

SOUČASNÝ POHLED NA SYNDROM POLYCYSTICKÝCH OVARIÍ

MUDr. Hana Šarapťková

Interní a endokrinologická ordinace, Olomouc

Od doby, kdy Stein a Leventhal v roce 1935 publikovali svůj popis 7 žen s amenorheou, hirsutizmem, obezitou a charakteristickými cystami na vaječnících (PCO), uplynula řada let. Šlo tehdy o jeden z prvních popisů komplexu fenotypických projevů, jež nazýváme syndromem polycystických ovarií (PCOS). V průběhu let se ukázalo, že PCOS je jedním z nejčastějších endokrinních onemocnění u žen ve fertilním věku. Nejde o přesně vymezenou chorobu, ale syndrom s různorodými fenotypickými manifestacemi. Je charakterizován poruchami ovulace (klinicky amenorhea nebo oligomenorhea), hyperandrogenemií, která se klinicky může projevovat hirsutizmem, akné nebo alopecií a charakteristickým nálezem cyst při sonografii ovarií. Často je provázen obezitou, hyperinzulinemií, inzulinorezistencí, dyslipidemií. PCOS má dopad na ženu po celou dobu jejího života – a to svými vlivy na reprodukci, metabolismus a kardiovaskulární systém. Vzhledem k prevalenci tohoto onemocnění u žen ve fertilním věku (podle různých studií 6–15 %) je věnována pozornost etiologii, patogenezi a zejména pak terapii tohoto onemocnění. Přes řadu poznatků z poslední doby stále chybí dostatek informací, které by vysvětlily různorodost projevů PCOS. Stejně tak nemáme k dispozici data ze studií, které by splňovaly kritéria EBM (evidence based medicine – medicíny založené na důkazech) a řešily otázku terapie. V současnosti doporučujeme ženám s PCOS mimo redukci hmotnosti u obézních hormonální antikoncepci a antiandrogeny. V poslední době přibývá údajů o terapeutickém využití metforminu a glitazonů.

Klíčová slova: syndrom polycystických ovarií, oligomenorhea, androgeny.

CURRENT OPINION ON POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

Since the time Stein and Leventhal published the description of 7 female patients with amenorrhea, hirsutism, obesity and characteristic cysts on ovaries (PCO) in 1935, many years have passed. It was one of the first descriptions of complex of phenotypic manifestation which are called polycystic ovary syndrome (PCOS). During the time PCO turned up to be one of the most frequent endocrine diseases in females in fertile age. It is not a single outlined disease, but a syndrome with various phenotypic manifestations. It is characterized by ovulation disorder (clinically amenorrhea or oligomenorrhea), hyperandrogenemia that may present with hirsutism, acne and alopecia and characteristic findings of cysts on sonography of ovaries. Frequently it is accompanied by obesity, hyperinsulinemia, insulinoreistance, dyslipidemy. PCOS has influence on females during the whole life, by its influence on reproduction, metabolism and cardiovascular system. Because of its high prevalence in females of fertile age (according various sources in 6-15%) a lot of attention is paid to its etiology, pathogenesis, and especially its therapy. In spite of a number of recent findings, there is still a lack of information that would explain the variety of manifestations of PCO. There are also no data from clinical studies that would fulfill criteria of EBM (evidence based medicine) and deal with question of therapy. Currently we recommend females with PCOS besides weight reduction in obese hormonal contraception and antiandrogens. Recently more information appears about the use of metformine and glitazones.

Key words: polycystic ovary syndrome, oligomenorrhea, androgens.

Interní Med. 2008; 10(10): 461–465

Definice syndromu PCO

Jako první si všimli asociace amenorhey, obezity, hirsutizmu a cyst na ovariích u žen ve fertilním věku Stein a Leventhal (1935). Od té doby se ukázalo, že syndrom polycystických ovarií (PCOS), jak jej nyní nazýváme, je onemocněním frekventním (4, 7, 23).

Projevy onemocnění jsou velmi různorodé a proměnlivé, což činí i diagnostické těžkosti. Dlouho také chyběla jasná definice. V roce 1990 panel expertů přednesl na konferenci NIH (National Institute of Health) kritéria pro diagnostiku onemocnění (tabulka 1) (90).

K diagnóze podle těchto kritérií nebyl nutný průkaz morfoloických změn na ovariích, v Evropě se průkaz PCO pro diagnózu požadoval.

