

Wpływ leczenia mio-inozytolem na insulinooporność u pacjentek z zespołem policystycznych jajników w obserwacji 3-miesięcznej.

Piotr Szkodziak, Tomasz Paszkowski

III Katedra i Klinika Ginekologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Wstęp.

Inozytol jest izomerem glukozy zwanym również alkoholem cukrowym, alkoholem sześciowodorotlenowym, a także witaminą B8. Epimeryzacja sześciu grup hydroksylowych powoduje, że inozytol występuje w dziewięciu postaciach izomerycznych, takich jak biologicznie czynne mio-inozytol (MI) oraz D-(+)-chiro-inozytol (DCI). Inne ważne biologicznie izomery inozytolu to: L-(-)-chiro-inozytol, mucos-inozytol, allo-inozytol oraz neo-inozytol¹.

Głównym źródłem mio-inozytolu jest dieta, ponieważ związek ten znajduje się w szerokiej gamie produktów spożywczych, takich jak pełne ziarna, nasiona i owoce. Szczególnie bogatym źródłem MI są: owoce cytrusowe, produkty pełnoziarniste, orzechy, kielki pszenicy, rośliny strączkowe i drożdże. Dzienna dieta człowieka dostarcza około 1g inozytolu, głównie w postaci MI co pokrywa dzienne zapotrzebowanie na tę substancję². MI można także zsyntetyzować z glukozy, poprzez fruktozo-6-fosforan, będący jego bezpośrednim prekursorem, który przekształca się do mio-inozytolu z udziałem enzymu cyklazy^{1,3,4}. Mio-inozytol jest prekursorem cyklu fosfatydylinozytolu oraz składnikiem fosfolipidów. MI jest składnikiem błon komórkowych, odgrywa istotną rolę w morfo- i cytogenezie komórkowej, a także w syntezie lipidów. Ponadto MI jest prekursorem w syntezie drugorzędowych przekaźników hormonalnych, takich jak gonadoliberyna (GnRH), TSH oraz insuliny. U ludzi mio-inozytol, może być przekształcony przez epimerazę w L- lub D-chiro-inozytol⁵.

Nazywanie MI witaminą nie jest do końca precyzyjne, gdyż związek ten jest syntetyzowany w organizmie. Wykazano jego obecność w mózgu, w wątrobie oraz nerkach. Krąży także we krwi, skąd pobierany jest przez komórki, które go nie syntetyzują. Egzogenny MI wchłaniany jest w jelitach, a następnie deponowany w mózgu, komórkach mięśniowych serca oraz mięśni szkieletowych, a także w kościach i gonadach. Mio-inozytol wytwarzają także bakterie saprofityczne¹.

Inozytol został wykryty ponad sto lat temu w moczu chorych na cukrzycę, jednak wówczas nie rozpoznano jego znaczenia. Dopiero w 1941 roku Gavin i McHenry odkryli jego istotne funkcje metaboliczne.

Wydzielanie inozytolu z moczem było zmienione u pacjentów z cukrzycą typu 2, co skłoniło do połączenia zmniejszonego klirensu inozytolu z insulinopornością. W ten sposób inozytol został określony jako substancja wpływająca na insulinowrażliwość⁶.

W ostatnich latach inozytol znalazł miejsce w klinicznej praktyce leczenia niepłodności⁷⁻⁹. Ponieważ preferowaną terapią w zespole policystycznych jajników (PCOS), będących jedną z przyczyn zaburzeń owulacji, jest stosowanie substancji uwrażliwiających tkanki na działanie insuliny, w chwili obecnej terapia inozytolem jest rekomendowana przede wszystkim do przewlekłego leczenia PCOS⁷⁻¹⁵.

W ostatnim czasie pojawiły się doniesienia sugerujące zastosowanie inozytolu w zapobieganiu opornym na działanie kwasu foliowego wadom cewy nerwowej^{16,17}.

