensibilidad a insulina empleados por los diferentes autores. Determinados índices, que resultan de operaciones matemáticas de los valores basales de insulina y glucosa (*homeostasis model assessment*, índice Quicki, etc.), aunque sujetos a las variaciones fisiológicas y problemas metodológicos en la determinación de insulina han demostrado gran especificidad y sensibilidad, comparados con el pinzamiento euglucémico hiperin-

sulinémico como método estándar, en mujeres con SOP¹⁷, por lo que se utilizan en la práctica clínica habitual.

Además de las dificultades o de la complejidad metodológica en la cuantificación de la RI, ésta se asocia a una serie de alteraciones metabólicas, como la diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión arterial, la dislipidemia (valores bajos de colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad [cHDL] y elevación de la concentración sérica de triglicéridos) y obesidad de predominio abdominal, cuya denominación es el síndrome metabólico, al que se le ha asignado el código 277.7 en la novena revisión de la Clasificación Internacional de Enfermedades (ICD-9). De entre los criterios establecidos por varios grupos, asociaciones u organizaciones, para definir el síndrome metabólico, destacan los del National Cholesterol Education Project Adult Treatment Panel (ATP) III guidelines¹⁸, ya que se asocian con un mayor nivel de evidencia. Muchos de los pacientes diagnosticados de SOP cumplirán los criterios de síndrome metabólico.

SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO Y DIABETES MELLITUS TIPO 2

Diferentes estudios epidemiológicos realizados en mujeres con SOP según los criterios de la American Diabetes Association y de la Organización Mundial de la Salud muestran una prevalencia del 35% de intolerancia a los hidratos de carbono (IHC) y del 10% de diabetes mellitus tipo 2¹⁹. Estos porcentajes se reducen al 10 y al 1,5%, respectivamente, en pacientes con SOP e índice de masa corporal menor de 27²⁰. Esta alta prevalencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono en una población tan joven se ve agravada por la observación, durante el seguimiento, de un deterioro en los parámetros metabólicos¹⁹ y una incidencia de la diabetes mellitus tipo 2^{20,21}. Las determinaciones de glucemia basal la prueba de tolerancia oral a la glucosa se han utilizado en la evaluación y el seguimiento de este grupo de riesgo, así como los criterios del síndrome metabólico, como predictores de diabetes mellitus tipo 2²².

El estudio Nurses Health (NHS) II²³, tras un seguimiento de casi 101.073 mujeres, durante aproximadamente 8 años, y utilizando como criterio de SOP la presencia de ciclos menstruales irregulares o alargados como traducción clínica de oligo/anovulación, se observó que las mujeres con alteraciones menstruales tienen un riesgo relativo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2, riesgo que aumenta en presencia de obesidad. En la misma dirección, pero en sentido contrario, se ha visto que el 26,7% de las mujeres premenopáusicas diagnosticadas de diabetes mellitus tipo 2 también lo fueron de SOP²⁴. Todo ello con importantes implicaciones en la morbilidad y mortalidad de este síndrome, como refieren Pierpoint et al²⁵, quienes, al evaluar a 786 mujeres con SOP diagnosticadas entre

1930 y 1979, y seguidas durante una media de 30 años, encontraron que la *odds ratio* (OR) de muerte relacionada con diabetes fue de 3,6.

Las evidencias califican a las mujeres con SOP como un grupo de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2, con importantes repercusiones en la morbilidad y la mortalidad de este síndrome. El consenso que deriva de estas y otras evidencias recomiendan la realización de un test de tolerancia oral a la glucosa a los pacientes con SOP y obesidad o, incluso, sin obesidad y con factores de riesgo tales como antecedentes familiares³.

SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

El SOP se asocia también con un aumento en la prevalencia de factores de riesgo conocidos de enfermedad cardiovascular (ECV) como dislipemia e hipertensión arterial. Esta alteración en la concentración sérica de lípidos²⁶, independiente de la presencia de obesidad²⁷, parece depender en gran medida de la hiperinsulinemia y de la hiperandrogenemia^{28,29}. Sin embargo, en relación con la hipertensión arterial³⁰, la obesidad se ha configurado, de manera controvertida, como un factor agravante o determinante de la asociación³¹.

