

La sindrome dell'ovaio policistico: un esempio di complicanza cardiovascolare correlata all'obesità che colpisce giovani donne

The polycystic ovary syndrome: an example of obesity-related cardiovascular complication affecting young women

Francesco Orio¹, Teresa Cascella¹, Francesco Giallauria², Stefano Palomba³,
Anna De Lorenzo², Rosa Lucci², Elena Ambrosino⁴, Gaetano Lombardi¹,
Annamaria Colao¹, Carlo Vigorito²

ABSTRACT: *The polycystic ovary syndrome: an example of obesity-related cardiovascular complication affecting young women. F. Orio, T. Cascella, F. Giallauria, S. Palomba, A. De Lorenzo, R. Lucci, E. Ambrosino, G. Lombardi, A. Colao, C. Vigorito.*

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a good example of obesity-related cardiovascular complication affecting young women. PCOS is not only considered a reproductive problem but rather represents a complex endocrine, multifaceted syndrome with important health implications. Several evidences suggest an increased cardiovascular risk of cardio-

vascular disease associated with this syndrome, characterized by an impairment of heart structure and function, endothelial dysfunction and lipid abnormalities. All these features, probably linked to insulin-resistance, are often present in obese PCOS patients. Cardiovascular abnormalities represent important long-term sequelae of PCOS that need further investigations.

Keywords: *polycystic ovary syndrome; cardiovascular risk; insulin-resistance.*

Monaldi Arch Chest Dis 2006; 66: 48-53.

Dipartimenti di: ¹ Endocrinologia ed Oncologia Molecolare & Clinica, ² Medicina Clinica, Scienze Cardiovascolari ed Immunologiche, Area Funzionale di Riabilitazione Cardiologica, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli; ³ Ginecologia ed Ostetricia Università di Catanzaro "Magna Graecia", Catanzaro; ⁴ Ginecologia ed Ostetricia Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli.

Corresponding author: Francesco Orio MD, PhD - Department of Molecular & Clinical Endocrinology and Oncology - University "Federico II" of Naples - Via S. Pansini 5, 80131 Naples, Italy - E-mail address: francescoorio@virgilio.it

Introduzione

La sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) è una tra le più comuni patologie endocrine delle donne, essendone affetto il 5-10% delle donne in età riproduttiva [1, 2].

La PCOS è diagnosticata in presenza di due tra i tre criteri seguenti:

1. ovaie policistiche all'ecografia pelvica
2. oligo-anovulazione
3. evidenza clinica o biochimica di iperandrogenismo (Rotterdam ESHRE-ASRM 2003) [3].

La PCOS non è solo una delle cause principali di infertilità nelle donne, ma è considerata anche una vera e propria sindrome plurimetabolica [2, 4, 5]: obesità [6], insulino-resistenza [7], dislipidemia [8], alterazione del sistema fibrinolitico [9], sono le conseguenze metaboliche spesso evidenti in questa sindrome.

Inoltre, la PCOS è associata a rischi per la salute a lungo termine, inclusi il diabete mellito [10] e la CDV (Malattia Cardiovascolare) [11-15].

In particolare l'insulino-resistenza, l'iperandrogenismo e la dislipidemia sono probabilmente tra i

maggiori fattori di rischio per l'incidenza della CDV nella PCOS. Tali fattori di rischio cardiovascolare sono spesso evidenti in giovane età, suggerendo che le donne con PCOS, rappresentano un numeroso gruppo di donne in cui è aumentato il rischio di sviluppo precoce di CDV, anche se ciò non è attualmente dimostrato [16].

È stato riportato che il rischio di malattia coronarica e di infarto del miocardio è aumentato in pazienti con PCOS rispetto a donne con cicli regolari [11], anche se la mortalità dovuta a malattia circolatoria non sembra essere incrementata [17].

Recenti studi hanno dimostrato un incremento della prevalenza di CDV in donne con PCOS [14-17]. Infatti nella PCOS è stata dimostrata disfunzione endoteliale [18] e diastolica [19] ed è stata associata sia ad elevati livelli di androgeni che ad insulino-resistenza.

Di recente, insieme ai classici fattori di rischio CV, come i livelli di colesterolo totale e i livelli di lipoproteine ad alta densità per il colesterolo (HDL-C), l'obesità, l'omocisteina e l'ipertrofia ventricolare sinistra si sono dimostrati essere associati, indipendentemente, ad un incremento del rischio CV [20].