W praktyce klinicznej najczęściej wykorzystuje się czynny biologicznie izomer inozytolu – mio-inozytol w połączeniu z kwasem foliowym. Dobową dawkę stanowi 2 g MI oraz 200 µg kwasu foliowego.

Opis badania.

Celem przeprowadzonego badania była ocena wpływu na insulinoporność 3-miesięcznej terapii preparatem mio-inozytolu u pacjentek, u których rozpoznano zespół policystycznych jajników, ze współistniejącą insulinopornością. Rozpoznanie PCOS oparto na kryteriach zaproponowanych przez Androgen Excess Society (AES), natomiast insulinoporność oznaczono obliczając matematyczny model oceny insulinoporności HOMA (Homeostatic Model Assessment)¹⁸⁻²⁰. Wartość tego współczynnika w warunkach fizjologicznych wynosi 1,0. Wyższe wartości przemawiają za insulinopornością obwodową lub pochodzenia wątrobowego. Wskaźnik HOMA-IR ściśle koreluje ($r = 0,88$) z indeksem insulinowrażliwości oznaczanym na podstawie standardowej klamry euglikemicznej^{18,20}.

Do badania zakwalifikowano 31 pacjentek w wieku od 20 do 33 lat. W trakcie 1-szej wizyty (wizyta 0), u każdej kobiety wykonano:

- pomiar masy ciała i oznaczenie indeksu masy ciała (BMI);
- pomiar ciśnienia tętniczego, obliczając średnie ciśnienie tętnicze (MAP);
- ocenę pulsu;
- dopochwowe badanie ultrasonograficzne celem oceny obecności pęcherzyka dominującego lub ciątka żółtego;
- oznaczenie stężenia we krwi lutropiny (LH) oraz folikulotropiny (FSH), obliczając współczynnik LH/FSH;
- doustny test tolerancji glukozy (OGTT) z 75 g glukozy, oznaczając na czczo, po 1 i 2 godzinach glikemię oraz stężenie insuliny obliczając wskaźnik HOMA-IR.

W momencie rekrutacji grupę badaną podzielono na 3 podgrupy w zależności od wielkości wskaźnika HOMA-IR:

- Grupa pacjentek o niskiej insulinoporności (wartość HOMA-IR 1,0 – 1,99), U = 15;
- Grupa pacjentek o średniej insulinoporności (wartość HOMA-IR 2,0 – 3,0), U = 9;

- Grupa pacjentek o wysokiej insulinooporności (wartość HOMA-IR >3,0), U = 7.

Po określeniu stopnia insulinooporności pacjentki kwalifikowano do terapii preparatem mio-inoztyolu, zawierającym 2 g MI oraz 200 µg kwasu foliowego (Inofem, Establo Pharma).

W stosowanym preparacie jako nośnik dla substancji czynnych zastosowano maltodekstrynę w ilości nie przekraczającej 37 mg na saszetkę.

Pacjentki przyjmowały MI w dawce rekomendowanej przez Polskie Towarzystwo Ginekologiczne dla leczenia PCOS, czyli 4 g na dobę¹⁵. Wizyty kontrolne zaplanowano po 1 miesiącu (Wizyta 1) oraz 3 miesiącu (Wizyta 2) terapii. U pacjentek, które miesiączkowały w trakcie leczenia MI badania wykonywano do 10 dnia cyklu. W ramach wizyt kontrolnych, u każdej badanej wykonywano te same badania co podczas rekrutacji.

Ze względu na brak rozkładu normalnego w grupie badanej wartości HOMA-IR podano jako medianę badanej cechy. Analiza statystyczna została przeprowadzona z wykorzystaniem testu kolejności par Wilcoxon, porównując pary Wizyta 0/Wizyta 1 oraz Wizyta 0/Wizyta 2 (Statistica, ver. 10, Statsoft, Tulsa, OK, USA).

Wyniki badań.

