

SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO: IMPACTO EN LA SALUD REPRODUCTIVA Y MATERNO FETAL.

POLYCYSTIC OVARY SYNDROME: IMPACT ON REPRODUCTIVE AND MATERNAL- FETAL HEALTH.

Carolina, Fux-Otta,^{1,2} Gabriel S. Iraci,³ Paula, Szafryk de Mereshian¹ Marta Fiol de Cuneo⁴

Resumen:

El síndrome de ovario poliquístico (SOP), se caracteriza por hiperandrogenismo (H), oligoanovulación (O) y/u ovarios poliquísticos (P). Actualmente existe escasa información sobre las complicaciones perinatales. Objetivo: investigar las características obstétricas y neonatales en mujeres con SOP de nuestra población. Material y Métodos: estudiamos 87 embarazadas con SOP (categorizadas en cuatro fenotipos según Consenso de Rotterdam: A (H+O+P) n=53; B (H+O) n=9; C (H+P) n=16 y D (O+P) n=9) y 96 sin SOP (control). Analizamos características clínicas y bioquímicas (edad, antropometría, hirsutismo, acantosis nigricans, PTOG, insulinemia, perfil lipídico, andrógenos y gonadotrofinas) pre-concepcionales y gestacionales (ganancia ponderal, presión arterial, PTOG y complicaciones obstétricas y neonatales). Resultados: no hallamos diferencias en la edad (29.4±4 y 28.7±5 años) ni el índice de masa corporal (28.2±6 y 27.8±6 kg/m²) en ambos grupos; mientras que las pacientes con SOP presentaron mayor circunferencia de cintura, presión arterial y acantosis nigricans respecto al control. A pesar de la similar ganancia de peso, las pacientes con SOP presentaron mayor porcentaje de complicaciones perinatales (86 vs 32%, p=0.007). En el fenotipo A el RR para resultados adversos materno-neonatales fue de 2.37 (IC:1.67-3.36, p<0.001). El índice HOMA-IR pre-concepción y la glucemia de ayuno durante el embarazo fueron las variables predictoras de dichas complicaciones (p=0.01). Conclusión: las pacientes con SOP tienen mayor riesgo de padecer complicaciones durante el embarazo y mayor frecuencia de recién nacidos tanto de bajo peso como macrosómicos. Una cuidadosa historia clínica permite reconocer a las pacientes con mayores condiciones de presentar compromiso perinatal.

Palabras claves: Síndrome de ovario poliquístico, complicaciones obstétricas y neonatales.

Abstract:

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is characterized by hyperandrogenism (H), oligo-anovulation (O) and / or polycystic ovaries (P). There is currently little information on perinatal complications. Objective: to investigate obstetric and neonatal characteristics of women with PCOS in our population. Material and Methods: we studied 87 pregnant women with PCOS (categorized in four phenotypes according Rotterdam Consensus: A (H + O + P) n = 53; B (H + O) n = 9; C (H + P) n = 16 and D (O + P) n = 9) and 96 without PCOS (control). We analyzed clinical and biochemical features (age, anthropometry,

1-Dpto de Endocrinología y Diabetes Hospital Universitario de Maternidad y Neonatología de Córdoba. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba. Argentina.

2 - Instituto Universitario de medicina Reproductiva (IUMER). Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba - argentina

3 - Cátedra de Farmacología Aplicada. Hospital Nacional de Clínicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba. Argentina.

4 - Cátedra de Fisiología Humana. Laboratorio de Reproducción. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba. Argentina.

