

Resistencia a la insulina y síndrome del ovario poliquístico (SOP)

FUNCTIONAL OVARIAN HYPERANDROGENISM AND POLYCYSTIC OVARY SYNDROME IN ADOLESCENCE

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most frequent cause of androgen excess in adolescents and young women. The diagnostic criteria have recently been redefined (Rotterdam, May 2003) and include clinical and biochemical signs of hyperandrogenism, chronic oligo-ovulation, ultrasonographic evidence of polycystic ovaries, and the exclusion of known disorders.

PCOS is accompanied by hyperinsulinemia and insulin resistance and is also associated with an atherogenic lipid profile, low adiponectin levels, high interleukin-6 concentrations, an increased neutrophil/lymphocyte ratio, and central adiposity. These metabolic abnormalities are reminiscent of the metabolic syndrome and are considered to be risk factors for the development of type 2 diabetes and cardiovascular disease.

PCOS does not fully develop until adolescence or early adulthood; however, there is clear evidence that the syndrome may begin to develop before puberty (precocious pubarche) and even in the prenatal period (low birth weight). The clinical signs and symptoms are heralded by a pre-clinical phase in which the metabolic abnormalities that characterize PCOS are already detectable before puberty.

The classical therapeutic approach in PCOS has been the use of oral contraceptives; however, the use of insulin sensitizers such as metformin improves the endocrine-metabolic profile and markers of cardiovascular risk. In adolescents and young women, the low-dose combination of metformin and flutamide (an androgen-receptor blocker) is much more effective than monotherapy with oral contraceptives, since it normalizes ovarian function and reverses the clinical and metabolic alterations of PCOS.

Preliminary studies suggest that in high-risk girls with a combined history of low birthweight and precocious pubarche, metformin therapy prevents the development of clinical PCOS. Future studies are required to establish the safety of long-term, early metformin therapy.

Key words: Polycystic ovary syndrome (PCOS). Metabolic syndrome. Insulin resistance. Metformin.

Hiperandrogenismo ovárico funcional y síndrome del ovario poliquístico en la adolescencia

L. IBÁÑEZ TODA^a Y N. POTAU VILALTA^b

^aSección de Endocrinología. Hospital Sant Joan de Déu. Universidad de Barcelona. Esplugues de Llobregat. Barcelona. España.

^bLaboratorio Hormonal. Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron. Barcelona. España.

El síndrome del ovario poliquístico (SOP) es la causa más frecuente de exceso de andrógenos en adolescentes y mujeres jóvenes. Los criterios diagnósticos se han redefinido (Rotterdam, mayo 2003) incluyendo: oligoamenorrea crónica, signos clínicos y biológicos de hiperandrogenismo, presencia ecográfica de ovarios poliquísticos y exclusión de otras enfermedades.

El SOP se acompaña de hiperinsulinismo y resistencia a la insulina, así como de un perfil lipídico aterogénico, concentraciones bajas de adiponectina, elevación de interleucina-6 y aumento del cociente neutrófilos/linfocitos. Todo ello, junto con una distribución centrípeta de la grasa corporal, son factores de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular. Por este motivo, se ha considerado como parte del denominado síndrome metabólico.

El desarrollo completo del cuadro clínico del SOP no se produce hasta la adolescencia o la edad adulta; sin embargo, hay indicios claros de que puede tener su origen antes de la pubertad (pubarquia prematura) e incluso en el período prenatal (bajo peso al nacer). Ambas asociaciones pueden conducir a desarrollar un cuadro metabólico sugestivo de SOP antes de la pubertad.

El tratamiento clásico del SOP ha sido la administración de anticonceptivos orales; sin embargo, la utilización de sensibilizantes de la insulina, como la metformina, mejora el perfil endocrinometabólico y los marcadores de riesgo cardiovascular. En adolescentes y mujeres jóvenes, la asociación de metformina y un antiandrógeno a bajas dosis, como la flutamida, es mucho más eficaz que la monoterapia con anticonceptivos orales, ya que normaliza la función ovárica y revierte las alteraciones clínicas y metabólicas.

Estudios preliminares sugieren que en poblaciones de riesgo el tratamiento con metformina evita el desarrollo de las manifestaciones clínicas del SOP. Sin embargo, se precisan más estudios antes de establecer la eficacia y la tolerancia a largo plazo de este tipo de fármacos.

Palabras clave: Síndrome del ovario poliquístico (SOP). Síndrome metabólico. Resistencia a la insulina. Metformina.

Correspondencia: Dra. L. Ibáñez Toda.
Sección de Endocrinología. Hospital Sant Joan de Déu. Universidad de Barcelona.
P.º de Sant Joan de Déu, 2. 08950. Esplugues de Llobregat. Barcelona. España.

INTRODUCCIÓN

El síndrome del ovario poliquístico (SOP) es la causa más frecuente de exceso de andrógenos en adolescentes y mujeres jóvenes, y afecta aproximadamente a un 3% de la población femenina en edad fértil¹⁻³.

El SOP es una entidad con una gran heterogeneidad clínica y biológica, cuyos criterios diagnósticos se consensuaron en una reunión de expertos de los National Institutes of Health (NIH) hace una década, y recientemente se han revisado en una segunda reunión, en mayo de 2003⁴. Esta última revisión de criterios diagnósticos está siendo ampliamente debatida, ya que para algunos es poco específica y permite la inclusión de otras entidades distintas del SOP^{5,6}. Entre estos criterios, se incluyen: oligo o anovulación crónica, signos clínicos y/o biológicos de hiperandrogenismo, presencia ecográfica de ovarios poliquísticos y exclusión de otras enfermedades. La presencia de resistencia a la insulina no es un criterio indispensable para el diagnóstico⁴. Desde el punto de vista práctico, en la actualidad, la mayoría de autores considera que el SOP y el hiperandrogenismo ovárico funcional de manifestación peripuberal o pospuberal son la misma entidad³.

SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO: ASOCIACIÓN CON EL SÍNDROME METABÓLICO

El hiperandrogenismo ovárico se acompaña casi siempre, incluso en ausencia de obesidad, de hiperinsulinismo y resistencia a la insulina⁷. Estas alteraciones suelen asociarse a un perfil lipídico aterogénico, a un patrón alterado de las adipocitocinas —específicamente a valores elevados de interleucina (IL) 6 y concentraciones bajas de adiponectina— y de los marcadores de inflamación (leucocitosis relativa, aumento del cociente neutrófilos/linfocitos y de la proteína C reactiva [PCR]), así como a un incremento de la adiposidad central, con disminución de la masa magra⁷⁻¹⁴. La resistencia a la insulina, la dislipemia, el patrón anómalo de adipocitocinas, el aumento del cociente neutrófilos/linfocitos y la distribución centrípeta de la grasa corporal son factores de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2 y enfer-

medad cardiovascular¹⁵⁻¹⁷. Por este motivo, se ha sugerido que el hiperandrogenismo ovárico podría considerarse parte del denominado síndrome metabólico, o síndrome X¹⁸, ya que coexiste con un común denominador: el hiperinsulinismo secundario a la resistencia a la insulina.

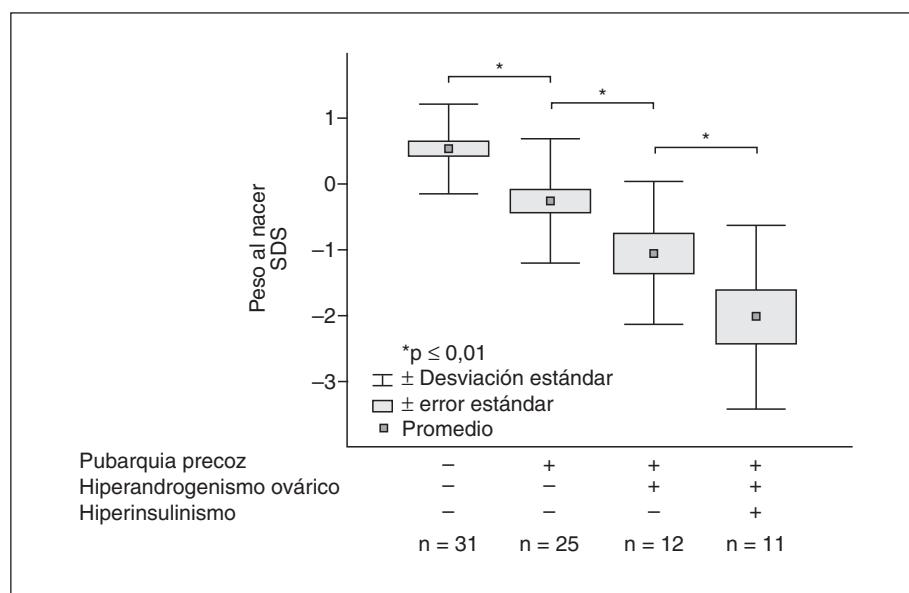
SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO, PUBARQUIA PRECOZ Y BAJO PESO AL NACER

El cuadro clínico el SOP no suele ser completo hasta la adolescencia o la edad adulta; sin embargo, diversos estudios realizados en niñas con antecedentes de pubarquia precoz (inicio del vello pubiano antes de los 8 años), debida a una secreción precoz y aislada de andrógenos suprarrenales (adrenarquia precoz) y con bajo peso al nacer, sugieren que el SOP puede tener su origen antes de la pubertad e incluso en el período prenatal¹⁹⁻²².

Las niñas con pubarquia precoz tienen un riesgo elevado de desarrollar SOP en la adolescencia; este riesgo se ve incrementado en las adolescentes que, además, han tenido un bajo peso al nacer para la edad gestacional²⁰ (fig. 1). Estas pacientes presentan, ya antes de la pubertad, un cuadro biológico sugestivo de síndrome metabólico, caracterizado por la asociación de hiperinsulinismo, dislipemia, hiperandrogenismo suprarrenal (aumento de los valores de sulfato de dihidroepiandrosterona [DHEAS]), disminución de las cifras de adiponectina y aumento de la adiposidad central^{20,23-26}. En cierto modo, se perpetúan los cambios clínicos y bioquímicos que se producen en la pubertad fisiológica y que no son capaces de revertir. Estas alteraciones no se acompañan de clínica de SOP, que suele aparecer entre 2 y 3 años después de la menarquía^{19,27,28}. Las manifestaciones clínicas son precedidas por una fase clínica silente caracterizada por ciclos regulares aunque anovulatorios, hecho que sucede con frecuencia los primeros 3 años posmenarquia²⁸. Las adolescentes con antecedentes de bajo peso al nacer que no desarrollan pubarquia precoz presentan alteraciones endocrinometabólicas similares^{22,29}. El hiperinsulinismo que caracteriza a estas pacientes parece desempeñar un papel clave en el desarrollo de estos trastornos^{22,30}.

Fig. 1. Relación entre el peso al nacer (expresado en desviaciones estándar del promedio), y la ausencia (–, –, –) o presencia (+, –, –), pubarquia precoz sin hiperandrogenismo ovárico ni hiperinsulinismo (+, –, –), pubarquia precoz con hiperandrogenismo ovárico y sin hiperinsulinismo (+, +, –), y pubarquia precoz con hiperandrogenismo ovárico e hiperinsulinismo (+, +, +). SDS: desviaciones estándar de la media.