W całej grupie pacjentek zaobserwowano istotny statystycznie spadek pulsu zarówno w pierwszym, jak i trzecim miesiącu badania klinicznego (Wizyta 1 i 2). Ponadto, uzyskane zostały istotne statystycznie spadki współczynników LH / FSH i HOMA-IR. Szczegóły zostały przedstawione w tabeli 1. U 25 pacjentek (81% badanej grupy) wystąpiła owulacja i spontaniczna miesiączki w ciągu 3 miesięcy badania.

Tabela 1. Wartości badanych parametrów w całej grupie pacjentek.

Parametr	Wizyta 0	Wizyta 1	Wizyta 2	p (Wizyta 0/1)	p (Wizyta 0/2)
BMI	31,30	21,19	20,71	p > 0.05	p > 0.05
MAP	94	92	96	p > 0.05	p > 0.05
Puls	80	74	74	p < 0.05	p < 0.05
LH/FSH	1,46	1.27	1,25	p > 0.05	p < 0.05
HOMA IR	2,02	1.76	1,67	p > 0.05	p < 0.05

W grupie pacjentek z niską insulinoopornością (HOMA-IR 1,0-1,99) zaobserwowano istotny statystycznie spadek średniego ciśnienia krwi oraz pulsu zarówno w 1 (Wizyta 1) jak i 3 (Wizyta 2) miesiącu badania. Ponadto istotny statystycznie spadek współczynnika LH/FSH oraz HOMA-IR został zaobserwowany na 2 wizycie kontrolnej (Wizyta 2) (Tabela 2).

Tabela 2. Wartości badanych parametrów w grupie pacjentek z niską insulinoopornością.

Parametr	Wizyta 0	Wizyta 1	Wizyta 2	p (Wizyta 0/1)	p (Wizyta 0/2)
BMI	20.39	20.02	19.83	p > 0.05	p > 0.05
MAP	94	93	92	p < 0.05	p < 0.05
Puls	78	72	66	p < 0.05	p < 0.05
LH/FSH	1.51	1.22	0.93	p > 0.05	p < 0.05
HOMA IR	1.65	1.66	1.56	p > 0.05	p < 0.05

Ponadto u 11 z 15 pacjentek potwierdzono wystąpienie owulacji podczas 3 miesięcy obserwacji i w tej grupie badanych obserwowano wystąpienie spontanicznej miesiączki. W grupie pacjentek ze średnią insulinoopornością (HOMA-IR 2,0 – 3,0) istotny statystycznie spadek wartości wskaźnika HOMA-IR zaobserwowano po 3 miesiącach leczenia preparatem mio-inozytolu (Wizyta 2). Szczegółowe informacje zostały przedstawione w Tabeli 3.

Tabela 3. Wartości badanych parametrów w grupie pacjentek ze średnią insulinoopornością.

Parametr	Wizyta 0	Wizyta 1	Wizyta 2	p (Wizyta 0/1)	p (Wizyta 0/2)
BMI	20.82	20.69	20.01	p > 0.05	p > 0.05
MAP	93	88	91	p > 0.05	p > 0.05
Puls	73	70	74	p > 0.05	p > 0.05
LH/FSH	0.94	0.97	1.00	p > 0.05	p > 0.05
HOMA IR	2.41	1.75	1.96	p > 0.05	p < 0.05

U 9 (100%) pacjentek potwierdzono wystąpienie owulacji podczas 3 miesięcy obserwacji i ta grupa badanych potwierdziła wystąpienie w tym czasie spontanicznej miesiączki. W grupie badanych kobiet z wysoką insulinoopornością (HOMA-IR > 3,0) nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w obrębie badanych parametrów zarówno podczas Wizyty 1 jak i Wizyty 2 (Tabela 4).

Tabela 4. Wartości badanych parametrów w grupie pacjentek z wysoką insulinoopornością.