Correspondencia a: Dra Carolina, Fux-Otta

Dirección postal: Rodríguez Peña 285. Córdoba Capital. Argentina. CP: 5000

Tel-FAX: (0351-4331050/51)

Correo electrónico: endofux@yahoo.com.ar

Financiación: Fundación Florencio Fiorini

hirsutism, acanthosis nigricans, OGTT, insulin, lipid profile, androgen and gonadotropins) during pre-conception, (weight gain, blood pressure, OGTT) through gestation and occurrence of perinatal complications. Results: we found no differences in age (29.4 ± 4 and 28.7 ± 5 years) and body mass index (28.2 ± 6 and 27.8 ± 6 kg / m²) in both groups; while patients with PCOS had higher waist circumference, blood pressure and acanthosis nigricans versus control. Despite similar weight gain, patients with PCOS had higher percentage of perinatal complications. In the A phenotype RR for perinatal adverse outcomes was 2.37 (95%CI: 1.67-3.36, $p < 0.001$). The HOMA-IR index pre-conception and fasting glucose during pregnancy were the predictors for these complications ($p=0.01$). Conclusion: patients with PCOS have a higher risk for complications during pregnancy and newborns more frequently have low weight or macrosomy. A careful history can recognize patients with higher perinatal risk to develop complications.

Key words: polycystic ovary syndrome, pregnancy and neonatal complications

Introducción:

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es una disfunción endócrino-metabólica altamente prevalente en las mujeres de edad reproductiva, con una prevalencia estimada entre el 5-18%¹⁻⁵. Se caracteriza por hiperandrogenismo (H), oligo-anovulación crónica (O) y/u ovarios poliquísticos (P)⁶. En los últimos años, el diagnóstico se realiza siguiendo las directrices del Consenso de Rotterdam, a partir del cual surgen los fenotipos del síndrome. Luego de excluir otras causas de hiperandrogenismo y anovulación, el diagnóstico se establece con 2 de los 3 elementos mencionados; desprendiéndose cuatro fenotipos o grupos de pacientes: Fenotipo A (clásico con morfología de ovario poliquístico): H+O+P; Fenotipo B (clásico con ovarios normales): H+O; Fenotipo C (ovulador): H+P y Fenotipo D (normoandrogénico): O+P⁷. Si bien existe escasa información sobre las diferencias endócrinas y metabólicas de los diferentes fenotipos, recientemente hemos estudiado la expresión de los diferentes grupos en dos poblaciones latinoamericanas, demostrando que las formas más severas son las clásicas (A y B) y que las características clínicas se pueden modificar no sólo con fármacos insulinosensibilizantes, sino también con cambios en el estilo de vida^{8,9}. En la actualidad, si bien no se conoce con certeza su etiología se jerarquiza a la hipótesis de la insulino resistencia (IR) como la principal determinante del síndrome y debido

a esta asociación las pacientes tienen mayor riesgo de presentar complicaciones metabólicas a edades más precoces que la población general⁶. Durante el embarazo, al existir un estado de IR fisiológico, es probable que se exacerbe la pre-existente en las mujeres con SOP pudiendo desencadenar alteraciones en esta etapa de la vida¹⁰. Si bien existe escasa información, se han descrito una serie de complicaciones obstétricas, entre las cuales se destacan el aborto temprano, la diabetes gestacional y los síndromes hipertensivos¹¹. Nuevas investigaciones postulan que la exposición in útero al exceso de andrógenos podría resultar en recién nacidos pequeños para la edad gestacional, consecuencia de la reprogramación fetal¹².

En la actualidad, se cuestionan los estudios que estiman las complicaciones durante el embarazo en las mujeres con SOP y según Palomba S y col las mismas podrían variar según los diferentes fenotipos del síndrome¹³. Al no existir estudios en nuestra población que evalúen los efectos de la asociación del SOP con el embarazo y la implicancia en los diferentes fenotipos, sería prematuro asumir que todas las pacientes tienen el mismo riesgo de desarrollar complicaciones materno-neonatales. Por este motivo, el objetivo del presente estudio fue describir y analizar en nuestra población las características obstétricas y neonatales de las pacientes con diagnóstico

de SOP según el Consenso de Rotterdam y compararlas con un grupo control.