Adaptada de Ibáñez et al²⁰.



RELACIÓN ENTRE HIPERANDROGENISMO E HIPERINSULINISMO

La naturaleza exacta de la relación entre hiperinsulinismo e hiperandrogenismo es todavía motivo de debate. En adolescentes con SOP, el tratamiento con antiandrógenos del tipo de la flutamida disminuye el hirsutismo, el hiperandrogenismo, y las concentraciones de triglicéridos y de colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL), pero tiene efectos variables en la regularización de los ciclos menstruales, y no disminuye el riesgo cardiovascular, ya que no modifica el hiperinsulinismo ni aumenta las concentraciones de colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL); estos datos parecen indicar que el hiperandrogenismo no es el factor etiológico principal en la génesis del hiperinsulinismo^{31,32}. Recientemente, sin embargo, se han publicado diversos estudios realizados en modelos experimentales, que parecen sugerir lo contrario; concretamente, que el hiperandrogenismo precoz (prenatal) sería el causante del hiperinsulinismo y de las alteraciones asociadas^{33,34}.

Lo que parece claro es que la resistencia a la insulina sí desempeña un papel clave en el mantenimiento e intensidad del hiperandrogenismo, con independencia de la existencia de obesidad⁷. La insulina y los factores de crecimiento similares a la insulina, como el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) aumentan, tanto *in vitro* como *in vivo*, la producción de andrógenos ováricos y suprarrenales³⁵. La insulina también modula la actividad de la IGF-1 y de su proteína transportadora, la IGFBP-1, e inhibe su síntesis hepática, así como la de la proteína transportadora de las hormonas sexuales (*sex hormone-binding globulin* [SHBG])³⁶, lo que determina un aumento de las concentraciones séricas de testosterona libre y de IGF-1 libre y, por tanto, biológicamente activas. Así, en situaciones caracterizadas por hiperinsulinismo de larga evolución, como es el caso de la pubarquia precoz y el hipocrecimiento prenatal, es lógico suponer que estos mecanismos estén plenamente operativos.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de sospecha del SOP en la adolescencia debe realizarse mediante la historia clínica y los hallazgos de la exploración física.

En la anamnesis se deben recoger los antecedentes familiares; es frecuente encontrar la presencia de un cuadro similar en la madre y las hermanas de la paciente, y de dislipemia y diabetes tipo 2 en otros familiares directos. En los antecedentes personales se deben recoger los datos de embarazo y parto, especialmente la duración de la gestación y el peso y la longitud al nacer.

Durante la primera infancia es preciso recoger la edad en la que aparece el vello pubiano y si se acompaña de otros signos de pubertad. La valoración del ritmo de crecimiento longitudinal y del incremento anual de peso se refleja correctamente mediante un análisis de las gráficas de velocidad de crecimiento, la curva ponderal y el índice de masa corporal (IMC). Es necesario establecer la edad de la menarquia y la edad de inicio de las irregularidades menstruales, aunque la presencia de ciclos regulares no excluye el diagnóstico, ya que puede tratarse de ciclos anovulatorios⁴.

Las irregularidades menstruales en los primeros años posmenarquia pueden ser el signo más temprano de SOP en la adolescencia³⁷. En las pacientes con SOP, las irregularidades pueden instaurarse de forma progresiva, hasta determinar una amenorrea secundaria a partir del tercer año posmenarquia.

La exploración física está encaminada a valorar el grado de hirsutismo, la presencia de acné y la ausencia de signos

de virilización (hipertrofia de clítoris, hipertrofia mamaria, aumento de la masa muscular, alopecia). Un índice de Ferriman y Gallwey superior a 8 es indicativo de hirsutismo³⁸. Los síntomas cutáneos son frecuentes, aunque en grado variable y no siempre correlacionados con el grado de hiperandrogenismo. Conviene establecer la edad en la que aparecen el grado de progresión y su distribución corporal. Una aparición insidiosa del hirsutismo perimenarquia hace pensar en un SOP; en cambio, una aparición posterior y una instauración rápida requiere la exclusión tumoral.

Asimismo, se deben registrar el peso, la talla, el IMC, la presión arterial y los perímetros de cintura y cadera; estos últimos para valorar la adiposidad central. La existencia de acantosis nigricans sugiere resistencia a la insulina.

Desde el punto de vista analítico, se deben determinar los andrógenos basales (testosterona total, androstendiona, DHEA-S) en fase folicular temprana (entre el tercer y el quinto día del ciclo), y la SHBG, además de la 17-hidroxiprogesterona (17-OHP). Valores basales de 17-OHP inferiores a 200 ng/dL (en fase folicular) excluyen la presencia de una forma tardía de hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) por déficit de 21-hidroxilasa³⁹. El valor diagnóstico de las determinaciones de hormona luteinizante (LH) y estradiol son discutibles; la valoración de la función tiroidea y de la prolactina permiten descartar la presencia de otras endocrinopatías.

Para el estudio de la resistencia a la insulina, como cribado, se valora la glucemia y la insulinenia basales, y se establece el índice glucémico. Un valor inferior a 7 indica la presencia de resistencia a la insulina en adolescentes, y en mujeres adultas un cociente inferior a 4.5 es también diagnóstico de resistencia a la insulina^{40,41}. Existen otros cocientes para determinar, de una forma aproximada, la sensibilidad a la insulina, basados en las determinaciones basales de glucosa e insulina, como el clásico HOMA⁴², el FIRI⁴³ o el QUICKI⁴⁴, entre otros. La sobrecarga oral de glucosa es aconsejable si hay sobrepeso y en las adolescentes con bajo peso al nacer, dado el riesgo ya mencionado de desarrollar una diabetes tipo 2. Finalmente, se valora el perfil lipídico (colesterol total, cHDL, cLDL y triglicéridos). La determinación de otros parámetros, como la proteína C reactiva (PCR), el cociente neutrófilos/linfocitos, la IL-6, la adiponectina y la composición corporal, se reserva para estudios concretos de investigación. Sin embargo, recientemente se ha sugerido que la PCR y el cociente neutrófilos/linfocitos son parámetros útiles en el seguimiento^{43,45}.

