



Facultad de Medicina.

“Hospital Universitario de Puebla”.

**“COMPARACIÓN DEL USO DE  
ASPIRINA VS METFORMINA EN LA  
SENSIBILIZACIÓN A LA INSULINA DE  
PACIENTES CON TRASTORNOS DEL  
CICLO MENSTRUAL.”**

Tesis para obtener el diploma de  
Especialidad en  
**GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**

Presenta:

Dr. Cutberto Villavicencio Damián CVU: 976202

Asesor experto:

Dr. Alejandro Morales López

M. en Ciencias de la Educación.

Especialista en Ginecología y obstetricia.

Asesor metodológico:

Dr. Michel Dassaejv Macias Amezcua

Especialista en Medicina materno fetal.

H. Puebla de Z. Febrero 2023



**BUAP**

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUEBLA  
SUBDIRECCION DE ENSEÑANZA, INVESTIGACION Y CAPACITACION EN SALUD**

**AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS**

Por este medio la Subdirección de Enseñanza, Investigación y Capacitación en Salud del Hospital Universitario de Puebla, para la evaluación de la tesis de la alumna **Cutberto Villavicencio Damián**, manifiesta que después de haber revisado su tesis: **“Comparación del uso de aspirina vs metformina en la sensibilización a la insulina de pacientes con trastornos del ciclo menstrual”** desarrollada bajo la dirección del **Dr. Alejandro Morales López** y asesoramiento metodológico **Dr. Michel Dassaejv Macías Amezcua**, el trabajo se **ACEPTA** para proceder a su impresión.

Al cumplir con este último requisito, usted será considerado candidato a obtener el Diploma de la Especialidad en: **Ginecología y Obstetricia**.

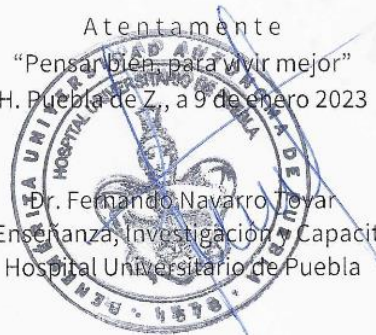
Emite su voto aprobatorio:

Atentamente

“Pensa bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., a 9 de enero 2023

Dr. Fernando Navarro Jeyar  
Subdirector de Enseñanza, Investigación y Capacitación en Salud  
Hospital Universitario de Puebla



## **DEDICATORIA:**

A mis padres, por enseñarme que lo único que necesito en la vida es la voluntad, por forjarme y orientarme a ser la persona que soy, por todas las veces que su ejemplo me ayudó a nunca rendirme y a siempre seguir.

## **AGRADECIMIENTOS:**

A mi madre, por enseñarme que los sueños se cumplen, que no importa que tan difícil sea todo, siempre tendré su amor y su apoyo.

A mi padre, por sus enseñanzas, por ser mi maestro, por confiar siempre en mí.

A Carmen, mi hermana; por ser mi ejemplo por seguir, por tener siempre una luz en el camino.

A Jiselle, por estar a mi lado siempre, por su amor incondicional, por ser mi hogar.

A mis maestros, por todas las enseñanzas, las correcciones, la confianza que me depositaron durante este camino, por ayudarme a convertir en la persona que seré mañana.

A todos los pacientes que durante estos cuatro años me permitieron convertirme en ginecólogo, siempre les estaré infinitamente agradecido.

## Tabla de contenido

<b>RESUMEN</b> .....	<b>6</b>
<b>ANTECEDENTES GENERALES:</b> .....	<b>8</b>
<b>CICLO MENSTRUAL Y SANGRADO UTERINO ANORMAL</b> .....	<b>8</b>
<b>RESISTENCIA A LA INSULINA</b> .....	<b>9</b>
<b>DIAGNOSTICO DE RESISTENCIA A LA INSULINA</b> .....	<b>10</b>
<b>RESISTENCIA A LA INSULINA Y ALTERACIONES DEL CICLO MENSTRUAL</b> .....	<b>10</b>
<b>ACIDO ACETILSALICÍLICO</b> .....	<b>13</b>
Farmacodinamia .....	13
Mecanismo de acción .....	14
Absorción .....	14
Metabolismo .....	14
Vía de eliminación .....	14
Vida media .....	15
<b>METFORMINA</b> .....	<b>15</b>
Farmacodinamia .....	15
Absorción .....	16
Metabolismo .....	16
Mecanismo de acción .....	16
Mecanismo molecular primario .....	17
Mecanismo de acción antihiperlipémico .....	18
Mecanismo de acción en SOP .....	19
<b>ANTECEDENTES ESPECÍFICOS</b> .....	<b>20</b>
<b>RESISTENCIA A LA INSULINA E INFLAMACIÓN CRÓNICA</b> .....	<b>20</b>
<b>INFLAMACIÓN TIPO 1 Y TIPO 2</b> .....	<b>21</b>
<b>INFLAMACIÓN EN OBESIDAD</b> .....	<b>21</b>
<b>MACROFAGOS:</b> .....	<b>21</b>
CD8 .....	22
CD4 .....	22
<b>CELULAS T Natural killers</b> .....	<b>23</b>
<b>NEUTROFILOS</b> .....	<b>23</b>
<b>MECANISMOS DE OBESIDAD LIGADOS A INFLAMACIÓN</b> .....	<b>23</b>
<b>INFLAMACION CRONICA</b> .....	<b>23</b>
<b>INFLAMACIÓN SISTEMÁTICA CRÓNICA Y RIESGO DE ENFERMEDADES CRONICAS</b> .....	<b>24</b>
<b>FUENTES DE INFLAMACION SISTÉMICA CRÓNICA</b> .....	<b>25</b>
<b>EFFECTOS CLÍNICOS Y EXPERIMENTALES</b> .....	<b>25</b>
<b>EFFECTO DE LOS SALICILATOS EN SENSIBILIDAD A LA INSULINA</b> .....	<b>26</b>
<b>METFORMINA E INFLAMACIÓN</b> .....	<b>28</b>
<b>ACTIVACIÓN DE LA PROTEÍNA QUINASA ACTIVADA POR ADENOSINA 5'- MONOFOSFATO</b> .....	<b>30</b>

<b>INHIBICIÓN DE LA VÍA DE ESTRÉS OXIDATIVA.....</b>	<b>30</b>
<b>JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>31</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>32</b>
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>33</b>
<b>HIPÓTESIS ALTERNA.....</b>	<b>33</b>
<b>OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>33</b>
<b>OBJETIVO ESPECÍFICOS.....</b>	<b>33</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
<b>GRUPOS:.....</b>	<b>34</b>
<b>MÉTODO DE ASIGNACIÓN .....</b>	<b>34</b>
<b>ESTRATEGIAS DE TRABAJO.....</b>	<b>34</b>
<b>TIPO DE MUESTREO .....</b>	<b>35</b>
<b>ANALISIS ESTADÍSTICO.....</b>	<b>35</b>
<b>TIPO DE VARIABLES.....</b>	<b>35</b>
<b>CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA .....</b>	<b>36</b>
<b>PRESENTACIÓN DE DATOS .....</b>	<b>37</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>39</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>FORTALEZAS Y DEBILIDADES .....</b>	<b>42</b>
<b>BIOÉTICA.....</b>	<b>42</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>43</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>45</b>

# **“COMPARACIÓN DEL USO DE ASPIRINA VS METFORMINA EN LA SENSIBILIZACIÓN A LA INSULINA DE PACIENTES CON TRASTORNOS DEL CICLO MENSTRUAL.”**

## **RESUMEN**

Como se menciona en la última revisión de sangrado uterino anormal de la federación internacional de ginecología y obstetricia, la incidencia del mismo abarca de un 3-30% a nivel internacional. La causa endocrina es la más común del sangrado uterino anormal, representando hasta un 50% de los casos, y un 20% de este se relaciona con amenorrea, siendo el patrón endocrino más observado la resistencia a la insulina, que se presenta en la mayoría de pacientes con diagnóstico de síndrome de ovario poliquístico.

La mayoría de las mujeres con síndrome de ovario poliquístico tienen sobrepeso u obesidad, presentando así un índice de resistencia a la insulina, que confiere la patología de sangrado uterino anormal por la estimulación de varias vías. Las mujeres con síndrome de ovario poliquístico se relacionan con amenorrea, y es más común que tengan menstruaciones irregulares. La resistencia a la insulina se refiere a una capacidad disminuida de la insulina circulante para regular el metabolismo de los nutrientes.

El *objetivo* de este estudio fue comparar el uso de aspirina vs metformina en la sensibilización a la insulina de pacientes con trastornos del ciclo menstrual.

## **MATERIAL Y METODOS**

Se realizó un ensayo clínico, controlado, con asignación al azar, ciego único en el Hospital universitario de Puebla, en el periodo comprendido de enero 2022 a julio de 2022. El cálculo de tamaño de la muestra fue de 66 pacientes derechohabientes, con sangrado uterino anormal, sin patología endocrina o anatómica; mismas que otorgaron el consentimiento de participación posteriormente fueron asignadas al azar a los grupos de metformina o aspirina mediante un sistema de números aleatorios. Fue utilizado el índice de HOMA para medir resistencia a la insulina. Fueron recabadas las variables peso, talla, IMC, HOMA y tipo de trastorno del ciclo. Las variables nominales se reportaron como frecuencia, las cuantitativas continuas como media y desviación estándar. La prueba chi cuadrada de Pearson para comparar las

frecuencias de variables nominales cualitativas, la prueba t de Student se usó en la comparación de variables cuantitativas. Todos los valores de p fueron considerados como significativos cuando  $p < 0.05$ .

## **RESULTADOS**

## **CONCLUSIONES**

Al comparar los dos medicamentos, se puede deducir que la utilización de ambos puede mejorar la resistencia a la insulina, en mujeres con sangrado uterino anormal, además de que por sus efectos pleiotrópicos los beneficios de una terapia combinada tendría mayor beneficios a las pacientes no solo en cuestión ginecológica, sino en reproductiva, endócrina y cardiovascular.

## ANTECEDENTES GENERALES:

### CICLO MENSTRUAL Y SANGRADO UTERINO ANORMAL

Ciclo menstrual normal, es aquel que consta de una frecuencia de 24 a 38 días, con una duración menor de 8 días, con un volumen de 50 a 75ml.<sup>1</sup>

El impacto mundial del sangrado uterino anormal (SUA) se reporta con una prevalencia del 3-30% en mujeres en edad reproductiva. El sangrado uterino anormal, crónico no gestacional en mujeres en edad reproductiva se define como sangrado del cuerpo uterino anormal, en duración, volumen, frecuencia y/o regularidad que ha estado presente en la mayormente precedido en 6 meses.