V roce 2003 byla předložena nová definice syndromu PCO, a to na základě panelu amerických a evropských expertů ESHRE/ASRM v Rotterdamu (tzv. Rotterdamský konsenzus). Diagnostická kritéria jsou podle ní splněna, pokud jsou přítomny 2 ze 3 uvedených znaků:

- oligo–anovulace,
- hyperandrogenemie nebo hyperandrogenizmus jako její klinický projev (hirsutizmus, androgenní alopecie),
- polycystická ovaria dle sonografického vyšetření.

Výskyt

PCO syndrom nalézáme asi u 5–10 % žen ve fertilním věku (4, 33).

Pokud použijeme anglosaská kritéria a kritéria podle Rotterdamského konsenzu, pak prevalence PCOS je u žen ve fertilním věku asi 15 % (8).

V roce 2006 bylo publikováno stanovisko AES (Androgen Excess Society), které doporučuje pro

Tabulka 1. Kritéria NIH pro diagnózu PCOS

hyperandrogenizmus s vyloučením jiného zdroje nadprodukce androgenů včetně CAH
chronická anovulace (amenorhea, oligomenorhea)
CAH = adrenokortikální hyperplázie

diagnózu PCOS jako nezbytnou přítomnost hyperandrogenemie nebo hirsutizmu, dále je nutná přítomnost oligo–anovulace nebo morfoloický resp. sonografický průkaz polycystických ovarií a vyloučení jiných stavů, které mohou mít podobné projevy a mohou být příčinou nadprodukce androgenů (tabulka 2) (8).

Tabulka 2. Příčiny hyperandrogenních stavů, které je nutno vyloučit při diagnóze PCOS (33)

neklasičká kongenitální androgenní hyperplázie (nejčastěji deficit 21 hydroxylázy)
hyperprolaktinémie, prolaktinom
Cushingův syndrom
hypotyreóza
akromegalie
předčasná ovariální selhání
prostá obezita
virilizující adrenální nebo ovariální tumory
lékové vlivy (cyklosporin, azathioprim, kortikoidy, valproát aj.)

PCOS se u řady žen začíná projevovat již v období puberty a krátce po ní (36), některé ženy nemají nikdy nastolen spontánní pravidelný menstruační cyklus. V důsledku variability projevů PCOS a širokému užívání hormonální antikoncepce, které zastře poruchu menstruačního cyklu, se diagnóza nejednou stanoví až v období, kdy si žena přeje graviditu. Svou roli také může hrát váhový přírůstek v období puberty.

Etiologie a patogeneze

I přes několik desítek let výzkumu zatím stále nebyla uspokojivě vysvětlena etiologie a patogeneze PCOS. Poruchy se nalézají na různých úrovních systému hypotalamus – hypofýza – ovaria, nicméně jasné vysvětlení všech endokrinních a metabolických poruch zatím chybí.

Dědičnost a vlivy zevního prostředí

Zdá se, že PCOS je dědičný (6, 30, 51). Byla provedena řada studií snažících se identifikovat genetickou příčinu (46). PCOS se jeví jako komplexní multigenová choroba. Kandidátní geny spojené nebo asociované s PCOS zahrnují ty, které souvisí se sekrecí nebo účinkem inzulínu, gonadotropinů a androgenů (16, 71).

Pacientky s PCOS mají často nadváhu nebo jsou obezní a jejich hormonální profil se upravuje při redukci hmotnosti. Proto se předpokládá i vliv prostředí. Obezita sama není považována za příčinu rozvoje PCOS, může však vést k průvodním reprodukčním a metabolickým poruchám.

Porucha sekrece gonadotropinů

Hypotalamohypofyzární systém představuje základní řídící článek reprodukčních funkcí. V hypotalamu se nachází skupina neuronů, které v pulzech produkují GnRH (gonadotropin releasing hormone), který se pak portálním systémem dostává do hypofýzy. Tam ovlivňuje produkci LH (luteinizační hormon) a FSH (folikulostimulační hormon) v gonadotropech, přičemž se ukázalo, že oba tyto hormony jsou produkovány jedním typem gonadotropních buněk. Během menstruačního cyklu je větší produkce FSH v časně folikulární fázi cyklu, naopak v pozdní folikulární funkci převažuje LH (57).

Výše produkce LH nebo FSH záleží na frekvenci pulzů GnRH. Rychlejší pulzy GnRH vedou k větší produkci LH, pomalejší pulzy pak k preferenci tvorby FSH (43, 44, 77).