Por otro lado, el SOP se asocia con una serie de marcadores, bioquímicos y funcionales, que de manera indirecta traducen la existencia del proceso aterosclerótico en cualquiera de sus fases. En pacientes con SOP, y dentro de los marcadores bioquímicos, se han encontrado valores elevados de endotelina-1³², PAI-1³³, proteína C reactiva³⁴, factores a los que se les ha atribuido capacidad predictiva de eventos cardiovasculares. Las alteraciones en la función vasodilatadora dependiente de endotelio apoyan el modelo de disfunción endotelial y SOP³⁵, ya demostrado para otros grupos de riesgo. Estas evidencias indirectas de daño vascular se continúan con la demostración, *in vivo*, mediante técnicas no invasivas, de lesiones ateroscleróticas en arterias carótidas³⁶ y coronarias³⁷, en mujeres con SOP.

Finalmente, y considerando las evidencias experimentales, grandes series de mujeres con SOP seguidas durante períodos prolongados que demuestren aumento de enfermedad o muerte de origen cardiovascular están todavía pendientes³⁸. Sin embargo, estudios que han abordado el tema de manera parcial han arrojado resultados contradictorios. El seguimiento durante 14 años de 82.439 mujeres divididas en función de la regularidad o la irregularidad del ciclo menstrual (parámetro clínico reflejo de oligo/anovulación sustituto de SOP) ha mostrado que el riesgo relativo (RR) de cualquier episodio cardiovascular fatal o no fatal aumenta en mujeres con ciclo menstrual irregular (riesgo relativo [RR] = 1,67 y 1,25, respectivamente), aunque no se han encontrado diferencias en la incidencia de epis-

dios cerebrovasculares³⁹. Por el contrario, y tras cuantificar las causas de muerte de 786 mujeres diagnosticadas de SOP, seguidas durante un período de 30 años, se encontró que, aunque el RR para mortalidad cardiovascular fue 1,5, las diferencias no alcanzaron significación estadística²⁵. Tampoco se encontró un aumento estadísticamente significativo de episodios cardiovasculares entre mujeres con SOP, aunque nuevamente, la OR fue de 1,5³¹. Se puede concluir, y sin ánimo de extendernos en este debate, que las pacientes con SOP tienen, cuando se comparan con controles, alteración en el perfil lipídico y anomalías en la funcionalidad y morfología vascular, aunque no podemos concluir en un aumento de enfermedad cardiovascular o mortalidad asociada.

TRATAMIENTO

Todo lo expuesto tiene implicaciones muy importantes en la evaluación, la prevención y el tratamiento de los síntomas y las comorbilidades asociadas. Hasta hace pocos años, el objetivo prioritario del tratamiento estaba orientado hacia la supresión de la producción androgénica y la normalización del ciclo menstrual, y se asociaba, habitualmente, la medicación antiandrogénica de eficacia frente al hirsutismo. Las medidas de control de obesidad se orientaban en la misma dirección: disminuir la producción androgénica⁴⁰. El pilar del tratamiento farmacológico eran, en consecuencia, los anticonceptivos orales (AO), con diferentes combinaciones de progestágenos, en generaciones sucesivas, y concentraciones variables de estrógenos, cuyos efectos son la regulación del ciclo menstrual y la reducción de la producción ovárica y suprarrenal de los andrógenos e incluso el bloqueo en sus acciones^{41,42}. Fármacos de conocida acción antiandrogénica, como el acetato de ciproterona⁴³, la flutamida⁴⁴, la espironolactona⁴⁵, el finasteride⁴⁶ o incluso los análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)⁴⁷ han demostrado su eficacia solos o, generalmente, en combinación con AO en el tratamiento de hirsutismo asociado a SOP. Recientemente, nuevas evidencias han puesto en duda la seguridad, la utilidad o la necesidad de este tipo de aproximaciones terapéuticas.

El tratamiento con AO, y la habitual combinación con acetato de ciproterona, inducen RI y empeoran la respuesta a la SOG, en pacientes con SOP, en presencia o no de obesidad^{48,49}. La utilización de AO se asocia con un ligero aumento en la incidencia de la diabetes mellitus tipo 2, como nos han mostrado los 2 grandes estudios de cohortes NHS I⁵⁰ y NHS II⁵¹, aunque las conclusiones no pueden aplicarse inequívocamente a mujeres con SOP. En espera de estudios realizados en mujeres con SOP, la evidencia actualmente disponible sugiere que, siendo el SOP un grupo de riesgo de diabetes mellitus tipo 2, la utilización de AO podría incrementar todavía más este riesgo. Del mis-

mo modo, igualmente en ausencia de estudios de mortalidad cardiovascular atribuidos a AO en mujeres con SOP, se ha observado, en una población no seleccionada, un riesgo aumentado de 2 a 4,7 de presentar infarto de miocardio^{52,53}, valores que aumentan de manera espectacular cuando se asocia dislipemia, hipertensión arterial o diabetes mellitus tipo 2⁵³.