El estudio de la morfología ovárica por ecografía no se considera fundamental en adolescentes para el diagnóstico de hiperandrogenismo ovárico. Entre el 8 y el 26% de adolescentes y mujeres jóvenes asintomáticas, y en función de los criterios utilizados, puede presentar alteraciones ecográficas sugestivas de poliquistosis ovárica^{46,47}. La presencia de morfología compatible con SOP unilateral se acompaña sólo excepcionalmente de otros signos o síntomas de hiperandrogenismo ovárico⁴⁸.

El diagnóstico temprano del SOP durante la adolescencia siempre será por exclusión y es preciso saber diferenciar entre un estado “fisiológico” de anovulación, y un estado inicial de SOP durante el que no se han podido contrarrestar los efectos nocivos de los andrógenos elevados en personas sensibles. La réplica a esta idea es si un tratamiento “profiláctico” puede evitar la instauración del cuadro completo de SOP.

TRATAMIENTO

Clásicamente, el tratamiento de elección del hiperandrogenismo ovárico ha sido la administración de anticonceptivos orales, constituidos por diferentes asociaciones de estro-

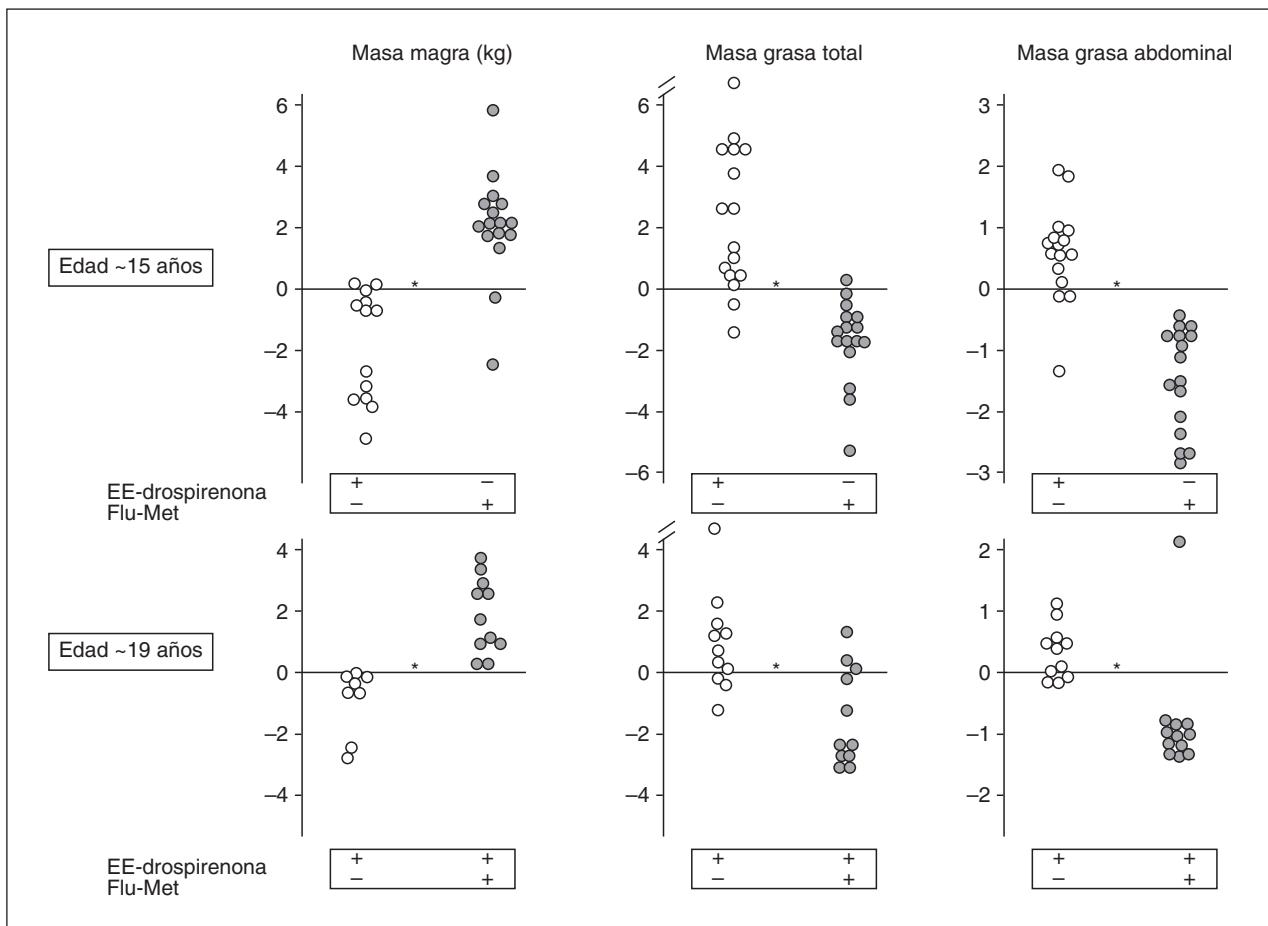


Fig. 2. Cambios (0-9 meses) en la composición corporal en 2 grupos de pacientes con síndrome del ovario poliquístico (SOP), con distintas pautas terapéuticas. Panel superior: adolescentes ($n = 32$; edad, 15 años), aleatorizadas para recibir etinilestradiol-drospirenona (EE-drospirenona) o metformina + flutamida (Flu-Met). Panel inferior: mujeres jóvenes ($n = 22$; edad, 19 años) tratadas con EE-drospirenona + Flu-Met, o sólo con EE-drospirenona. En las pacientes que recibieron Flu-Met se observó una mayor ganancia de masa magra, y una mayor reducción de la masa grasa total y abdominal después de la terapéutica (* $p < 0,0001$). Adaptada de Ibáñez y de Zegher²⁰.