Materiales y Métodos:

El presente estudio, clínico observacional de casos y controles se desarrolló en el Departamento de Endocrinología y Diabetes del Hospital Universitario de Maternidad y Neonatología de Córdoba (HUMN). Las embarazadas que participaron fueron divididas en dos grupos según la condición pre-concepcional: uno con diagnóstico de SOP- definido según los criterios del Consenso de Rotterdam- y dividido en los cuatro fenotipos (Grupo SOP: A, B, C y D) y otro constituido por embarazadas que no tuvieran H, O ni P (Grupo Control). En ambos grupos se incluyeron embarazadas entre 18 y 35 años, primigestas, embarazos únicos y espontáneos. Las pacientes con antecedentes de tratamientos de reproducción asistida, terapia farmacológica que afecte los parámetros endócrino-metabólicos (metformina, estatinas, antiandrógenos), diagnóstico de hipertensión arterial o diabetes pre-gestacional, hipotiroidismo sin tratamiento, hiperprolactinemia, hiperplasia suprarrenal congénita, Síndrome de Cushing o tumores virilizantes fueron excluidas; así como aquellas que referían consumo de tabaco, alcohol y/o drogas. Todas las participantes firmaron el consentimiento informado, el cual fue diseñado de acuerdo a la Declaración de Helsinki y aprobado por el Comité Ética del HUMN.

Protocolo: las pacientes que ingresaron al protocolo de estudio se les completó una historia clínica donde se detallaron las características clínicas (índice de masa corporal (IMC= peso/talla²), circunferencia de cintura, presión arterial (PA), acantosis nigricans e hirsutismo), bioquímicas (Prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG), insulinemia, testosterona total, Δ 4-Androstenediona, dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S), globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG), índice de andrógenos libres (IAL), hormona luteinizante (LH) y hormona folículo-estimulante (FSH) y ultrasonográficas (morfología ovárica) previas al embarazo. Se interrogó sobre antecedentes en familiares de 1° grado con hipertensión arterial y diabetes tipo 2. Durante el 1° trimestre de gestación se citaron a las pacientes cada dos semanas y luego mensualmente hasta finalizar el embarazo. Las

pacientes que estaban cumpliendo con medidas higiénico-dietéticas previas al embarazo continuaron sus controles con el Servicio de Nutrición del HUMN y se adecuó tanto la ingesta calórica como la actividad física a la condición obstétrica individual. Entre la semana 24-28 y 31-33 de gestación se realizó la PTOG. Se consignó en cada visita el peso corporal, la presión arterial y la ocurrencia de las siguientes patologías: aborto temprano (pérdida de embarazo ocurrida durante las primeras 12 semanas de gestación), hipertensión inducida durante el embarazo (PA Sistólica \geq 140 mmHg y/o PA Diastólica \geq 90 mmHg en dos o más registros separados por un intervalo de al menos 15 minutos, que inicia luego de la semana 20 de gestación), diabetes gestacional (dos valores de glucemia plasmática en ayuno \geq 100 mg/dl o uno \geq 140 mg/dl a los 120' de la PTOG). Se consignó tipo de parto y patologías del recién nacido (RN): bajo peso (< 2500 g), macrosómico (\geq 4000 g), pre-término (nacimiento antes de cumplir las 37 semanas de gestación) y malformaciones.