Ovariální hormony zpětnovazebně ovlivňují sekreci GnRH, a to zejména progesteron, který zpomaluje pulzy LH a GnRH. Estradiol má v tomto efektu permissivní účinek (38). Modulační efekt hormonů ovaria, zejména progesteronu, se jeví jako hlavní regulátor frekvence pulzů GnRH (27).

V sekreci gonadotropinů byla u žen s PCOS nalezena řada abnormit. Až 75 % žen s PCOS má zvýšené hodnoty LH a až 94 % má zvýšený poměr LH : FSH. Rovněž byla nalezena trvale rychlá pulzová frekvence LH (GnRH) bez cyklické variability, která je přítomná u ovulujících žen (85). Selhává tedy intermitentní suprese jako výsledek poruchy primárně hypotalamické, vlivem abnormních hladin hormonů nebo kombinací obou příčin.

Příčina abnormní sekrece gonadotropinů u PCOS se hledala v produkci hypotalamických neurotransmiterů (dopamin, opioidy, noradrenalin, GABA) (11, 69, 76), nicméně nepodařilo se prokázat primární hypotalamickou poruchu, která by vysvětlila neuroendokrinní abnormity u PCOS. Na zvýšenou sekreci LH nemá vliv ani androstendion periferně aromatizovaný na estron (47).

Inzulín, porucha glukózové tolerance a diabetes mellitus 2. typu

Význam se přikládá rovněž inzulínu. Inzulínová rezistence je častou metabolickou odchylkou u obezních, je ale patrná i u štíhlých žen s PCOS (14, 22, 25). Má zřejmě přímé i nepřímé efekty. Inzulínová rezistence je kompenzována vyšší inzulinií. Podle studií cca 7–10 % žen s PCOS má diabetes mellitus 2. typu a naopak ženy s diabetes mellitus 2. typu mají 6x častěji PCOS než kontroly (84).

Inzulín působí synergicky s LH a tím podporuje produkci androgenů thékálními buňkami (10). Inzulín také snižuje jaterní syntézu SHBG (sex hormone binding globulin), což je klíčová bílkovina, jež váže testosteron. Tím dochází ke zvýšení podílu volného biologicky aktivního testosteronu v cirkulaci, celkový testosteron zůstává v mezích normy nebo mírně zvýšen.

Řada studií prokázala efekt látek zlepšujících inzulínovou rezistenci – metforminu a glitazonů – na úpravu androgenemie a ovulačních funkcí (26, 34, 55, 62, 66). Existují i přímé důkazy vlivu inzulínu na ovariální steroidogenezi in vitro (5, 56, 61). Přesná role inzulínu v oblasti neuroendokrinních funkcí není stále jasná. Dosavadní studie neprokázaly jasný vliv na pulzovou sekreci GnRH resp., gonadotropinů (60, 70). Hyperinzulinemie může však mít významný efekt na změny v hypotalamohypofyzární funkci prostřednictvím zvýšených hladin androgenů.

Snížená citlivost hypotalamohypofyzárního systému na progesteron je zřejmě sekundární, a to vlivem hyperandrogenemie, nejde o primární hypotalamický defekt (48). Signifikanční neuroendokrinní vliv mají zvýšené hladiny androgenů.

Další mechanismy

Některé studie ukazují, že thékální buňky ovarií postižených žen účinněji přeměňují prekurzory an-

drogenů na testosteron (64, 65). Syntéza androgenů v thékálních buňkách je regulována LH (luteinizační hormon), FSH (folikulostimulační hormon) je zodpovědný za regulaci aktivity aromatázy v granulózových buňkách a tím určuje, kolik estrogenů je syntetizováno z androgenních prekurzorů. Pokud je koncentrace LH relativně vyšší než FSH, dochází preferenčně k syntéze androgenů.

Objevují se také práce, které předpokládají prenatální androgenizaci plodu indukovanou genetickými a environmentálními faktory, event. jejich kombinací, čímž dochází k nasměrování diferencujících se tkání směrem k vývoji fenotypu PCOS v dospělosti, zejména jeho metabolické složce (1, 28).

Také u dívek s předčasnou pubertou jako důsledek časně sekrece nadledvinových steroidů může dojít k manifestaci syndromu (50).