progesterógenos³. Esta aproximación se ha reconsiderado recientemente, después de la publicación de numerosos estudios que han demostrado la utilidad de los sensibilizantes de la insulina en la normalización no sólo del exceso de andrógenos, sino también de las diversas alteraciones que acompañan al hiperandrogenismo ovárico^{49,50}.

La metformina es el sensibilizante de la insulina usado con más frecuencia en adolescentes: reduce los valores de insulina y la actividad del citocromo P450c17 ovárico y suprarrenal, disminuye los valores de andrógenos circulantes, mejora la dislipemia, y restablece la ciclicidad menstrual y la función ovulatoria^{30,51-53}. La metformina inhibe la producción de glucosa hepática y aumenta la sensibilidad de los tejidos periféricos a la acción de la insulina. *In vitro*, la metformina estimula la actividad tiroシンcina de la subunidad β del receptor de insulina⁵⁴ y tiene un efecto inhibidor directo sobre la esteroidogénesis ovárica⁵⁵. El efecto secundario más común lo forman las alteraciones gastrointestinales, específicamente diarrea y dolor abdominal, en general transitorias y que pueden obviarse si el tratamiento se instaura de manera gradual.

En adolescentes y mujeres jóvenes, la asociación de metformina (1.275 mg/día) a un antiandrógeno (flutamida, 250 mg/día) es mucho más eficaz que la monoterapia con metformina o con flutamida en la reducción del hiperinsulinismo

y el hiperandrogenismo, así como en la corrección de la dislipemia^{56,57}. Esta eficacia se mantiene al reducir las dosis de ambos preparados; también normaliza la función ovulatoria y la composición corporal, lo que reduce la masa grasa total y abdominal y aumenta de manera proporcional la masa magra, sin cambios significativos en el peso corporal^{10,11}. Los cambios en la composición corporal secundarios al tratamiento combinado se exponen en la figura 2. El tratamiento combinado disminuye las concentraciones de IL-6, aumenta los valores de adiponectina y normaliza la relativa neutrofilia que presentan estas pacientes, como puede observarse en la figura 3^{11,58}. La mejoría del hiperinsulinismo podría mediar estas modificaciones y, por tanto, disminuir el riesgo de enfermedad cardiovascular⁵⁹. En pacientes con riesgo de embarazo, los antiandrógenos están contraindicados, por lo que es necesaria la utilización de medidas anticonceptivas. Estudios recientes demuestran que estos preparados utilizados en monoterapia, aunque son eficaces sobre la sintomatología clínica, determinan un empeoramiento de los parámetros metabólicos, incluyendo el hiperinsulinismo, el perfil lipídico y los valores de adiponectinas y PCR^{11,60,61}. La combinación de metformina y flutamida con un estropogestágeno que contenga drospirenona —un análogo de la espironolactona con actividad antimineralcorti-

Tabla 1. Tratamiento del hiperandrogenismo ovárico en la adolescente: estropogestágenos (ACO) frente a flutamida-metformina

	ACO	Flutamida-metformina
Base	Farmacológica	Fisiopatológica
Principio	Silenciar el ovario	Restaurar función
Efectos endocrinometabólicos	+(+)	+++
Efectos en la composición corporal	---	++ +*
Efectos en las adipocitocinas y recuento de neutrófilos	---	++ +*
Efectos en la ovulación	Inhibición	Normalización
Contraindicaciones	—	Riesgo de embarazo*

*Si se asocia un anticonceptivo oral (ACO) con drospirenona o un estropogestágeno transdérmico, se mantienen los beneficios en la composición corporal, las adipocitocinas y el recuento de neutrófilos.

coide y antiandrogénica—, o con un estropogestágeno transdérmico, mantiene los efectos beneficiosos de la terapia combinada en los parámetros endocrinometabólicos, y disminuye la adiposidad central y aumenta la masa magra^{11,13,61}. En estas pacientes, la adición de drospirenona podría potenciar los efectos bloqueadores de la flutamida en la acción androgénica; estudios recientes han confirmado que

la normalización del perfil metabólico en el SOP requiere la supresión del exceso de acción androgénica⁶²⁻⁶⁴.

Estudios recientes demuestran la efectividad de la metformina en monoterapia en la prevención del desarrollo de SOP clínico en adolescentes y niñas prepuberales con historia de pubarquia precoz y bajo peso al nacer^{26,65}. La administración de dosis bajas (425 mg/día en prepuberales y 850 mg/día en adolescentes) mejora el perfil endocrinometabólico y la composición corporal, los marcadores de riesgo cardiovascular, y evita el desarrollo de hiperandrogenismo clínico; esto apoya la hipótesis de que el hiperinsulinismo es un factor clave en el desarrollo de hiperandrogenismo ovárico. El tratamiento con metformina iniciado antes de la pubertad en niñas con pubarquia precoz y bajo peso al nacer evita el inicio temprano y la evolución rápida de la pubertad, y puede potencialmente mejorar el pronóstico de talla final^{66,67}.

vascular, y evita el desarrollo de hiperandrogenismo clínico; esto apoya la hipótesis de que el hiperinsulinismo es un factor clave en el desarrollo de hiperandrogenismo ovárico. El tratamiento con metformina iniciado antes de la pubertad en niñas con pubarquia precoz y bajo peso al nacer evita el inicio temprano y la evolución rápida de la pubertad, y puede potencialmente mejorar el pronóstico de talla final^{66,67}.

