



**Metformin therapy in girls to delay  
progression of advanced puberty and  
increase the adult height:  
a randomized trial**

---

*FACULTY OF MEDICINE*

---

**END OF TERM PROJECT**

Laura Colet Oliver  
Tutor: Lluís Mayol Canals  
Faculty of Medicine – University of Girona (UdG)  
January 2016

*“Estimar és el gran do de l’home, ser estimat el seu gran desig. Allò que no poden fer les medicines ni els tractaments més enèrgics ho aconsegueix una paraula amable, un suau somriure, un gest afectuós.”*

Pere Tarrés

## INDEX

1. ACKNOWLEDGEMENTS.....	5
2. ABSTRACT.....	6
3. ABBREVIATIONS.....	7
4. INTRODUCTION.....	8
5. JUSTIFICATION.....	13
6. HYPOTHESIS AND OBJECTIVES.....	14
7. METHODOLOGY.....	15
7.1. Study design.....	15
7.2. Study population.....	16
7.3. Inclusion and exclusion criteria.....	17
7.4. Sample size.....	20
7.5. Sample selection.....	21
7.5.1. Sampling.....	21
7.5.2. Time of recruitment.....	21
7.6. Intervention.....	22
7.6.1. Setting.....	22
7.6.2. Staff.....	22
7.6.3. Enrolment and randomization procedures.....	23
7.6.4. Experimental drug: metformin.....	24
7.6.5. Control drug: placebo.....	24
7.6.6. Treatment duration.....	24
7.6.7. Compliance.....	24
7.6.8. Subjects withdrawal.....	25
7.6.9. Safety.....	25
7.6.10. Measures to be taken in case of poisoning.....	26
7.6.11. Concomitant treatments allowed and incompatible with the study.....	26

7.7. Study variables and measurements.....	27
7.7.1. Variables.....	27
7.7.2. Measurement procedures and instruments.....	28
8. STATISTICAL ANALYSIS.....	31
9. OPPORTUNITIES AND LIMITATIONS.....	32
9.1. Opportunities.....	32
9.2. Limitations.....	32
10. ETHICAL CONSIDERATIONS.....	34
11. WORKING PLAN AND CHRONOGRAM.....	35
11.1. Work plan.....	35
11.2. Data collection and visits chronogram.....	38
11.3. Work plan chronogram.....	39
12. CURRENT STUDIES.....	40
13. BUDGET.....	40
14. BIBLIOGRAPHY.....	42
15. ANNEXES.....	47
Annex 1 – Estudios españoles de crecimiento 2010.....	48
Annex 2 – Sequences of events at puberty in girls.....	54
Annex 3 – Tanner stages.....	55
Annex 4 – Ficha técnica.....	58
Annex 5 – Hoja de información al paciente.....	67
Annex 6 – Hoja de consentimiento informado.....	73
Annex 7 – Cuaderno de recogida de datos.....	76
Annex 8 – Declaración de Helsinki, octubre 2013.....	86
Annex 9 – Hoja de recogida de efectos adversos.....	95

## 1. AKNOWLEDGEMENTS

I want to thank the doctors, residents, nurses and other workers of Hospitals Trueta and Sant Joan de Déu for allowing me to learn from them. Thanks to my medical and methodology tutors for their patience and dedication. Also thanks to my four end of term project mates of pediatrics, for the shared doubts and uncertainties. Finally, special thanks to Abel, whom I admire sincerely, for his patience, his way of work, and his very special behaviour towards patients and students.

## 2. ABSTRACT

**BACKGROUND:** Currently, puberty takes place earlier, especially in those girls with elevated BMI, hyperinsulinism, insulin resistance and hyperleptinemia. Leptin and insulin seem to be implicated in this advanced activation of the hypothalamus-pituitary-ovarian axis, and moreover, insulin enhances the early secretion of estrogens. All this also causes a faster tempo of puberty that traduces a decreased adult height, and many psychological consequences.

**JUSTIFICATION:** In girls with advanced puberty (8-9 years) GnRH agonists haven't given a good response in increasing adult height, and there is a need to find an effective treatment. In LBW-PP girls, metformin has shown favourable results in delaying puberty and improve final height. Our intention is try to reproduce the results in girls without LBW or PP, but with a BMI over the mean, taking benefit of the effects of metformin in reducing weight and leptin levels, as well as insulin levels and insulin resistance, and also in reducing steroidogenesis.

**OBJECTIVES:** Study if metformin therapy in girls with early puberty and with a BMI above the mean, can delay age of menarche and improve adult height, lipid profile and body composition indices (BMI and waist).

**DESIGN:** Randomized double blinded clinical trial.

**PARTICIPANTS:** Subjects will be Caucasian girls between the age of 8-9 years old in the beginning of puberty (Tanner 2 or 3) with a BMI in percentile 50 or over. 158 subjects will be selected (79 taking metformin and 79 taking placebo) according to inclusion and exclusion criteria.

**MAIN OUTCOME MEASURES:** Primary outcome: Age of menarche. Secondary outcomes: height, BMI, waist, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, total cholesterol, triglycerides.

**INTERVENTION AND METHOD:** The girls will be distributed randomly in a 1: 1 ratio to receive metformin or placebo. They will take one pill of Metformin 850 mg or placebo every day during 3 years. The total follow-up for each girl will be of 5 years. Baseline determination and visits every 6 months with new determinations in each visit will be performed.

**SETTING:** Multicentre. The study will be performed in outpatient of three hospitals: Dr. Josep Trueta (Girona), Sant Joan de Déu (Barcelona) and Vall d'Hebrón (Barcelona).

**Key words:** Early puberty, advanced puberty, metformin, insulin, insulin resistance, leptin, steroidogenesis, estrogens, growth, menarche, height, obesity, BMI, GnRH analogue, precocious puberty, low birth weight, precocious pubarche.

### 3. ABREVIATIONS

<b>AEMPS</b>	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
<b>BMI</b>	Body Mass Index
<b>B(nº)</b>	Breast (number) (Breast stage of Tanner)
<b>B1, B2, B3, B4, B5</b>	Breast 1, Breast 2, Breast 3, Breast 4... (Breast stage of Tanner)
<b>CEIC</b>	Comitè Ètic d'Investigació Clínica
<b>DE</b>	Desviación estándar
<b>FSS</b>	Familial short stature
<b>GLM</b>	Generalized lineal model
<b>HDL (cholesterol)</b>	High-density lipoprotein
<b>LDL (cholesterol)</b>	Low-density lipoprotein
<b>LBW</b>	Low Birth Weight
<b>PCOS</b>	Polycystic ovary syndrome
<b>PP</b>	Precocious Pubarche
<b>SDS</b>	Standard deviation
<b>SGA</b>	Small for gestational age

#### 4. INTRODUCTION

“Early” or “advanced” puberty is a variant of normal puberty, in which puberty begins within the earliest part of the physiological age range (8-9 years in girls) (1,2). In nearly all cases, advanced puberty, which is a variant of normal puberty, is due to a familial condition rather than a pathological condition. But this situation can have a negative impact on the final size (advanced puberty decreases the growth potential by about 5 cm (3) and its occurrence in children with short stature may accentuate the deficit) or social considerations (2,4). Puberty currently takes place at an earlier age than in the past, especially in those girls with elevated BMI (5–7).

In girls with a normal age range of onset of puberty (8-13 years), the age at onset is inversely related to the rate of progression through puberty. This concept is called "tempo of development", which is the speed with which one complete the process culminating in full reproductive maturity<sup>1</sup>. And this tempo is adjusted when timing of puberty is not typical (8). This means that girls with an onset of puberty at 8 years of age, progress slowly through puberty and have a longer duration of the pubertal growth spurt than girls who begin puberty later. So, these girls experience a normal time of menarche. With this physiologic compensatory mechanism, the pubertal growth is sufficient to compensate for the decrease in height induced by the premature secretion of estradiol (which accelerates the progression of bone age) (9–13).

This mechanism does not seem to occur in girls with elevated BMI, since overweight and obese girls with insulin resistance and hyperleptinemia tend to experience an earlier onset and **more rapid progression** of puberty age (5–7,9).

#### Obesity: consequences on puberty and growth

A certain amount of body fat is necessary for puberty to begin (14). There is strong evidence that obesity (as measured by BMI) is significantly associated with early puberty in white girls, and that body fat and the initiation of the hormonal events of puberty are in some way related. There is also a trend for earlier timing of menarche, related to improved nutrition: a minimum level of body fatness trigger the neuroendocrine events that led to the onset of ovulation and menstrual cycles (5,15).

Obesity is also associated with an acceleration of growth. The findings indicate that an additional gain of 1 BMI point decreases the adolescent growth spurt by a mean of 0.5 cm in girls (11).

---

<sup>1</sup> That has traditionally been measured as the interval between early breast development (Tanner stage 2) and menarche.



## Two hormones implicated in the modulation of GnRH neurons: leptin and insulin

The onset of puberty is characterized by the increase in amplitude of GnRH pulses by the hypothalamus and, consequently, of LH and FSH pulses by the pituitary, which stimulate ovaries to secrete oestrogens. (16).

To start the reproductive function, an absolute prerequisite is the existence of a modulation of the pulsatile secretion of GnRH by hypothalamic neurons. This modulation is due to metabolic changes and depends on a large number of peripheral signals, among which are leptin and insulin, that have been recognized as two of the main modulators (14).

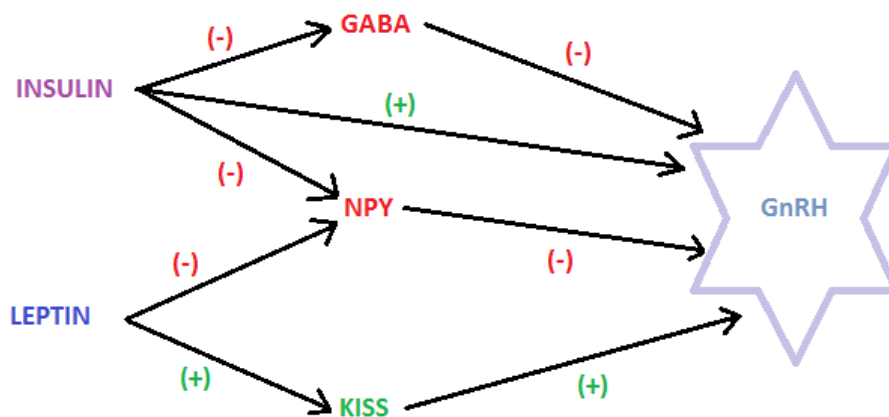


Figure adapted from "Schematic representation of possible hypothalamic pathways involved in insulin and leptin signalling for neuroendocrine reproductive modulations" (14)

### *Role of leptin in the onset of puberty*

Leptin is a protein product of the obesity (*ob*) gene (7,17), produced by adipose tissue (16,20) and is involved in the onset of puberty acting as a mediator between adipose tissue and the gonadal-hypothalamic axis informing to the brain that the body fat reserves are adequate to cover the energy requirements needed for reproduction (21). Leptin (whose receptor is lacking in GnRH neurons) surge promote Kisspeptin secretion, that bind to its GPR54 receptor in the GnRH-releasing neurons stimulating them and triggering GnRH secretion (19,20,22,23). Overweight and obese subjects have higher serum leptin concentrations than the normal weight subjects, that correlate very strongly with both BMI and the percentage of body fat, being the percentage of body fat the most important factor in their earlier onset of puberty (5,7,17–19,24).