Dlouhodobá rizika PCOS

Metabolická rizika

Řada postižených žen má nadváhu nebo je obezních. Pacientky s PCOS jsou podle různých sestav obezní v 15–80 % případů. Obezita výrazně ovlivňuje hormonální prostředí. S vyššími hladinami inzulínu u obezních souvisí snížené hladiny SHBG způsobené vlivem inzulínu na jaterní biosyntézu a tím vyšší hladiny volného biologicky dostupného testosteronu.

Obezita také patří k základním rysům metabolického syndromu – jde o abdominální obezitu, dobře sledovatelnou obvodem pasu. S metabolickým syndromem souvisí i inzulínová rezistence jako rizikový faktor diabetes mellitus 2. typu a ischemické choroby srdeční (41, 74).

Hyperinzulinemie byla u žen s PCOS popsána již před více než 20 lety. Je důsledkem kombinace inzulínové rezistence, kompenzatorní vyšší sekrece inzulínu a defektní clearance inzulínu v játrech. Není jasné, zda inzulínová rezistence je nezbytně s PCOS spjatá. Nicméně s ohledem na vztah inzulínové rezistence jako rizikového faktoru ischemické choroby srdeční a diabetes mellitus 2. typu a skutečnosti, že ne všechny ženy s PCOS mají inzulínovou rezistenci, by bylo přínosné, kdyby bylo možné v rámci screeningu odhalit ohrožené pacientky. Inzulínemie nalačno není vhodným parametrem, perspektivní se zdá být stanovení SHBG, který koreluje s inzulínovou senzitivitou.

Studie zabývající se prevalencí poruchy glukózové tolerance a diabetes mellitus ukazují, že ženy s PCOS v ČR mají BMI (body mass index) 26, přitom poruchu glukózové tolerance má 10 %, manifestní diabetes mellitus 2. typu 1 %. V USA jsou častěji ženy s obezitou s BMI 32, poruchu glukózové tolerance jich má 30 % a manifestní diabetes 7,5 %. Ve studiích

Vrbíkové (2005), která hodnotila výskyt metabolického syndromu u žen s PCOS (tedy zvýšení krevního tlaku, HDL cholesterol, obvod pasu, triglyceridemie a glykemii nalačno), byl nalezen metabolický syndrom u 2 % žen s PCOS, americké studie udávaly až 40 %, což lze připsat i výrazně vyššímu BMI v USA ve srovnání s pacientkami v ČR.

Ischemická choroba srdeční

Vyšší výskyt diabetes mellitus 2. typu u žen s PCOS vedl ke zkoumání výskytu ischemické choroby srdeční u postižených žen. Byla popsána predispozice žen s PCOS pro výskyt makrovaskulárních komplikací a trombózy (68, 89), také byla u nich nalezena vyšší prevalence kalcifikací koronárních arterií na počítačové tomografii (49) a vyšší hladiny inhibitoru 1 pro aktivátor plazminogenu (3, 21, 31). Popisuje se i hypertriglyceridemie, snížené hladiny HDL (high density lipoprotein) a zvýšené hladiny LDL (low density lipoprotein) cholesterolu (81), což disponuje ke kardiovaskulárním onemocněním. U žen s PCOS byl signifikantně vyšší obsah viscerálního tuku (13).

Byl nalezen také vztah mezi zvýšeným obsahem viscerálního tuku a časnými známkami aterosklerózy hodnocenými tloušťkou intimy a media zadní stěny společné karotidy a vaskulární reaktivitou na arterii brachialis (13), nalezena byla i elevace CRP (C reaktivní protein), inzulinu nalačno, inzulinové rezistence, fibrinogenu.

Přes všechny uvedené odchylky, které vedou k předpokladu, že ženy s PCOS budou mít větší morbiditu a mortalitu na kardiovaskulární onemocnění, lze toto velmi obtížně jednoznačně prokázat (53, 82, 86). Nicméně na základě asociace PCOS s rizikovými faktory kardiovaskulárních chorob s angiograficky dokumentovaným postižením koronárních arterií může být intervence těchto rizik u postižených žen jako prevence kardiovaskulárních onemocnění smysluplná (75).

Karcinom endometria

V souvislosti s PCOS byla nalezena větší prevalence hyperplázie endometria a karcinomu (9, 45). Vzestup se dává do souvislosti s větší stimulací endometria estrogeny, zejména estronem, bez dostatečné inhibice proliferace sliznice vlivem progesteronu. Endometriální karcinom se také častěji vyskytuje u obézních a diabetiček 2. typu. To jsou stavy, se kterými se u žen s PCOS setkáváme často, nicméně nejsou specifické pro toto onemocnění, a proto se PCOS nepovažuje za rizikový faktor karcinomu endometria.