Negli ultimi anni, l'interesse scientifico nei riguardi del rischio CV nella PCOS è aumentato; in particolare sono stati valutati i marcatori biochimici, morfologici e funzionali precoci della malattia cardiovascolare, per identificare correttamente la morbilità in questa sindrome.

Marcatori biochimici della malattia cardiovascolare nella PCOS

Di recente, è stato riportato che l'endotelina-1 (ET-1), considerata una delle diverse molecole vasoattive circolanti derivate dall'endotelio e uno dei marcatori di reattività vascolare [21] meglio conosciuti, è elevata nella PCOS [22], come in molti altri stati di insulino-resistenza [23].

Specificamente donne iperinsulinemiche con PCOS hanno un rischio significativo di CDV precoce [24] e tale rischio sembra essere incrementato ulteriormente dagli effetti stimolanti dell'insulina sulla secrezione di ET-1 [25]. Inoltre l'ET-1 è considerata un fattore di rischio addizionale nei non-obesi, e nei soggetti ipertesi con squilibri metabolici [26]; le donne con PCOS rappresentano un interessante modello biologico che può illustrare gli effetti metabolici ed ormonali sull'endotelio, anche senza la presenza di evidenti fattori di rischi CV.

In uno studio recente abbiamo dimostrato che i livelli sierici di ET-1 erano significativamente più alti nella PCOS in confronto ai controlli [27]. In accordo con Diamanti-Kandarakis et al. [22], abbiamo riscontrato che i livelli sierici di ET-1 erano significativamente più elevati in donne di peso normale con PCOS che nei controlli sani sovrapponibili per BMI, suggerendo che le aumentate concentrazioni di ET-1 sono tali nella PCOS indipendentemente dall'obesità.

Una causa apparente dell'aumento dei livelli di ET-1 nella PCOS potrebbe essere l'insulino-resistenza e, a supporto di tale ipotesi, diversi studi [24, 28] hanno dimostrato che l'iperinsulinemia è premonitrice della malattia coronarica (CAD) e che l'insulina stimola la secrezione di ET-1 in vivo ed in vitro [25].

L'inibitore dell'attivatore del Plasminogeno -1 (PAI-1) è un noto fattore di rischio per malattia cardiovascolare, inclusi infarto del miocardio ed ictus (29-31). PAI-1 può essere considerato un fattore di rischio prognostico per CDV, perché sono stati riscontrati elevati livelli plasmatici di PAI-1 in pazienti con malattia coronarica prima di un infarto del miocardio [29, 32].

C'è evidenza crescente che PAI-1 giochi un ruolo cruciale nel sistema fibrinolitico [33] e la fibrinolisi compromessa rappresenta un significativo fattore di rischio nello sviluppo di malattia ischemica cardiaca fatale nelle donne [32].

Similmente, elevate concentrazioni di PAI-1 sono positivamente associate all'insulino-resistenza [34] ed all'obesità [35].

L'Insulin Resistance Atherosclerosis Study ha dimostrato che uomini e donne con i più alti livelli basali di PAI-1 erano maggiormente candidati al diabete a distanza di cinque anni e che PAI-1 può essere considerato un fattore predittivo per lo sviluppo dei due tipi di diabete, indipendentemente dall'insu-

lino-resistenza e dagli altri fattori di rischio conosciuti per diabete [36].

Il legame tra PAI-1 e sensibilità all'insulina è stato ancor più rafforzato dall'osservazione che l'insulina incrementa l'espressione di PAI-1 in vitro [37] e l'azione di PAI in vivo [38]. Inoltre, elevate concentrazioni plasmatiche di PAI-1 sono frequentemente riscontrate in soggetti obesi [39] e molti studi [40, 41] hanno dimostrato che il tessuto adiposo è il maggior sito di espressione dell'm-RNA di PAI-1.

Tenuto conto del "pattern" metabolico della PCOS, diversi autori [42, 43], hanno valutato l'effetto della PCOS sull'attività di PAI-1. Sampson et al. [42] hanno dimostrato nelle donne non obese, con ovaie policistiche ed irregolarità mestruali, un'elevata attività del PAI-1 correlata all'insulina plasmatica a digiuno.

Più recentemente, Kelly et al. [43] hanno riportato che donne con PCOS mostrano un aumento significativo delle concentrazioni di t-PA in confronto a donne con ritmo mestruale normale e androgeni normali, ma indipendentemente dal BMI e dalla sensibilità all'insulina.