CONCLUSIONES

Los recientes avances fisiopatológicos en el SOP sugieren que la asociación de metformina y flutamida a dosis bajas tiene efectos aditivos sobre el hirsutismo, las alteraciones endocrinometabólicas, la composición corporal, los marcadores de riesgo cardiovascular y la anovulación crónica que caracterizan a esta entidad (tabla 1). Dicha terapia tiene un base fisiopatológica, ya que sus efectos beneficiosos se alcanzan mediante la normalización de la función ovárica, y no por su inhibición. Si existe riesgo de embarazo, la adición de un anticonceptivo oral que contenga drospirenona o de un estropogestágeno transdérmico mantiene la eficacia de la terapéutica combinada. Estas asociaciones a dosis bajas no presentan hepatotoxicidad, incluso en tratamientos prolongados⁶⁸. Se precisan más estudios antes de establecer la eficacia y la tolerancia a largo plazo de este tipo de fármacos, fundamentalmente en adolescentes. En poblaciones de riesgo, el tratamiento temprano con metformina evita el desarrollo de las manifestaciones clínicas del SOP.

BIBLIOGRAFÍA

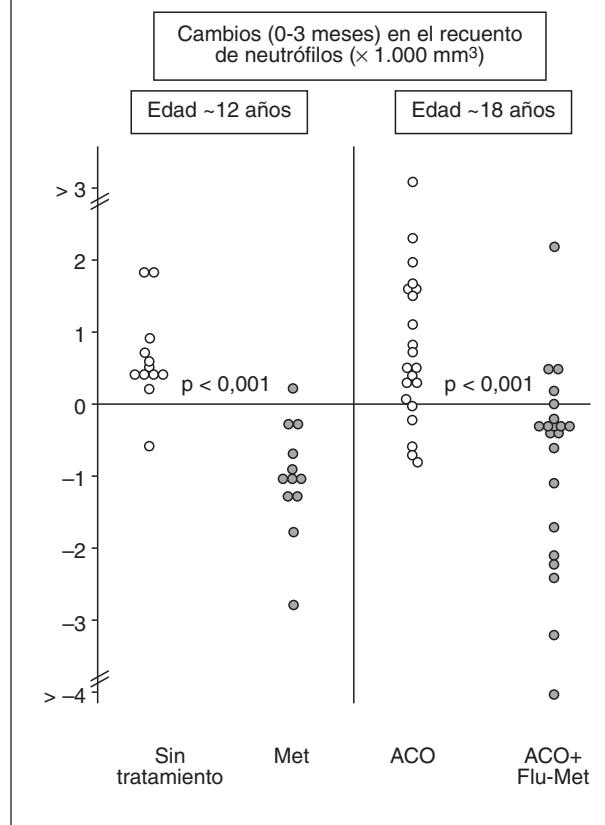


Fig. 3. Cambio (0-3 meses) en el recuento de neutrófilos en: a) 24 adolescentes (edad, 12,5 años), aleatorizadas en 2 grupos: no tratadas o tratadas con metformina (Met, 850 mg/día), y b) 41 mujeres jóvenes (edad, 18 años) aleatorizadas en 2 grupos: tratamiento con un anticonceptivo oral (ACO), o con ACO + flutamida (Flu, 62,5 mg/día) + Met (850 mg/día). La relativa neutrofilia basal se reduce significativamente ($p < 0,001$) después del tratamiento con Met o Flu-Met. Adaptada de Ibáñez y de Zegher⁶¹.

1. Asunción M, Calvo RM, San Millán JL, Sancho J, Ávila S, Escobar-Morreale H. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:2434-8.
2. Ibáñez L, Potau N, Zampolli M, Prat N, Gussinyé M, Saenger P, et al. Source localization of androgen excess in adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79:1778-84.
3. Baumann EE, Rosenfield RL. Polycystic ovary syndrome in adolescence. *The Endocrinologist*. 2002;12:333-48.
4. The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod*. 2004;19:41-7.
5. Azziz R. Controversy in clinical endocrinology: diagnosis of polycystic ovarian syndrome: the Rotterdam criteria are premature. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:781-5.
6. Franks S. Diagnosis of polycystic ovary syndrome: in defence of the Rotterdam criteria. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:786-9.
7. Dunai A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev*. 1997;18:774-800.
8. Kirchengast S, Huber J. Body composition characteristics and body fat distribution in lean women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2001;16:1255-60.
9. Ducluzeau PH, Cousin P, Malvoisin E, Bornet H, Vidal H, Laville M, et al. Glucose-to-insulin ratio rather than sex hormone-binding globulin