Karcinom prsu a ovaria mají k PCOS variabilní vztah (9), neboť obezita, anovulace, neplodnost a její hormonální léčba je u PCOS velmi častá, a nelze

tedy odchylky při PCOS oddělit od těchto rizikových faktorů.

Terapie

Terapie žen s PCOS je svízelná a přináší řadu otázek. Záleží také na tom, jakého cíle má léčba dosáhnout, neboť ženy přicházejí do ordinace s celým spektrem potíží. Jde o problémy s nepravidelnou menstruací, hirsutizmem nebo androgenní alopecií, některé si přejí graviditu. Ideální lék, který by dokázal úspěšně ovlivnit všechny uvedené projevy, neexistuje, a je nutno proto přistupovat k terapii individuálně (tabulka 3).

Tabulka 3. Terapeutické možnosti podle charakteru převažujících potíží

akné	HAK, antiandrogeny
	lokální terapie
hirsutizmus	HAK, antiandrogeny
	redukce hmotnosti
	lokální terapie (kosmetické postupy)
nepravidelný menstruační cyklus	redukce hmotnosti
	HAK
sterilita	redukce hmotnosti
	klomifen, při rezistenci metformin, event. v kombinaci
	asistovaná reprodukce
	laparoskopické metody (tzv. drilling ovarii)

Redukce hmotnosti

Prvním terapeutickým přístupem u obézních žen nebo žen s nadváhou je redukce tělesné hmotnosti cca o 5–10 %, a to úpravou životního stylu. Již takový váhový úbytek může snížit hladiny androgenů, upravit anovulaci a vést k úspěšné graviditě (18). V tomto směru máme dosud výsledky jen observačních studií.

Mimo změny diety a zvýšení pohybové aktivity připadají v úvahu i antiobezitika, a to sibutramin a orlistat. O efektu těchto preparátů při terapii PCOS není zatím dostatek informací. Proběhly jen malé studie, které naznačují, že by tato terapie mohla být efektivní.

Snížení inzulinové rezistence

Poznatky o roli inzulinové rezistence a hyperinzulinemie v patogenezi PCOS vedly k myšlence použít v léčbě inzulinové senzitivátory. Jako první byl v r. 1994 použit metformin. Jeho podání vedlo ke snížení hladin androgenů a LH, zlepšení inzulinové senzitivity a úpravě menstruačního cyklu. Účinek metforminu nespočívá jen v jeho obecných vlastnostech (tabulka 4), ale má zřejmě i další specifické účinky v ovariu (5, 56). Ty spočívají v ovlivnění ovariální steroidogeneze se snížením produkce androgenů, úpravě nepříznivého prostředí endometria a zlepšení funkce ovarii.

Zatím se zdá, že efekt podávání metforminu (i glitazonů) na hirsutizmus je nulový nebo se ukazuje nevýznamné zlepšení (19).

Metaanalýza studií s metforminem prokázala, že metformin v porovnání s placebem signifikantně zvyšuje výskyt ovulací (55). Není ale dosud jasná prospěšnost podání metforminu u žen s PCOS s normálním BMI a bez inzulinorezistence.

Vyvstala otázka, zda k dosažení gravidity a porodu zdravého plodu u neplodných žen s PCOS je lepší použití klomifenu samostatně, nebo v kombinaci s metforminem nebo použití samostatné terapie metforminem. Podle výsledků 6 měsíců trvající studie, která srovnávala všechny 3 přístupy, se ukázalo, že nejlepší efekt má klomifen, který vedl k největšímu počtu otěhotnění a živě narozených dětí. Přidání metforminu k terapii v této studii neprokázalo signifikantní prospěch ve srovnání se samostatným klomifem, nicméně nelze možný pozitivní vliv takové kombinace zcela vyloučit. Navození ovulací neznamena samo o sobě větší pravděpodobnost otěhotnění a porodu zdravého dítěte. Podání metforminu vedlo v souhlasu s dřívějšími nálezy ke zlepšení parametrů inzulinové senzitivity, BMI, hladiny inzulinu a proinzulinu, inzulinové rezistence, snížily se i hladiny testosteronu, nicméně tyto efekty neznamena větší počet živě narozených dětí. U žen s PCOS byl nalezen větší počet komplikací v graviditě (gestační diabetes, pre-eklampsie), tyto komplikace však mohou souviset i se samotnou obezitou (54).