It's also necessary a certain degree of blood leptin to trigger the reproductive ability. One study showed an inverse relation between menarche and serum leptin up to 12,2 ng/mL (an increase of 1 ng/mL in serum leptin level lowers the timing of menarche by 1 month, on the average), suggesting a threshold effect of serum leptin with regard to reproductive ability. Then, it's very likely that the fat cells act regulating menarche through synthesis of leptin, as it seems that girls with higher body fat starts menstruating earlier (24).

#### *Role of insulin in the onset of puberty*

Insulin stimulates fat storage. Like leptin, insulin circulates in the periphery at levels proportionate to body fat content, and its concentration in the cerebrospinal fluid is directly proportional to these peripheral levels. Insulin has been shown to inhibit hypothalamic arcuate nucleus NPY expression, and NPY itself can inhibit GnRH expression and secretion. Other likely candidate to the action of insulin are GABAergic neurons. Then, insulin has the potential to relieve that inhibition and indirectly induce GnRH production. It also has been demonstrated in vitro that insulin stimulates both gene expression and secretion of GnRH. This finding is suggestive of a direct modulation of GnRH-expressing neurons (at least partially) by insulin, but this hypothesis is still awaiting in vivo confirmation (14,25).

#### Oestrogens and growth plate

With age, there is a progressive senescent decline in the longitudinal growth rate due to some systemic mechanism intrinsic to the growth plate (a finite proliferative capacity) that produces a decline in the rate of chondrocyte proliferation. Oestrogens accelerate the senescent decline acting directly on the growth plate and causes fusion to occur earlier. Then, oestrogen don't seem to stimulate fusion directly, but fusion may be triggered when the senescence program advances to a certain critical point (26).

#### *Early exposure of estrogens and growth plate*

When there is a premature estrogen exposure, as in advanced puberty, the growth rate is increased and the skeletal maturation is accelerated. This cause a short growing period, with a premature epiphyseal fusion and a decreased final height. Estrogens acts by advancing growth plate senescence, and causes earlier proliferative exhaustion, and thus an earlier fusion (13,27).

#### *Action of insulin in steroidogenesis*

Insulin enhances steroidogenesis in human granulosa luteal cells by up-regulating P450 aromatase mRNA expression and protein activity. Insulin also increases LH-stimulated estradiol in a synergic way, by enhancing the induction of LH receptors in granulosa cells (28).

## Attempts to treat advanced puberty with GnRH analogues

GnRH agonists suppress the gonadotropic axis and block pubertal development in children with central precocious puberty, and have been used for more than 20 years in the treatment of this pathology. The favourable results observed in precocious puberty and the hope that interrupting puberty might increase adult height in patients other than those with strict criteria for precocious puberty, has led to several attempts to use GnRH agonists in girls with advanced puberty (11).

But in girls with onset of puberty at the lower half of the normal age (8-10 years) distribution, trials using GnRH agonists have given negative results (no benefits of treatment) (3,11,29,30). Consequently, the management of early puberty is a common problem for paediatricians (30).

## Use of metformin

### *Studies in low birth weight (LBW) girls with precocious pubarche (PP)*

Girls with precocious pubarche (defined as pubic hair before 8 years of age) are at higher risk of developing early onset and rapid progression of puberty, especially those with a restrained prenatal growth and rapid postnatal catch-up. Several studies have been performed in order to study the effect of early treatment with metformin in prepubertal girls with precocious pubarche and low birth weight (PP-LBW girls), with favourable results (9,31–34).

In these girls, metformin normalizes the pubertal progression to menarche (delaying the age of menarche about one year) and consequently prolongs pubertal height gain allowing these girls reach their target height, in contrast with untreated girls, who are unlikely to reach it. These data support the concept that insulin is a major codeterminant of the pubertal tempo and pubertal height gain in girls and that the insulin sensitization performed by metformin reverts the early onset and rapid progression of puberty, induced by insulin resistance in LBW-PP girls.

The mechanism by which metformin delays the onset and progression of puberty in girls is still unknown. Metformin treatment also reduces IGF-I levels and increases SHBG and IGFBP-I serum levels; this could decrease the amount of estrogen and free IGF-I and its effect on the endometrium and the growth plate. Moreover, metformin therapy diminishes visceral and hepatic fat, leptin and fasting insulin levels, and rises HMW adiponectin, providing more favourable lipid profile and leaner body composition, even few years after stopping (9,31–34). It remains unknown if this normalization of endocrine-metabolic state and the delay on pubertal growth and in menarche age also would occur in other conditions that run with hyperinsulinemia and hyperleptinemia, such as simple obesity, without LBW or PP (9,31).

### *Studies in obese children*

In a randomized clinical trial performed to severe obese children during one year, metformin did demonstrate to reduce body weight and adiposity, and improved fasting insulin, glucose and the HOMA-IR index due to its major effect to suppress hepatic gluconeogenesis, but didn't greatly alter whole-body (primarily muscle) insulin sensitivity (35).

A meta-analysis and a randomized clinical trial provide some support for a beneficial metformin effects in short-time treatment among hyperinsulinemic children and adolescents on obesity outcomes: in reducing BMI, waist circumference, weight, total cholesterol level and fasting insulin, but the reduction in insulin resistance has not been significant, that may reflect a loss of subcutaneous fat, but inadequate loss of visceral fat (36,37).

### *In vitro studies about the effect on aromatase and steroidogenesis*

It has been shown that metformin has a direct effect on the ovary, inhibiting the production of basal and insulin-stimulated oestrogen in the granulosa cells, by the attenuation of P450 aromatase mRNA expression. This effect has been proved to be dose dependent and further, metformin is able to act in an insulin-independent manner (38,39).

### **Impact of early puberty in health**

When early puberty is accompanied by rapid pubertal development, it can cause psychosocial embarrassment, excessive stress and be a risk factor for symptoms and disorders. Early and fast puberty also lead to a compromised adult stature, and being exceptionally short, in comparison with other children of the same age, is often a matter of concern for children or their parents (1,40,41).

One study (41), based on previous reports, tried to assess the relationship between pubertal timing and emotional and behavioral problems in middle adolescence. The study evaluated internalizing problems (depression; anxiety; excessive psychosomatic symptoms like irritation, headache, fatigue or difficulties falling asleep; bulimia and bulimic symptoms) and externalising problems (drunkenness; regular smoking; other substance abuse; bullying of others; school truancy). The results were that both kind of problems were more prevalent among those experiencing early puberty and/or early menarche in comparison with those with normal or late timing of puberty, with a p-value of < 0.0001 for all the results.

## 5. JUSTIFICATION

There are no epidemiological data on prevalence or incidence of advanced puberty. However, the concern both of these girls and their parents by the fact of become sexually developed before the rest of their classmates, or the fear to have a low adult height, makes it a matter of quite frequent consult in outpatient of pediatric endocrinologists.

In these girls, GnRH analogues have not shown effectiveness in increasing adult height, and there are no criteria to use other treatments such as growth hormone. Therefore, we often face with a problem for which we have no solution to offer to parents.

Metformin treatment in children and adolescents with overweight and obesity has not shown a significant decrease in insulin resistance, and this is a challenge for this study since puberty is a time of physiological insulin resistance (37). But we must take into account that those studies were realized on both boys and girls, with ages between six and eighteen years old, and with a short duration of treatment. In our study, we only include girls, in pubertal period, and with a longer treatment duration of three years.

We hope that results in the present study will be more similar to those observed in previous studies realized in LBW-PP girls with early puberty, that have given encouraging results. We want to try to reproduce or improve the results in girls with advanced puberty but with other different characteristics to those mentioned (see 7.3. Inclusion and exclusion criteria, methodology), appealing to the known and observed pharmacodynamic effects of the metformin, explained in the introduction.

## 6. HYPOTHESIS AND OBJECTIVES

### HYPHOTESIS

#### **Main hypothesis**

The early administration of metformin delays the progression of puberty in girls with advanced puberty.

#### **Secondary hypothesis**

The early administration of metformin increases the adult height in girls with advanced puberty.

Metformin therapy improves lipid profile and reduces indexes of body composition in girls with advanced puberty.

### OBJECTIVES

#### **Main objective**

Analyse if the administration of metformin initiated shortly after advanced puberty diagnosis can delay the age of menarche in these girls.

#### **Secondary objectives**

Study if the early administration of metformin can improve the adult height in girls with advanced puberty.

Observe the effect of metformin therapy on lipid profile (LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, total cholesterol) and on body composition indices (BMI and waist) in girls with advanced puberty.

## 7. METHODOLOGY

### 7.1. STUDY DESIGN

This study is a protocol of a phase III/IV Clinical Trial which tries to demonstrate the efficacy of metformin in a new condition of use for which it is not yet approved, with the aim to establish a new indication.

The study aims to test the hypothesis that the early administration of metformin delays the progression of puberty (measured as the age of apparition of menarche) and consequently improves adult height compared to placebo (shows superiority) in girls diagnosed with advanced puberty. In addition, we want to demonstrate that in girls with advanced puberty who have a weight above the median, metformin therapy reduces indices of body composition and improves lipid profile. It seems that this effect is positively correlated with a more slowly progressive puberty.

Two groups of patients will be treated during three years (one with Metformin and other one with placebo) and will be followed during two more years (with visits every 6 months). The duration of the study will be extended in the case of failing to obtain enough sample or in case that not all the girls have already achieved the adult height at the final of the established follow-up period.

STUDY	
Study type	Interventional: Clinical Trial, Prospective
Health care center	Multicenter (3 hospital centers)
Allocation	Randomized
Control type	Placebo
Intervention model	Parallel assignment
Masking	Double blind (subject, investigator)
Primary purpose	Compare (Head to head) and demonstrate superiority of Metformin

## 7.2. STUDY POPULATION

The study population is Spanish Caucasian girls with a BMI above the mean and normal birth weight, that begin puberty between 8 and 9 years old, and have a bad prognosis of adult height.

We define (see **annex 1**):

- BMI above the mean as BMI above percentile 50 (BMI > p50)
- Normal birth weight between 2.500 gr (42) and 3.999 gr (43)
- Bad prognosis of adult height that in which the predicted height of the girl is:
  - Equal or less than one standard deviation ( $\leq 1$  SDS) (44) of the medium-parental height.

or

  - Equal or less than one standard deviation ( $\leq 1$  SDS) from the medium height of the reference population by age and sex.