El sangrado uterino anormal agudo, es definido como un episodio de sangrado aumentado.<sup>2</sup>

PARAMETRO	NORMAL	ANORMAL
Frecuencia	Ausente (no sangrado) amenorrea	
	Infrecuente (>38 días)	
	Normal (>24 a <38 días)	
	Frecuente (<24)	
Duración	Normal (<8 días)	
	Prolongado (>8 días)	
Regularidad	Normal o regular	
	Irregular	
Volumen	Ligero	
	Normal	
	Aumentado	

## RESISTENCIA A LA INSULINA

Resistencia a la insulina puede definirse como una respuesta biológica anormal a las concentraciones normales de insulina. La resistencia a la insulina se refiere a un estado en el que una concentración determinada de insulina se asocia con una respuesta de glucosa por debajo de lo normal.<sup>3</sup>

Se trata de una respuesta subnormal a la glucosa a insulina endógena o exógena. Es comúnmente asociada con obesidad pero hay diferentes factores que se pueden asociar.

Presentación clínica puede presentarse de diversas maneras desde su etiología y severidad.

Es una condición que afecta cuando una persona aumento de peso, hasta el punto de que el tejido adiposo normal (subcutáneo) se llena en exceso y se acumula grasa en abdomen, hígado y músculos. La grasa visceral, se desarrolla en tejido endocrino activo.<sup>4</sup>

Los adipocitos secretan abundantes adipocinas, que alteran el metabolismo. Los principales problemas resultantes son la elevación de la presión arterial y la hiperinsulinemia.

El síndrome de resistencia a la insulina, también conocido como síndrome metabólico y síndrome x. La figura deja claro como una gran ingesta de energía combinada con sedentario, conduce a un balance energético positivo, provocando una hipertrofia de adipocitos.

La resistencia a la insulina se manifiesta como una reducción de los efectos metabólicos de la insulina en el hígado, los músculos y el tejido adiposo, los tejidos corporales que almacenan energía. Debido a que la insulina afecta directa o indirectamente a casi todos los tejidos del cuerpo, pueden ser evidentes los signos físicos de resistencia a la insulina o condiciones asociadas. Estos incluyen hallazgos cutáneos, como la acantosis nigricans, y afecciones sistémicas como el síndrome de

ovario poliquístico (SOP) y el conjunto de anomalías metabólicas denominadas síndrome metabólico. La prediabetes y la diabetes tipo 2 son diagnósticos bien reconocidos asociados con la resistencia a la insulina en adultos y se están volviendo más frecuentes en niños.

## **DIAGNOSTICO DE RESISTENCIA A LA INSULINA**

El principal síntoma de hiperinsulinismo es un aumento de la circunferencia abdominal mayor al 80% de la cadera.

Los niveles altos de glucosa en ayunas son un signo de resistencia a la insulina, causada por la gluconeogénesis nocturna del hígado, en lugar de un signo de diabetes tipo 2, especialmente cuando HBA1C es normal. Otros síntomas de la RI son fatiga, inestabilidad emocional, infecciones crónicas e infertilidad.<sup>5</sup>

Un índice HOMA > 2,5 para definir RI en la práctica clínica<sup>6</sup>

- Sensibilidad de 70%
- Especificidad de 45%,
- Valor predictivo positivo de 71.7%
- Valor predictivo negativo de 46.3%

## **RESISTENCIA A LA INSULINA Y ALTERACIONES DEL CICLO MENSTRUAL**

La resistencia a la insulina puede deberse a defectos de receptor a insulina o síndromes lipodistrofícos, que crean remodelación entre los señalamientos de insulina y las funciones endocrinas ováricas. Además, estudios recientes sugieren además que las formas comunes de adiposidad disfuncional, así como la producción alterada de adipocinas, podrían representar vínculos fisiopatológicos importantes entre el síndrome metabólico y la infertilidad.<sup>7</sup>

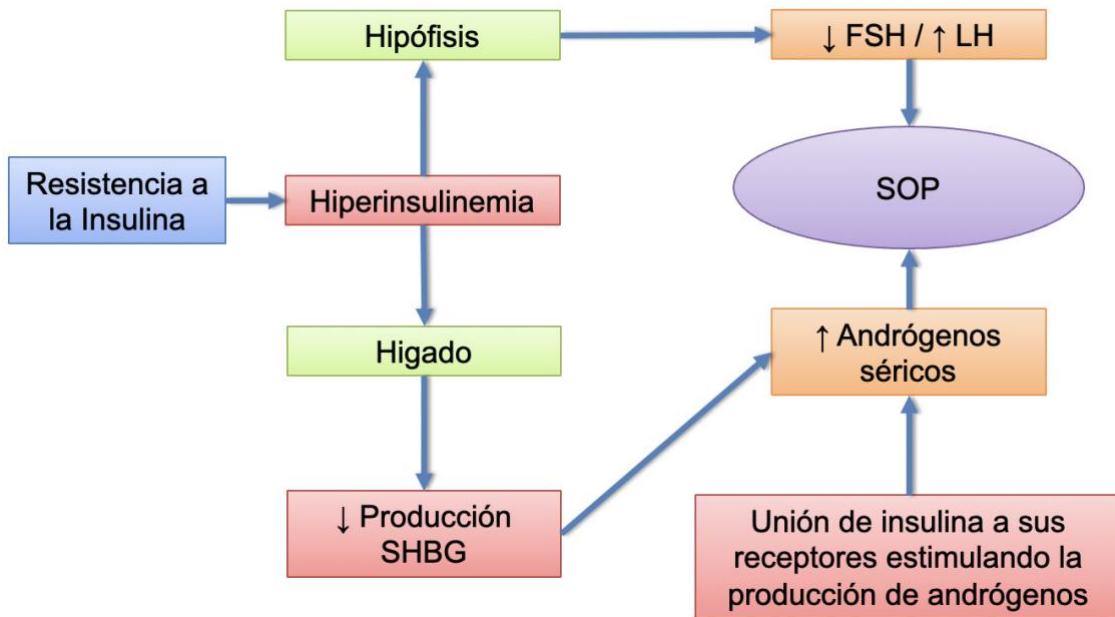
Resistencia a la insulina se ha asociado a diferentes comorbilidades, como el síndrome metabólico, que se observa hasta en dos tercios de pacientes con síndrome de ovario poliquístico, siendo la obesidad un factor de riesgo importante.

La resistencia a la insulina se asocia más al IMC que a patologías como SOP o síndrome metabólico, además de la gravedad de la resistencia a la insulina, ajustada por IMC se correlaciona con alteraciones del ciclo menstrual, acentuando el vínculo fisiopatológico entre resistencia a la insulina y disfunción ovárica.

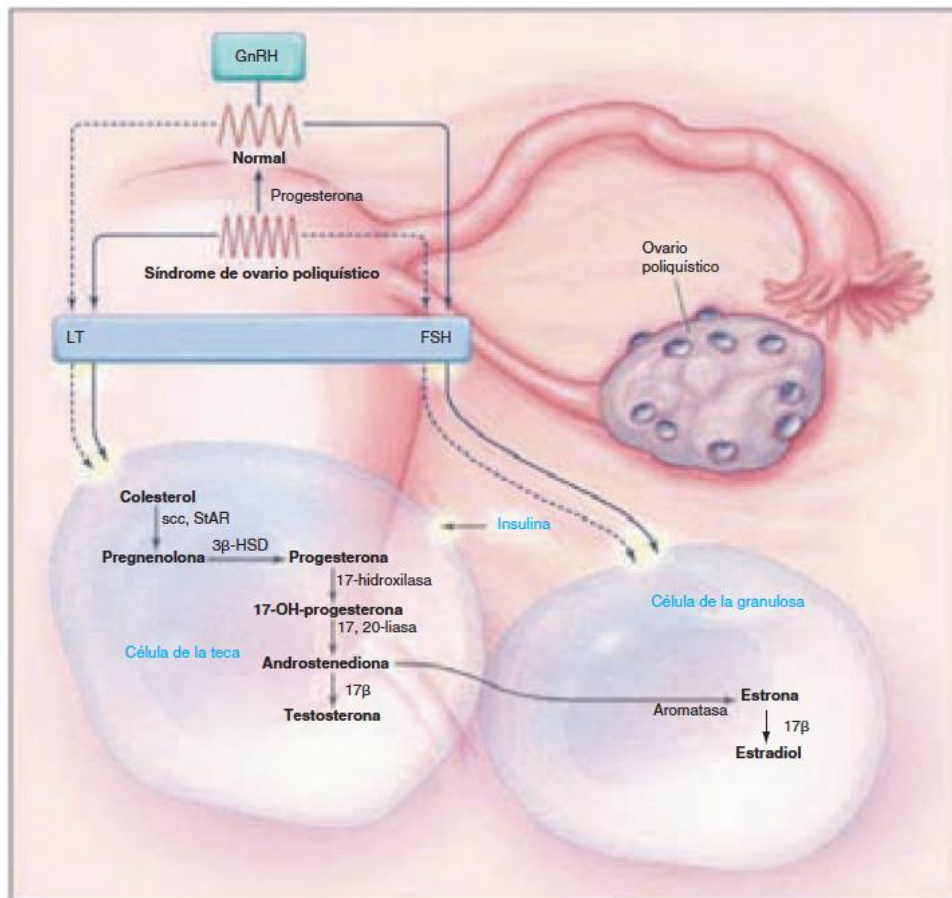
La insulina incrementa la producción de andrógenos de origen ovárico, en sinergia con la hormona luteinizante. Esto es mediado por el receptor de insulina, que expresa las células de la teca y gránulos<sup>5</sup>. Se ha demostrado que la desactivación selectiva del receptor de insulina en células de la teca previene la anovulación y el hiperandrogenismo, inducido por la resistencia a la insulina, en modelos de ratones con dieta a base de grasas.<sup>8</sup>

El factor de crecimiento tipo insulina (IGF1), promueve la esteroidogénesis ovárica, que puede ser estimulada directamente por los picos de insulina.

La resistencia a la insulina selectiva estimula las células de la teca para la producción de andrógenos, pero a su vez disminuye la producción de proteínas transportadoras de IGF y proteínas de unión a hormonas sexuales (IGFBP1 Y SHBG) por parte del hígado elevando los niveles de biodisponibilidad de fracciones libres de IGF1 y testosterona respectivamente, incrementando aún más el hiperandrogenismo.<sup>9</sup>



Mecanismo de alteración del sangrado uterino anormal, en pacientes con hiperinsulinemia.<sup>9</sup>

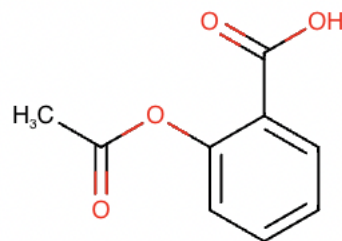


Fuente: Speroff L, Fritz MA. Induction of ovulation.<sup>10</sup>

## ACIDO ACETILSALICÍLICO

Es un salicilato que se usa para tratar dolor, fiebre, inflamación, migrañas y reducir riesgo de eventos cardiovasculares. Además de los usos previamente dichos, este medicamento inhibe la agregación plaquetaria. Está clasificada como inhibido no selectivo de la ciclooxigenasa, y está disponible en muchas dosis y formas.