Di recente, abbiamo valutato i livelli sierici dell'attività di PAI-1 in giovani donne di peso normale ed obese con PCOS per chiarire il ruolo del PAI-1 quale fattore di rischio cardiovascolare nella PCOS [44].

I nostri risultati hanno dimostrato un significativo aumento dell'attività di PAI-1 in donne con PCOS in confronto ai controlli, indipendentemente dal BMI [44]. L'attività sierica di PAI-1 era aumentata in donne obese in confronto a donne di peso normale, sia nella PCOS sia nei controlli, con una differenza significativa nell'attività del PAI-1 tra PCOS e controlli, sia di peso normale che obese.

Complessivamente, i nostri dati suggeriscono che l'effetto dello stato di PCOS su PAI-1 è indipendente dall'obesità. Inoltre, l'attività sistemica di PAI-1 è positivamente correlata all'insulino-resistenza, non solo in pazienti con PCOS, ma anche nei controlli. I nostri risultati [44] confermano, altresì, che l'attività di PAI-1 è positivamente correlata alla sensibilità all'insulina e al BMI e dimostrano che tale relazione è anche mantenuta nelle donne normopeso con PCOS.

Struttura e funzione cardiaca nella PCOS

L'ipertrofia ventricolare sinistra (LVH) è un importante segno premonitore di mortalità e morbilità CV [45]. LVH è uno dei diversi fattori di rischio CV associati all'insulino-resistenza [7] e/o all'obesità viscerale [46]. L'iperinsulinemia è premonitrice di malattia coronarica [47] e l'insulino-resistenza è stata proposta come fattore chiave legato all'ipertensione, all'intolleranza al glucosio, all'obesità, alle anomalie lipidiche e alla malattia cardiaca coronarica, insieme denominate "sindrome metabolica" [35, 48].

La PCOS rappresenta un interessante modello biologico che illustra l'interazione tra gli ormoni e rischio CV. Infatti, diverse evidenze mostrano una relazione tra malattia cardiaca e PCOS e rischio CV, cioè dislipidemia [49], insulino-resistenza (50), LVM (massa ventricolare sinistra) aumentata [51] e disfunzione diastolica del ventricolo sinistro [51, 19].

Sulla base delle molteplici interrelazioni tra CDV e PCOS abbiamo analizzato diverse variabili che interessano struttura e funzione cardiaca: in particolare abbiamo valutato il potenziale rischio CV in giovani donne con PCOS mediante l'esame ecocardiografico, l'analisi della secrezione insulinica ed il profilo lipidico [51].

Lo studio ecocardiografico ha mostrato che giovani donne con PCOS avevano dimensioni cardiache significativamente aumentate rispetto ai controlli [51]. In più, le stesse mostravano una disfunzione diastolica VS evidenziata da un ridotto valore del rapporto E/A, mentre tutte le pazienti avevano una normale LVEF.

Pazienti con PCOS avevano inoltre livelli di pressione diastolica (DBP) e media (MBP) significativamente più alti dei controlli, suggerendo che l'aumentata massa ventricolare sinistra osservata in donne con PCOS, potrebbe essere causata da un aumento della pressione arteriosa anche se all'interno dei valori fisiologici di questo parametro [52].

Riguardo alla sequenza metabolica le pazienti con PCOS rispetto ai controlli avevano valori più alti di: glucosio ed insulina a digiuno, HOMA score (stima del modello omeostatico riflettente l'insulino-resistenza), Colesterolo totale, Colesterolo LDL e rapporto mentre il Colesterolo HDL era significativamente più basso.

Poiché l'insulina è il maggiore regolatore positivo delle lipoproteine lipasi coinvolte nella via metabolica di HCL-C, la dislipidemia è, probabilmente, secondaria all'insulino-resistenza, mentre l'iperandrogenismo può interessare lipoproteine e lipidi indipendentemente dai livelli di insulina e dal peso corporeo [49].

I nostri risultati mostrano alterazioni nel profilo lipidico e glucidico insieme all'incremento della massa ventricolare sinistra, oltre ad una riduzione del riempimento diastolico VS. Queste alterazioni sono evidenti anche in giovani pazienti normopeso, suggerendo che la patogenesi delle anomalie cardiache nella PCOS non dipende solo dal BMI.

Infatti, solo in pazienti con PCOS l'indice di massa ventricolare sinistra (LVMi) era significativamente correlato al BMI e al HOMA.