### 7.3. INCLUSION AND EXCLUSION CRITERIA

Inclusion criteria	Exclusion criteria
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Girls with advanced puberty               <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Age between 8 and 9</li> </ul> </li> <li>- BMI in percentile 50 or over.</li> <li>- Tanner 2 or 3</li> <li>- Caucasian ethnicity</li> </ul>	<p><u>Currently receive:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Metformin</li> <li>- Certain concomitant drugs</li> </ul> <p><u>Medical history</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Low birth weight (LBW)</li> <li>- Precocious pubarche (PP)</li> <li>- Precocious adrenarche</li> <li>- Isolated premature thelarche</li> <li>- Morbid obesity (BMI <math>\geq</math> 3'5 SDS)</li> <li>- Familiar short stature (FSS)</li> <li>- Adopted girls</li> <li>- Chronic diseases other than overweight and obesity:               <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Renal, cardiac, hepatic or respiratory insufficiency (that contraindicates metformin)</li> <li>▪ Diseases that could affect puberty, growth, or endocrine metabolism (Diabetes Mellitus, PCOS, thyroidal dysfunction...)</li> </ul> </li> </ul>

#### JUSTIFICATION OF INCLUSION CRITERIA

- ✓ **ADVANCED PUBERTY (age between 8 and 9).** Advanced puberty is defined as a normal variant in the onset of puberty. Depending of the author, it is considered advanced when puberty starts between 8-9 years of age (1,6), or between 8-10 years (4,11). Because of the discrepancy, in this protocol we will include girls with an onset of puberty between eight and nine years old, range accepted by all the authors.
- ✓ **BMI in percentile 50 or over.** The main objective of this work is to study the effect of metformin on advanced puberty in those girls who have excess of fat, because it is in such condition that has been observed a faster tempo of pubertal development (9,21). Although metformin is not indicated for the treatment of paediatric obesity (45), some studies have demonstrated its efficacy in reducing body fat indices (35–37), not only LBW-PP girls (9,31,33). We also include in this study girls without overweight or obesity (p50 to p < 85), but with a weight above the median (**annex 1**). This is because it has been observed that non-obese children may also exhibit hyperinsulinemia and insulin resistance (46) and metformin has already given favourable results in decreasing insulin resistance in catch-up SGA children with a BMI between percentiles > 50 and <97 (47).

- ✓ **Tanner 2 o 3.** Menarche appears, on average, in breast stage 4 of Tanner (**annex 2 and 3**). Therefore, to be included in the study, it is necessary that these girls are still in a Tanner stage 2 or 3.
- ✓ **Caucasian ethnicity.** Racial differences have been observed regarding the age of onset of puberty. For example, black girls tend to mature earlier and, also, the effect of obesity on their pubertal maturation doesn't appear to be as strong as in white girls (5).

### **JUSTIFICACION OF EXCLUSION CRITERIA**

- ✗ **Low birth weight and precocious pubarche.** Several studies have already demonstrated the efficacy of metformin in delaying the progression of puberty in girls with LBW with subsequent recovery growth (catch-up) and PP (9,31,32,34).
- ✗ **Precocious adrenarche.** It consists in the appearance of pubic hair and/or axillary hair and apocrine body odor before 8 years old due to a precocious increase in secretion of weak androgens from the adrenal gland (mainly DHEA). Precocious adrenarche advances bone age a mean of two years in overweight patients, but these children are also taller (48).
- ✗ **Familial short stature.** The target height of girls with FSS are two standard deviations below the average. This would be a significant bias in the results. We are interested in including in the study girls that have a genetic potential of adult height within the average to correctly assess the effect of metformin in improving the prognosis of adult height. The diagnostic criteria of FSS are the following (49):
  - Normal weight and length at birth
  - Height below -2 SDS for age, sex and reference population.
  - Familiar history of short stature
  - Normal body proportions
  - Normal growth rate
  - Normal puberty
  - Matching bone age
  - Forecast adult height similar to target height.
  - Low final height in absence of organic, endocrine, nutritional or affective deficiency disease. These criteria cannot be evaluated in this study.

- ✘ **Morbid obesity.** Morbid or severe obesity is associated with other comorbidities, such as hypertension or hypertransaminasemia (50), and we don't want the girls to have any other chronic or metabolic diseases.
- ✘ **Isolated premature thelarche.** It is when breast development begins before 8 years of age with no other signs of puberty (clinical, laboratory or ultrasound). Gonadotropins and oestrogen levels are prepubertal (2).
- ✘ **Adopted girls.** In girls adopted, the hypothalamic-pituitary-gonadal axis is activated prematurely. There seems to be not only racial influences, but also emotional and environmental. It could be due to malnutrition, and posterior recovery of weight when they're adopted, or to emotional deprivation experienced before becoming part of a new family, among other possible factors (51).
- ✘ **Chronic diseases other than overweight and obesity.** We won't perform any complementary test other than routinely performed in girls diagnosed with advanced puberty. Any chronic disease will be ruled out with clinical history and physical examination. Chronic diseases that do not interfere with the variables that will be analysed to obtain the results are not exclusion criteria.
- ✘ **Currently receiving metformin or other certain drugs.** Currently, metformin in paediatrics is only approved for the treatment of type 2 diabetes mellitus in adolescents older than 10 years, and is not specifically indicated for the treatment of obesity (45). Off-label, Metformin has been showing effectivity in reducing body fat and BMI in obese children with insulin resistance (35–37) or in LBW-PP girls (33) , and in delaying the onset (32) or progression of puberty and on increase the adult height in LBW-PP girls (9,31,34). In this study, we are interested in the effect of metformin in delaying the progression of puberty only in girls with a BMI above the median of their reference population, especially if they suffer overweight or obesity. The other reasons why a child may be taking metformin are exclusion criteria for our study. Therefore, the study excludes girls who are already taking this drug. Also will be excluded from the study those girls who take drugs, sporadically or chronic, that interfere with the action or metabolism of metformin, or that its administration can change any of the results of the variables that will be analysed (see 7.6.11, Concomitant treatments allowed and incompatible with the study). We will have to consult the data sheet (**annex 4**).

#### 7.4. SAMPLE SIZE

To calculate the sample, we have not used the variable “age of menarche” because the sample size proposed by the software "GRANMO" is too small, and we want it to be representative.

Then, we have used the variable “adult height”. The common standard deviation is assumed to be 6 cm (44) (**annex 1**). And we expect to find a minimum difference of 3 cm between the girls treated with metformin and the girls treated with placebo. This difference is not very big, but increasing the expected difference, the sample size decreases, and for this reason we have established this criterion. So, accepting an alpha risk of 0.05 and a beta risk of 0.2 in a two-sided test, **79** subjects are necessary in first group and **79** in the second to recognize as statistically significant a difference greater than or equal to 3 units. The common standard deviation is assumed to be 6. It has been anticipated a drop-out rate of 20%.

The source where sample size has been calculated is:

<http://www.imim.cat/ofertadeserveis/software-public/granmo/>

## 7.5. SAMPLE SELECTION

### 7.5.1. Sampling

We will use a consecutive non-probabilistic sampling. This technique consists on collecting all available subjects that attend to the hospital and meet the criteria as part of the sample.

Our sample will be taken from girls that are referred from the general paediatrician to the paediatric endocrinologist because of advancement of puberty. These girls will have started puberty between 8 and 9 years, and must not have more than nine years at the time of starting treatment.

We will offer all the information about the study, as well as the possible adverse metformin reactions (**annex 5**), to the patient and family, and also the right to leave the study at any time. If they agree to participate, they will be asked to sign the informed consent (**annex 6**).

### 7.5.2. Time of recruitment

We need 79 girls in each group. In total, 158 girls. The sample we need is not excessively big, but our inclusion and exclusion criteria are quite strict. The number of girls with these characteristics that we expect to recruit in 6 months in a medium hospital like Dr Josep Trueta are approximately 40 girls. In a biggest hospital, as Sant Joan de Déu or Vall d'Hebrón, the number of girls that we expect to recruit in 6 months is bigger. To be sure that we can collect all the sample, the maximum expected time for their inclusion is 9 months. It will be prolonged in case of not achieve all de sample.

## 7.6. INTERVENTION

### 7.6.1. Setting

This clinical trial will be a multicentre study, for assure the representability of results and allow to be extrapolated to the study population. Will be carried out in the outpatient of paediatric endocrinology of three reference hospital centres:

- Hospital Universitari Dr. Josep Trueta (Girona)
- Hospital Sant Joan de Déu (Barcelona)
- Hospital Universitari Vall d'Hebrón (Barcelona)

### 7.6.2. Staff

The study staff consists of two principal investigators plus different researchers in each hospital. Researchers are supported by their prior experience in conducting similar studies and clinical trials in pediatric patients.

It is the responsibility of the entire team ensure the confidentiality of the participants' data.

#### Principal investigators:

Will be responsible of writing the protocol, of ensure that procedures are ethical and feasible, do all the paperwork, coordinate the study and write the results and conclusions.

The first principal investigator also has the role of overseeing all the work done by other researchers and ensuring plausibility of data. He will gather all the data collection sheets, will review them and will enter the data into a database for further statistical analysis.

The second principal investigator specifically will have the role of collect the potential adverse effects (**annex 9**) and declare severe or not yet reported adverse effects to the Spanish pharmacovigilance system. The data collected from the sheet of "data collection of adverse effects" will not be introduced into the database, because that could influence the masking procedure. Only this researcher and the pharmacists who administer the medication will know which group of patients is receiving metformin and which group receives placebo. As the second principal investigator must personally collect data from adverse effects, will be responsible for managing the schedule of visits with patient, by telephone.

### Rest of investigators

Will be the pediatric endocrinologists of the three hospitals. There may be as many investigators as pediatricians working with children in pubertal age. These researchers will be responsible for the selection of the sample, of inform patients and their parents about the study (**annex 5**), of ask them to sign the informed consent (**annex 6**) if they agree to participate, and track patients. The own investigators will be responsible for conducting the physical examination of patients, including measure of height and waist, because are them who will receive the training for the procedures for collecting the data during the meetings, and it is important that the procedures are as homogeneous as possible. They will collect the data from each visit in a sheet of data collection (annex 7) and will deliver it to the principal investigator during the meetings.

### Pharmacists

There will be three pharmacists, one in each hospital pharmacy, charged with performing the randomization procedures and preparing boxes with medication. These medications will be administered to the patients every 6 months, after the follow-up visit.

### **7.6.3. Enrolment and randomization procedures**

The first principal investigator will prepare a table of 79 random numbers to receive Metformin and 79 to receive placebo, but he won't decide which group receive which kind of pill. Patients who agree to participate in the study will be given a card with one of the numbers. With this number, they shall go to the hospital pharmacy, where the drug will be supplied.

The hospital pharmacist will prepare cardboard boxes, each one with blisters of a total of fifty pills of metformin or placebo, identical in appearance, size and colour, and numbered according to the table of random numbers. Enrolled participants will be randomly assigned at a 1:1 ratio between metformin and placebo groups by the pharmacist. The pharmacist and the second principal investigator will be the unique ones that will know to which group belong each participant. It will not be possible for either the patient or the rest of the researchers knowing at any time during the trial the interventional drug assigned to any of the patients. It may only be disclosed in case of emergency provided that this is necessary for the patient's treatment.