V poslední době se u žen s PCOS zkouší i podání glitazonů, které rovněž ovlivňují inzulinovou rezistenci. Zlepšují účinek inzulinu v játrech, kosterním svalstvu a tukové tkáni. Také mají podobně jako metformin přímý vliv na ovariální steroidogenezi (5, 56, 61). K poklesu hladin cirkulujících androgenů dochází snížením hladin inzulinu. Glitazony také snižují hladiny inhibitoru 1 aktivátoru plazminogenu (31). Glitazony nejsou v terapii příliš klinicky používány, v graviditě jsou kontraindikovány.

Hormonální antikoncepce

Často používanou terapií u žen s PCOS je podání hormonální antikoncepce (HAK), kterou dosáhneme pravidelných menstruačních cyklů a zlepšení akné. Léčba má efekt i na hirsutizmus. Důležitý je výběr preparátu. Vhodné jsou monofázické preparáty s dávkou ethylinestradiolu 30–35 µg, podstatný je také výběr

Tabulka 4. Mechanismy působení metforminu

snížení jaterní glukoneogeneze a snížení oxidace volných mastných kyselin
zvýšené vychytávání glukózy kosterním svaelem a v tukové tkáni
úprava dyslipidemie
zlepšení parametrů oxidativního stresu
zlepšení hemokoagulačních poměrů