Métodos de laboratorio: los dosajes séricos de testosterona total, LH, FSH, DHEA-S, insulina y SHBG fueron determinados por Electroquimioluminiscencia (Autoanalizador Elecsys 2010, Roche); Δ 4-Androstenediona por Radioinmunoensayo (Contador de Pozo ZX Alfa Nuclear) y la glucemia por método enzimático UV Hexoquinasa. El coeficiente de variación intra e interensayo fue < al 10% en todas las determinaciones bioquímicas. La extracción de sangre fue realizada a las 8:00 a.m. luego de 12 h de ayuno y durante la fase folicular temprana (día 3 al 5) del ciclo menstrual. Se calculó el IAL con la siguiente fórmula: Testosterona total (nmol/L) / SHBG (nmol/L) x 10014. La PTOG se realizó luego de tres días de ingesta de 300 g/d de hidratos de carbono. Se obtuvieron muestras de sangre para la medición de la glucemia en tiempo 0 (basal) y 120 minutos posterior a la ingesta de 75 gr de glucosa anhidra disuelta en 375 mL de agua. Análisis estadístico: las variables con distribución normal expresadas como media \pm DS, fueron analizadas por ANOVA y post hoc de Bonferroni. Las variables cualitativas, presentadas en porcentajes absolutos, se compararon con el test χ^2 . El análisis de las correlaciones fue realizado con el coeficiente de correlación de Pearson. Se calcularon los Riesgos Relativos (RR) con sus

respectivos intervalos de confianza (IC) del 95 % para la ocurrencia de complicaciones obstétricas y neonatales. Se realizaron modelados de regresión logística y lineal para determinar la influencia de distintas variables sobre las complicaciones. Se consideró estadísticamente significativo a un valor de $p < 0.05$. Todos los análisis fueron realizados en el programa SPSS versión 17.0, Chicago, Illinois, USA.

Resultados:

Entre diciembre de 2007 y marzo de 2015, prospectiva y consecutivamente ingresaron al protocolo 183 mujeres embarazadas; de las cuales 87 tenían diagnóstico de SOP (Fenotipos= A: 53 [61%], B: 9 [10.3%], C: 16 [18.3%] y D: 9 [10.3%]) y 96 fueron controles. Todas pertenecían a la raza blanca y la mayoría refería descendencia de 3° y 4° generación europea (italiano y/o español en el 87%). Cuando analizamos las características clínicas pre-concepcionales no encontramos diferencias en cuanto a la edad (29.4 ± 4 y 28.7 ± 5 años) y el IMC (28.2 ± 6 y 27.8 ± 6 kg/m²) en el grupo SOP y los controles respectivamente ($p > 0.05$). La circunferencia de cintura (93.6 ± 13 y 87 ± 13), el score de hirsutismo (8 ± 5 y 0.75 ± 1) y la presencia de acantosis nigricans (50 y 25%) fue mayor en las pacientes del grupo SOP vs control ($p < 0.05$).

Tabla 1: Características bioquímicas pre-gestacionales en pacientes SOP y controles.

	SOP (n=87)	Control (n=96)	P valor
Testosterona Total (ng/ml)	88± 26	33±12	0.0001
SHBG (nmol/l)	43±22	74±28	0.006
IAL	9±4	1.84±1	0.0001
DHEAS (ug/dl)	346±105	181±40	0.0001
Δ4-A (ng/ml)	4.8±1.1	1.1±0.8	0.0001
LH (mUI/ml)	8.9±3	5.3±1.3	0.0001
Glucemia ayuno (mg/dl)	89,3±10,9	84,2±8	0.0006
Glucemia 120´(mg/dl)	108±28	94±19	0.001
Insulinemia (uUI/ml)	14.4±8	8±5	0.0001
HOMA-IR	3,37±2	1.71±1	0.0001

SHBG: globulina transportadora de hormonas sexuales; IAL: índice de andrógenos libres; DHEA-S: dehidroepiandrosterona sulfato; Δ4-A: androstenediona; LH: hormona luteinizante. Se calcularon el IAL=Testosterona total (nmol/L)/SHBG (nmol/L) x100 y el HOMA-IR= glucemia ayuno (mg/dl) x insulinemia (uUI/ml)/405. Los datos son expresados como media ± DS.

Las características bioquímicas pre-gestaciona-

les de ambos grupos se resumen en la tabla 1.