Las posibles complicaciones vasculares y metabólicas asociadas a AO unido a que la RI representa un elemento básico del síndrome, la utilización de fármacos hipoglucemiantes, metformina, rosiglitazona y pioglitazona, que mejoran la acción de la insulina, parece, inicialmente, justificado. La utilidad teórica de este tipo de fármacos se centra en corregir las alteraciones metabólicas y endocrinológicas en el SOP, restableciendo la función ovulatoria normal. En general, se puede afirmar con suficiente grado de evidencia que la administración de metformina y tiazolidindionas mejora la función ovulatoria⁵⁴ (eficacia ovulatoria de metformina frente a placebo [OR = 3,88], y metformina más clomifeno frente a clomifeno [OR = 4,4]), y reduce los valores séricos de andrógenos⁵⁵⁻⁵⁷. El hirsutismo mejora ligeramente, y es necesario el tratamiento con antiandrógenos para conseguir mayor efectividad⁵⁶⁻⁵⁸. La utilización de este tipo de fármacos se asocia con una reducción de los valores séricos de insulina, proteína C reactiva⁵⁹ y otros marcadores de arteriosclerosis^{32,60} en comparación con placebo o AO, lo que sugiere una posible utilidad terapéutica en la prevención de diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular. En este sentido, se han pronunciado las recientes experiencias de prevención, en pacientes diagnosticados de intolerancia a los hidratos de carbono, mediante la utilización de metformina⁶¹ o medidas en el estilo de vida, como la dieta y la actividad física^{62,63}; estas últimas son ligeramente más eficaces que la metformina en la prevención de la diabetes mellitus tipo 2. Estas conclusiones, que pueden extrapolarse a nuestro grupo de riesgo de mujeres con SOP, sólo podrán ser finalmente confirmadas mediante estudios específicamente diseñados.

BIBLIOGRAFÍA

- Legro RS, Driscoll D, Strauss JF III, Fox J, Dunaif A. Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:14956-60.
- Rosenfield RL. Current concepts of polycystic ovary syndrome. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1997;11:307-33.
- Revised 2003 Consensus on Diagnostic Criteria and Long-Term Health Risks Related to Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004;19:41-7.
- Balen AH, Laven JS, Tan SL, Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum Reprod Update* 2003;9:505-14.
- Revised 2003 Consensus on Diagnostic Criteria and Long-Term Health Risks Related To Polycystic Ovary Syndrome. *Fertil Steril* 2004;81:19-25.
- Polson DW, Adams J, Wadsworth J, Franks S. Polycystic ovaries – A common finding in normal women. *Lancet* 1988;1:870-2.
- Swanson M, Sauerbrei EE, Cooperberg PL. Medical implications of ultrasonically detected polycystic ovaries. *J Clin Ultrasound* 1981;9:219-22.
- Carmina E, Koyama T, Chang L, Stanczyk FZ, Lobo RA. Does ethnicity influence the prevalence of adrenal hyperandrogenism and insulin resistance in polycystic ovary syndrome? *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:1807-12.
- Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-607.
- Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989;38:1165-74.
- Ciaraldi TP, Morales AJ, Hickman MG, Odom-Ford R, Olefsky JM, Yen SS. Cellular insulin resistance in adipocytes from obese polycystic ovary syndrome subjects involves adenosine modulation of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1421-5.
- Marsden PJ, Murdoch A, Taylor R. Severe impairment of insulin action in adipocytes from amenorrheic subjects with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1994;43:1536-42.
- Rui L, Aguirre V, Kim JK, Shulman GI, Lee A, Corbould A, et al. Insulin/IGF-1 and TNF-alpha stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. *J Clin Invest* 2001;107:181-9.
- Morales AJ, Laughlin GA, Butzow T, Maheshwari H, Baumann G, Yen SS. Insulin, somatotrophic, and luteinizing hormone axes in lean and obese women with polycystic ovary syndrome: common and distinct features. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:2854-64.
- Nestler JE, Powers LP, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Rittmaster RS, et al. A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:83-9.
- Mantzoros CS, Flier JS. Insulin resistance: the clinical spectrum. *Adv Endocrinol Metab* 1995;6:193-232.
- Skrha J, Haas T, Sindelka G, Prazny M, Widimsky J, Cibula D, et al. Comparison of the insulin action parameters from hyperinsulinemic clamps with homeostasis model assessment and QUICKI indexes in subjects with different endocrine disorders. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:135-41.
- Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486-97.
- Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, Cavaghan MK, Imperial J. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999;22:141-6.
- 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;84:165-9.
- Norman RJ, Masters L, Milner CR, Wang JX, Davies MJ. Relative risk of conversion from normoglycaemia to impaired glucose tolerance or non-insulin dependent diabetes mellitus in polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2001;16:1995-8.
- Lorenzo C, Okoloise M, Williams K, Stern MP, Haffner SM. The metabolic syndrome as predictor of type 2 diabetes: the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 2003;26:3153-9.
- Solomon CG, Hu FB, Dunaif A, Rich-Edwards J, Willett WC, Hunter DJ, et al. Long or highly irregular menstrual cycles as a marker for risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001;286:2421-6.
- Peppard HR, Marfori J, Iuorno MJ, Nestler JE. Prevalence of polycystic ovary syndrome among premenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001;24:1050-2.