Parametr	Wizyta 0	Wizyta 1	Wizyta 2	p (Wizyta 0/1)	p (Wizyta 0/2)
BMI	27.26	29.07	27.72	p > 0.05	p > 0.05
MAP	106	102	102	p > 0.05	p > 0.05
Puls	85	84	85	p > 0.05	p > 0.05
LH/FSH	2.41	1.85	1.42	p > 0.05	p > 0.05
HOMA IR	3.73	3.34	3.37	p > 0.05	p > 0.05

U 5 (z 7) pacjentek potwierdzono wystąpienie owulacji podczas 3 miesięcy obserwacji i w tej grupie badanych w tym czasie wystąpienie spontanicznej miesiączki.

Dyskusja.

Zespół policystycznych jajników zalicza się do najczęstszych przyczyn zaburzeń miesiączkowania u kobiet w okresie reprodukcyjnym. Insulinooporność występuje u 80% pacjentek z otyłością i PCOS oraz od 30 do 40% pacjentek z PCOS bez otyłości²¹. Powstała w wyniku insulinooporności, hyperinsulinemia stymuluje produkcję androgenów w komórkach tekalnych jajnika. Odbywa się to poprzez receptor insulinowy (IR) oraz receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu (IDFR). Wzmoczona produkcja androgenów w jajnikach z jednej strony wywołuje objawy hyperandrogenizmu, w postaci hirsutyзму, zmian skórnych z łojotokiem, trądziku oraz łysienia typu męskiego, a z drugiej doprowadza do przedwczesnej atrezji pęcherzyków jajnikowych, wpływając na brak owulacji oraz zmniejszenie produkcji globuliny wiążącej sterydy płciowe (SHBG)²²⁻²⁵.

Patomechanizm insulinooporności w PCOS nie został do końca poznany. W świetle aktualnych danych zwraca się uwagę na rolę inozytolo-fosfoglikanów (IPG), które są mediatorami wewnątrzkomórkowego działania insuliny oraz przekazu sygnału wewnątrzkomórkowego^{3,4,23,26}. IPG są określane jako drugie przekaźniki sygnału insulinowego wewnątrz komórek. Aktualnie opisano dwa przekaźniki wewnątrzkomórkowe związane z IPG, w zależności od rodzaju izomeru inozytolu: mio-inozytolo-fosfoglikany (MI-IPG) oraz chiro-inozytolo-fosfoglikany (DCI-IPG). Zaburzenie przekazywania do wnętrza komórek sygnału przez receptor insulinowy doprowadza do zmniejszenia dokomórkowego transportu IPG oraz wtórnie do zmniejszenia stężenia tej substancji w komórce⁴. W jajniku nie stwierdza się zmniejszonej wrażliwości na insulinę, pomimo obwodowej insulinooporności. Hiperinsulinemia doprowadza do zwiększonej produkcji androgenów oraz wzrostu uwalniania IPG, jednocześnie prowadząc do zwiększonej epimeryzacji MI do DCI. Zwiększony do kanałowy transport DCI-IPG, prowadzi do zaburzonej proporcji w stosunku do MI-IPG, na korzyść tego pierwszego, a to dodatkowo stymuluje komórki tekalne jajnika do zwiększonej produkcji jajnikowych androgenów wspólnie z sygnałem pochodzącym bezpośrednio z IR^{3,4,23,26}.

Fakt występowania insulinooporności u kobiet z zespołem policystycznych jajników sprawia, że substancje wpływające na poprawę wrażliwości komórek na działanie insuliny mają zastosowanie w leczeniu tego zespołu. Aktualnie rekomenduje się stosowanie metforminy, która w leczeniu przewlekłym powoduje zmniejszenie hyperinsulinemii oraz hyperandrogenemii, co skutkuje powrotem owulacji oraz regularnych miesiączek u pacjentek z PCOS²⁷.

Zmniejszona dostępność lub zmieniony metabolizm inozytolu lub IPG, a także zaburzenie stosunku DCI do MI na korzyść tego pierwszego powodują powstanie insulinooporności, prowadząc do wystąpienia objawów PCOS^{21,28}.