El porcentaje con complicaciones obstétricas y neonatales fue mayor en las pacientes con SOP vs controles (86 vs 32%, $p=0.007$ y $RR=2$, IC: 1.48-2.9, $p<0.001$). La ocurrencia de las diferentes complicaciones se detalla en la tabla 2.

Tabla 2: Complicaciones obstétricas y de los recién nacidos de embarazadas con SOP y controles.

	SOP (n=87)	Control (n=96)	P valor
Abortos (%)	26.4	5.5	0.0001
Diabetes gestacional (%)	11	5.5	0.0001
HIE (%)	29	13	0.0001
RN pre-término (%)	14	4.4	0.007
RN bajo peso (%)	17	9	0.0001
RN macrosómico (%)	11	5.5	0.0001

HIE: Hipertensión inducida durante embarazo; RN: recién nacido. Los datos se expresan en porcentajes.

En nuestra población no encontramos diferencias en el tipo de parto (cesárea 44 vs 45% en grupo SOP y control respectivamente, $p > 0.05$) ni se registraron malformaciones en los recién nacidos. Las complicaciones obstétricas y neonatales se correlacionaron positivamente con las siguientes variables pre-gestacionales: testosterona total ($+r=0.30$), Δ 4-Androstenediona ($+r=0.36$), IAL ($+r=0.30$), insulinemia ($+r= 0.40$), HOMA IR ($+r= 0.33$), cintura ($+r= 0.30$), anovulación ($+r=0.33$), morfología de ovario poliquístico ($+r=0.32$) y negativamente con SHBG ($-r=0.30$). La glucemia en ayuno del embarazo se correlacionó positivamente ($+r= 0.40$) con las complicaciones obstétricas y neonatales ($p < 0.0001$ en todas las variables). Es de destacar que en ambos grupos la ganancia de peso durante el embarazo fue similar (12.7 ± 3 y 12.9 ± 3 en SOP y controles respectivamente, $p=0.68$). La ocurrencia de al menos una complicación obstétrica o neonatal para cada fenotipo del SOP fue: A=71% (38/53); B= 55% (5/9); C=50% (8/16) y D=44% (4/9). En la tabla 3 se muestran los resultados obstétricos y neonatales en cada uno de los fenotipos. En el fenotipo A se detectó un mayor porcentaje de diabetes e hipertensión arterial en familiares de 1° grado y cifras de presión arterial pre-gestacionales superiores al grupo control ($p < 0.05$); siendo el RR para complicaciones obstétricas

y neonatales de 2.37 (IC:1.67-3.36, $p < 0.001$). El RR de este fenotipo para abortos, diabetes gestacional e HIE (Hipertensión inducida del embarazo) fue de 5.8 (IC: 2,24-14, $p = 0.0001$), 3.62 (IC: 1.3-10, $p = 0.01$) y 1.9 (IC: 0.96-3.9, $p = 0.05$) respectivamente. El escaso número de pacientes en el resto de los fenotipos no permitió realizar un análisis válido desde el punto de vista estadístico. Con el objeto de evaluar el impacto de la masa corporal en las complicaciones descritas, clasificamos a toda la población en dos categorías: normopeso (IMC: 18.5-24.9 kg/m²) y sobrepeso-obesidad (IMC: ≥ 25 kg/m²). En las primeras la condición SOP incrementó el riesgo de complicaciones obstétricas y neonatales respecto del grupo control del 23 al 60 %, siendo el RR de 2,5 ([IC: 1,33 -4,81], $p = 0,003$). El mismo comportamiento se evidenció en el grupo sobrepeso-obesidad, donde la condición SOP elevó el número de complicaciones del 34 a 66 % (RR: 1,93 [IC: 1,29-2,88], $p = 0,0008$) respecto del grupo control. Obtuvimos la misma tendencia al considerar solamente las pacientes con obesidad (IMC ≥ 30 kg/m²). Tanto en el análisis de regresión logística binaria como en el de regresión lineal se constató que el índice HOMA-IR pre-concepción y la glucemia de ayuno durante el embarazo fueron variables predictoras de complicaciones materno-neonatales ($p = 0.01$).