### *Estructura de ácido acetilsalicílico*



### Farmacodinamia

El ácido acetilsalicílico interrumpe la producción de prostaglandinas en todo el cuerpo al atacar la ciclooxigenasa -1 (COX-1) y la ciclooxigenasa -2 (COX-2). Las prostaglandinas son sustancias potentes e irritantes que se ha demostrado que causan dolores de cabeza y dolor al ser inyectadas en humanos, aumentan la sensibilidad de los receptores de dolor, y sustancias como histamina y bradicina. A través de su interrupción en la producción y la prevención de la liberación de prostaglandinas en la inflamación, este medicamento puede detener su acción en nociceptores, previniendo los síntomas de dolor. El ácido acetilsalicílico se considera un agente antipirético debido a su capacidad para interferir la producción de prostaglandinas E1 en el cerebro. Se sabe que dicha prostaglandina es un inductor de fiebre.

La inhibición de la agregación plaquetaria por parte del AAS se produce por su interferencia con el tromboxano A2 en las plaquetas provocada por la inhibición de COX-1. El tromboxano A1 es un lípido importante para la agregación plaquetaria.<sup>11</sup>

### Mecanismo de acción

Como se mencionó anteriormente el ASA, bloquea las enzimas COX 1 y COX-2. El grupo de acetilo de ASA se une a un residuo de Serina de la enzima COX-1, lo que provoca una inhibición irreversible, esto previene la producción de prostaglandinas que causan el dolor, además de detener la conversión de ácido araquidónico en tromboxano A<sub>2</sub> TXA<sub>2</sub>, que es un potente inductor de la agregación plaquetaria. Es importante señalar que existe un 60% de homología entre las estructuras proteicas de COX1 y COX2.<sup>11</sup>

### Absorción

La absorción generalmente es rápida y completa después de la administración oral, pero la absorción varía según la vía, dosis y otros factores como puede ser la velocidad de disolución de la tableta, el contenido gástrico y el tipo de vaciamiento gástrico, así como el pH gástrico.<sup>11</sup>

Cuando se ingiere por vía oral, el ácido acetilsalicílico se absorbe rápidamente tanto en el estómago como en la porción próxima del intestino delgado. El ácido acetilsalicílico no ionizado atraviesa el revestimiento del estómago por difusión pasiva. La absorción ideal del salicilato en el estómago ocurre en el rango de pH de 2,15 a 4,10. La absorción intestinal del ácido acetilsalicílico se produce a un ritmo mucho más rápido. Las concentraciones máximas de salicilato en plasma ocurren 1 a 2 horas después de la administración.<sup>11</sup>

### Metabolismo

El ácido acetilsalicílico se hidroliza en el plasma a ácido salicílico, las concentraciones plasmáticas después de la administración de la forma de liberación prolongada son en su mayoría indefectibles 4 a 8 horas después de la ingestión de una dosis única. Se metaboliza principalmente en el hígado.<sup>10</sup>

### Vía de eliminación

La excreción de los salicilatos se produce por vía renal principalmente, la dosis completa para la eliminación renal tarda hasta 48 horas.<sup>10</sup>

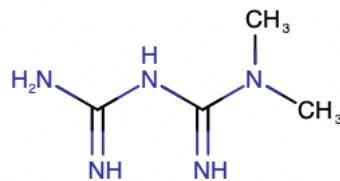
Vida media

La vía media oscila entre 13 a 19 minutos. Las concentraciones en sangre caen rápidamente después de la absorción completa. La vida media del salicilato oscila entre 3.5 a 4.5 horas.<sup>11</sup>

## METFORMINA

Es una biguanida antihiperlipémica usada en conjunto con dieta y ejercicio para el control de Diabetes tipo 2, usada además para resistencia a la insulina en pacientes con síndrome de ovario poliquístico. Es comúnmente descrita como sensibilizador a la insulina, además de ayudar con la discreta reducción de peso. La metformina se aprobó por primera vez en Canadá en 1972 y posteriormente en Estados Unidos en el año de 1995 por la FDA.<sup>11</sup>

*Estructura molecular de metformina.*



Farmacodinamia

La metformina reduce la producción hepática de glucosa disminuyendo la absorción intestinal de glucosa y aumentando la sensibilidad de la insulina, tanto la captación como la utilización de glucosa periférica. A diferencia de los medicamentos como las sulfonilureas que provocan hiperinsulinemia, no se presentan cambios en la secreción de insulina con la metformina.<sup>11</sup>

HbA1c es una medida periódica importante del control glucémico que se utiliza para controlar a los pacientes diabéticos. La glucosa plasmática en ayunas también es una medida útil e importante de control glucémico, se ha observado disminución de la glucosa preprandial de 59mg/dL, y reducción de HbA1c hasta de un 1.4%.<sup>11</sup>

## Absorción

La biodisponibilidad absoluta de un comprimido de 500mg es de aproximadamente 50-60%. Las concentraciones plasmáticas de metformina se alcanzan a las 24 a 48 horas y normalmente miden en  $<1\mu\text{g/mL}$ .

Tras una dosis de liberación prolongada la concentración máxima se alcanza a las 7 horas.<sup>11</sup>

## Metabolismo

Se ha estudiado que tiene excreción urinaria. La vida media de la metformina es de 6.2 horas en plasma, y la eliminación plasmática su vida media es de 17.6 horas.

Efectos adversos: Se ha observado sintomatología gastrointestinal en la mayoría de los pacientes, como son flatulencias, distensión abdominal, náuseas.<sup>11</sup>

## Mecanismo de acción

Los mecanismos subyacentes a las acciones de metformina parecen ser complejos y responsables de los efectos pleiotrópicos. Estos mecanismos siguen siendo un tema de debate considerable, en la década pasada, pasamos de una imagen sencilla de la acción de la metformina a través de la proteína quinas activada por AMP 5' del hígado (AMPK), a una mucho más compleja que refleja sus diversos mecanismos.<sup>12</sup>

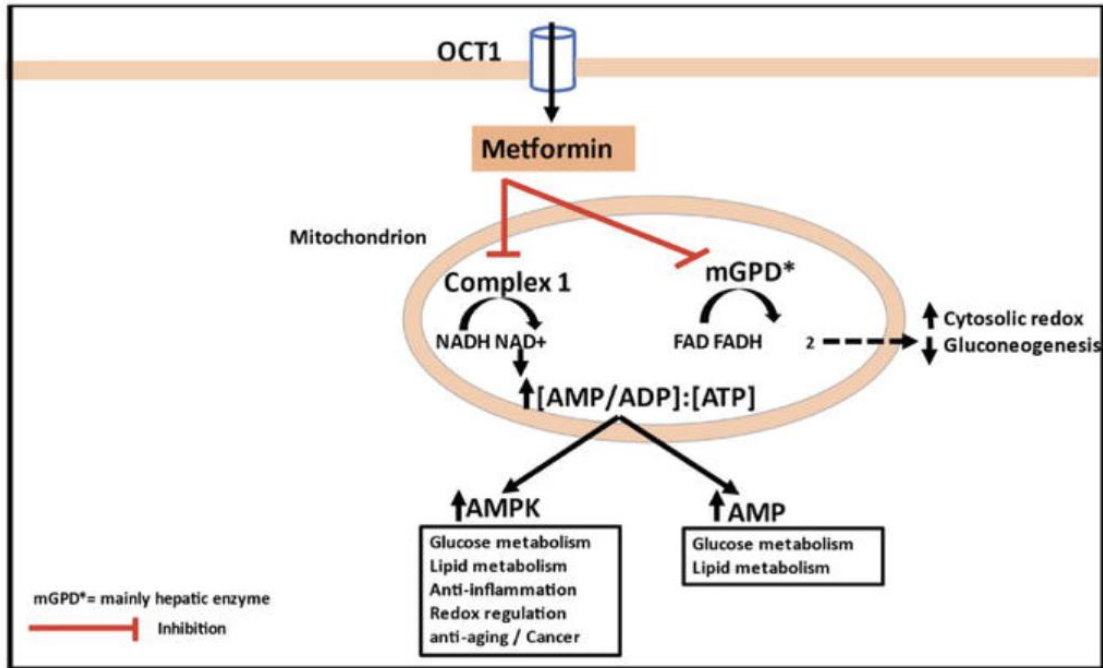
Los primeros estudios sobre metformina sugieren que actúa mediante la inhibición del complejo 1 en la cadena de transporte de electrones en la mitocondria, y posteriormente la activación de AMPK, también se ha demostrado que actúa de manera independiente a la AMPK. Estos comprenden desde la desfosforilación de la proteína ribosómica S6, la supresión de la activación y señalización del complejo rapamicina 1 (mTORC1) a través de RAg GTPasa, suprimiendo los niveles glicerofosfato y deshidrogenasa (mGPD), así como la modulación de la inflamación/estrés oxidativo y las vías de señalización oncogénicas.<sup>12</sup>

Mecanismo molecular primario.

La metformina es un fármaco hidrofílico con Pka 12.4, que no puede difundirse fácilmente de forma pasiva a través de la membrana celular debido a su existencia como catión a un pH fisiológico de 7.4, como fármaco hidrofílico, necesita una vía mediada por un transportador para pasar de manera eficiente a través de la membrana celular. Esto facilitado por el transportador de cationes orgánicos 1 (OCT 1), un miembro de la familia de transportadores solubles 22 (SLC22) de proteínas de membrana. OCT1 se expresa principalmente en el hígado, para transferencia de cationes, incluyendo la metformina, que además facilita la absorción de la misma en la luz intestinal hasta el intersticio, toda células capaz de expresar OCT1 es capaz de facilitar la absorción celular de metformina. <sup>13</sup>

Dentro de la mitocondria, la metformina se acumula en la matriz e inhibiendo el complejo 1 de la cadena de transferencia de electrones NADH, la cual promueve la generación de protones, es inhibición causa la reducción de la oxidación de NADH, y en última instancia evita la producción de ATP a partir de ATP sintasa.