- and adiponectin levels is the best predictor of insulin resistance in nonobese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:3626-31.
10. Ibáñez L, Ong K, Ferrer A, Amin R, Dunger D, de Zegher F. Low-dose flutamide-metformin therapy reverses insulin resistance and reduces fat mass in non-obese adolescents and young women with ovarian hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:2600-6.
 11. Ibáñez L, de Zegher F. Ethinylestradiol-drospirenone, flutamide-metformin, or both for adolescents and women with hyperinsulinemic hyperandrogenism: opposite effects on adipocytokines and body adiposity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:1592-7.
 12. Orio F Jr, Palomba S, Cascella T, Di Biase S, Manguso F, Tauchmanova L, et al. The increase of leukocytes as a new putative marker of low grade chronic inflammation and early cardiovascular risk in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:2-5.
 13. Ibáñez L, Valls C, de Zegher F. Discontinuous low-dose flutamide-metformin plus an oral or a transdermal contraceptive in patients with hyperinsulinemic hyperandrogenism: normalizing effects on C-reactive protein, tumor necrosis factor- α and the neutrophil/lymphocyte ratio. *Hum Reprod.* 2006;21:451-6.
 14. Boulmam N, Levy Y, Leiba R, Shachar S, Linn R, Zinder O, et al. Increased C-reactive protein levels in the polycystic ovary syndrome: a marker of cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2160-5.
 15. Després JP, Lamarche B, Mauriège P, Cantin B, Dagenais G, Moorthy S, et al. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med.* 1996;334:952-7.
 16. Rexrode KM, Pradhan A, Manson JE, Buring JE, Ridker PM. Relationship total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women. *Ann Epidemiol.* 2003;13:674-82.
 17. Tsai JC, Sheu SH, Chiu HC, Chung FM, Chang DM, Chen MP, et al. Association of peripheral total and differential leukocyte counts with metabolic syndrome and risk of ischemic cardiovascular diseases in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev.* 2006 [Epub ahead of print].
 18. Essah PA, Nestler JE. The metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest.* 2006;29:270-80.
 19. Ibáñez L, Di Martino-Nardi J, Potau N, Saenger P. Premature adrenarche -normal variant or forerunner of adult disease? *Endocr Rev.* 2000;21:671-96.
 20. Ibáñez L, Potau N, Francois I, de Zegher F. Precocious pubarche, hyperinsulinism and ovarian hyperandrogenism in girls: relation to reduced fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:3558-662.
 21. Ibáñez L, Valls C, Potau N, Marcos MV, de Zegher F. Polycystic ovary syndrome after precocious pubarche: ontogeny of the low-birthweight effect. *Clin Endocrinol.* 2001;55:667-72.
 22. Ibáñez L, Valls C, Miró E, Marcos MV, de Zegher F. Early menarche and subclinical ovarian hyperandrogenism in girls with reduced adult height after low birthweight. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002;15:431-3.
 23. Ibáñez L, Potau N, Chacón P, Pascual C, Carrascosa A. Hyperinsulinemia, dyslipaemia and cardiovascular risk in girls with a history of premature pubarche. *Diabetologia.* 1998;41:1057-63.
 24. Ibáñez L, Potau N, de Zegher F. Precocious pubarche, dyslipidemia and low IGFBP-1 in girls: relation to reduced prenatal growth. *Pediatr Res.* 1999;46:320-2.
 25. Ibáñez L, Ong K, de Zegher F, Marcos MV, Del Río L, Dunger D. Fat distribution in non-obese girls with and without precocious pubarche: central adiposity related to insulinemia and androgenemia from pre-puberty to post-menarche. *Clin Endocrinol.* 2003;58:372-9.
 26. Ibáñez L, Valls C, Marcos MV, Ong K, Dunger D, de Zegher F. Insulin sensitization for girls with precocious pubarche and with risk for polycystic ovary syndrome: effects of prepubertal initiation and postpubertal discontinuation of metformin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:4331-7.
 27. Ibáñez L, Potau N, Marcos MV, de Zegher F. Adrenal hyperandrogenism in adolescent girls with a history of low birthweight and precocious pubarche. *Clin Endocrinol.* 2000;53:523-7.
 28. Ibáñez L, de Zegher F, Potau N. Anovulation after precocious pubarche: early markers and time course in adolescence. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:2691-5.
 29. Ibáñez L, Potau N, Ferrer A, Rodríguez-Hierro F, Marcos MV, de Zegher F. Reduced ovulation rate in adolescent girls born small for gestational age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:3391-3.
 30. Ibáñez L, Potau N, Ferrer A, Rodríguez-Hierro F, Marcos MV, de Zegher F. Anovulation in eumenorrheic, non-obese adolescent girls born small for gestational age: insulin sensitization induces ovulation, increases lean body mass, and reduces abdominal fat excess, dyslipidemia and subclinical hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:5702-5.
 31. De Leo V, Lanzetta D, D'Antona D, La Marca A, Morgante G. Hormonal effects of flutamide in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:99-102.
 32. Ibáñez L, Potau N, Marcos MV, de Zegher F. Treatment of hirsutism, hyperandrogenism, oligomenorrhea, dyslipidemia and hyperinsulinism in non-obese, adolescent girls: effect of flutamide. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3251-5.
 33. Franks S, McCarthy MI, Hardy K. Development of polycystic ovary syndrome: involvement of genetic and environmental factors. *Int J Androl.* 2006;29:278-85.
 34. Xita N, Tsatsoulis A. Fetal programming of polycystic ovary syndrome by androgen excess: evidence from experimental, clinical, and genetic association studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:1660-6.
 35. Kristiansen SB, Endoh A, Casson PR, Buster JE, Hornsby PJ. Induction of steroidogenic enzyme genes by insulin and IGF-I in cultured adult human adrenocortical cells. *Steroids.* 1997;62:258-65.
 36. Suikkari AM, Koivisto VA, Rutanen EM, Yki-Järvinen H, Karonen SL, Seppälä M. Insulin regulates the serum levels of low molecular weight insulin-like growth factor-binding protein. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;66:266-72.
 37. Avvad CK, Holewinger R, Silva VC, Bordallo MA, Breutenthal MM. Menstrual irregularity in the first postmenarchal years: an early clinical sign of polycystic ovary syndrome in adolescence. *Gynecol Endocrinol.* 2001;15:170-7.
 38. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1961;21:1440-7.
 39. Kumar A, Woods KS, Bartolucci AA, Azziz R. Prevalence of adrenal androgen excess in patients with the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005;62:644-9.
 40. Kent SC, Legro RS. Polycystic ovary syndrome in adolescents. *Adolesc Med.* 2002;13:73-88.
 41. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:2694-8.
 42. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Aylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia.* 1985;28:412-9.
 43. Duncan MH, Singh BM, Wise PH, Carter G, Alaghband-Zadeh G. A simple measure of insulin resistance. *Lancet.* 1995;346:120-1.
 44. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2402-10.
 45. Morin-Papunen L, Rautio K, Ruokonen A, Hedberg P, Puukka M, Tapanainen JS. Metformin reduces serum C-reactive protein levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4649-54.
 46. Reys AC, Proust-Richard C, Catteau-Jonard S, Dewailly D. Rotterdam consensus in adolescent girls: which investigations and how to interpret them to make the diagnosis of PCOS? *Gynecol Obstet Fertil.* 2006;34:341-6.
 47. Milchmore KF, Balen AH, Dunger DB, Vessey MP. Polycystic ovaries and associated and biochemical features in young women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1999;51:779-86.
 48. Yao LQ, Kuang JQ, Feng YJ, Li L, Xu CJ. Characterization of unilateral polycystic ovary compared with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2006;85:805-8.
 49. Diamanti-Kandarakis E, Baillargeon JP, Iuorno MJ, Jakubowicz DJ, Nestler JE. Controversies in endocrinology. A modern medical quandary: polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and oral contraceptive pills. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:1927-32.
 50. De Leo V, La Marca A, Petraglia F. Insulin-lowering agents in the management of polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev.* 2003;24:633-67.
 51. Nestler JE, Jakubowicz DJ. Lean women with polycystic ovary syndrome respond to insulin reduction with decreases in ovarian P450c17 α activity and serum androgens. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:4075-9.
 52. Ibáñez L, Valls C, Potau N, Marcos MV, de Zegher F. Sensitization to insulin in adolescent girls to normalize hirsutism, hyperandrogenism, oligomenorrhea, dyslipidemia and hyperinsulinism after precocious pubarche. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3526-30.
 53. Ibáñez L, Valls C, Ferrer A, Marcos MV, Rodríguez-Hierro F, de Zegher F. Sensitization to insulin induces ovulation in nonobese adolescents with anovulatory hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:3595-8.
 54. Stith BJ, Woronoff K, Wiernsperger N. Stimulation of the intracellular portion of the human insulin receptor by the antidiabetic drug metformin. *Biochem Pharmacol.* 1998;55:533-6.
 55. Mansfield R, Galea R, Brincat M, Hole D, Mason H. Metformin has direct effects on human ovarian steroidogenesis. *Fertil Steril.* 2003;79:956-62.
 56. Ibáñez L, Valls C, Ferrer A, Ong K, Dunger D, de Zegher F. Additive effects of insulin-sensitizing and antiandrogen treatment in young, nonobese women with hyperinsulinism, hyperandrogenism, dyslipidemia and anovulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:2870-4.
 57. Gambineri A, Pelusi C, Genghini S, Morselli-Labate AM, Cacciari M, Pagotto U, et al. Effect of flutamide and metformin administered alone or in combination in dieting obese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol.* 2004;60:241-9.
 58. Ibáñez L, Jaramillo AM, Ferrer A, de Zegher F. High neutrophil count in girls and women with hyperinsulinemic hyperandrogenism: normalization with metformin and flutamide overcomes aggravation by oral contraception. *Hum Reprod.* 2005;20:2457-62.

59. Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, Maeda N, Kuriyama H, Nagatran H, et al. Androgens decrease plasma adiponectin, and insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes*. 2002;51:2734-41.
60. Morin-Papunen L, Vauhkonen I, Koivunen R, Ruokonen A, Martikainen H, Tapanainen JS. Metformin versus ethinyl-estradiol-cyproterone-acetate in the treatment of nonobese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:148-56.
61. Ibáñez L, de Zegher F. Low-dose flutamide-metformin therapy for hyperinsulinemic hyperandrogenism in non-obese adolescents and women. *Human Reproduction Update*. 2006;12:243-52.
62. Ibáñez L, Valls C, Cabré S, de Zegher F. Flutamide-metformin plus ethinylestradiol-drospirenone for lipolysis and anti-atherogenesis in young women with ovarian hyperandrogenism: the key role of early, low-dose flutamide. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4716-20.
63. Ibáñez L, de Zegher F. Flutamide-metformin plus ethinylestradiol-drospirenone for lipolysis and anti-atherogenesis in young women with ovarian hyperandrogenism: the key role of metformin at start and after more than one year of therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:39-43.
64. Nestler JE. Should patients with polycystic ovary syndrome be treated with metformin? An enthusiastic endorsement. *Hum Reprod*. 2002;17:1950-3.
65. Ibáñez L, Ferrer A, Ong K, Amin R, Dunger D, de Zegher F. Insulin sensitization early post-menarche prevents progression from precocious pubarche to polycystic ovary syndrome. *J Pediatr*. 2004;144:23-9.
66. Ibáñez L, Jiménez R, de Zegher F. Early puberty-menarche after precocious pubarche: relation to prenatal growth. *Pediatrics*. 2006;117:117-21.
67. Ibáñez L, Ong K, Valls C, Marcos MV, Dunger DB, de Zegher F. Metformin treatment to prevent early puberty in girls with precocious pubarche. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 [Epub ahead of print].
68. Ibáñez L, Jaramillo A, Ferrer A, de Zegher F. Absence of hepatotoxicity after long-term, low-dose flutamide in hyperandrogenic girls and young women. *Hum Reprod*. 2005;20:1833-6.