Discusión:

En el presente estudio, analizamos las características gestacionales del SOP y las comparamos con un grupo control siguiendo estrictos criterios de selección para evitar posibles sesgos y factores de confusión. Esto se pudo lograr a través de un largo período de reclutamiento de más de 7 años. Una revisión de la bibliografía investigadores, sin embargo comparar las características de nuestra población con el resto de mundo es difícil debido a la falta de implementación en sus protocolos de criterios diagnósticos de SOP claramente establecidos^{11, 12, 15-17}. De los tres meta-análisis disponibles hasta la fecha surgen que las pacientes con SOP tienen tres veces más riesgo de presentar síndromes hipertensivos y diabetes durante la gestación¹⁵⁻¹⁷. Sin embargo, un alto porcentaje de mujeres con SOP requieren tratamientos para lograr el embarazo a través de fármacos inductores de la ovulación o técnicas de reproducción asistida, los cuales

se asocian a una mayor tasa de aborto y embarazos múltiples. El uso de metformina durante la gestación se ha relacionada a mayor riesgo de prematuridad y a un descenso en la tasa de abortos espontáneos y diabetes gestacional^{18, 19}. Otro elemento trascendental en el análisis es la presencia de obesidad materna, conocido factor de riesgo independiente asociado a las complicaciones obstétricas y neonatales, por lo cual es inevitable preguntarnos si es el SOP o la obesidad el factor causal de dichas complicaciones. Es por ello que en nuestra población categorizamos a las pacientes según el IMC y si bien constatamos que su incremento potencia las complicaciones, las mismas no desaparecen en las mujeres con SOP e IMC normal. De lo expuesto no se puede ignorar la presencia de otros factores de confusión (diseño, edad, criterio diagnóstico de SOP, etc) en los estudios incluidos en los meta-análisis publicados, lo cual no garantiza la mejor evidencia para sostener los resultados. De los 27 artículos incluidos en el último meta-análisis, sólo uno analiza el impacto de los diferentes fenotipos en los resultados obstétricos^{13, 17}. El mencionado estudio, realizado en el sur de Italia, reclutó durante un largo período un número similar al nuestro de pacientes (93 SOP y 69 controles en 5 años), debido a que también excluyeron todos los posibles factores de confusión. Sus resultados confirman, al igual que los nuestros, un mayor porcentaje de complicaciones obstétricas en las pacientes con SOP. Además, demostraron que la anovulación y el hiperandrogenismo bioquímico incrementan el riesgo de complicaciones materno-fetales; siendo el fenotipo A (clásico) el más afectado. En nuestro trabajo encontramos que el porcentaje de abortos fue similar en el fenotipo A y en el D (normoandrogénico); pero el escaso número de pacientes reclutadas en este último- tanto en el estudio italiano como en el nuestro (5 y 9, respectivamente)- no permite emitir conclusiones válidas. Sin embargo, constatamos que el peso materno pre-gestacional fue normal en ambas poblaciones. En ausencia del hiperandrogenismo, otros factores relacionados con la fisiopatogenia de la pérdida temprana de embarazo, podrían explicar estos resultados. Así, la IR asociada a los elevados niveles séricos de LH podría estar generando un microambiente androgénico intraovárico responsable de la disfunción ovulatoria. De lo expuesto,

surge la pregunta: ¿existe un subgrupo que es más propenso a las complicaciones obstétricas en el SOP?. Probablemente aquellas pacientes con mayores concentraciones séricas de andrógenos, LH e insulina sean las más afectadas en los resultados reproductivos y obstétricos, características que mayoritariamente reunieron las pacientes del fenotipo A en nuestra población de mujeres con SOP.