De esta forma el resultado de AMP ATO y ADP, aumentan los niveles de ATP (Figura 2). De esta forma el aumento de estos productos, acompañado de la reducción de energía celular, activa el sensor de energía celular (enzima house keeper) AMPK. Además de la metformina inhibe directamente la GPD2 hepática, siendo esta la enzima involucrada en la gluconeogénesis del sustrato (glicerol). Su inhibición conduce a un aumento de los anti oxidantes citosólico y a la supresión de la gluconeogénesis. <sup>13</sup>



Mecanismos primarios moleculares de acción de metformina.<sup>14</sup>

AMPK es un complejo proteico heterotrimérico que consta de subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . La subunidad  $\alpha$  representa el sitio catalítico que puede ser activado (fosforilado) por la quinasa hepática B1 (LKB1) en Thr-172 [14] y también por la proteína quinasa quinasa  $\beta$  dependiente de calcio/calmodulina (CaMKK $\beta$ ) en Thr-172. Los  $\beta$  y  $\gamma$  denotan subunidades reguladoras. En caso de estrés energético celular con ATP bajo, AMP o ADP se unen directa y mutuamente a las subunidades  $\gamma$  causando un cambio conformacional que conduce a la activación de AMPK. La metformina induce la activación de AMPK por la vía LKB1 y también por cambios conformacionales inducidos por AMP/ADP. Vale la pena mencionar que los niveles más altos de AMP protegen a la AMPK de la desfosforilación por parte de las fosfatasas.<sup>14</sup>

#### Mecanismo de acción antihiperlicémico

Metformina es el fármaco de elección en el tratamiento de pacientes con Diabetes tipo 2, inhibiendo primeramente la absorción de glucosa intestinal, segundo es sufriendo la producción de glucosa hepática, tercero facilitando la toma de glucosa tisular, finalmente esto provee la sensibilidad de la insulina y disminución de inflamación.<sup>14</sup>

## Mecanismo de acción en SOP

Uno de los efectos pleiotrópicos de la metformina es la reducción de resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia secundaria en diabetes mellitus. La hiperinsulinemia está ligada con la patogénesis del SOP, una condición de defunción primaria ovulatoria, asociada con alteraciones metabólicas. SOP es la enfermedad endocrina que se caracteriza con hiperandrogenismo, anovulación e infertilidad. La obesidad aumenta la resistencia a la insulina en mujeres con SOP. La resistencia a la insulina en mujeres con SOP es tejido selectivo, lo que significa una sensibilidad persistente a las acciones de la insulina sobre la esteroidogénesis en el ovario y la glándula suprarrenal, frente a la resistencia en el músculo esquelético, el tejido adiposo y el hígado a las acciones metabólicas de la insulina. <sup>14</sup>

Los mecanismos de contribución de acción de la insulina en hiperandrogenismo en SOP son varios. La insulina puede encadenar la amplitud de hormona luteinizante, los pulsos incrementan la producción de andrógenos en las células de la teca (similarmente la insulina incrementa la respuesta teca a LH a través de receptores a uniones al factor de crecimiento tipo insulina 1 (IGF-1) en las células de la teca). También la insulina puede estimular la actividad del citocromo ovárico CYP17 (P450C17) y de la deshidrogenasa 17 $\beta$ -hidroxiesteroide (17 $\beta$ HSD) para promover la esteroidogénesis. Además, la insulina puede disminuir la producción de globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG), la cual permite la circulación libre de andrógenos y estrógenos. Finalmente, la insulina inhibe la producción hepática de IGFBP-1 (proteína transportadora de factor de crecimiento tipo insulina -1) con lo que incrementa IGF-1 en circulación, permitiendo una mayor acción local. <sup>14</sup>

Además, el aumento de los niveles de andrógenos puede relacionarse con la disminución de adiponectina por parte de los adipocitos en mujeres con SOP, lo que aumenta la resistencia a la insulina y por consiguiente la hiperinsulinemia, afectando el tejido adiposo subcutáneo femenino y generando la producción de andrógenos a partir de la actividad de la enzima aldocetoreductasa IC3 (AKRIC3). <sup>14</sup>

La metformina puede mejorar todas las acciones mencionadas anteriormente en la hiperinsulinemia del SOP. El tratamiento con metformina sirve para reducción de

hiperinsulinemia, de andrógenos circulantes, mejorando de manera directa e indirecta las alteraciones del ciclo menstrual.<sup>14</sup>

La metformina actúa directamente sobre las células de la teca ovárica y suprime la producción de andrógenos mediante la inhibición de la actividad enzimática de P450C17 y 17 $\beta$ HSD, así como la reacción de hiperinsulinemia por mecanismos múltiples, se ha demostrado que las acciones metabólicas de la metformina sobre las células incluyen un aumento de la capacidad de la respuesta de los tejidos a la acción de la insulina, el número de receptores de insulina en el músculo esquelético y tejido adiposo, la actividad de la tirosina quinas y la captación titular de glucosa. La mayoría de estas acciones han sido mediadas por la activación de la cascada AMPK que da como resultado reacción de la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina.<sup>14</sup>

## **ANTECEDENTES ESPECÍFICOS**

### **RESISTENCIA A LA INSULINA E INFLAMACIÓN CRÓNICA**

La obesidad se ha convertido en una epidemia global, y se ha incrementado a casi el triple desde 1970. En 2016 más de 1.9 billones de adultos (39% de la población adulta, y más de 650 millones fueron obesos).

340 millones de niños y adolescentes de edad de 5-19 años,. De los cuales 41 millones de niños menores a 5 años tienen obesidad.<sup>16</sup>

Obesidad incrementa el riesgo para muchas enfermedades, particularmente resistencia a la insulina, y DM tipo 2.

En las pasadas 2 décadas, se ha reconocido que la obesidad es asociada con un grado leve de inflamación en una gran variedad de tejidos, incluyendo el adiposo, músculo-esquelético, hígado, páncreas, intestino e incluso el cerebro. Las células de inmunidad, innatas y adaptativas, pueden participar en inflamación ligada a obesidad, por lo que hay un vínculo entre obesidad, resistencia a la insulina y DM tipo 2.<sup>17-18</sup>

## INFLAMACIÓN TIPO 1 Y TIPO 2

Inflamación puede clasificarse como tipo 1 y 2, es inicialmente descrito por la respuesta inmune adaptativa de los cd4+ y linfocitos T que son los Th1 y Th2, que son expresadas y descritas por distintas moléculas de inflamación.

## INFLAMACIÓN EN OBESIDAD

La primera evidencia de obesidad ligada a inflamación fue reportada por una elevación de TNFa, en tejido adiposo en obesidad. Desde entonces numerosos estudios muestran incremento inflamación en tejido adiposo en obesidad animales y humanos.

### Inflamación en tejido adiposo visceral y subcutáneo

El estudio inicial atribuía inflamación del tejido adiposo a adipositos, principalmente, la identificación de macrófagos en tejido adiposo, y de otras células inmunes, se ha desmotado que la mayoría de moléculas inflamatorias en tejido adiposo en animales y humanos.<sup>19</sup>

### MACROFAGOS:

El incremento en macrófagos es uno de los marcadores de inflamación en tejido adiposo ligado a obesidad, los cuales residen en tejido subcutáneo y visceral. El estudio inicial demostró que el porcentaje de macrófagos fue positivamente relacionado con el tamaño del adiposito y el IMC.

La mayoría de estudios de inflamación en el tejido adiposo incluyen en tejido visceral. Histológicamente en obesidad, macrófagos dirigen la muerte de adipositos formando estructuras como coronas. En tejido adiposo los macrófagos pueden cambiar a fenotipos M0 o M2, en condiciones aprendidas a M1, en obesidad, con incremento de M1 citrinas tipo 1, TNFa, !B, IL-6.<sup>19</sup>

En obesidad los macrófagos del Tejido Adiposo expresan niveles altos de CD11c, una B2 interina que es comúnmente usado para definir células dendríticas en ratones, las CD11C+ expresan niveles altos de MMHCII, que incluye macrófagos y células dendríticas, ambas con contribución para inflamación en tejido adiposo; además de marcadores de inflamación.<sup>19</sup>

En estudios recientes se ha empleado una secuencia única de RNA, que identifica CD9 y CD63 expresando poblaciones de macrófagos que expanden el tejido adiposo visceral. Comparado con otras poblaciones de macrófagos, que expresan Ly-6C y también incrementa el tejido adiposo en obesidad de los ratones, CD9+ y Ly6c-, son predominantemente macrófagos que forman estructuras tipo coronas., que expresan altos niveles de citrinas tipo 1, como proteínas quimioatrayentes de monolitos, IL1 y TNF $\alpha$  que pueden iniciar respuesta inflamatoria en tejido adiposo, dando ayuda importante rol de CD9 en inflamación de tejido adiposo, además de expresar Trem2 (receptor desencadenante expresado en células mieloides 2) que tiene una clase de transcripción del metabolismo de lípidos y vías lisosomales, son llenas de lípidos intracelulares.

Estudios indican que la obesidad inicia asociada a biogénesis lisosomal con acumulación de lípidos en macrófagos de tejido adiposo.

**Table. Comparison of Type 1 and Type 2 Inflammation**

	Type 1	Type 2
Stimuli	LPS, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-12	IL-10, IL-4/IL-13, allergens
Major cells	Th1, CD8+ T <sub>EM</sub> /T <sub>E</sub> , M1 macrophages, neutrophils	Th2 cells, M2 macrophages, eosinophils, ILC2
Secreted cytokines	IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12	IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, TGF $\beta$
Transcription factors	T-bet (Th1), STAT1, NF- $\kappa$ B, IRF5	STAT3, STAT6, IRF4, GATA3, PPAR $\gamma$
Major functions	Defense against intracellular pathogens	Immunoregulation, tissue remodeling, allergy, defense against extracellular parasites

Fuente: Metabolic Inflammation and Insulin Resistance in Obesity <sup>15</sup>

## CD8

En ratas alimentadas con grasas saturadas, se ha visto incremento de CD8+ en tejido graso visceral, pero no en tejido celular subcutáneo. En obesidad los CD8 del tejido visceral polarizan el efecto de expresión de interferir gama y biomarcadores como CD69. <sup>15</sup>

## CD4

Con CD4 la frecuencia de expresión de INF gama incrementa la obesidad en tejido visceral más que en tejido celular subcutáneo. La ablación de Th 1 citoquinas atenta INF gama y la inflamación, sufriendo un rol crucial de Th1 en inflamación. <sup>15</sup>

## CELULAS T Natural killers

Son heterogeneos de células T, que expresan marcadores de células T aB, y receptores para dichas células, las NK pueden producir Th1 y Th2, citoquinas, dependiendo de la clasificación expresan variantes que pueden incrementar la inflamación en tejido adiposo, se ha visto que se disminuye la expresión de iNKT cuando hay dieta rica en grasas, el cual se ha observado que es factor protector de obesidad.<sup>15</sup>

## NEUTROFILOS

Son los leucocitos más abundantes en sangre periférica en humanos. Los ratos alimentados con grasas saturadas.<sup>15</sup>

## MECANISMOS DE OBESIDAD LIGADOS A INFLAMACIÓN

Los mecanismos ligados a inflamación de la obesidad dependen del tipo de tejido, localización y reclutamiento celular inmune.<sup>15</sup>

Reclutamiento celular, con la obesidad la inflamación y el reclutamiento de células inmunes mayoritariamente células inflamatorias tipo 1, empiezan tempranamente en el tejido adiposo. En particular los neutrofilos comienzan a incrementarse en el tejido adiposo visceral, 3 días después de empezar la dieta con grasas saturadas.<sup>15</sup>

## INFLAMACION CRONICA.

Uno de los grandes descubrimientos de las dos décadas pasadas han sido el sistema inmune y la inflamación, están envueltos en muchas enfermedades.