W dostępnej literaturze przedmiotu istnieje wiele publikacji oceniających skuteczność MI w redukcji objawów PCOS, zarówno w odniesieniu do parametrów laboratoryjnych, jak i klinicznych. W grupie pacjentek

przyjmujących MI potwierdzono istotne zmniejszenie stężenia LH oraz prolaktyny w surowicy, a także zmniejszenie stosunku LH/FSH. Ponadto parametry bezpośrednio związane z insulinoopornością, takie jak wartości glikemii w doustnym teście obciążenia glukozą oraz wskaźniki HOMA i wskaźnik wrażliwości na insulinę (ISI) również uległy istotnej poprawie. Zaobserwowano również przywrócenie regularnych cykli miesięczkowych, znacznie częstsze występowanie owulacji (69,5%), zmniejszenie objętości jajników, zwiększenie stężenia progesteronu w fazie lutealnej, a także obniżenie poziomu testosteronu i DHEA^{3,12,29,30}.

Podobne wyniki zaobserwowano w grupie pacjentek otyłych leczonych MI. Stwierdzono ciekawą zależność, mianowicie im wyjściowo insulinooporność była wyższa, tym lepsze efekty terapeutyczne zaobserwowano po leczeniu MI. Nie stwierdzono natomiast redukcji indeksu masy ciała (BMI), po leczeniu MYO^{29,30}.

Również w połączeniu MI z tabletką antykoncepcyjną (OC, ang. oral contraception), stosowaną u kobiet z PCOS, uzyskano istotnie lepsze wyniki terapeutyczne, w porównaniu do samej OC. Ocena obejmowała zmniejszenie objawów hyperandrogenizmu hirsutyzmu obiektywnie mierzonych skalą Ferrimana-Gallway'a, objawu nader często spotykanego u kobiet z PCOS. Także poziomy androgenów oraz wartości insulinooporności były niższe u kobiet przyjmujących OC z MI. W tej grupie zaobserwowano również istotną poprawę gospodarki lipidowej w porównaniu do grupy stosującej jedynie OC³¹.

Przywrócenie prawidłowej owulacji po zastosowaniu MI wiąże się z poprawą płodności kobiet cierpiących z powodu PCOS. Często u tych pacjentek stosuje się cytrynian klomifenu do indukcji jajczkowania. Powstały prace dotyczące zastosowania MI u pacjentek z PCOS opornych na indukcję cytrynianem klomifenu, jednak wnioski płynące z tych publikacji były niejednoznaczne. Problem ten wymaga dalszych randomizowanych badań^{8,32}.

W dostępnej literaturze przedmiotu przeanalizowano wpływ MI na efekt kontrolowanej hyperstymulacji z użyciem gonadotropin u pacjentek z PCOS. Pacjentki przyjmujące dodatkowo MI wymagały istotnie niższej całkowitej dawki gonadotropin do stymulacji, w związku z czym miały niższe stężenie estradiolu w dniu zakończenia stymulacji, co obniżało ryzyko zespołu hyperstymulacji jajników (OHSS, ang. ovarian hyperstimulation syndrome).

U pacjentek z PCOS przygotowywanych do programów zapłodnienia pozaustrojowego przyjmujących MI oraz DCI stwierdzono wyższą jakość komórek jajowych i zarodków oraz większą ilość stwierdzonych po transferze ciąży w grupie kobiet przyjmujących MI. Podobne wnioski dotyczyły pacjentek stymulowanych gonadotropinami, bez PCOS^{8,32,33}.

Uzyskane wyniki badań pozwalają wnioskować, że stopień insulinooporności wpływa na efekty leczenia pacjentek z PCOS preparatami mio-inozytolu. O ile efekt kliniczny (wystąpienie spontanicznej owulacji i miesiączki) zaobserwowano w każdej badanej grupie już po 3 miesiącach leczenia, o tyle poprawa

parametrów laboratoryjnych dotyczyła tylko pacjentek z insulinoopornością w stopniu niskim i średnim. U badanych kobiet z niską insulinoopornością już po 3 miesiącach podawania MI uzyskano istotny statystycznie spadek nie tylko wskaźnika HOMA-IR, ale również współczynnika LH/FSH i parametrów funkcji układu krążenia.