28. Eisner JR, Dumesic DA, Kemnitz JW, Abbott DH. Timing of prenatal androgen excess determines differential impairment in insulin secretion and action in adult female rhesus monkeys. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1206–1210.
29. Ehrmann D, Rosenfield R, Barnes RB, Brigell DF, Sheikh Z. Detection of functional ovarian hyperandrogenism in women with androgen excess. *N Engl J Med* 1992; 327: 157–162.
30. Ehrmann DA, Sturis J, Byrne MM, Karrison T, Rosenfeld RL, Polonsky KS. Insulin secretory defects in polycysticovary syndrome: relationship to insulin sensitivity and family history of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1995; 96: 520–527.
31. Ehrmann D, Schneider DJ, Sobel BE, et al. Troglitazone improves defects in insulin action, insulin secretion, ovarian steroidogenesis, and fibrinolysis in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2108–2116.
32. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfeld RL, Cavaghan MK, Imperial J. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999; 22: 141–146.
33. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2005; 352: 1223–1236.
34. Fleming R, Hopkinson ZE, Wallace AM, Greer IA, Sattar N. Ovarian function and metabolic factors in women with oligomenorrhea treated with metformin in a randomized double blind placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 569–574.
35. Falsetti L, Gambera A, Legrenzi L, Iacobello C, Bugari G. Comparison of finasteride versus flutamide in the treatment of hirsutism. *Eur J Endocrinol* 1999; 141: 361–367.
36. Franks S. Adult polycystic ovary syndrome begins in childhood. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002; 16: 263–272.
37. Gambineri A, Pelusi C, Genghini S, et al. Effect of flutamide and metformin administered alone or in combination in dieting obese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 60: 241–249.
38. Goodman RL, Bittman EL, Foster DL, Karsch FJ. The endocrine basis of the synergistic suppression of luteinizing hormone by estradiol and progesterone. *Endocrinology* 1981; 109: 1414–1417.
39. Glueck CJ, Phillips H, Cameron D, Sieve-Smith L, Wang P. Continuing metformin throughout pregnancy in women with polycystic ovary syndrome appears to safely reduce first-trimester spontaneous abortion: a pilot study. *Fertil Steril* 2001; 46: 46–52.
40. Glueck CJ, Streicher P, Wang P. Treatment of polycystic ovary syndrome with insulin-lowering agents. *Expert Opin Pharmacother* 2002; 3: 1177–1189.
41. Glueck CJ, Papanna R, Wang P, Goldenberg N, Sieve-Smith L. Incidence and treatment of metabolic syndrome in newly referred women with confirmed polycystic ovarian syndrome. *Metabolism* 2003; 52: 908–915.
42. Glueck CJ, Goldenberg N, Wang P, Lofspring M, Sherman A. Metformin during pregnancy reduces insulin, insulin resistance, insulin secretion, weight, testosterone and development of gestational diabetes, prospective longitudinal assessment of women with polycystic ovary syndrome from preconception throughout pregnancy. *Hum Reprod* 2004; 19: 510–521.
43. Gross KM, Matsumoto AM, Bremner WJ. Differential control of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion by luteinizing hormone-releasing hormone pulse frequency in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 675–680.
44. Haisenleder DJ, Dalkin AC, Ortalan GA, Marshall JC, Shupnik MA. A pulsatile gonadotropin-releasing hormone stimulus is required to increase transcription of the gonadotropin subunit genes: evidence for differential regulation of transcription by pulse frequency in vivo. *Endocrinology* 1991; 128: 509–517.
45. Hardiman P, Pillay OC, Atiomo W. Polycystic ovary syndrome and endometrial carcinoma. *Lancet* 2003; 361: 1810–1812.
46. Hughes C, Elgasim M, Layfield R, Atiomo W. Genomic and post-genomic approaches to polycystic ovary syndrome—progress so far: Mini Review. *Hum Reprod* 2006; 21: 2766–2775.
47. Chang RJ, Mandel FP, Lu JK, Judd HL. Enhanced disparity of gonadotropin secretion by estrone in women with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 490–494.
48. Chhabra S, McCartney CR, Yoo RY, Chang RJ, Marshall JC. Progesterone inhibition of the hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator evidence for varied effects in hyperandrogenic adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2810–2815.
49. Christian RC, Dumesic DA, Behrenbeck T, Oberg AL, Sheedy PFI, Fitzpatrick LA. Prevalence and predictors of coronary artery calcification in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2562–2568.
50. Ibanez L, Valls C, Potau N, Marcos MV, de Zegher F. Polycystic ovary syndrome after precocious pubarche: ontogeny of the lowbirthweight effect. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 55: 667–672.
51. Kahsar-Miller MD, Nixon C, Boots LR, Go RC, Azziz R. Prevalence of polycystic ovary syndrome (PCOS) in first-degree relatives of patients with PCOS. *Fertil Steril* 2001; 75: 53–58.
52. Krattenmacher R. Drospirenone: pharmacology and pharmacokinetics of a unique progestogen. *Contraception* 2000; 62: 29–38.
53. Legro RS. Polycystic ovary syndrome and cardiovascular disease: a premature association? *Endocr Rev* 2003; 24: 302–312.
54. Legro RS, et al. Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2007; 356: 551–566.
55. Lord JM, Flight IHK, Norman RJ. Insulin-sensitizing drugs (metformin, troglitazone, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; 3: CD003053.
56. Mansfield R, Galea R, Brincat M, Hole D, Mason H. Metformin has direct effects on human ovarian steroidogenesis. *Fertil Steril* 2003; 79: 956–962.
57. Marshall JC, Kelch RP. Gonadotropin-releasing hormone: role of pulsatile secretion in the regulation of reproduction. *N Engl J Med* 1986; 315: 1459–1468.
58. Marshall JC, Eagleson CA. Neuroendocrine aspects of polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28: 295–324.