Each patient will receive enough boxes of pills to realize the treatment until the next visit. Every time they go to the paediatric endocrinology outpatient, the girls will receive a new card with the same number to get the next kit of drug boxes, until complete the three years of treatment. The second principal investigator will be responsible for collecting the possible adverse effects.

#### **7.6.4. Experimental drug: Metformin**

The experimental drug is Metformin Kern Pharma SL<sup>®</sup>. It is presented in the form of grooved white tablets with 850 mg of metformin. The commercial name is the generic of the product next to that of the manufacturer laboratory, and has the authorizing national code number 652220 and registration code 67066. This preparation has been chosen for ease of splitting tablets for better administration in paediatrics.

The maximum daily dosing of Metformin for children aged under 16 years is 2000 mg. This drug is safe for children. The documented side effects are mainly gastrointestinal (abdominal pain, diarrhoea, nausea, and vomiting) but are normally transient and resolve shortly after initiation of treatment (45). The corresponding data sheet is attached in **Annex 4**.

We will use a dose of 850 mg/day of Metformin because is the one already used in other studies for delaying puberty (9,31). The patient will take one pill every 24 hours, administered orally during or after dinner.

#### **7.6.5. Control drug: Placebo**

The control group will receive treatment with placebo, elaborated by the Kern Pharma SL<sup>®</sup> laboratories. Placebo pills will have the same formula of excipients than metformin pills, but not the active drug component.

#### **7.6.6. Treatment duration**

As soon as we have the necessary authorizations from the CEIC and the Spanish Agency for Medicines and Health Products (AEMPS) will proceed at baseline.

We will treat with metformin each girl during 3 years (9). After, due to the variability of time in the apparition of menarche, we will follow all the girls, not during a defined time, but until they finish the pubertal development and attain the adult height (bone age beyond 15 years and growth velocity less than 2 cm/year (1)). We estimate that this additional period won't last more than two years, but if it's necessary, the time will be prolonged until all the girls achieve the complete adult development.

#### **7.6.7. Compliance**

Compliance with the medication will be assessed by counting the number of pills remaining at each visit by the second principal investigator. Moreover, at each visit, all families/patients will confirm it by interview.



### 7.6.8. Subjects withdrawal

The patient can stop the treatment and quit the study at any time if they wish. The experience of the research team suggests that the treatment will be well tolerated and that few dropouts will occur. If the patient wants to leave the trial or some adverse event occurs that necessitates discontinuing the participation in the study, we will ask the patient to go to the last programmed visit of the study. If necessary, it will be informed of the adverse effects to health authorities.

Subjects withdrawn from the study will not be replaced. In the calculation of results will be considered patients who complete the study and dropouts, carrying out an "intention to treat" analysis and a "per protocol", comparing after the differences between the two methods (See point 8, Statistical analysis). Each case of loss or abandonment will be assessed individually, justifying the reasons for leaving the study.

The list of all patients who don't want or cannot be included in the trial will be retained. We will recommend them to perform the usual monitoring in outpatient. They will be asked, once trial is over, if they can come voluntarily for an interview with investigators, to discuss the possible impact of health that has occurred in the interval of time in which the study would have been performed and can serve as reference for test groups.

### 7.6.9. Safety

We will use two methods to assess the safety of treatment:

- First method. The second principal investigator will mark with a cross and will describe the different signs and symptoms derived from the treatment (adverse effects) that could occur to some girls in a preconfigured collection sheet, in case they happen (**annex 9**).
- Second method. We will realize some serial laboratory tests of some parameters that could be pathologically altered due to the use of metformin (**annex 4**):
  - Vitamin B12 → It has been observed a decrease in vitamin B12 absorption, with a decrease in serum levels, in some patients treated with metformin for a long time (it causes megaloblastic anemia).
  - Renal profile (creatinine) → Metformin is eliminated by the kidneys. Therefore, we must monitor that does not increase serum creatinine.
  - Hepatic profile (ALT, AST, GGT) → It has been reported some isolated cases, as adverse effect, altering liver function tests or hepatitis, which resolved with discontinuation of metformin.

#### **7.6.10. Measures to be taken in case of poisoning**

In this trial, the contraindications, warnings and precautions for use of metformin and possible interactions with other drugs, specified in the data sheet of this medication, are taken into account.

Metformin is usually well tolerated in patients with an acceptable overall health. Caution only must be exercised in cases of ketoacidosis or diabetic patients who are bordering the coma. They must also take precautions allergic patients who may present reactive dermatitis, whose treatment will be that of the allergic reactions.

The most serious danger is lactic acidosis, that requires adequate rehydration and alkalinisation in intensive care; this alteration has only been reported in elderly diabetics with kidney function not preserved.

Add that with the doses used in this study such reactions are unlikely.

#### **7.6.11. Concomitant treatments allowed and incompatible with the study**

Analgesics of paracetamol type are permitted.

Are considered incompatible: anticoagulants, anti-inflammatories in general, including corticosteroids, oral hypoglycaemic agents, anti-androgens, oestrogens, progestogens, antibiotics in general and especially vancomycin, cotrimoxazole, and trimethoprim, cimetidine and ranitidine, and iodinated contrast, some because interfere with the action of metformin and others that may modify the variables that must be controlled for tracking of patients.

Before administering any medication consult with the investigators, and record, if necessary, in the case report data (**annex 7**) and consider removing the patient from the trial.

## 7.7. STUDY VARIABLES AND MEASUREMENTS

### 7.7.1. VARIABLES

Variables		TYPE	INSTRUMENTATION	UNITS
<b>Independent</b>	Metformin or placebo	DcQV	Randomization table	?/?
<b>Dependent</b>	Age of menarche	CQV	Clinical history	Years <sup>2</sup>
	Height	CQV	Harpenden Stadiometer	cm & SDS
	LDL-cholesterol	CQV	Cobas integra 711 model (Roche diagnostics, Indianapolis, IN, USA)	mg/dL
	HDL-cholesterol			
	Total cholesterol			
	Triglycerides			
	BMI	CQV	Scale and Stadiometer (weight in kg/height in m squared)	(kg/m <sup>2</sup> ) & SDS
Waist	CQV	Measuring tape	cm & SDS	
<b>Covariables</b>	Pubertal Stage	NQV	Marshall and Tanner Stages of Puberty	B(n <sup>o</sup> )
	Duration of puberty	CQV	Time between its onset (B2) and the first menstruation	Years
	Bone age	CQV	Greulich and Pyle method	Years & SDS
	Predicted height	CQV	Bayley and Pinneau method	cm & SDS
	Target height	CQV	From midparental height adjusted for girls	cm & SDS
	Growth rate	CQV	Stadiometer	cm/year
	Pubertal growth	CQV	Difference between the height at the onset of breast development (B2) and the adult height	cm
	Weight	CQV	Calibrated scale	Kg & SDS
	Birth Weight	CQV	Clinical history	gr. & SDS
	Serum glucose	CQV	Glucose oxidase method	mg/dl
	Fasting Insulin	CQV	Immunochemiluminiscence	μU/ml
	IGF-I	CQV		g/ml
	Leptin	CQV	Fluorescent colorimetry (ELISA)	ng/ml
	Fasting insulin sensitivity	CQV	Homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR)	-
	Hospital Centre	NQV	HC 1 (HUJT) HC 2 (HSJD) HC 3 (HUVH)	
	<b>Safety</b>	Vitamin B12	CQV	Immunochemiluminiscence
Creatinine		CQV	Modified Jaffé colorimetric method.	mg/dl
GPT, GOT and GGT		CQV	Colorimetry	IU/l
Adverse effects		NQV	See <b>annex 4</b> and <b>annex 8</b>	
*DcQV: Dichotomous qualitative variable. *CQV: Continuous quantitative variable. *NQV: Nominal qualitative variable.				

<sup>2</sup> When we talk about picking a variable in years, we understand that will be collected in years and months.

### 7.7.2. MEASUREMENT PROCEDURES AND INSTRUMENTS

**Age of menarche.** Will be provided by the patient, asking for the exactly day of first apparition. It will be necessary six-month history to confirm it.

**Height.** Will be measured with a Harpenden Stadiometer (Holtain Ltd., Crosswell, Crymych, UK). The girl, without shoes, nor pigtails or head accessories, will be placed with the back against the wall, and with feet together and glued to the wall. She will place back straight, and head in a neutral position. We will measure the height 3 times and will take the average. When the measurements differ significantly among them, the position of the child will be checked, and the process repeated. We could say that a girl has achieved her “**adult height**” when bone age is beyond 15 years and the growth velocity is below 2m/year.

**Pubertal Stage.** Will be assessed with Tanner Stages of puberty (**annex 3**). Pubic hair (P) and breast development (B) will be evaluated. The latter, B, will be the one that will determine the pubertal stage (B1, B2, B3, B4 or B5). This relatively obvious pubertal sign might not be easily distinguished from fat tissue in slightly obese girls (52). When there are doubts whether the breast corresponds to breast development or adipomastia, an ultrasound will be performed to differentiate mammary glands from adipose tissue.

**Duration of puberty.** Will be determined by clinical history. We will define the duration of puberty, for practical reasons, as the time from the onset of breast button (B2) to the onset of first menstruation.

**Bone age.** We will perform a simple radiograph of the left hand and wrist and, to determine bone age, we will estimate it according to Greulich and Pyle atlas. (53)

**Predicted final height.** Will be calculated by the method of Bayley and Pinneau (40) using the tables for average girls. In order to predict a child's mature height, it is necessary to have an assessment of his skeletal age (based on left hand x-rays which have been compared with standards), and his height, measured at the time the x-rays were taken.

**Target height.** Target height is the height that the child should achieve, into a range, according to the heights of her parents. First, we need to calculate the medium-parental height, using the following formula (49):

$$\text{Medium-parental height: } \frac{[(\text{Father hight} + \text{mother height}) - 13]}{2}$$

The expected range of height can be marked by taking the mid-point of father's and mother's plots and lying off 8.5 cm above and below it (corresponding to  $\pm 2$  SDS). The adult height of the 94% of the girls should be situated into this reference range. In other words, the 3<sup>rd</sup> to 97<sup>th</sup> centile range of mid-parent height for the child is 17cm (54,55).

**Growth rate.** Are the centimetres that the girl has grown in one year, measured with Stadiometer.

**Pubertal growth.** It refers to the total centimetres that the girl will have grown during puberty. We'll measure it as the difference between the final adult height and height at the onset of puberty (when the bud breast appears). Under normal conditions, the contribution of pubertal growth to final height is approximately 27.5 to 29 cm in girls, that accounts for 17% of the adult height (56).

**Waist circumference.** Will be measured with a measuring tape, approximately 4 cm above the umbilical level with the girl in the supine position.

**Weight.** Will be measured with the child wearing only underwear on a calibrated scale.

**BMI.** Will be calculated as weight (kg) divided by the square of height (in meters).

**Birth weight.** Will be reported by the family or we will look for it at the health card. Birth-weight data will be transformed into SDS for gestational age.