Queste innovative osservazioni mostrano che le giovani donne con PCOS hanno un'augmentata LVM ed una disfunzione diastolica VS, nessuna delle quali è dipendente dal peso, suggerendo che lo squilibrio ormonale cronico e le anomalie metaboliche riscontrate nelle donne con PCOS sin dall'adolescenza, possono predisporre tali pazienti all'aterosclerosi precoce, rendendole candidate alla CDV precoce.

Struttura e funzione endoteliali nella PCOS

Uno dei primi segni di lesione CV è la lesione endoteliale [53, 54], che rappresenta un segno precoce di aterosclerosi.

Variazioni precoci, strutturali e funzionali, dell'endotelio vascolare non possono essere esaminate in maniera non invasiva dall'IMT (spessore intima-media) delle carotidi e dall'FMD (dilatazione flusso-mediata) delle arterie brachiali.

L'IMT, definito come distanza tra giunzione del lume-intima e giunzione della media-avventizia, è

attualmente il marker ultrasonografico meglio studiato per identificare lesioni aterosclerotiche precoci nella parete vascolare [26, 55].

È stata dimostrata una correlazione diretta tra IMT e rischio di infarto del miocardio e ictus in pazienti senza una storia di malattia vascolare [56], e diverse alterazioni metaboliche, come l'obesità [57], l'insulino-resistenza [58], l'iperandrogenismo [59], sono state largamente accettate come fattori di rischio per l'incremento dell'IMT.

Relativamente a questo aspetto abbiamo dimostrato una differenza significativa nell'IMT tra pazienti con PCOS e controlli [27]. In accordo con i nostri risultati, altri Autori [12] hanno dimostrato un'associazione tra la PCOS e l'aterosclerosi precoce della carotide e una differenza nell'IMT carotideo BMI-indipendente tra pazienti e controlli; la rilevanza dei nostri dati consiste nel fatto che quell'IMT risulta aumentato anche in giovani donne.

La popolazione del nostro studio includeva giovani donne normopeso, non dislipidemiche e non ipertese, suggerendo un ruolo importante nell'esposizione agli androgeni o all'insulina per lo sviluppo precoce dell'aterosclerosi. L'iperandrogenismo nelle donne con PCOS può risultare come un quadro di lipoproteine nei maschi, suggerendo un potenziale aterogenico aumentato in pazienti con PCOS [49]. Inoltre molti Autori [60] hanno evidenziato una compromissione delle proprietà visco-elastiche della carotide, fornendo una ulteriore prova di disfunzione vascolare nelle donne con questa sindrome.

I dati che riguardano la disfunzione endoteliale in pazienti con PCOS sono pochi e contrastanti [18, 27, 61].

Alcuni Autori [61] non hanno trovato alcuna differenza nell'FMD di pazienti con PCOS e controlli; viceversa, altri Autori [18] hanno segnalato una marcata riduzione del flusso endotelio-dipendente ed insulino-mediato nell'arteria femorale di donne con PCOS. Altri [62] hanno dimostrato un incremento della consistenza della parete dei vasi ed un difetto funzionale nell'azione vascolare dell'insulina in pazienti con PCOS.

Come sopra menzionato, abbiamo valutato, in modo non invasivo, l'FMD dell'arteria brachiale.

I risultati di questo studio hanno evidenziato una riduzione del valore di FMD in donne con PCOS rispetto ai controlli [18]. Inoltre, dimostrando che giovani donne con PCOS, normopeso, non dislipidemiche, non ipertese, hanno una funzione endoteliale alterata, oltre che un IMT aumentato, e suggerendo pertanto la presenza di un precoce danno vascolare, funzionale e strutturale, pre-aterosclerotico.

Danno cardiopolmonare nella PCOS

L'insulina è anche il maggiore regolatore delle proteine muscolari e può stimolare la sintesi delle proteine mitocondriali [63], e un danno della funzione mitocondriale può promuovere IR negli uomini [64]. L'IR è associata a un range di fattori di rischio cardiovascolare che include dislipidemia, ipertensione, intolleranza al glucosio e diabete [65]. L'effetto della PCOS sulla mortalità cardiovascolare è attualmente poco chiaro. La crescente evidenza [27, 51, 66, 67] riporta che diversi fattori di rischio

cardiovascolare sono chiaramente presenti e più elevati nella PCOS rispetto alle donne sane.