De nuestro estudio se concluye que las pacientes con SOP tienen mayor riesgo de padecer complicaciones durante el embarazo. Las mujeres que presentan las características completas del síndrome (fenotipo A) se asocian con mayor compromiso reproductivo y alteraciones metabólicas durante la gestación. Una cuidadosa historia clínica es fundamental para reconocer a las pacientes con mayores condiciones de presentar perturbaciones endócrino y metabólicas en esta etapa de la vida. Si bien es indudable que en los últimos años se abrieron nuevos horizontes relacionados con el estudio del ambiente intrauterino, hasta el momento los trabajos efectuados en humanos relacionados con el SOP son limitados, siendo este un factor aún por explorar en futuras investigaciones. Según nuestro conocimiento, no se han publicado estudios con similar diseño en nuestro país; por lo cual nuestros resultados adquieren relevancia para una patología prevalente en la mujer joven, con alto impacto individual y probablemente para la descendencia.

CONFLICTOS DE INTERES: ninguno para declarar

Bibliografía:

- 1- Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M, Waggoner W, Boots LR, Azziz R. Prevalence of the Polycystic Ovary Syndrome in Unselected Black and White Women of the Southeastern United States: A Prospective Study. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3078-3082.
- 2- Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Vildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in unselected population. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2745-2749.
- 3- Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, et al. A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4006-4011.
- 4- Asunción M, Calvo RM, San Millan J L, 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 Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2434-2438.
- 5- March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DI, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod* 2010; 25: 544-551.
- 6- Nandi A, Chen Z, Patel R, Poretsky L. Polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2014; 1: 123-47.
- 7-Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. *Hum Reprod* 2004, 19: 41-47.
- 8-Ladrón de Guevara A, Fux-Otta C, Crisosto N, Szafryk de Mereshian P, Echiburú B, Iraci G, et al. Metabolic profile of the different phenotypes of polycystic ovary syndrome in two Latin American populations. *Fertil Steril* 2014; 101:1732-9.
- 9-Fux Otta, Carolina; Iraci, Gabriel; Wior, Myriam; Kaplan, Raquel; Torres, Diana; Gaido, Isabel; et. *Clinical, Metabolic and Endocrine Parameters in Response to Metformin and Lifestyle Intervention in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Randomized, Double-Blind and Placebo Control Trial. Gynecological Endocrinology* 2010; 26: 173-178.
- 10- Catalano PM, Tyzbir ED, Roman NM, Amini SB, Sims EA. Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 1667-72.
- 11- Palomba S, de Wilde MA, Falbo A, Koster MP, La Sala GB, Fauser BC. Pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2015; 21: 575-92.
- 12- Sir-Petermann T, Ladrón de Guevara A, Villarroel AC, et al. PCOS and pregnancy. *Rev Med Chile* 2012; 140: 919-2.
- 13- Palomba S, Falbo A, Russo T, et al. Pregnancy in women with PCOS: the effect of different phenotypes and features on obstetric and neonatal outcomes. *Fertil Steril* 2010, 94: 1805-11.
- 14- Morley JE, Patrick P, Perry HM 3 erd. Evaluation of assays available to measure free testosterone. *Metabolism* 2002; 51: 554-559
- 15- Boomsma C, Eijkemans M, Hughes E, et al. A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with PCOS. *Hum Reprod Update* 2006, 12: 673-83.
- 16- Kjerulf LE, Sanchez-Ramos L, Duffy D. Pregnancy outcomes in women with PCOS a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2011, 204: 1-6.
- 17- Qin JZ, Pang LH, Li MJ, Fan XJ, et al. Obstetric complications in women with PCOS: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol* 2013, 11: 1-14.
- 18- Naderpoor N, Shorakae S, de Courten B, Misso

ML, Moran LJ, Teede HJ. Metformin and lifestyle modification in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update 2015; 21:560-74.

19- Feng L, Lin XF, Wan ZH, Hu D, Du YK. Efficacy of

metformin on pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis. Gynecol Endocrinol 2015; 6:1-7.