**Serum glucose.** Will be measured by the glucose oxidase method.

**Fasting insulin, IGF-I and vitamin B12.** Will be assayed by immunochemiluminiscence (Immulite 2000; Diagnostic Products, Los Angeles, California)

**Leptin.** Will be measured with Human Leptin "Dual Range" ELISA (catalogue number: EZHL-80SK), by fluorescent colorimetry. Each package contains 96-well strip plate, and two of them are needed for each analysis. So, we will realize leptin blood determination of 48 samples at the same time. Blood samples from girls will be frozen, until we get enough samples to spend an entire pack.

**Fasting insulin sensitivity.** Will be estimated from fasting insulin and glucose levels using the homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) formula:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{(\text{fasting insulin, mU/L}) \times (\text{fasting glucose, mg/dL})}{405}$$

**Hospital centre.** We will assign a number to each hospital centre:

- HC 1 → Hospital Universitari Dr. Josep Trueta of Girona
- HC2 → Hospital Sant Joan de Déu of Barcelona
- HC 3 → Hospital Universitari Vall D’Hebrón of Barcelona

**Creatinine.** Will be analysed by modified Jaffé colorimetric method with the Express Plus Analyzer (Chiron).

**GPT, GOT and GGT.** Will be analysed by colorimetry using automated tests.

**Adverse effects.** The second principal investigator will be responsible for collecting the possible adverse effects. He will ask for it to the patients in every visit, when they go to paediatric endocrinology outpatient for clinical and/or analytical evaluation. We have created a questionnaire to assess adverse effects (**annex 9**).

Clinical explorations will be made in the outpatient offices by the investigators. Blood extraction and tests will be performed in the same hospital where the girl is being visited. The hand x-rays will also be realized at the radiology service of the same hospital. The determination of leptin will be held at the Research Laboratory of the Biomedical Research Institute of Girona (IdiBGi laboratories), where there are specialized doctors in particular determinations such as adipokines.

## 8. STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analysis will be performed using Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software (version 20.0) for *Windows*<sup>®</sup>.

### UNIVARIANT

Metformin will be statistically considered a dichotomy qualitative variable (Metformin / Placebo). Tanner Stage will be considered a nominal qualitative variable, as well as the hospital centre (HC 1, HC 2, HC 3) and the adverse effects. Categorical variables will be expressed as frequencies (n) and percentages (%). The rest of the variables will be treated as continuous quantitative variables. Results for these variables will be expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD) or median and percentile, depending on whether or not they are normal distributed.

### BIVARIANT

Categorical variables will be compared with the Chi-square test for parametric data, and with Fisher exact test for non-parametric data. To compare quantitative variables, we will perform a Pearson or Spearman correlation coefficient (normal and abnormal distribution, respectively). Comparison between quantitative and qualitative variables will be carried out using Student-t test/Mann-Whitney U test and ANOVA/Kruskal-Wallis test, to compare 2 groups or  $\geq 3$  groups, respectively. Student-t test or ANOVA for normal distribution variables, and Mann-Whitney or Kruskal-Wallis for those that are not.

### MULTIVARIANT

The analysis of response to treatment for endpoint variables (age of menarche, adult height) between metformin treatment and control groups will be performed by generalized lineal model (GLM) for repeated measures. Similarly, a GLM for repeated measures will be used to test whether metformin improves metabolic markers in obese pubertal children, computing each of the metabolic markers as the dependent variable, and adjusting for similar confounding variables. In multivariate analysis, we will pay special attention to results in relation to BMI values. An intention-to-treat analysis and a per-protocol analysis will both be performed to avoid bias.

## 9. OPPORTUNITIES AND LIMITATIONS

### 9.1. OPPORTUNITIES

- ✓ This study is the first clinical trial in the literature using metformin to try to delay puberty and augment height in girls without LBW-PP. So far there is no valid treatment, since GnRH analogues have not shown efficacy. And short stature is something that affects socially and psychologically many girls and also worries their parents.
- ✓ Metformin is a cheap drug, with few and transients undesired effects, and the majority are slight.
- ✓ It is a multicentre study, so we can generalize results.
- ✓ Staff in the research group is experienced in conducting clinical trials.
- ✓ If metformin proves improve the endocrine-metabolic and lipid profile, this could prevent or delay the onset of metabolic syndrome in this girls.

### 9.2. LIMITATIONS

- ✗ This study aims to demonstrate the efficacy of metformin in delaying puberty and improve adult height in girls with overweight and obesity, due to its effect on hyperleptinemia, hyperinsulinemia and insulin resistance, and on steroidogenesis. Because there are very few girls with a BMI above the 85th percentile, we would have taken many years to get the sample. We have solved it including girls with a BMI above the 50th percentile, with the justification that the amount of leptin secreted by adipocytes is directly proportional to the amount of body fat. Moreover, even without being overweight, they may have some degree of hyperinsulinemia or insulin resistance. Therefore, we expect that treatment will have a positive effect on these girls with the BMI above the median of population for age. Because we don't want the enlargement of the BMI range to be a limitation, it will be assessed with a special attention on multivariate analysis.
- ✗ An important limitation of this study is that, as it is a clinical trial that by definition is a high cost study, is quite expensive, taking in account that metformin is a low cost treatment. But this is the best design to try to answer the questions previously set out.
- ✗ Although it is a double-blind clinical trial, side-effects that are characteristic from the active drug can impair the blinding process and induce a procedure bias. To avoid this, one of the principal investigators will be in charged to the assessment of adverse effects and compliance, and will hide it to the rest of investigators.



- ✘ Even though the investigators are endocrinologists with experience, there always will exist the variability between the persons who perform the procedure in subjective explorations like Tanner stage, or in the placement of the girls on the Stadiometer, for example. To minimize this subjectivity, all paediatric endocrinologists will be trained in the same way to perform the explorations and will be followed by meetings, to achieve the most homogenous results.
- ✘ The height, although will be measured with the same device (Harpenden Stadiometer), sometimes can vary depending of the girl position, if she arches the back, if she rises more or less the head, etc. It can make vary the obtaining of height by a few millimetres or even a few centimetres. To solve that, each measurement will be realized three times; if the result is not the same, the proceeding will be repeated.
- ✘ The breast stage of Tanner can be overestimated because of adipomastia, especially in overweight and obese girls. To address this, we have hired a service of ultrasound to make a breast eco to girls who require it.
- ✘ The follow-up is about 5 years for each girl. As happens in prospective studies, there is a risk of drop-out or non-compliance of the treatment, due to side-effects or simply by their own will. This should not be a problem, because we have taken it into account when calculating the sample.
- ✘ We run the risk of not detecting advancements of puberty by organic cause. This limitation will not be solved, because we will not make MRI skull to dismiss, because the advanced puberty is considered a variant of normality, not a disease. Furthermore, the risk that an advanced puberty may reveal an organic injury is very low (3).
- ✘ Likewise, we want girls included in the study to have no other endocrine or metabolic chronic underlying disease. Thyroid test, or glucose tolerance test, or other additional tests to rule out underlying diseases will not be performed. We only will build on the previous clinical history, therefore, some underlying disease could escape to be diagnosed.
- ✘ It will be required corroborate the results in other populations.

## 10. ETHICAL CONSIDERATIONS

This project will be evaluated and approved by the CEIC (Comitè d'Ètica d'Investigació Clínica) of the participant centres and by the AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios).

This study will be conducted in accordance to the human rights and to the ethical tenets defined on the World Medical Association Declaration of Helsinki of "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects" of 2013 (**annex 8**), and also in accordance to the rules that Spanish state establishes for the developing of clinical trials in minors.

Before being included in the trial, all participants will be informed appropriately about the study and given the information sheet (**annex 5**). Subjects will be invited to participate voluntarily by the signature of the Informed Consent (**annex 6**). The informed consent will be given to the parents or legal tutors, but patient's opinion will be considered as important as their parents'. Each new inclusion of a participant will be reported to the Public Prosecutor.

The data collected for the trial will be always treated and used anonymously preserving the confidentiality of the patients involved in the study, according to "Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal". The access to all the obtained information will be warranted and confidentiality regulation will be respected: participants of the study have the right to access, modify, oppose or remove their personal data contained in the file at any time.

This study will be performed according to the Spanish Laws related to clinical trials "Real decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios".

This trial has an insurance to take the responsibility towards its members if any adverse event is suffered because of our study/intervention.

Every investigator has declared no conflicts of interest.

## 11. WORKING PLAN AND CHRONOGRAM

### 11.1. Work plan

This clinical trial will be performed in approximately 6 years and 7 months (79 months), and will be organized in the following stages:

- Preparation of the study: **4 months**.
- Collection of all the patients: **9 months** (this stage can be longer or shorter, as the patients will be collected consecutively and each patient will enter to the study at different time).
- Treatment: **3 years for each patient**.
- Follow-up until all the girls have completed the growth and achieved the adult height: the 3 years of treatment plus **2 more years for each patient** (This step is also variable because each child growth will terminate at a different time).
- Final data collection, statistical analysis and spreading of the results: **6 months**

Activity nº	Description	(Months involved)	[Professionals]
-------------	-------------	-------------------	-----------------

#### 1. PREPARATION AND COORDINATION PHASE

Activity 1 – **Hypothesis and objectives approach**. Design of the initial idea. (M1) [*The two principal investigators*]

Activity 2 – **Bibliography research and methodology planning (study design and variables)**. Also initiating, managing and ensuring the funding and resources for the study. (M1-2) [*The two principal investigators*]

Activity 3 – **Selection of centres that will participate and professionals involved**. (M2) [*The two principal investigators*]

Activity 4 – **Design of pilot protocol**. This protocol will not be definitive. (M1-3) [*The two principal investigators*]

Activity 5 – **First meeting and evaluation**. The first in person meeting will take place with all the selected investigators in the Hospital Josep Trueta, where principal investigators will present the project design and execution plan. In this meeting will take place the training of the paediatricians to perform the patients' selection and evaluation, minimizing inter-observer variability. All the investigators will also evaluate the protocol and will be asked to identify problems and provide proposals for changes or improvement in design. In addition, the meeting will be useful to solve all the questions and to check that the protocol has been understood and will be followed according to what's been established. (M3) [*All investigators*]

Activity 6 – **Drafting of definitive protocol and CEIC / AEMPS delivery for approval.** According to all the proposals from the different investigators, a definitive protocol will be elaborated. This last will be delivered to the CEIC (“Comitè Ètic d’Investigació Clínica”) of Hospital Josep Trueta, as reference committee (subsequently, the CEIC of the other two hospitals must also accept the realization of the study), and also to the AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) to their approval. Once the project is approved by the CEIC and the AEMPS, we will proceed to begin the assay. (M4) *[The two main investigators]*

## 2. FIELD WORK AND DATA COLLECTION

Activity 7 – **Population identification and sample collection. Informed consent.** Patients will be collected in order of appearance if they meet all the inclusion criteria and don’t meet none of the exclusion criteria. The investigators of the different hospitals will determine if a subject is eligible for the study or not, and will be supervised by the principal investigators. Once seen that one patient is adequate to enter in the study, will be given all the information about the study and the treatment. Parents or legal tutors must sign the informed consent if they and their child agree to participate. The planned inclusion period is of 9 months (it can be prolonged in case of not achieving the predefined sample). (M5-13) *[All the investigators]*