59. Mehta RV, Patel KS, Coffler MS, Dahan MH, Yoo RY, Archer JS, Malcom PJ, Chang RJ. Luteinizing hormone secretion is not influenced by insulin infusion in women with polycystic ovary syndrome despite improved insulin sensitivity during pioglitazone treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2136–2141.
60. Mitwally MF, Witchel SF, Casper RF. Troglitazone: a possible modulator of ovarian steroidogenesis. *J Soc Gynecol Invest* 2002; 9: 163–167.
61. Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, Zanolin E, Muggeo M. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical ovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 139–146.
62. Muddris II, Bayram F, Guven M. Treatment of hirsutism with lowest-dose flutamide (62.5 mg/day). *Gynecol Endocrinol* 2000; 14: 38–41.
63. Nelson VL, Legro RS, Strauss JF III, McAllister JM. Augmented androgen production is a stable steroidogenic phenotype of propagated theca cells from polycystic ovaries. *Mol Endocrinol* 1999; 13: 946–957.
64. Nelson VL, Qin KN, Rosenfeld RL, et al. The biochemical basis for increased testosterone production in theca cells propagated from patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5925–5933.
65. Nestler JE, Jakubowicz DJ, Evans WS, Pasquali R. Effects of metformin on spontaneous and clomiphene-induced ovulation in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1998; 338: 1876–1880.
66. Orio F Jr., Palomba S, Cascella T, et al. Early impairment of endothelial structure and function in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4588–4593.
67. Orio F Jr., Palomba S, Spinelli L, et al. The cardiovascular risk of young women with polycystic ovary syndrome: an observational, analytical, prospective case – control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3696–3701.
68. Popovic V, Spremovic S. The effect of sodium valproate on luteinizing hormone secretion in women with polycystic ovary disease. *J Endocrinol Invest* 1995; 18: 104–108.
69. Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z, Giudice LC. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocr Rev* 1999; 20: 535–582. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004; 19: 41–47.
70. Roldan B, San Millan JL, Escobar – Morreale HF. Genetic basis of metabolic abnormalities in polycystic ovary syndrome: implications for therapy. *Am J Pharmacogenomics* 2004; 4: 93–107.
71. Rotterdam ESHRE/ASRM – Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long – term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81: 19–25.
72. Salley KE, Wickham EP, Cheang KI, Essah PA, Karjane NW, Nestler JF. Glucose intolerance in polycystic ovary syndrome – a position statement of the androgen excess society. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(12): 4546–4556.
73. Sam S, Dunaif A. Polycystic ovary syndrome: syndrome XX? *Trends Endocrinol Metab* 2003; 14: 365–370.
74. Shaw LJ, Merz CNB, Azziz R, Stanczyk FZ, Sopko G, Braunstein GD, Kelsey SF, Kip KE, Cooper-DeHoff RM, Johnson BD, et al. Postmenopausal women with a history of irregular menses and elevated androgen measurements at high risk for worsening cardiovascular event-free survival: results from NIH sponsored women ischemia syndrome evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 1276–1284.
75. Soules MR, Steiner RA, Clifton DK, Cohen NL, Akse S, Bremner WJ. Progesterone modulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 58: 378–383.
76. Spratt DI, Finkelstein JS, Butler JP, Badger TM, Crowley WF Jr. Effects of increasing the frequency of low doses of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) on gonadotropin secretion in GnRH-deficient men. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 1179–1186.
77. Spritzer PM, Lisboa KO, Mattiello S, Lhullier F. Spironolactone as a single agent for long-term therapy of hirsute patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 52: 587–594.
78. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935; 29: 181–191.
79. Swiglo BA, Cosma M, Flynn DN, Kurtz DM, LaBella ML, Mullan RJ, Erwin PJ, Montori VM. Antiandrogens for the treatment of hirsutism: a systematic review and metaanalyses of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 1153–1160.
80. Talbott E, Guzick D, Clerici A, et al. Coronary heart disease risk factors in women with polycystic ovary syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 821–826.
81. Talbott EO, Zborowski JV, Boudraux MY. Do women with polycystic ovary syndrome have an increased risk of cardiovascular disease? Review of evidence. *Minerva Ginecol* 2004; 56: 27–39.
82. Taylor AE, McCourt B, Martin KA, Anderson EJ, Adams JM, Schoenfeld D, Hall JE. Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2248–2256.
83. Tok EC, Ertunc D, Evruke C, Dilek S. The androgenic profile of women with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Reprod Med* 2004; 49: 746–752.
84. Waldstreicher J, Santoro NF, Hall JE, Filicori M, Crowley WF Jr. Hyperfunction of the hypothalamic-pituitary axis in women with polycystic ovary disease: indirect evidence for partial gonadotroph desensitization. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 165–172.
85. Wild S, Pierpoint T, Jacobs H, McKeigue P. Long-term consequences of polycystic ovary syndrome: result of a 31 year follow-up study. *Hum Fertil (Camb)* 2000; 3: 101–105.
86. Wood JR, Nelson VL, Ho C, et al. The molecular phenotype of polycystic ovary syndrome (PCOS) theca cells and new candidate PCOS genes defined by microarray analysis. *J Biol Chem* 2003; 278: 26380–26390.
87. Kita N, Tsatsoulis A, Chatzikiriakidou A, Georgiou I. Association of the (TAAAN) repeat polymorphism in the sex hormone-binding globulin (SHBG) gene with polycystic ovary syndrome and relation to SHBG serum levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5976–5980.
88. Yildiz BO, Haznedaroglu IC, Kirazli S, Bayraktar M. Global fibrinolytic capacity is decreased in polycystic ovary syndrome, suggesting a prothrombotic state. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3871–3875.
89. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GR, eds. *Polycystic ovary syndrome* Boston: Blackwell Scientific 1992; 377–384.