Enfermedades relacionadas con inflamación crónica han sido reconocidas como las principales causas de muerte en el mundo, más del 50% de las muertes se han atribuido a enfermedades relacionadas con inflamación como enfermedades isquémicas del corazón, evento vascular cerebral, cáncer, DM2, enfermedad renal crónica, enfermedad de hígado graso no alcohólica, autoinmunes y condiciones neurodegenerativas.<sup>15</sup>

Inflamación es un proceso evolucionado, que se caracteriza por la activación de células inmunes y no inmunes que protegen al huésped, promoviendo la reparación de tejidos y su regeneración.

Según el grado y la extensión de la respuesta inflamatoria, incluso sistémica o local, pueden ocurrir cambios metabólicos y neuroendocrinos.

Los efectos bioconductuales específicos de la inflamación incluyen una constelación de comportamientos de ahorro de energía conducente conocidos como compartimentos de la enfermedad.<sup>15</sup>

## INFLAMACIÓN SISTEMÁTICA CRÓNICA Y RIESGO DE ENFERMEDADES CRONICAS

La inflamación aguda es responsable de iniciar típicamente durante infecciones, por una interacción entre receptores células innatas de la inmunidad y desarrollar patrones moleculares asociados a patógenos. La inflamación aguda es responsables de activar los patrones moleculares de daños asociados, que son los responsables en respuesta a estímulos notorios, físicos, químicos o metabólicos, durante el daño o estrés celular. Siguiendo a la infección, la producción de moléculas como liposinas, resolvinas, marinas y protecciones que contribuyen a la resolución de la inflamación.<sup>20</sup>

En contraste con la inflamación crónica típicamente estimulada por patrones moleculares asociados a daño, la inflamación crónica se incrementa con la edad, diversos estudios han mostrado que con el envejecimiento, se aumentan los niveles circulantes de citoquinas, quimocinas y proteínas de fase aguda.

Las consecuencias clínicas de inflamación crónica pueden resultar en un daño severo y que incluye el riesgo de síndrome metabólico, enfermedades cardiovasculares, enfermedad renal crónica.<sup>20</sup>

La evidencia empírica demuestra que la inflamación juega un papel importante en la progresión de estas enfermedades, y en enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide y resistencia a la insulina, entre otras.

El biomarcador más importante es proteína C reactiva, quien funciona como un predicador de eventos cardiovasculares tanto en hombres como mujeres.

E ha observado que la terapia con inhibidos de anti-TNF alfa, reduce la resistencia a la insulina en pacientes con artritis reumatoide.<sup>20</sup>

## FUENTES DE INFLAMACION SISTÉMICA CRÓNICA

El estado de inflamación crónica en individuos es causado en parte por un proceso complejo celular, que se caracteriza por proliferación celular y desarrollo de un fenotipo secretor asociado a la senectud. Una prominente presentación de este fenotipo está incrementada por la producción de citoquinas, quimiocinas y otras células de inflamación. Aún no se cuenta con información del todo sobre el proceso de fenotipo secretor asociado a la senectud, pero se ha entendido como una combinación de factores endógenos y no endógenos de estilo de vida, en causas endógenas el fenotipo expresado por el daño al ADN, telómeros disfuncionales y disrupción epigenómica, señalamientos mitógenicos y estrés oxidativo. En los no endógenos, contribuyen infecciones crónicas, obesidad, disbiosis, dieta, y cambios en la cultura y sociales que producen toxinas industriales.

Se han incrementado las enfermedades relacionadas con la inflamación crónica de forma dramática, tanto para personas jóvenes como mayores en países industrializados.<sup>20</sup>

## EFFECTOS CLÍNICOS Y EXPERIMENTALES

La lipoxina provocada por la aspirina promueve la resolución de la inflamación y actúa como antioxidante e inmunomodulador. También bloquea la generación de especies reactivas de oxígeno en las células endoteliales; es un factor antiinflamatorio potente, que inhibe la interacción leucocito-endotelial y la quimiotaxis celular de los neutrófilos mientras promueve la quimiotaxis de los monocitos y la fagocitosis no flogística de los neutrófilos apoptóticos por parte de los macrófagos; inhibe la activación de NF- $\kappa$ B y la secreción de TNF- $\alpha$  en las células T activadas.<sup>21</sup>

El efecto de lipoxinas ligadas a ácido acetil salicílico se ha utilizado con éxito en una amplia gama de modelos de enfermedades murinas, como el asma experimental, el tipo de reacción de hipersensibilidad retardada inducida por anhídrido trimelítico, la inflamación crónica de las vías respiratorias y la infección asociada con la fibrosis quística. Además, las lipoxinas ligadas a ácido acetil salicílico inhibe la proliferación y la angiogénesis en estados proliferativos como la inflamación crónica, las enfermedades isquémicas y el cáncer.<sup>21</sup>

Estos resultados abren una gama de usos terapéuticos potenciales de ATL en una variedad de enfermedades inflamatorias.<sup>21</sup>

Algunos autores han demostrado que la actividad antiinflamatoria de la aspirina se debe a la producción de óxido nítrico (NO) y que este efecto está mediado por la síntesis de NO inducida por lipoxinas ligadas a aspirina, a través de las sintasas de NO constitutivas e inducibles (eNOS e iNOS, respectivamente) ( 25, 73). Mientras tanto, otros autores argumentan que en la producción de NO mediada por aspirina está involucrada la proteína hemo oxigenasa-1 (HO-1), lo que sugiere que más de una vía de señalización puede estar implicada. HO-1 es la enzima inducible que cataboliza el hemo, lo que lleva a la generación de bilirrubina, monóxido de carbono y hierro. Estas moléculas tienen propiedades antioxidantes, antiapoptóticas y citoprotectores.<sup>21</sup>

Aunque la utilidad del ATL en el campo de la reproducción no ha sido estudiada extensamente, algunos reportes sugieren las posibilidades de su uso en este contexto. Se observó un aumento de la expresión de ALXR en el endometrio humano durante el ciclo menstrual y en la decidua durante el primer trimestre del embarazo.<sup>21</sup>

#### EFFECTO DE LOS SALICILATOS EN SENSIBILIDAD A LA INSULINA

El mecanismo de la resistencia a la insulina es complejo y en gran parte desconocido. Sin embargo, tanto en animales como en humanos, la infusión de lípidos puede inducir resistencia a la insulina.

Se han observado experimentos, donde se muestran que la activación de IKK- $\beta$  es importante en la insulina inducida por grasa.<sup>22</sup>

El salicilato en dosis altas previene los defectos inducidos por la grasa en la señalización de la insulina. Con base en estos hallazgos, se sugieren que “los salicilatos representan una clase potencialmente novedosa de agentes terapéuticos para la diabetes tipo 2.”<sup>22</sup>

También hay sólidos argumentos teóricos de que los salicilatos tienen efectos nocivos sobre la resistencia a la insulina. Al igual que los TG (o ácidos grasos), la citoquina

proinflamatoria TNF- $\alpha$  sintetizada por los adipocitos es un factor central en la patogénesis de la resistencia a la insulina. Como subrayaron también Kim et al., existe una superposición significativa entre los eventos intracelulares inducidos por ácidos grasos y TNF en tejidos sensibles a la insulina: ambos activan IKK- $\beta$  y disminuyen la fosforilación de tirosina de IRS-1, y ambos aumentan las concentraciones de ceramida intracelular, lo que conduce a la inhibición de la activación de Akt/proteína quinasa B y al deterioro de la translocación de GLUT-4.<sup>22</sup>

Los efectos de los salicilatos sobre la resistencia a la insulina inducida por TNF son completamente opuestos a los informados por Kim y sus colegas sobre la resistencia a la insulina inducida por grasas. El TNF induce la síntesis de prostaglandinas (PG), que funcionan como un mecanismo de retroalimentación negativa al inhibir la producción de TNF aguas arriba (9). Nosotros y otros hemos demostrado en voluntarios sanos que la administración de aspirina o indometacina, ambos fuertes inhibidores de la síntesis de PG, aumenta la capacidad de producción de TNF al menos dos veces (10, 11), lo que puede afectar negativamente la sensibilidad a la insulina. Además, las PG estimulan la síntesis de leptina, una adipocitocina conocida por disminuir la resistencia a la insulina a través de la mejora de la actividad del fosfatidilinositol (PI) 3-quinasa asociada con el IRS-1.<sup>22</sup>

Aunque todavía no se ha probado experimentalmente, la inhibición de la síntesis de PG por parte de los compuestos de salicilatos también puede influir negativamente en la sensibilidad a la insulina al inhibir la liberación de leptina. Por lo tanto, la aspirina podría aumentar la resistencia a la insulina a través de al menos dos mecanismos mediados por la inhibición de la síntesis de PG, a saber, la regulación al alza de la síntesis de TNF y la inhibición de la liberación de leptina. Hay otros factores endógenos importantes que modulan la resistencia a la insulina: la adiponectina invierte la resistencia a la insulina, posiblemente en parte por la inhibición de la síntesis de TNF, mientras que la resistina altera la tolerancia a la glucosa y la acción de la insulina.<sup>22</sup>