Activity 8 – **Randomization, masking and allocation.** The investigators of the outpatient will give to each new participant a random number. The patient will have to present this identification number to the hospital pharmacy, and there, the pharmacist will perform the randomized enrolment and allocation to one of the study groups, masking it to the patient (and also to all investigators, except the second principal investigator, who will be in charge of collecting the adverse effects). (M5-13) *[Pharmacist]*

Activity 9 – **First participants’ evaluation and period: treatment step.** This period will start simultaneously with participants’ collection, but will last until the last recruited girl finishes the three years of treatment. Every 6 months, the different researchers of each hospital will visit their patients participating in the study, and will make them the complementary examinations or tests as described in "Data collection and visits chronogram". Every time that one girl is included in the study, in a maximum of two weeks will be collected all the baseline variables, except leptin determinations, which will be determined when we get enough study subjects to spend a whole package of Human Leptin "Dual Range" ELISA kit. The second principal investigator, from the second visit, will evaluate the accomplishment of the treatment by counting the missing pills in each box every visit, and presence of adverse effects. (M5-49) *[Endocrinology outpatient investigators and second principal investigator]*

Activity 10 – **Second participants’ evaluation period: post-treatment step.** After stopping the treatment, the investigators will realize a follow-up to all the girls until they complete the puberty (Tanner 5) and attain their adult height. This follow-up will consist in annual visits, with the evaluations marked in "Data collection and visits chronogram". The expected duration of this period is two years after having stopped the treatment, but can be prolonged if the adult height of all the girls are not yet achieved. (M41-73) [*Endocrinology outpatient investigators*]

Activity 11 – **Data collection and processing.** The first principal investigator will collect all clinical, analytical and radiologic data from each new assessment realized by the endocrinology outpatient investigators during all the time that lasts the two evaluation periods. He will be in charge of review that all the data are accurate and complete. All these data will be electronically registered in the study database. The second principal investigator will collect the data about the adverse effects produced by metformin. These data will not be registered in the database until the two evaluation periods are completed. This activity will begin with the first evaluation, but will finish one month after the second evaluation period is completed. (M5-74) [*Two principal investigators*]

Activity 12 – **In person meetings.** Five more meetings will take place in the hospital Josep Trueta, where the principal investigators will ensure the quality and homogeneity of data collection, according to the protocol. Moreover, will be discussed the progress of the study, and ensured the motivation and internal collaboration of all participating staff. The last meeting will be useful to make an assessment of the whole process. (M14, M26, M38, M50, M74) [*All the investigators*]

### 3. OUTCOMES ANALYSIS, FINAL EVALUATION AND CONCLUSIONS

Activity 13 – **Statistical analysis.** One monitoring analysis will be held approximately at the half of the study, in order to control its progress. At the end of the study, when all data have been collected, will be performed the final statistical analysis. (M29, M75-76) [*Statistician*]

Activity 14 – **Results discussion and conclusions.** A new in person meeting with all the investigators will be realized in order to evaluate the results after the statistical analysis and draw conclusions. (M76) [*All investigators*]

#### 4. FINAL DRAFTING AND RESULTS PUBLICATION

Activity 15 – **Final report elaboration.** (M76-77) The results and conclusions will be written, attaching the graphics and tables needed to draft the final article. *[Two principal investigators]*

Activity 16 – **Publication of the results.** The results of the trial will be published as an article in two Journals (“The Journal of Pediatrics” and “The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism”). (M77-79) *[The two principal investigators]*

Finally, the results will be diffused in a congress.

After the trial ended, results must be sent to the AEMPS. The investigator, with his signature, is responsible of the accuracy of the data reflected in the communication to the AEMPS. The ending of the study will also be reported to the local Ethical Committee’s and to the autonomous community.

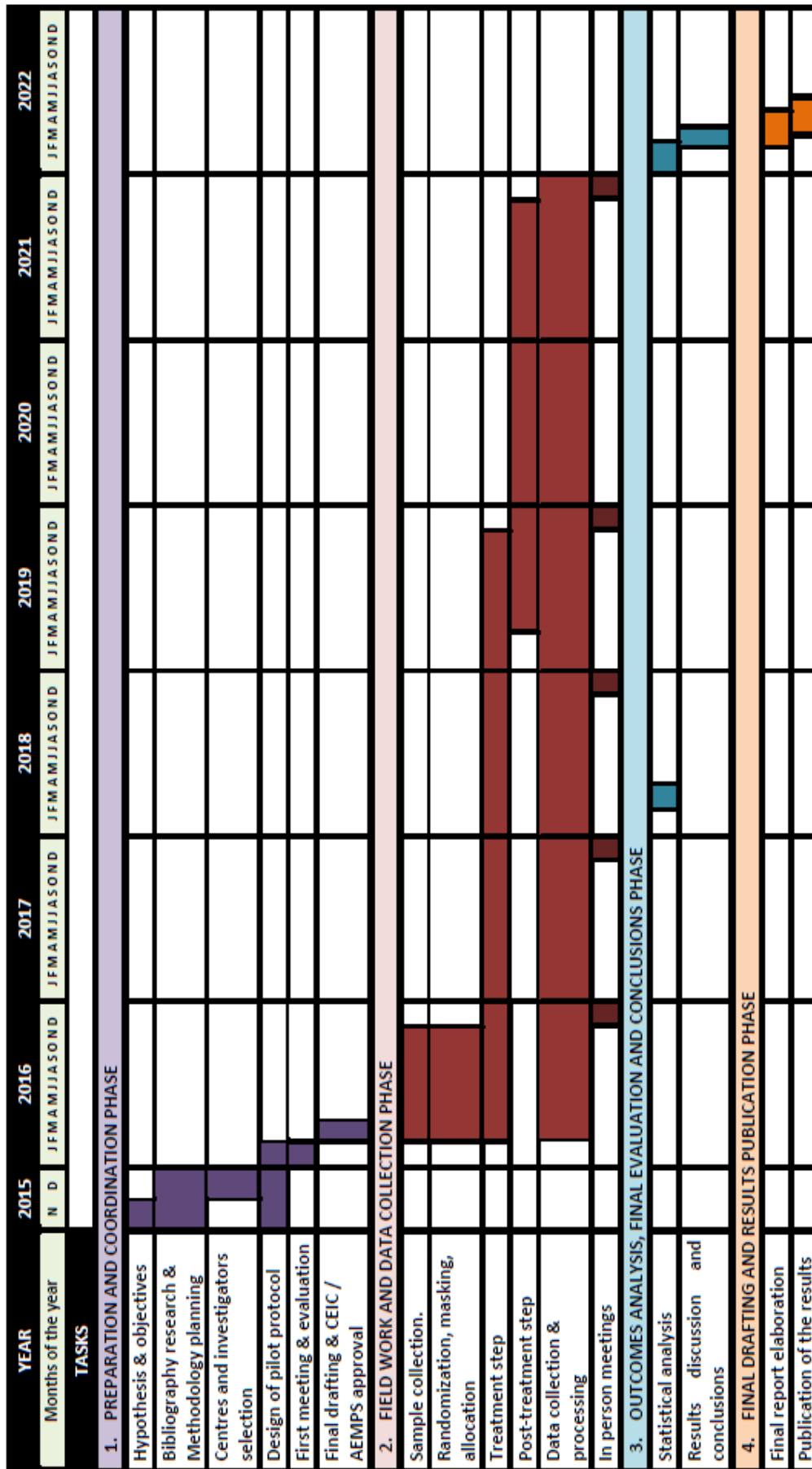
#### 11.2. Data collection and visits chronogram

	0 m (Baseline)	6 m	1 yr	1.5 yr	2 yr	2.5 yr	3 yr	4 yr	5 yr
<b>Lipid profile</b>	x		x		x		x		x
<b>Glucose, insulin, IGF-I, insulin sensitivity</b>	x		x		x		x		x
<b>Leptin</b>	x			x			x		x
<b>Vitamin B12, and hepatic (ALT, AST, GGT) and renal profile (creatinine)</b>	x	x	x		x		x		
<b>Bone age (+ predicted height)</b>	x		x		x		x	x	x
<b>Height, weight, waist, growth rate, BMI</b>	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>Target height</b>	x								
<b>Birth weight</b>	x								
<b>Pubertal stage</b>	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>Adverse effects</b>		x	x	x	x	x	x		

“Age of menarche” will be derived by 6-month history. When the first day of menarche is defined, we will get the “duration of puberty” variable.

!! This chronogram will be the visits chronogram for each girl. The total evaluation period lasts 5 years and 9 months, but for each girl the period of evaluation is of 5 years since they enrol in the study.

### 11.3. Work plan chronogram



## 12. CURRENT STUDIES

There are not current studies similar to this project registered in the international registry of clinical trials, having introduced the key words “Metformin AND Puberty”:

<https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search>

<https://clinicaltrials.gov/>

## 13. BUDGET

Resources already available for the project:

- ✓ The three hospitals have paediatric services, with several clinical offices, which will be the physical framework for inclusion and follow-up of the patients.
- ✓ Each office used by the paediatrics endocrinologists has a Harpenden Stadiometer, a calibrated scale, a measuring tape, and a copy of the book “Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist” by Greulich & Pyle.
- ✓ Researchers, in outpatient computers, will use the Auxolog® software to enter data derived of the physical examination and bone age. If someone don't have this program installed, will download it for free.
- ✓ The centres have laboratories for analytical processing of samples, and nurses to realize the blood extraction. All the analysis that will be performed will be budgeted as fungible, because in clinical practice are not performed the amount of analysis that will be requested during the study.
- ✓ All the hospitals have a radiology unit. The left hand radiographs won't be budgeted as fungible because they are already done routinely in girls with advanced puberty for annually monitoring of the bone age.
- ✓ The hospitals have clinical research ethics committee. Researchers are endorsed by their prior experience in conducting similar studies and clinical trials in paediatric patients.