È noto che la capacità funzionale ridotta è associata ad un incremento del rischio in termini di mortalità cardiovascolare [68] sia in soggetti sani che in pazienti affetti da malattia coronarica. Il consumo massimo di ossigeno (VO₂max) è probabilmente il parametro strumentale meglio esprime la capacità funzionale cardiovascolare [69]. Il livello di attività fisica è positivamente associato alla sensibilità all'insulina [70, 71] ed è considerato un forte determinante dell'indice di sensibilità all'insulina sia negli uomini che nelle donne [72]. Anche i livelli di testosterone sembrano essere correlati positivamente al livello di attività fisica (VO₂max) [64], mentre si sa poco circa l'influenza del testosterone sull'azione dell'insulina.

Abbiamo di recente dimostrato, mediante test ergometrico cardiopolmonare, una riduzione della capacità funzionale nella PCOS rispetto a giovani donne sane [73]. Infatti le pazienti con PCOS, in risposta all'esercizio, mostravano valori di VO₂max ridotti in confronto a donne sane sovrapponibili per età. Ciò è probabilmente dovuto a diversi meccanismi e fattori ipotizzabili, come ad esempio lo stato iperglicemico, l'insulino-resistenza, il metabolismo energetico del miocardio e del muscolo scheletrico e la dislipidemia.

Conclusioni

L'obesità, specialmente quella viscerale associata all'insulino-resistenza, è un fattore predisponente allo sviluppo di diabete, di ipertensione e di CDV. Comunque, malgrado la forte associazione tra l'obesità e CDV, i meccanismi alla base di tale relazione non sono ben conosciuti.

Le nostre conoscenze circa le connessioni tra obesità e malattia cardiovascolare sono complicate da molteplici possibilità. L'obesità agisce su molteplici vie metaboliche, producendo altrettanti potenziali fattori di rischio, che è virtualmente impossibile differenziarli per importanza. Tale complessità lancia una grande sfida per la ricerca di base e clinica. Essa, inoltre, pone nuovi obiettivi terapeutici per la sindrome metabolica. Inoltre, in individui obesi ed in sovrappeso, la perdita di peso può migliorare la sensibilità all'insulina e ridurre i fattori di rischio per CDV. Pertanto la sfida fondamentale riguarda le modalità di intervento sulla salute pubblica per ridurre l'alta prevalenza di obesità nella popolazione generale.

Lo scopo principale attuale e futuro dovrebbe essere quello di ridurre il rischio CV che accompagna l'obesità. Di conseguenza, il migliore approccio alla prevenzione della CDV in giovani pazienti obese, è la diagnosi precoce e la terapia aggressiva.

Un esempio interessante di complicità cardiovascolare correlata all'obesità, che colpisce giovani donne, è la sindrome dell'ovaio policistico. Diversi studi suggeriscono che giovani donne con PCOS possiedono un rischio di sviluppo precoce di CDV, e probabilmente questa popolazione di pazienti è destinata a sviluppare complicanze cardiovascolari e richiede sostanziali risorse per la gestione futura.

Riassunto

La sindrome dell'ovaio policistico potrebbe essere considerata un esempio di complicità cardiovascolare correlata all'obesità in giovani donne. Infatti essa non è considerata solo una patologia dell'apparato riproduttivo ma piuttosto un complesso disturbo endocrinologico con importanti complicanze. Diverse evidenze suggeriscono un incremento del rischio cardiovascolare e anomalie cardiovascolari caratterizzate da alterazioni della funzione e struttura cardiaca, disfunzione endoteliale e dislipidemia. Tutte queste caratteristiche, probabilmente associate all'insulino-resistenza, sono spesso presenti in pazienti obese affette da PCOS. Le alterazioni cardiovascolari rappresentano delle importanti complicanze a lungo termine della PCOS che richiedono ulteriori ed approfondite ricerche.

Parole chiave: Sindrome dell'ovaio policistico; fattori di rischio cardiovascolare; insulino-resistenza.