25. Pierpoint T, McKeigue PM, Isaacs AJ, Wild SH, Jacobs HS. Mortality of women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up. *J Clin Epidemiol* 1998;51:581-6.
26. Talbott E, Clerici A, Berga SL, Kuller L, Guzick D, Detre K, et al. Adverse lipid and coronary heart disease risk profiles in young women with polycystic ovary syndrome: results of a case-control study. *J Clin Epidemiol* 1998;51:415-22.
27. Wild RA, Bartholomew MJ. The influence of body weight on lipoprotein lipids in patients with polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159:423-7.
28. Wild RA, Applebaum-Bowden D, Demers LM, Bartholomew M, Landis JR, Hazzard WR, et al. Lipoprotein lipids in women with androgen excess: independent associations with increased insulin and androgen. *Clin Chem* 1990;36:283-9.
29. Wild RA, Alaupovic P, Parker IJ. Lipid and apolipoprotein abnormalities in hirsute women. I. The association with insulin resistance. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:1191-6.
30. Dahlgren E, Johansson S, Lindstedt G, Knutsson F, Oden A, Janson PO, et al. Women with polycystic ovary syndrome wedge resected in 1956 to 1965: a long-term follow-up focusing on natural history and circulating hormones. *Fertil Steril* 1992;57:505-13.
31. Wild S, Pierpoint T, McKeigue P, Jacobs H. Cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up: a retrospective cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000;52:595-600.
32. Diamanti-Kandarakis 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;86:4666-73.
33. Ehrmann DA, Schneider DJ, Sobel BE, Cavaghan MK, Imperial J, Rosenfield RL, et al. Troglitazone improves defects in insulin action, insulin secretion, ovarian steroidogenesis, and fibrinolysis in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2108-16.
34. 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;86:2453-5.
35. Paradisi G, Steinberg HO, Hempfling A, Cronin J, Hook G, Shepard MK, et al. Polycystic ovary syndrome is associated with endothelial dysfunction. *Circulation* 2001;103:1410-5.
36. Talbott EO, Guzick DS, Sutton-Tyrrell K, McHugh-Pemu KP, Zborowski JV, Remsberg KE, et al. Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2414-21.
37. Christian RC, Dumesic DA, Behrenbeck T, Oberg AL, Sheedy PF, Fitzpatrick LA. Prevalence and predictors of coronary artery calcification in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2562-8.
38. Legro RS. Polycystic ovary syndrome and cardiovascular disease: a premature association? *Endocr Rev* 2003;24:302-12.
39. Solomon CG, Hu FB, Dunaif A, Rich-Edwards JE, Stampfer MJ, Willett WC, et al. Menstrual cycle irregularity and risk for future cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2013-7.
40. Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Seppala M, Koistinen R, James VH, Reed MJ, et al. Diet-induced changes in sex hormone binding globulin and free testosterone in women with normal or polycystic ovaries: correlation with serum insulin and insulin-like growth factor-I. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1989;31:757-63.
41. Kim MH, Rosenfield RL, Hosseini AH, Schneir HG. Ovarian hyperandrogenism with normal and abnormal histologic findings of the ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1979;134:445-52.
42. Burkman RT Jr. The role of oral contraceptives in the treatment of hyperandrogenic disorders. *Am J Med* 1995;98:S130S-6.
43. Venturoli S, Marescalchi O, Colombo FM, Macrelli S, Ravaio-li B, Bagnoli A, et al. A prospective randomized trial comparing low dose flutamide, finasteride, ketoconazole, and cyproterone acetate-estrogen regimens in the treatment of hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1304-10.
44. Pazos F, Escobar-Morreale HF, Balsa J, Sancho JM, Varela C. Prospective randomized study comparing the long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist triptorelin, flutamide, and cyproterone acetate, used in combination with an oral contraceptive, in the treatment of hirsutism. *Fertil Steril* 1999;71:122-8.