U pacjentek z insulinoopornością w stopniu średnim zaobserwowano jedynie istotne obniżenie wskaźnika HOMA-IR. Co do grupy kobiet z PCOS, ze współistniejącą insulinoopornością o nasileniu wysokim dzięki pojawieniu się klinicznych wykładników efektu leczenia mio-inozytolem, spodziewać się można, że obniżenie insulinooporności w tej grupie uzyska się po dłuższej monoterapii MI lub terapii skojarzonej. Potwierdzenie tej tezy wymaga przeprowadzenia dalszych badań.

Wniosek.

Mio-inozytol wydaje się skuteczną i bezpieczną alternatywą w terapii pacjentek z PCOS, szczególnie dla tych z insulinoopornością w stopniu niskim i średnim

LITERATURA

1. Croze ML, Soulage CO. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. *Biochimie*. 2013 Oct;95(10):1811-27.
2. Lerner J. D-chiro-inositol—its functional role in insulin action and its deficit in insulin resistance. *Int J Exp Diabetes Res*. 2002 Jan;3(1):47-60.
3. Pechlivanov B. [Myo-inositol in the treatment of hormonal, metabolic and reproductive features of polycystic ovary syndrome (review of the literature)]. *Akusherstvo i Ginekol*. 2010 Jan;49(3):37-9.
4. Wilson MSC, Livermore TM, Saiardi A. Inositol pyrophosphates: between signalling and metabolism. *Biochem J*. 2013 Jun 15;452(3):369-79.
5. Carlomagno G, Unfer V. Inositol safety: clinical evidences. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011 Aug;15(8):931-6.
6. Bloomgarden ZT, Futterweit W, Poretsky L. Use of insulin-sensitizing agents in patients with polycystic ovary syndrome. *Endocr Pract*. Jan;7(4):279-86.
7. Gerli S, Papaleo E, Ferrari A, Di Renzo GC. Randomized, double blind placebo-controlled trial: effects of myo-inositol on ovarian function and metabolic factors in women with PCOS. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 11(5):347-54.
8. Papaleo E, Unfer V, Baillargeon J-P, De Santis L, Fusi F, Brigante C, Marelli G, Cino I, Redaelli A, Ferrari A. Myo-inositol in patients with polycystic ovary syndrome: a novel method for ovulation induction. *Gynecol Endocrinol*. 2007 Dec;23(12):700-3.
9. Colone M, Marelli G, Unfer V, Bozzuto G, Molinari A, Stringaro A. Inositol activity in oligoasthenoteratospermia—an in vitro study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2010 Oct;14(10):891-6.
10. Unfer V, Carlomagno G, Dante G, Facchinetti F. Effects of myo-inositol in women with PCOS: a systematic review of randomized controlled trials. *Gynecol Endocrinol*. 2012 Jul;28(7):509-15.
11. Artini PG, Di Bernardino OM, Papini F, Genazzani AD, Simi G, Ruggiero M, Cela V. Endocrine and clinical effects of myo-inositol administration in polycystic ovary syndrome. A randomized study. *Gynecol Endocrinol*. 2013 Apr;29(4):375-9.
12. Costantino D, Minozzi G, Minozzi E, Guaraldi C. Metabolic and hormonal effects of myo-inositol in women with polycystic ovary syndrome: a double-blind trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 13(2):105-10.
13. Donà G, Sabbadin C, Fiore C, Bragadin M, Giorgino FL, Ragazzi E, Clari G, Bordin L, Armanini D. Inositol administration reduces oxidative stress in erythrocytes of patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2012 Apr;166(4):703-10.
14. Jakimiuk AJ, Szamatowicz J. The role of inositol deficiency in the etiology of polycystic ovary syndrome disorders. *Ginekol Pol*. 2014 Jan;85(1):54-7.
15. Statement of the Polish Gynecological Society on the application of myo-inozytol in patients with PCOS (polycystic ovary syndrome). *Ginekol Pol*. 2014 Feb;85(2):158-60.