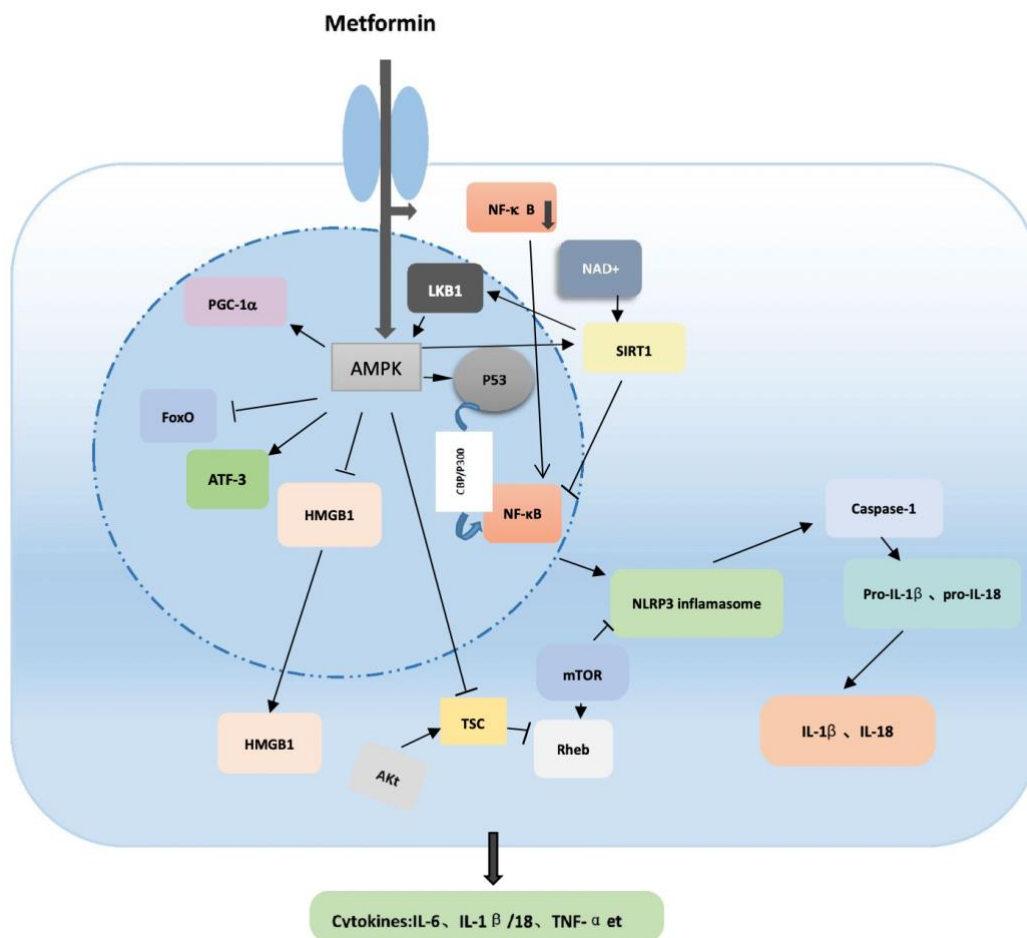
Los efectos de los salicilatos en la resistencia a la insulina. Existe una superposición significativa entre los eventos intracelulares inducidos por TG (o FFA) y TNF con respecto a los mecanismos de resistencia a la insulina. Ambos estímulos activan IKK-

$\beta$  y disminuyen la fosforilación de tirosina de IRS-1 inducida por insulina; ambos aumentan las concentraciones de ceramida intracelular, lo que conduce a la inhibición de la activación de Akt/proteína quinasa B y la inhibición de la translocación de GLUT-4. Estos efectos inducen un estado de resistencia a la insulina. Los efectos de los compuestos de salicilatos en estas vías pueden ser divergentes. Es decir, pueden mejorar la resistencia a la insulina al bloquear la activación de IKK- $\beta$  (arriba), o pueden empeorar la resistencia a la insulina al inhibir la síntesis de PG y, por lo tanto, potenciar la liberación de TNF (abajo). Además, la inhibición de PG disminuirá la síntesis de leptina, que se sabe que mejora la sensibilidad a la insulina al estimular la actividad de la PI 3-quinasa asociada con el IRS-1. El efecto beneficioso de la leptina sobre la acción de la insulina disminuye (abajo).<sup>22</sup>

#### METFORMINA E INFLAMACIÓN

Fue usada desde 1957 para el tratamiento de diabetes tipo 2, debido a sus buenos efectos anti hiperglucémicos, pero no induce hipoglucemia, tiene buena seguridad, bajo costo y muy bajo porcentaje de efectos secundarios.<sup>23</sup>

Con respecto a las enfermedades inflamatorias, la metformina puede marcar los productos de estrés oxidativo, y ayudando a disminuir la transcripción del factor NF- $\kappa$ B. La inflamación crónica es considerada un mecanismo subyacente que causa daño a nivel del DNA.<sup>23</sup>



Mecanismos anti-inflamatorios de metformina.<sup>23</sup>

Supresión de liberación de citoquinas pro-inflamatorias.

Citoquinas proinflamatorias, son presentes en todos los estados de respuesta inflamatoria, y juega un papel importante en el desarrollo de la inflamación.

Un estudio en ratas, del potencial efectivo protector de la metformina en el comportamiento de la depresión y neuro inflamación inducida por oxandrolona, mostró que la metformina es capaz de invertir el aumento al alza de factores proinflamatorios múltiples como las interleucinas IL-1, IL-6, TNF-α, además de otros estudios donde se demuestra la inhibición de los mismos factores en el endotelio vascular.<sup>23</sup>

El aumento del NF-κB es un paso crucial inicial en la inflamación, la metformina inhibe la fosforilación y la translación nuclear de la subunidad de NF-κB, y suprime la degradación de la 1 κB, causando el secuestro en el citoplasma NF-κB. Más estudios muestran que la metformina promueve la síntesis de la interleucina IL-10 anti-

inflamatorio, en estudios se ha observado que la IL-10 secreción, puede reducir IL-12 p40 y secreción de IL-6.<sup>23</sup>

#### ACTIVACIÓN DE LA PROTEÍNA QUINASA ACTIVADA POR ADENOSINA 5'-MONOFOSFATO.

El AMPK es un componente de proteína quinas serina/treonina, está asociado con la regulación del metabolismo bioenergético, y es expresado por varias células, la metformina reduce la expresión de citoquinas inflamatorias y quimiocinas, incluyen CCL2, CXCL10 y CXCL 11, que actuándotelas en varias proteínas como HDAC (deacetilasa listona) y receptor de peroxisoma-proliferador activado, y receptor de PGC-1 $\alpha$ .<sup>23</sup>

#### INHIBICIÓN DE LA VÍA DE ESTRÉS OXIDATIVA.

El estrés oxidativo y la inflamación esta interrelacionada, es una disrupción entre efectos oxidantes y antioxidantes, cuando el sistema de antioxidantes no funciona adecuadamente, surgen una cantidad de leucotrienos, tromboxano A2 y otros mediadores proinflamatorios. Los radicales libres degradan la subunidad I $\kappa$ B $\alpha$  de NF- $\kappa$ B, conduciendo a una mayor liberación de NF- $\kappa$ B, promoviendo la inflamación. La metformina tiene efectos antiinflamatorios a través de los antioxidantes. Alhaider et al. Encontraron que la metformina restaura los niveles de ARNm de varios genes antioxidantes como lo son GST, NQO1 y Cat, en modelo de nefropatía diabética de ratas inducida por estreptomycin, inhibiendo la producción de TNF- $\alpha$  y de IL-6.

La metformina inhibe el estrés oxidativo inducido por aldosterona, silenciando la molécula TRAF32 citoplasmática, interaccionando con la TRAFIP2 en la respuesta, inhibiendo la proyección de factores pro inflamatorios como IL-6, IL-17, IL-18.<sup>23</sup>

## JUSTIFICACIÓN

Se ha observado que la obesidad incrementa la aparición de citoquinas y factores proinflamatorios, generando el incremento de resistencia a la insulina.

La mayoría de mujeres con obesidad presentan un grado de resistencia a la insulina, generando a su vez problemas de anovulación, y sangrado uterino anormal siendo responsables de hasta el 30%.

El presente estudio tiene como importancia encontrar si disminuyendo la inflamación crónica con el tratamiento alternativo con ácido acetilsalicílico, disminuye la resistencia a la insulina.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los cambios en el estilo de vida, en los últimos 40 años a nivel mundial, han incrementado el número de enfermedades crónico degenerativas, teniendo un factor denominador común, la obesidad.

En datos de la encuesta nacional de salud y nutrición 2018-2019, un quinto de la población infantil, padecen de obesidad, y en nuestro campo de estudio el 46% de las mujeres.

El cambio endocrino más importante en la obesidad es la elevación del nivel de insulina en sangre basal, resultado de los múltiples cambios a nivel sistémico que hay, como la lipotoxicidad.

Aunque no se dispone de datos sobre la acción hipoglucémica del ácido acetilsalicílico en dosis bajas, varios ensayos clínicos a corto plazo demostraron que la aspirina desencadena la producción de mediadores antiinflamatorios y reduce los niveles sistémicos de biomarcadores inflamatorios en dosis tan bajo como 30 mg / día. Se desconoce si la terapia crónica con aspirina en dosis bajas tiene efectos clínicos favorables

Se ha demostrado que la inflamación crónica como un factor importante en la resistencia a la insulina, motivo por el cual se puede disminuir la inflamación crónica, con el uso de ácido acetilsalicílico, observando mejoría en pacientes con diabetes tipo 2, por lo que se pretende evaluar la eficiencia del uso del mismo, en pacientes con resistencia a la insulina a dosis terapéutica de 150mg, en un tiempo de 3 meses y su utilidad en el aumento a la sensibilidad de la insulina en tejidos periféricos.

Entonces surge la siguiente pregunta de investigación:

¿El uso de ácido acetilsalicílico, en dosis terapéutica de 150mg, puede ayudar a mejorar la sensibilización a la insulina, disminuyendo la resistencia a la insulina?

## HIPÓTESIS

El efecto del ácido acetil salicílico es mayor al de la metformina en la disminución del HOMA de pacientes con trastornos del ciclo menstrual.

## HIPÓTESIS ALTERNA

El efecto del ácido acetil salicílico es menor al de la metformina en la disminución del HOMA de pacientes con trastornos del ciclo menstrual.

## OBJETIVO GENERAL

Comparar el uso de aspirina vs metformina en la sensibilización a la insulina de pacientes con trastornos del ciclo menstrual.

## OBJETIVO ESPECÍFICOS

Determinar si alguno de los dos fármacos presenta alguna influencia en la mejoría de los trastornos del ciclo menstrual.

Demostrar cual de los dos fármacos, es mejor en la disminución del índice de masa corporal.

Demostrar cual de los dos fármacos, es mejor en la disminución del índice HOMA.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Fue realizado un ensayo clínico controlado, con asignación al azar, ciego simple, el universo de estudio fueron pacientes que acudieron a atención por el servicio de ginecología y obstetricia del Hospital universitario de Puebla. La población elegible incluyó mujeres que acudieron a consulta ginecológica en edad reproductiva con trastornos del ciclo menstrual.

Fueron incluidas pacientes del sexo femenino, entre los 20 y 45 años de edad, derechohabientes del Hospital Universitario de Puebla, que se presentan a cita de primera vez con trastornos del ciclo menstrual, que no habían recibido tratamiento previo para resistencia a la insulina, que aceptaron su inclusión al estudio, en las que se desconocía la probable causa de sus trastornos del ciclo menstrual y con expediente clínico completo.

Excluyendo a las pacientes que no firmaron el consentimiento de inclusión al estudio, con diagnóstico previo de resistencia a la insulina y/o que hayan recibido tratamiento previo, con diagnóstico de patología endocrina previa o anatómica que pueda provocar sangrado uterino anormal, con sensibilidad a los medicamentos y con tabaquismo activo. Se eliminaron a las pacientes con falta de seguimiento por parte de los investigadores, que decidan abandonar el estudio en cualquier momento y con apego al tratamiento menor al 85%.