Bibliografia

1. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995; 33: 853-861.
2. Scarpitta AM, Sinagra D. Polycystic ovary syndrome: an endocrine and metabolic disease. *Gynecol Endocrinol* 2000; 14: 392-395.
3. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81:19-25.
4. Lobo RA, Carmina E. The importance of diagnosing the polycystic ovary syndrome. *Ann Intern Med* 2000; 132: 989-993.
5. Franks S. Are women with polycystic ovary syndrome at increased risk of cardiovascular disease? Too early to be sure, but not too early to act! *Am J Med* 2001; 111: 665-666.
6. Elting MW, Korsen TJM, Shoemaker J. Obesity rather than menstrual cycle pattern or follicle cohort size, determines hyperinsulinemia, dyslipidemia and hypertension in ageing women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 2001; 55: 767-776.
7. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997; 18: 774-800.
8. Legro RS, Kusanman AR, Dunaif A. Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Med* 2001; 111: 607-613.
9. Yildiz BO, Haznedaroglu IC, Kirazli S, Bayraktar M. Global fibrinolytic capacity is decreased in polycystic ovary syndrome, suggesting a prothrombotic state. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3871-3875.
10. Ovalle F, Azziz R. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus. *Fertil Steril* 2002; 77: 1095-1105.
11. Dahlgren 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; 71: 599-604.
12. Talbott E, Guzick D, Clerici A, Berga S, Detre K, Weimer K, Kuller L. Coronary heart disease risk factors in women with polycystic ovary syndrome. *Arter Thromb Vascul Biol* 1995; 15: 821-826.
13. Conway GS, Agrawal R, Better, Guzi DJ, Jacobs HS. Risk factors for coronary heart disease in lean and obese women with the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992; 37: 119-125.

14. Talbott E, Guzick DS, Sutton-Tyrrell K, McHugh-Pemu KP, Zborowski JV, Remsburg KE, Kuller LH. Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2414-2421.
15. Tiras MB, Yalcin R, Noyan V, Maral I, Yildirim M, Dortlemez O, Daya S. Alterations in cardiac flow parameters in patients with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 1999; 14: 1949-1952.
16. Legro RS. Polycystic ovary syndrome and cardiovascular disease: a premature association? *Endocr Rev* 2003; 24: 302-312.
17. 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* 2000; 52: 595-600.
18. Paradisi G, Steinberg HO, Hempfling A, Cronin J, Hook G, Shepard MK, Baron AD. Polycystic ovary syndrome is associated with endothelial dysfunction. *Circulation* 2001; 103: 1410-1415.
19. Yarali H, Yildirim A, Aybar F, Kabakci G, Bukulmez O, Akgul E, Oto A. Diastolic dysfunction and increased serum homocysteine concentrations may contribute to increased cardiovascular risk in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2001; 76: 511-516.
20. Kishore J, Harjai MBBS. Potential New Cardiovascular Risk Factors: Left Ventricular Hypertrophy, Homocysteine, Lipoprotein(a), Triglycerides, Oxidative Stress, and Fibrinogen. *Ann Intern Med* 1999; 131: 376-386.
21. Dubin D, Pratt RE, Cooke JP, Dzau VJ. Endothelin, a potent vasoconstrictor, is a vascular smooth mitogen. *J Vasc Med Biol* 1989; 1: 13-16.
22. 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: 4666-4673.
23. Takahashi K, Ghatei MA, Lam HC, O'Halloran DJ, Bloom SR. Elevated plasma endothelin in patients with diabetes mellitus. *Diabetologia* 1990; 33: 306-310.
24. Arslanian SA, Lewy VD, Danadian K. Glucose intolerance in obese adolescents with polycystic ovary syndrome: roles of insulin resistance and beta-cell dysfunction and risk of cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 66-71.
25. Ferri C, Pittoni V, Piccoli A, Laurenti O, Cassone MR, Bellini C, Properzi G, Valesini G, De Mattia G, Santucci A. Insulin stimulates endothelin-1 secretion from human endothelial cells and modulates its circulating levels in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 829-835.
26. Pignoli P, Tyremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986; 74: 1399-1406.