Resources requested:

<b>1. Staff costs</b>				
	Cost	Nº of persons	Time	Total
Statistician	35 €/h	1	50 h	1.750 €
<b>2. Implementation costs</b>				
<b>Drug purchase</b>				
	Cost box (n=50)	Nº patients	Nº boxes/person	Total
Metformin 850 mg	1'52 €	79	22	2.641'76 €
Placebo	7'35 €	79	22	12.774'3 €
				<b>Total</b>
				<b>0 €</b>
<b>Inventory material costs</b>				
<b>Consumables</b>				
	Cost per patient	Nº patients	Nº tests / patient	Total
Laboratory parameters:				
- Lipid profile	10'43 €	158	5	8.239'7 €
- Glucose	1'27 €	158	5	1.003'3 €
- Fasting insulin	6'98 €	158	5	5.514,2 €
- IGF-I	17'78 €	158	5	14.046'2 €
- VitB12	6'98 €	158	5	5.514'2 €
- Creatinine	1'27 €	158	5	1.003'3 €
- GOT, GPT, GGT	7'84 €	158	5	6.193'6 €
Left hand radiography	0 €	158	6	0 €
Adipocitokine parameters:	Cost per kit	Patients per kit	Nº tests/patient	Total
- Human Leptin ELISA kit (96-well strip plates)	378'96 €	48 (158 patients)	4	5.305'44 € (14 kits)
<b>Liability insurance</b>				<b>6.000 €</b>
<b>AEMPS authorization expenses</b>				<b>1.500 €</b>
<b>Publication fees</b>				<b>3.000 €</b>
<b>Software and bibliography</b>				<b>600 €</b>
<b>3. Travels</b>				
<b>Congresses</b>				
	Cost / person	Nº of persons	Total	
XXXVIII congreso sociedad española de endocrinología pediátrica	1.074 €	2	2.148 €	
<b>Other Travels and diets</b>			<b>1.000 €</b>	
<b>4. Subcontracting of professional services</b>				
<b>Procurement of IdiBGI laboratory services for determination of leptin</b>			<b>0 €</b>	
<b>Subcontracting Contract Research Organization (CRO)</b>			<b>4.500 €</b>	
<b>Procurement of ultrasound services</b>			<b>1.500 €</b>	
<b>5. Indirect and added costs</b>				
			<b>2.350 €</b>	
			<b>TOTAL BUDGET</b>	<b>85.044 €</b>

#### 14. BIBLIOGRAPHY

1. Lazar L, Kauli R, Pertzalan A, Phillip M. Gonadotropin-suppressive therapy in girls with early and fast puberty affects the pace of puberty but not total pubertal growth or final height. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2002 [cited 2015 Dec 1];87(5):2090–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11994346>
2. Vargas F, Ruiz R, Fuentes M, Lorenzo L, Marco M, Martínez-Aedo M. Pubertad precoz. In: *Protocolos de endocrinología* [Internet]. Madrid: Exlibris; 2011 [cited 2015 Dec 13]. p. 193–204. Available from: [http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/16\\_pubertad\\_precoz.pdf](http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/16_pubertad_precoz.pdf)
3. Couto-Silva AC, Brauner R, Adan L, Trivin C. Adult height in advanced puberty with or without gonadotropin hormone releasing hormone analog treatment. *J Pediatr Endocrinol Metab* [Internet]. 2002 [cited 2015 Dec 1];15(3):297–305. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11924932>
4. Lemaire P, Pierre D, Bertrand J-B, Brauner R. A mathematical model for predicting the adult height of girls with advanced puberty after spontaneous growth. *BMC Pediatr* [Internet]. 2014 [cited 2015 Dec 17];14(1):172–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4094405/>
5. Kaplowitz PB, Slora EJ, Wasserman RC, Pedlow SE, Herman-Giddens ME. Earlier onset of puberty in girls: relation to increased body mass index and race. *Pediatrics* [Internet]. 2001 [cited 2015 Dec 1];108(2):347–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11483799>
6. Llop-Vinolas D, Vizmanos B, Closa Monasterolo R, Escribano Subias J, Fernandez-Ballart JD, Marti-Henneberg C. Onset of puberty at eight years of age in girls determines a specific tempo of puberty but does not affect adult height. *Acta Paediatr* [Internet]. 2004 [cited 2015 Dec 1];93(7):874–9. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=15303800](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15303800)
7. Shalitin S, Phillip M. Role of obesity and leptin in the pubertal process and pubertal growth—a review. *Int J Obes* [Internet]. 2003 Aug [cited 2015 Dec 1];27(8):869–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12861226>
8. Berenbaum SA, Beltz AM, Corley R. The Importance of Puberty in Adolescent Development: conceptualization and measurement. In: *Advances in Child Development and Behavior* [Internet]. Elsevier; 2011 [cited 2015 Dec 18]. p. 95–104. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.acdb.2014.11.002>
9. Ibáñez L, Valls C, Ong K, Dunger DB, De Zegher F. Metformin therapy during puberty delays menarche, prolongs pubertal growth, and augments adult height: A randomized study in low-birth-weight girls with early-normal onset of puberty. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2006 [cited 2015 Dec 1];91(6):2068–73. Available from: <http://press.endocrine.org/doi/pdf/10.1210/jc.2005-2329>
10. Marti-Henneberg C, Vizmanos B. The duration of puberty in girls is related to the timing of its onset. *J Pediatr* [Internet]. 1997 [cited 2015 Dec 5];131(4):618–21. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022347697700738>

11. Carel JC, Lahlou N, Roger M, Chaussain JL. Precocious puberty and statural growth. *Hum Reprod Update* [Internet]. 2004 [cited 2015 Nov 8];10(2):135–47. Available from: <http://humupd.oxfordjournals.org/content/10/2/135.full.pdf+html>
12. Ibanez L, Ferrer A, Marcos MV, Hierro FR, de Zegher F. Early Puberty: Rapid Progression and Reduced Final Height in Girls With Low Birth Weight. *Pediatrics* [Internet]. 2000 [cited 2015 Dec 1];106(5):e72–e72. Available from: <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/106/5/e72>
13. Carel J, Léger J. Precocious puberty. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 [cited 2015 Dec 1];358(22):2366–77. Available from: <http://search.proquest.com/docview/223920829/fulltextPDF/D2F6A91462F14ED6PQ/10?accountid=15295>
14. Pralong FP. Insulin and NPY pathways and the control of GnRH function and puberty onset. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2010 [cited 2016 Jan 6];324(1-2):82–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20138117>
15. Frisch R, McArthur J. Menstrual Cycles: Fatness as a Determinant of Minimum Weight for Height Necessary for Their Maintenance or Onset. *Science* [Internet]. 1974 [cited 2016 Jan 6];185(16):949–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4469672>
16. Grumbach MM. The neuroendocrinology of human puberty revisited. *Horm Res* [Internet]. 2002 [cited 2015 Dec 1];57(Suppl. 2):2–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12065920>
17. Considine R V, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* [Internet]. 1996 [cited 2015 Dec 1];334(5):292–5. Available from: <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199602013340503>
18. Klein KO, Larmore KA, De Lancey E, Brown JM, Considine R V., Hassink SG. Effect of obesity on estradiol level, and its relationship to leptin, bone maturation, and bone mineral density in children. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1998 [cited 2015 Dec 1];83(10):3469–75. Available from: <http://press.endocrine.org/doi/pdf/10.1210/jcem.83.10.5204>
19. Gueorguiev M, Góth MI, Korbonits M. Leptin and Puberty : A Review. *Pituitary* [Internet]. 2001 [cited 2015 Dec 1];4(1-2):79–86. Available from: <http://link.springer.com/article/10.1023/A%3A1012943029127>
20. Chan JL, Mantzoros CS. Leptin and the hypothalamic-pituitary regulation of the gonadotropin-gonadal axis. *Pituitary* [Internet]. 2001 [cited 2015 Dec 1];4(1-2):87–92. Available from: <http://link.springer.com/article/10.1023/A%3A1012947113197>
21. Shalitin S, Phillip M. Role of obesity and leptin in the pubertal process and pubertal growth--a review. *Int J Obes Relat Metab Disord* [Internet]. 2003 [cited 2015 Dec 1];27(8):869–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12861226>
22. Ahima RS. No Kiss1ng by leptin during puberty? *J Clin Invest* [Internet]. 2011 [cited 2015 Dec 1];121(1):34–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3007174/pdf/JCI45813.pdf>
23. Cortés ME, Carrera B, Riosco H, Pablo del Río J, Vigil P. The Role of Kisspeptin in the Onset of Puberty and in the Ovulatory Mechanism: A Mini-review. *J Pediatr Adolesc Gynecol* [Internet]. 2015 [cited 2015 Dec 1];28(5):286–91. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083318814003556>

24. Matkovic V, Ilich JZ, Skugor M, Badenhop NE, Goel P, Clairmont A, et al. Leptin is inversely related to age at menarche in human females. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1997 [cited 2015 Dec 1];82(10):3239–45. Available from: <http://press.endocrine.org/doi/pdf/10.1210/jcem.82.10.4280>
25. Gamba M, Pralong FP. Control of GnRH neuronal activity by metabolic factors: The role of leptin and insulin. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2006 [cited 2016 Jan 6];254-255:133–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303720706002255>
26. Weise M, De-Levi S, Barnes KM, Gafni RI, Abad V, Baron J. Effects of estrogen on growth plate senescence and epiphyseal fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2001 [cited 2016 Jan 9];98(12):6871–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC34445/pdf/pq006871.pdf>
27. Nilsson O, Marino R, De Luca F, Phillip M, Baron J. Endocrine regulation of the growth plate. *Horm Res* [Internet]. 2005 [cited 2016 Jan 9];64(4):157–65. Available from: <http://www.karger.com/Article/Pdf/88791>
28. Greisen S, Ledet T, Ovesen P. Effects of androstenedione, insulin and luteinizing hormone on steroidogenesis in human granulosa luteal cells. *Hum Reprod* [Internet]. 2001 [cited 2016 Jan 9];16(10):2061–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11574492>
29. Bouvattier C, Coste J, Rodrigue D, Teinturier C, Carel JC, Chaussain JL, et al. Lack of effect of GnRH agonists on final height in girls with advanced puberty: a randomized long-term pilot study. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1999 [cited 2016 Jan 6];84(10):3575–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10522998>
30. Cassio A, Cacciari E, Balsamo A, Bal M, Tassinari D. Randomised trial of LHRH analogue treatment on final height in girls with onset of puberty aged 7.5-8.5 years. *Arch Dis Child* [Internet]. 1999 [cited 2016 Jan 6];81(4):329–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1718086/>
31. Ibáñez L, Lopez-Bermejo A, Diaz M, Marcos MV, De Zegher F. Early metformin therapy to delay menarche and augment height in girls with precocious pubarche. *Fertil Steril* [Internet]. 2011 [cited 2015 Dec 1];95(2):727–30. Available from: [http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(10\)02466-0/pdf](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(10)02466-0/pdf)
32. 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* [Internet]. 2006 [cited 2015 Nov 8];91(8):2888–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16684823>
33. Ibáñez L, Lopez-Bermejo A, Diaz M, Marcos MV, de Zegher F. Pubertal Metformin Therapy to Reduce Total, Visceral, and Hepatic Adiposity. *J Pediatr* [Internet]. 2010 [cited 2015 Dec 1];156(1):98–102.e1. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347609006453>
34. Ibáñez L, López-Bermejo A, Díaz M, Marcos MV, de Zegher F. Metformin treatment for four years to reduce total and visceral fat in low birth weight girls with precocious pubarche. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 [cited 2015 Dec 13];93(5):1841–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18319306>