#### GRUPOS:

Grupo metformina: Metformina 500mg cada 8 horas por 3 meses.

Grupo ASA: ASA 150mg cada 24 horas por 3 meses.

#### MÉTODO DE ASIGNACIÓN

Toda vez que los pacientes cumplieron con los criterios de inclusión y otorgaron el consentimiento fueron asignados al azar a los grupos de metformina o aspiran mediante un sistema de números aleatorios, misma que fue llevada a cabo por el médico de la consulta externa que capte a la paciente.

#### ESTRATEGIAS DE TRABAJO

- Una vez aceptado el protocolo, se recabaron variables iniciales (peso, talla, IMC, HOMA y tipo de trastorno del ciclo).
- Se les instruyó en realizar 150 minutos de ejercicio aeróbico semanal y se les envió a nutrición para un cálculo de dieta calculado por IMC por nutriólogo clínico.
- Se asignó a su grupo de intervención y se les citó mensualmente para valorar el apego al tratamiento por el investigador.
- Al término de los 3 meses, se solicitaron estudios de control y se verificó peso talla e IMC, y modificaciones en los trastornos del ciclo.
- Durante los 3 meses, se evitó el uso de anticonceptivos orales.

## TIPO DE MUESTREO

Muestreo probabilístico por conveniencia, serie de casos consecutivos de pacientes derechohabientes del Hospital Universitario de Puebla, atendidas por el servicio de Ginecología y Obstetricia, en el periodo señalado.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las **variables nominales** se reportaron como frecuencias relativas (porcentajes), las **cuantitativas continuas con medidas** aritméticas (medias, medianas) y desviación estándar.

La **prueba chi cuadrada de Pearson** se usó para comparar las frecuencias de variables nominales cualitativas, entre dos grupos o para evaluar la homogeneidad en la distribución de dichas variables

La **prueba t de Student** se usó en la comparación de variables cuantitativas continuas de distribución normal, entre dos o más grupos

## TIPO DE VARIABLES

VARIABLE	TIPO	ESCALA DE MEDICIÓN	ANÁLISIS ESTADÍSTICO
Edad	Cuantitativa	Años	Media y desviación estándar; Prueba t de Student, U de Mann-Whitney
Peso	Cuantitativa	Kilogramos	Media y desviación estándar; Prueba t de Student, U de Mann-Whitney
Talla	Cuantitativa	Metros	Media y desviación estándar; Prueba t de Student, U de Mann-Whitney
Índice de Masa Corporal	Cuantitativa	Kilogramos/metros <sup>2</sup>	Media y desviación estándar; Prueba t de Student, U de Mann-Whitney
Insulina Sérica	Cuantitativa	uU/mL	Media y desviación estándar; Prueba t de Student, U de Mann-Whitney
Glucosa Sérica	Cuantitativa	mg/dL	Media y desviación estándar; Prueba t de Student, U de Mann-Whitney
HOMA-IR	Cuantitativa	glicemia de ayuno (mg/dL) x insulinemia basal (uU/mL) / 405	Media y desviación estándar; Prueba t de Student, U de Mann-Whitney
Tipo de trastorno del ciclo	Cualitativa	Infrecuente, frecuente, abundante, escaso, prolongado, corto	Frecuencias y porcentajes; Chi <sup>2</sup> , test exacto de Fisher

## CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

$$\frac{n(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 p (1 - p) (r + 1)}{(d)^2 r}$$

	HOMA >2.5	HOMA <2.5	TOTAL
GRUPO A (ASA)	0.90 A	0.10 A	A + B
	A	B	
GRUPO B (METFORMINA)	0.60	0.40	C + D
	C	D	

Valor de Alfa= 0.05. (1.96)  
 Valor de Beta= 0.20 (0.84)

calculo del tamaño de la muestra

$$p = p_2 + p_1 / 1 + r = 0.75$$

$$\frac{n(7.84) 0.75 (1 - 0.75) (1 + 1)}{(0.30)^2 1} = \frac{2943}{0.09} = 33 \text{ casos}$$

95% de confiabilidad  
 5% de error alfa

El calculo del tamaño de la muestra de 33 pacientes por grupo, gran total de 66 pacientes.

El cual se obtuvo en base al efecto antiinflamatorio en estudios previos y de acuerdo a los reportes de Gillanim donde se espera encontrar una mejoría del 25% por tanto en base al calculo del tamaño de muestra se requieren 66 casos (33 casos por grupo) con un gran total de 66 pacientes.

## PRESENTACIÓN DE DATOS

Fue realizado un ensayo clínico controlado, con asignación al azar, ciego simple, durante el periodo comprendido de enero 2022 a Julio de 2022 en el Hospital Universitario de Puebla, se estudiaron 66 pacientes sometidos a 2 grupos de control.

VARIABLE	MEDIA (DS)
Peso	67.66 ± 7.03
Talla	1.58 ± 0.06
Indice de Masa Corporal	26.75 ± 1.96
Glucosa Inicial	98.34 ± 6.14
Insulina Inicial	16.61 ± 2.09
HOMA Inicial	4.05 ± 0.67
Glucosa Final	93.45 ± 5.79
Insulina Final	15.31 ± 1.96
HOMA Final	3.54 ± 0.65

Datos demográficos del estudio

VARIABLE	Metformina N=33	ASA N= 33	p
Peso	69.80 ± 6.08	68.26 ± 6.38	0.293
Talla	1.59 ± 0.06	1.57 ± 0.06	0.869
Indice de Masa Corporal	27.36 ± 1.96	27.40 ± 1.47	0.353

Datos demográficos del estudio

TABLA COMAPATIVA ENTRE GRUPO DE ESTUDIO A VS B

	METFORMINA (N= 33)	ASA (N= 33)	<i>p</i>
PRE			
GLUCOSA	99.84 ±6.73	96.84 ± 5.16	0.601
INSULINA	17.76 ±1.99	15.46 ± 1.48	0.352
HOMA	4.39 ±0.67	3.70 ± 0.48	0.372
POST			
GLUCOSA	95.63 ± 4.81	91.27 ± 5.93	0.234
INSULINA	16.84 ± 1.95	13.78 ± 1.65	0.019
HOMA	3.98 ± 0.54	3.10 ± 0.42	0.029

*Fuente base de datos*

TABLA COMAPATIVA ENTRE GRUPO DE ESTUDIO A VS B

***SOBREPESO***

	METFORMINA (N= 28)	ASA (N= 24)	<i>p</i>
PRE			
GLUCOSA	100.60 ± 6.05	97.29 ± 5.31	0.553
INSULINA	17.02 ± 2.04	15.23 ± 1.58	0.111
HOMA	4.39 ± 0.68	3.66 ± 0.51	0.474
POST			
GLUCOSA	96.46 ± 4.24	91.29 ± 5.02	0.264
INSULINA	16.86 ± 2.00	13.66 ± 1.70	0.027
HOMA	4.01 ± 0.53	3.07 ± 0.38	0.031

Se mostró resultado significativo en los niveles del índice HOMA con el grupo B que utilizó ácido acetilsalicílico, con un resultado final  $p= 0.29$ , y con disminución de insulina  $p= 0.19$ , concluyendo que los paciente con ácido acetilsalicílico obtuvo más mejoría con insulina y HOMA con metformina .

En pacientes con sobrepeso se mantiene una resultado significativo en descenso de HOMA e insulina.

<b>PACIENTES CON MEJORIA DE SANGRADO UTERINO ANORMAL</b>	<b>58</b>
<b>PACIENTES SIN MEJORIA DE SANGRADO UTERINO ANORMAL</b>	<b>8</b>

Se observo que las pacientes de ambos grupos en forma global tuvieron mejoría del sangrado uterino anormal en un 87%.

## DISCUSIÓN

Se reporta que el 30% del sangrado uterino anormal a nivel mundial tiene causa endócrina, y aproximadamente el 50% de estos es causado por la resistencia a la insulina<sup>2</sup>.

La relación entre la resistencia a la insulina y las alteraciones del ciclo menstrual, se han descrito desde 1980, cuando se relacionó, la RI con el SOP, con los mecanismo antes descritos como son la estimulación de secreción de andrógenos ováricos por la

hiperestimulación de las células de la teca y suprimiendo a nivel hepático la producción de SHBG.<sup>24-25</sup>

La sensibilidad a la insulina, depende de varios factores, como la raza, etnicidad, aumento del IMC, hipertensión. De las 66 pacientes que se estudiaron, el 42.42% presentaron sobrepeso<sup>26-27</sup>. Corroborando con la literatura actual que el principal factor de riesgo para resistencia a la insulina es el aumento de IMC.<sup>13</sup>

Aproximadamente el 70% de las mujeres afectadas por este síndrome en Estados Unidos tienen sobrepeso y obesidad, que se asocia frecuentemente con altos niveles de insulina y sensibilidad a la insulina reducida.

La acumulación excesiva de ácidos grasos libres en los tejidos no adiposos sensibles a la insulina conduce a depósito ectópico de lípidos que resulta en lipotoxicidad, causando secundariamente resistencia a la insulina, además de la lipotoxicidad, contribuyen otras causas a la resistencia a la insulina como lo son inflamación crónica, alteraciones neuroendócrinas y alteraciones intracelulares.

Además, estudios recientes sugieren además que las formas comunes de adiposidad disfuncional, así como la producción alterada de adipocinas, podrían representar vínculos fisiopatológicos importantes entre el síndrome metabólico y la infertilidad.

La resistencia a la insulina se asocia más al IMC que a patologías como SOP o síndrome metabólico, además de la gravedad de la resistencia a la insulina, ajustada por IMC se correlaciona con alteraciones del ciclo menstrual, acentuando el vínculo fisiopatológico entre resistencia a la insulina y disfunción ovárica.

Como antes se describió la insulina incrementa la producción de andrógenos de origen ovárico, en sinergia con la hormona luteinizante. Esto es mediado por el receptor de insulina, que expresa las células de la teca y gránulos<sup>5</sup>. Se ha demostrado que la desactivación selectiva del receptor de insulina en células de la teca previene la anovulación y el hiperandrogenismo, inducido por la resistencia a la insulina, en modelos de ratones con dieta a base de grasas.<sup>6</sup>

El factor de crecimiento tipo insulina (IGF1), promueve la esteroidogénesis ovárica, que puede ser estimulada directamente por los picos de insulina.

Se ha estudiado que pese a que el ácido acetilsalicílico se ha utilizado por sus efectos en las enzimas ciclooxigenasas (COX1 y COX2), recientemente la aspirina, se ha

podido estudiar como un inhibidor de la proteína I-Kappa-B-quinasa beta (IKK-beta). Esta quinasa es usada en el rol de señalamientos para el factor nuclear kappa-b (NF-kappa-B) familia de los genes celulares encargados en la inflamación y su respuesta, ayudando a la resistencia a la insulina al interferir en la señalización de la insulina.