27. Orio F Jr, Palomba S, Cascella T, De Simone B, Di Biase S, Russo T, Labella D, Zullo F, Lombardi G, Colao A. Early impairment of endothelial structure and function in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4588-4593.
28. Cleland SJ, Petrie JR, Ueda S, Elliott HL, Connell JM. Insulin as a vascular hormone: implications for the pathophysiology of cardiovascular disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1998; 25: 175-184.
29. Hamsten A, Wiman B, de Faire U, Blomback M. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1985; 313: 1557-1563.
30. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1792-1801.
31. Glueck CJ, Rorick MH, Schmerler M, Anthony J, Feibel J, Bashir M, Glueck HI, Stroop D, Wang Y, Tracy TM. Hypofibrinolytic and atherogenic risk factors for stroke. *J Lab Clin Med* 1995; 125: 319-325.
32. Meade TW, Cooper JA, Chakrabarti R, Miller GJ, Stirling Y, Howarth DJ. Fibrinolytic activity and clotting factors in ischaemic heart disease in women. *Br Med J* 1996; 312: 1581.
33. Dawson S, Henney A. The status of PAI-1 as a risk factor for arterial and thrombotic disease: a review. *Atherosclerosis* 1992; 95: 105-117.
34. Meigs JB, Mittleman MA, Nathan DM, Tofler GH, Singer DE, Murphy-Sheehy PM, Lipinska I, D'Agostino RB, Wilson PW. Hyperinsulinemia, hyperglycemia, and impaired hemostasis: the Framingham Offspring Study. *JAMA* 2000; 283: 221-228.
35. Reaven GM. Syndrome X: 6 years later. *Journal of Internal Medicine* 1994; 236: 13-22.
36. Festa A, D'Agostino Jr R, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes* 2002; 51: 1131-1137.
37. Alessi MC, Juhan-Vague I, Kooistra T, Declercq PJ, Collen D. Insulin stimulates the synthesis of plasminogen activator inhibitor 1 by the human hepatocellular cell line Hep G2. *Thromb Haemost* 1988; 60: 491-494.
38. Nordt TK, Sawa H, Fujii S, Sobel BE. Induction of plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) by proinsulin and insulin in vivo. *Circulation* 1995; 91: 764-770.
39. Vague P, Juhan-Vague I, Chaberv V, Alessi MC, Atlan C. Fat distribution and plasminogen activator inhibitor activity in non diabetic women. *Metabolism* 1989; 38: 913-915.
40. Shimomura I, Funahashi T, Takahashi K, Maeda K, Kotani K, Nakamura T, Yamashita S, Miura M, Fukuda Y, Takemura K, Tokunaga K, Matsuzawa Y. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contribution to vascular disease in obesity. *Nature Medicine* 1996; 2: 800-803.
41. Loskutoff DJ, Samad F. 1998 The adipocyte and hemostatic balance in obesity: studies of PAI-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 18: 1-6.
42. 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. *Clinical Endocrinology* 1996; 45: 623-629.
43. Kelly CJ, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM, Rumley A, Lowe GD, Sattar N. A specific elevation in tissue plasminogen antigen in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3287-3290.
44. Orio F, Palomba S, Cascella T, Tauchmanová L, Nardo L, Di Biase S, Labella D, Russo T, Savastano S, Tolino A, Zullo F, Colao A, Lombardi G. Is plasminogen activator inhibitor-1 a cardiovascular risk factor in young women with polycystic ovary syndrome? *Reproductive Biomedicine Online* 2004; 9: 505-510.
45. Levy D, Garrison RH, Savage DD, Kannell WB, Castelli WP. Prognostic implication of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *New Engl J Med* 1991; 322: 1561-1566.
46. Vetta F, Cicconetti P, Ronzoni S, Rizzo V, Palleschi L, Canarile G, Lupattelli MR, Migliori M, Morelli S, Marigliano V. Hyperinsulinaemia, regional adipose tissue distribution and left ventricular mass in normotensive, elderly, obese subjects. *Eur Heart J* 1998; 19: 326-331.
47. Pyorala K. Relationship of glucose tolerance and plasma insulin to the incidence of coronary heart disease: results from two population studies in Finland. *Diabetes Care* 1979; 2: 131-141.
48. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607.
49. Wild RA, Painter PC, Coulson PB, Carruth KB, Ranney GB. Lipoprotein lipid concentrations and cardiovascular