16. Cavalli P, Copp AJ. Inositol and folate resistant neural tube defects. *J Med Genet*. 2002 Feb;39(2):E5.
17. Cavalli P, Tedoldi S, Riboli B. Inositol supplementation in pregnancies at risk of apparently folate-resistant NTDs. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2008 Jul;82(7):540-2.
18. Wallace TM, Matthews DR. The assessment of insulin resistance in man. *Diabet Med*. 2002 Jul;19(7):527-34.
19. Conway G, Dewailly D, Diamanti-Kandaraki E, Escobar-Morreale HF, Franks S, Gambineri A, Kelestimur F, Macut D, Micic D, Pasquali R, Pfeifer M, Pignatelli D, Pugeat M, Yildiz BO. The polycystic ovary syndrome: a position statement from the European Society of Endocrinology. *Eur J Endocrinol*. 2014 Oct 1;171(4):P1-29.
20. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*. 2004 Jun;27(6):1487-95.
21. March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DIW, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod*. 2010 Feb;25(2):544-51.
22. Voutilainen R, Jaaskelainen J. Premature adrenarche: Etiology, clinical findings, and consequences. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014 Jun 9;
23. Barthelmeß EK, Naz RK. Polycystic ovary syndrome: current status and future perspective. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2014 Jan;6:104-19.
24. Drosdzol-Cop A, Sidto-Stawowy A, Sajdak D, Skrzypulec-Plinta V. [Diagnosing polycystic ovary syndrome in adolescent girls]. *Ginekol Pol*. 2014 Feb;85(2):145-8.
25. Sanchez N. A life course perspective on polycystic ovary syndrome. *Int J Womens Health*. 2014 Jan;6:115-22.
26. Nestler JE, Jakubowicz DJ, Luorno MJ. Role of inositolphosphoglycan mediators of insulin action in the polycystic ovary syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2000 Jan;13 Suppl 5:1295-8.
27. Xiao J, Chen S, Zhang C, Chang S. The effectiveness of metformin ovulation induction treatment in patients with PCOS: a systematic review and metaanalysis. *Gynecol Endocrinol*. 2012 Dec;28(12):956-60.
28. Asplin I, Galasko G, Lerner J. chiro-inositol deficiency and insulin resistance: a comparison of the chiro-inositol- and the myo-inositol-containing insulin mediators isolated from urine, hemodialysate, and muscle of control and type II diabetic subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Jul 1;90(13):5924-8.
29. Genazzani AD, Lanzoni C, Ricchieri F, Jasonni VM. Myo-inositol administration positively affects hyperinsulinemia and hormonal parameters in overweight patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2008 Mar;24(3):139-44.
30. Genazzani AD, Prati A, Santagni S, Ricchieri F, Chierchia E, Rattighieri E, Campedelli A, Simoncini T, Artini PG. Differential insulin response to myo-inositol administration in obese polycystic ovary syndrome patients. *Gynecol Endocrinol*. 2012 Dec;28(12):969-73.
31. Minozzi M, Costantino D, Guaraldi C, Unfer V. The effect of a combination therapy with myo-inositol and a combined oral contraceptive pill versus a combined oral contraceptive pill alone on metabolic, endocrine, and clinical parameters in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2011 Nov;27(11):920-4.
32. Raffone E, Rizzo P, Benedetto V. Insulin sensitiser agents alone and in co-treatment with r-FSH for ovulation induction in PCOS women. *Gynecol Endocrinol*. 2010 Apr;26(4):275-80.
33. Brusco GF, Mariani M. Inositol: effects on oocyte quality in patients undergoing ICSI. An open study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013 Nov; 17 (22): 3095- 102.