Yuan et al. Tiene la hipótesis de que  $IKK\beta$  es un mediador en la resistencia a la insulina, y demostró que dosis altas de salicilatos inhibien la actividad de  $IKK\beta$  revirtiendo la hiperglucemia y la hiperinsulinemia, además de la dislipidemia en roedores obesos al sensibilizar la señalización de la insulina.

Sin embargo aún no se ha demostrado del todo los efectos de la aspirina en pacientes con Diabetes tipo 2. En este grupo de estudio no se pudo corroborar que la aspirina ayude a disminuir de manera significativa los niveles de HOMA.

Se pudo observar que el tratamiento convencional con metformina interviene de manera significativa en la disminución de la glucosa plasmática, como se reporta en la literatura desde 1994, cuando se publicó el primer estudio sobre el sensibilizador de insulina metformina en mujeres con SOP<sup>28</sup>.

En nuestros grupos de estudio se demostró que el sangrado uterino anormal, se mostró mejoría del mismo en de 58 pacientes, que representan el 87%. Estos datos sugieren que la presencia de los trastornos del ciclo, la terapia combinada de dichos farmacos ayuda a la normalización del ciclo menstrual, además de los beneficios de ambos farmacos en sus efectos pleiotrópicos, y los beneficios a largo plazo para las pacientes.

## CONCLUSIONES

Al no demostrarse una disminución significativa del ácido acetilsalicílico entre la disminución del HOMA, glucosa e insulina, no puede tomarse como un tratamiento alternativo al convencional con metformina, sin embargo, la terapia combinada puede ayudar a aumentar la disminución de los índices glucémicos y de insulina

Las pacientes del grupo A y grupo B presentaron mejoría en el sangrado uterino anormal, por lo que puede ser utilizada el ácido acetilsalicílico en el tratamiento del sangrado uterino anormal y tener mejoría del mismo.

## FORTALEZAS Y DEBILIDADES

Nuestro estudio se realizó pensando en la problemática de los trastornos metabólicos en nuestra población en edad reproductiva, y al igual que el resto del mundo, en la creciente pandemia de la obesidad, así como los riesgos incrementados y sus consecuencias a mediano y largo plazo que pueden generar.

Se captó un número representativo de nuestras pacientes, sin embargo al no tener significancia estadística en la mayoría de datos pudimos mejorar los resultados ampliando nuestra muestra y el tiempo de estudio.

## BIOÉTICA

De acuerdo a la ley general de salud en el artículo 17 se considera esta investigación como tipo iii, con riesgo mayor al mínimo por lo que es necesaria la carta de consentimiento informado para el paciente y revisión y aprobación del proyecto por el comité de ética.

cualquier efecto adverso que se presente será reportado al comité de ética

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO  
CLINICO DE INVESTIGACION CLINICA

Lugar y fecha:

**TITULO DEL ESTUDIO: "EFECTO DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO EN LA SENSIBILIZACIÓN DE LA INSULINA, EN PACIENTES CON RESISTENCIA A LA INSULINA Y SANGRADO UTERINO ANORMAL."**

Usted esta siendo invitado a participar en un estudio clinico con el uso de **ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO** para el control de la respuesta inflamatoria y disminución del indice HOMA

Las autoridades de salud correspondientes requieren que usted sea informado de manera más completa posible la naturaleza, propósito y riesgos del manejo con **ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO**.

Es importante que usted lea completamente este documento y aclare con su médico todas las preguntas que tenga antes de participar en el estudio.

**PROPOSITO**

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto anti-inflamaton y de la respuesta de la sensibilidad a la insulina mediante el uso de **ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO**.

**DESCRIPCION DE LOS PROCEDIMIENTOS DE ESTUDIO:**

Si usted decide participar en el estudio se le pedirá que lea y firme este informe de consentimiento. Su médico evaluara si usted cumple con los criterios necesarios para ingresar en este estudio mediante una historia clínica examen físico, estudios de laboratorio y gabinete. Usted será vigilado estrechamente durante la realización del estudio.

Si usted reúne los requisitos necesarios para que participe en este estudio, se le asignara al azar a uno de los siguientes manejos.

Grupo de estudio

Administración de ácido acetil salicílico 150mg vía oral cada 24 hrs. Por 3 meses

Grupo control

Administración de medicamento tipo metformina 500mg vía oral cada 8 hrs. Por 3 meses

**RIESGOS**

En general el ácido acetil salicílico ha sido bien tolerada en estudios de investigación, sin embargo es posible que usted pudiera presentar algun efecto adverso relacionado con el uso de ácido acetil salicílico que sean desconocidos hasta ahora.

El **ÁCIDO ACETILSALICÍLICO** está contraindicado cuando existe hipersensibilidad a la fórmula. También está contraindicado en hemofilia, historia de sangrado gastrointestinal o de úlcera péptica activa.

#### SUSPENSION DEL TRATAMIENTO

Su médico o el investigador de este estudio podrán suspender su participación en este proyecto por las siguientes razones: presencia de algún efecto adverso, incumplimiento de la metodología del protocolo, si el continuar con su participación en el estudio no se considera benéfico, cancelación por el investigador

#### CONSENTIMIENTO

He leído y entendido de este estudio de investigación, escrito en mi propio idioma. He tenido la oportunidad de hacer preguntas y todas mis dudas han sido aclaradas por mi médico y los investigadores a mi entera satisfacción.

Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme en cualquier momento sin perjuicio, o sin que ello influya en mi atención médica futura. Se me ha entregado una copia de este consentimiento y al firmar este documento autorizo mi participación en este estudio.

NOMBRE Y FIRMA DEL  
PACIENTE: \_\_\_\_\_

DIRECCION: \_\_\_\_\_

TELÉFONO: \_\_\_\_\_

## BIBLIOGRAFÍA

1. Munro, M. G. (2017). Practical aspects of the two FIGO systems for management of abnormal uterine bleeding in the reproductive years. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 40, 3-22. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2016.09.011>
2. Munro, M. G., Critchley, H. O. & Fraser, I. S. (2018). The two FIGO systems for normal and abnormal uterine bleeding symptoms and classification of causes of abnormal uterine bleeding in the reproductive years: 2018 revisions. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 143(3), 393-408. <https://doi.org/10.1002/ijgo.12666>
3. Acosta AM, Escalona M, Maiz A, Pollak F, Leighton F. Determination of the insulin resistance index by the Homeostasis Model Assessment in a population of Metropolitan Region in Chile. *Rev Med Chile* 2002;130:1227-1231
4. Govers E, Slof E, Verkoelen H, Ten Hoor-Aukema NM, KDOO (2015) Guideline for the Management of Insulin Resistance. *Int J Endocrinol MetabDisord*1(4):doi <http://dx.doi.org/10.16966/2380-548X.115>
5. Wu, H. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;294:E15-E26
6. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;294:E15-E26
7. Camille Vatie, Sophie Christin-Maitre, Corinne Vigouroux. Role of insulin resistance on fertility - focus on polycystic ovary syndrome. *Annales d'Endocrinologie*, 2022, 83 (3), pp.199-202. [ff10.1016/j.ando.2022.04.004](https://doi.org/10.1016/j.ando.2022.04.004)ff. [ffhal-03647762f](https://doi.org/10.1016/j.ando.2022.04.004)
8. Wu S, Divall S, Nwaopara A, Radovick S, Wondisford F, Ko C, et al. Obesity-induced infertility and hyperandrogenism are corrected by deletion of the insulin receptor in the ovarian theca cell. *Diabetes*. 2014;63:1270-82.
9. The Thessaloniki ESHRE/ASRM. Sponsored PCOS Consensus Workshop Group, March 2-3 2007. Thessaloniki, Greece. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008;23:462-477
10. Speroff L, Fritz MA. Induction of ovulation. In: Speroff L, Fritz MA (Eds). *Clinical endocrinology and infertility*. 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2005;1175-1214
11. Brunton L.L., & Hilal-Dandan R, & Knollmann B.C.(Eds.), (2017). *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 13e. McGraw Hill. <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2189&sectionid=165936845>
12. Abdulla Mahmood, S. (2021). Mechanisms of Action of Metformin. *Metformin - Pharmacology and Drug Interactions*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99189>
13. The Thessaloniki ESHRE/ASRM. Sponsored PCOS Consensus Workshop Group, March 2-3 2007. Thessaloniki, Greece. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008;23:462-477 .
14. Owen MR, Doran E, Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J* 2000; 348:607-614

15. Tong, Y., Xu, S., Huang, L. & Chen, C. (2022). Obesity and insulin resistance: Pathophysiology and treatment. *Drug Discovery Today*, 27(3), 822-830. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.11.001>
16. Wu, H. & Ballantyne, C. M. (2020b). Metabolic Inflammation and Insulin Resistance in Obesity. *Circulation Research*, 126(11), 1549-1564. <https://doi.org/10.1161/circresaha.119.315896>
17. World Health Organization. Obesity and overweight. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Accessed 25 November 2019.
18. 2. Centers for Disease Control and Prevention. Adult obesity facts. <https://www.cdc.gov/obesity/data/adult.html>. Accessed 25 November 2019.
19. McLaughlin T, Ackerman SE, Shen L, Engleman E. Role of innate and adaptive immunity in obesity-associated metabolic disease. *J Clin Invest*. 2017;127:5–13. doi: 10.1172/JCI88876
20. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*. 2003;112:1821-1830. doi: 10.1172/JCI19451
21. Liu B, Page AJ, Hatzinikolas G, Chen M, Wittert GA, Heilbronn LK. Intermittent fasting improves glucose tolerance and promotes adipose tissue remodeling in male mice fed a high-fat diet. *Endocrinology*. 2019;160:169–180. doi: 10.1210/en.2018-00701
22. Wu, H. & Ballantyne, C. M. (2020b). Metabolic Inflammation and Insulin Resistance in Obesity. *Circulation Research*, 126(11), 1549-1564. <https://doi.org/10.1161/circresaha.119.315896>
23. Feng, Y. Y., Wang, Z. & Pang, H. (2022). Role of metformin in inflammation. *Molecular Biology Reports*. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07954-5>
24. Rosenfield RL. Polycystic ovary syndrome and insulin-resistant hyperinsulinemia. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:S95–104.
25. Dunaif A. Insulin action in the polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999;28:341–59.
26. Dunaif A. Hyperandrogenic anovulation (PCOS): a unique disorder of insulin action associated with an increased risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Med*. 1995 Jan 16;98(1A):33S-39S.
27. Barbieri RL, Smith S, Ryan KJ. The role of hyperinsulinemia in the pathogenesis of ovarian hyperandrogenism. *Fertil Steril*. 1988 Aug;50(2):197-212.
28. Dunaif A, Segal KR, Shelley DR, Green G, Dobrjansky A, Licholai T. Evidence for distinctive and intrinsic defects in insulin action in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1992;41:1257–66.