- risk in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 946-951.
50. Kaushal R, Parchure N, Bano G, Kaski JC, Nussey SS. Insulin resistance and endothelial dysfunction in the brothers of Indian subcontinent Asian women with polycystic ovaries. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 60: 322-328.
 51. Orio F Jr, Palomba S, Spinelli L, Cascella T, Tauchmanová L, Zullo F, Lombardi G, Colao A. The cardiovascular risk of young women with polycystic ovary syndrome: an observational, analytical, prospective case-control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3696-3701.
 52. Zimmermann S, Phillips RA, Dunaif A, Finegood DT, Wilkenfeld C, Ardeljan M, Gorlin R, Krakoff LR. Polycystic ovary syndrome: lack of hypertension despite profound insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 508-513.
 53. Ferri C, Desideri G, Baldoncini R, Bellini C, De Angelis C, Mazzocchi C, Santucci A. Early activation of vascular endothelium in non-obese, non-diabetic essential hypertensive patients with multiple metabolic abnormalities. *Diabetes* 1998; 47: 660-667.
 54. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 168-175.
 55. Postiglione A, Rubba P, De Simone B, Patti L, Cicerano U, Mancini M. Carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Stroke* 1985; 16: 658-661.
 56. Dubuisson JT, Wagenknecht LE, D'Agostino RB Jr, Haffner SM, Rewers M, Saad MF, Laws A, Herrington DM. Association of hormone replacement therapy and carotid wall thickness in women with and without diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21: 1790-1799.
 57. De Michele M, Panico S, Iannuzzi A, cementano E, Ciardullo AV, Galasso R, Sacchetti L, Zarrilli F, Bond MG, Rubba P. Association of obesity and central fat distribution with carotid artery wall thickening in middle-aged women. *Stroke* 2002; 33: 2923-2928.
 58. Rajala U, Laakso M, Paivansalo M, Pelkonen O, Suramo I, Keinane, Kiukaanniemi S. Low insulin sensitivity measured by both quantitative insulin sensitivity check index and homeostasis model assessment method as a risk factor of increased intima-media thickness of the carotid artery. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5092-5097.
 59. Golden SH, Maguire A, Ding J, Crouse JR, Cauley JA, Zacur H, Szklo M. Endogenous postmenopausal hormones and carotid atherosclerosis: a case-control study of the atherosclerosis risk in communities cohort. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 437-445.
 60. Lakhani K, Seifalian AM, Hardiman P. Impaired carotid viscoelastic properties in women with polycystic ovaries. *Circulation* 2002; 106: 81-85.
 61. Mather KJ, Verma S, Corenblum B, Anderson T. Normal endothelial function despite insulin resistance in healthy women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:1851-1856.
 62. Kelly CJG, Speirs A, Gould GW, Petrie JR, Lyall H, Connell JMC. Altered vascular function in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 742-746.
 63. Boirie Y, Short KR, Ahlman B, Charlton M, Nair KS. Tissue-specific regulation of mitochondrial and cytoplasmic protein synthesis rates by insulin. *Diabetes* 2001; 50: 2652-2658.
 64. Pitteloud N, Mootha VK, Dwyer AA, Hardin M, Lee H, Eriksson KF, Tripathy D, Yialamas M, Groop L, Elahi D, Hayes FJ. Relationship between testosterone levels, insulin sensitivity, and mitochondrial function in men. *Diabetes Care* 2005; 28:1636-1642.
 65. De Fronzo R, Ferranini E. Insulin resistance: a multifaceted responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; 14: 173-194.
 66. Lakhani K, Prelevic GM, Seifalian AM, Atiomo WU, Hardiman P. Polycystic ovary syndrome, diabetes and cardiovascular disease: risks and risk factors. *J Obstet Gynaecol* 2004; 24: 613-621.
 67. Kravariti M, Naka KK, Kalantaridou SN, Kazakos N, Katsouras CS, Makrigiannakis A, Paraskevidis EA, Chrousos GP, Tsatsoulis A, Michalis LK. Predictors of endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 5088-5095.
 68. Myers J, Prakash M, Froelicher V, Do D, Partington S, Atwood JE. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *N Engl J Med* 2002; 346: 793-801.
 69. Fleg JL, Pina IL, Balady GJ, Chaitman BR, Fletcher B, Lavie C, Limacher MC, Stein RA, Williams M, Bazzarre T. Assessment of functional capacity in clinical and research applications: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association. *Circulation* 2000; 102: 1591-1597.
 70. Rodnick KJ, Haskell WL, Swislocki AL, Foley JE, Reaven GM. Improved insulin action in muscle, liver, and adipose tissue in physically trained human subjects. *Am J Physiol* 1987; 253: E489-E495.
 71. Rosenthal M, Haskell WL, Solomon R, Widstrom A, Reaven GM. Demonstration of a relationship between level of physical training and insulin stimulated glucose utilization in normal humans. *Diabetes* 1983; 32: 408-411.
 72. Clausen JO, Borch-Johnsen K, Ibsen H, Bergman RN, Hougaard P, Winther K, Pedersen O. Insulin sensitivity index, acute insulin response, and glucose effectiveness in a population-based sample of 380 young healthy Caucasians. Analysis of the impact of gender, body fat, physical fitness, and life-style factors. *J Clin Invest* 1996; 98: 1195-1209.
 73. Orio F Jr, Giallauria F, Palomba S, Cascella T, Manguso F, Vuolo L, Russo T, Lombardi G, Colao A, Vigorito C. Cardiopulmonary impairment in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006, in press.