45. Farquhar C, Lee O, Toomath R, Jepson R. Spironolactone versus placebo or in combination with steroids for hirsutism and/or acne. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;CD000194.
46. Moghetti P, Tosi F, Tosti A, Negri C, Misciali C, Perrone F, et al. Comparison of spironolactone, flutamide, and finasteride efficacy in the treatment of hirsutism: a randomized, double blind, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:89-94.
47. Azziz R, Ochoa TM, Bradley EL Jr, Potter HD, Boots LR. Leuprolide and estrogen versus oral contraceptive pills for the treatment of hirsutism: a prospective randomized study. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3406-11.
48. Morin-Papunen L, Vauhkonen I, Koivunen R, Ruokonen A, Martikainen H, Tapanainen JS. Metformin versus ethinyl estradiol-cyproterone acetate in the treatment of nonobese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:148-56.
49. Morin-Papunen LC, Vauhkonen I, Koivunen RM, Ruokonen A, Martikainen HK, Tapanainen JS. Endocrine and metabolic effects of metformin versus ethinyl estradiol-cyproterone acetate in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3161-8.
50. Rimm EB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Rosner B, et al. Oral contraceptive use and the risk of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in a large prospective study of women. *Diabetologia* 1992;35:967-72.
51. Chasan-Taber L, Willett WC, Stampfer MJ, Hunter DJ, Colditz GA, Spiegelman D, et al. A prospective study of oral contraceptives and NIDDM among U.S. women. *Diabetes Care* 1997;20:330-5.
52. WHO Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception. Acute myocardial infarction and combined oral contraceptives: results of an international multi-centre case-control study. *Lancet* 1997;349:1202-9.
53. Tanis BC, Van den Bosch MA, Kemmeren JM, Cats VM, Helmerhorst FM, Algra A, et al. Oral contraceptives and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;20:1787-93.
54. Lord JM, Flight IH, Norman RJ. Insulin-sensitising drugs (metformin, troglitazone, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;CD003053.
55. Azziz R, Ehrmann D, Legro RS, Whitcomb RW, Hanley R, Fereshtian AG, et al. Troglitazone improves ovulation and hirsutism in the polycystic ovary syndrome: a multicenter, double blind, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1626-32.
56. Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, et al. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:139-46.
57. Nestler JE, Jakubowicz DJ, Reamer P, Gunn RD, Allan G. Ovulatory and metabolic effects of D-chiro-inositol in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1999;340:1314-20.
58. Gambineri A, Pelusi C, Genghini S, Morselli-Labate AM, Cacciari M, Pagotto U, et al. Effect of flutamide and metformin administered alone or in combination in dieting obese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004;60:241-9.

59. Morin-Papunen L, Rautio K, Ruokonen A, Hedberg P, Puukka M, Tapanainen JS. Metformin reduces serum C-reactive protein levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4649-54.
60. Nordt TK, Peter K, Bode C, Sobel BE. Differential regulation by troglitazone of plasminogen activator inhibitor type 1 in human hepatic and vascular cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1563-8.
61. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002;346:393-403.
62. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001;344:1343-50.
63. Lindstrom J, Louheranta A, Mannelin M, Rastas M, Salminen V, Eriksson J, et al. The Finnish Diabetes Prevention Study (DPS): Lifestyle intervention and 3-year results on diet and physical activity. *Diabetes Care* 2003;26:3230-6.