35. Yanovski JA, Krakoff J, Salaita CG, Mcduffie JR, Kozlosky M, Sebring NG, et al. Effects of Metformin on Body Weight and Body Composition in Obese Insulin-Resistant Children A Randomized Clinical Trial. *Hispanic* [Internet]. 2011 [cited 2015 Dec 1];60(2):477–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3028347/pdf/477.pdf>
36. Park M, Kinra S, Ward K, White B, Viner R, M. Metformin for Obesity in Children and Adolescents : A Systematic Review. *Diabetes Care* [Internet]. 2009 [cited 2015 Dec 1];32(9):1743–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2732169/pdf/zdc1743.pdf>
37. Srinivasan S, Ambler GR, Baur LA, Garnett SP, Tepsa M, Yap F, et al. Randomized, controlled trial of metformin for obesity and insulin resistance in children and adolescents: Improvement in body composition and fasting insulin. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2006 [cited 2015 Dec 19];91(6):2074–80. Available from: <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/jc.2006-0241>
38. Mansfield R, Galea R, Brincat M, Hole D, Mason H. Metformin has direct effects on human ovarian steroidogenesis. *Fertil Steril* [Internet]. 2003 [cited 2016 Jan 9];79(4):956–62. Available from: [http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(02\)04925-7/pdf](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(02)04925-7/pdf)
39. Rice S, Pellatt L, Ramanathan K, Whitehead SA, Mason D. Metformin inhibits aromatase via an ERK(extracellular signal regulated kinase)- mediated pathway. *Endocrinology* [Internet]. 2009 [cited 2016 Jan 6];150(10):4794–801. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2749730/pdf/ukmss-27356.pdf>
40. Bayley N, Pinneau S. Tables for predicting adult height from skeletal age. *J Pediatr* [Internet]. 1946 [cited 2015 Dec 27];28(1):49–64. Available from: <http://www.sciencedirect.com/sci-hub.io/science/article/pii/S0022347646800866>
41. Kaltiala-Heino R, Marttunen M, Rantanen P, Rimpelä M. Early puberty is associated with mental health problems in middle adolescence. *Soc Sci Med* [Internet]. 2003 [cited 2015 Dec 1];57(6):1055–64. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027795360200480X>
42. Paisán L, Sota I, Muga O, Imaz M. El recién nacido de bajo peso. In: *Protocolos de neonatología* [Internet]. Madrid: Exlibris; 2008 [cited 2015 Dec 16]. p. 79–84. Available from: [http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/9\\_1.pdf](http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/9_1.pdf)
43. Aguirre Unceta-barrenechea A, Aguirre Conde A, Pérez Legórburu A, Echániz Urcelay I. Recién nacido de peso elevado. In: *Protocolos de neonatología* [Internet]. Madrid: Exlibris; 2008 [cited 2015 Dec 16]. p. 85–90. Available from: [http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/10\\_1.pdf](http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/10_1.pdf)
44. Carrascosa A, Fernández JM, Ferrández Á, López-Siguero JP, López D, Sánchez E. Estudios españoles de crecimiento 2010. *Rev Española Endocrinol Pediátrica* [Internet]. 2011 [cited 2015 Nov 23];2(Suppl.1). Available from: [http://www.seep.es/privado/documentos/Publicaciones/Estudios\\_Españoles\\_de\\_Crecimiento\\_2010.pdf](http://www.seep.es/privado/documentos/Publicaciones/Estudios_Españoles_de_Crecimiento_2010.pdf)
45. Brufani C, Fintini D, Nobili V, Patera PI, Cappa M, Brufani M. Use of metformin in pediatric age. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2011 [cited 2015 Nov 8];12(6):580–8. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-5448.2010.00741.x/epdf>

46. Guerrero-Romero F, Aradillas-Garcia C, Simental-Mendia LE, Torres-Rodriguez ML, Mendoza E de la C, Rosales-Cervantes J, et al. Biochemical characteristics and risk factors for insulin resistance at different levels of obesity. *Pediatrics* [Internet]. 2013 [cited 2015 Dec 24];131(4):e1211–7. Available from: <http://pediatrics.aappublications.org/content/pediatrics/131/4/e1211.full.pdf>
47. Diaz M, Bassols J, Lopez-Bermejo A, de Zegher F, Ibanez L. Metformin treatment to reduce central adiposity after prenatal growth restraint: a placebo-controlled pilot study in prepubertal children. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2015 [cited 2015 Dec 24];16(7):538–45. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pedi.12220/epdf>
48. DeSalvo DJ, Mehra R, Vaidyanathan P, Kaplowitz PB. In children with premature adrenarche, bone age advancement by 2 or more years is common and generally benign. *J Pediatr Endocrinol Metab* [Internet]. 2013 [cited 2015 Dec 23];26(3-4):215–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23744298>
49. Pombo M, Rodríguez PC. El niño de talla baja. In: *Protocolos de endocrinología* [Internet]. Madrid: Exlibris; 2011 [cited 2015 Dec 21]. p. 236–54. Available from: [http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/20\\_el\\_nino\\_de\\_talla\\_baja.pdf](http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/20_el_nino_de_talla_baja.pdf)
50. Salawi HA, Ambler KA, Padwal RS, Mager DR, Chan CB, Ball GDC. Characterizing severe obesity in children and youth referred for weight management. *BMC Pediatr* [Internet]. 2014 [cited 2015 Dec 23];14(1):154. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2431/14/154>
51. Soriano-Guillén L, Corripio R, Labarta JI, Cañete R, Castro-Feijóo L, Espino R, et al. Central Precocious Puberty in Children Living in Spain: Incidence, Prevalence, and Influence of Adoption and Immigration. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2010 [cited 2015 Nov 8];95(9):4305–13. Available from: <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/jc.2010-1025>
52. Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP. The Timing of Normal Puberty and the Age Limits of Sexual Precocity: Variations around the World, Secular Trends, and Changes after Migration. *Endocr Rev* [Internet]. 2003 [cited 2015 Dec 1];24(5):668–93. Available from: <http://press.endocrine.org/doi/pdf/10.1210/er.2002-0019>
53. Greulich W, Pyle S. *Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist*. 2nd ed. Stanford: Stanford University Press; 1959.
54. Tanner JM, Goldstein H, Whitehouse RH. Standards for Children's Height at Ages 2-9 Years Allowing for Height of Parents. *Arch Dis Child* [Internet]. 1970 [cited 2015 Dec 27];45(244):755–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1647404/pdf/archdisch00882-0035.pdf>
55. Bramswig JH. Estatura baja y estatura alta. *Ann Nestlé* [Internet]. 2007 [cited 2015 Dec 27];65:119–29. Available from: [https://www.nestlenutrition-institute.org/intl/es/resources/library/Free/annales/a65\\_3/Documents/06 Estatura baja y estatura alta.pdf](https://www.nestlenutrition-institute.org/intl/es/resources/library/Free/annales/a65_3/Documents/06 Estatura baja y estatura alta.pdf)
56. Abbassi V. Growth and normal puberty. *Pediatrics* [Internet]. 1998 [cited 2016 Jan 2];102(2 Pt 3):507–11. Available from: [http://pediatrics.aappublications.org/content/pediatrics/102/Supplement\\_3/507.full.pdf](http://pediatrics.aappublications.org/content/pediatrics/102/Supplement_3/507.full.pdf)
57. Boswell HB. Normal Pubertal Physiology in females. In: Dietrich JE, editor. *Female Puberty*. New York: Springer; 2014. p. 7–30.

# ANNEXES

# ANNEX 1:

Estudios Españoles de crecimiento 2010 (44):

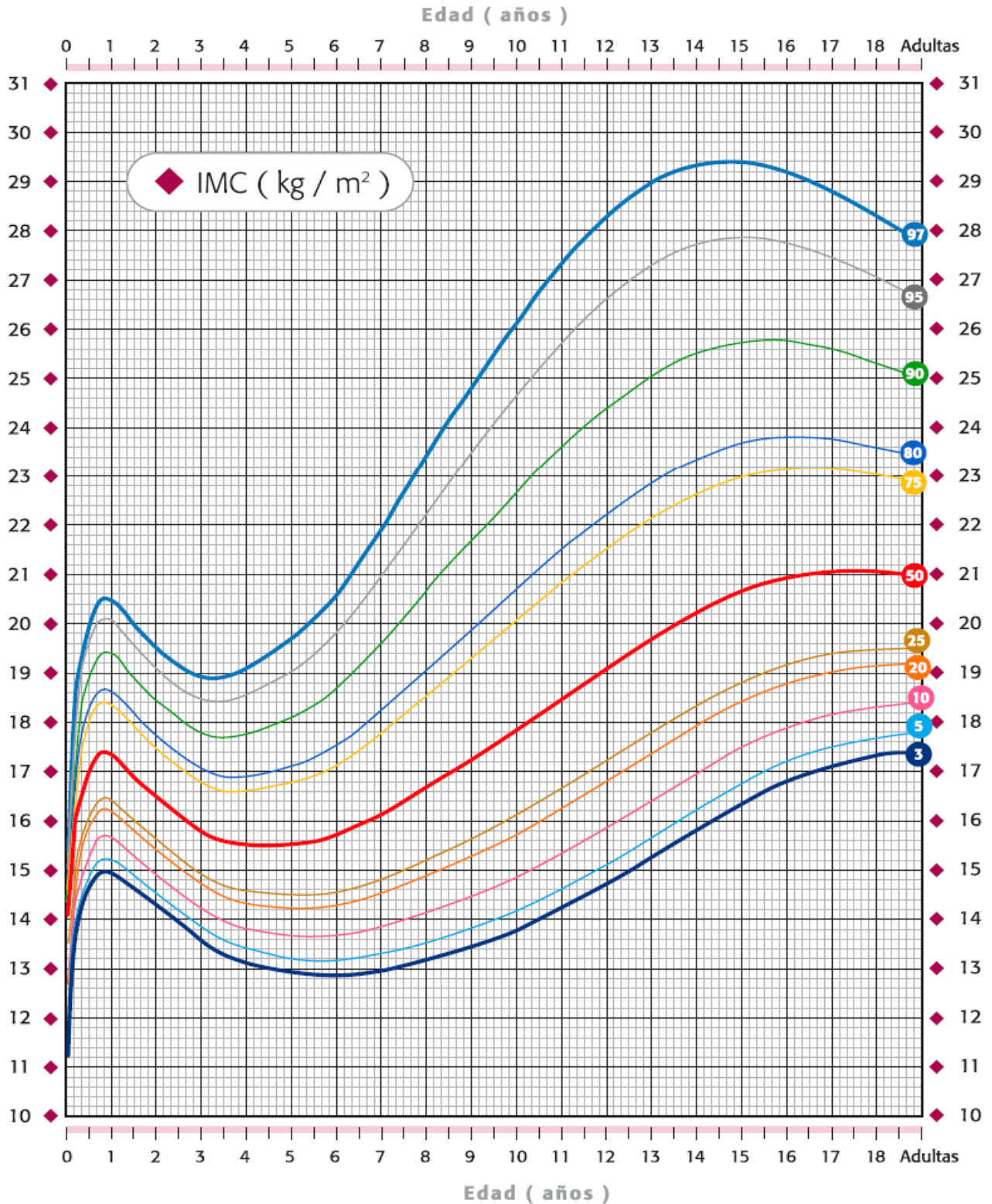
1. *Percentiles IMC (kg/m<sup>2</sup>), mujeres [página 15]*
2. *Valores IMC expresados como media y desviación estándar (DE), mujeres [página 18]*
3. *Percentiles Longitud recién nacidos, niñas [página 4]*
4. *Percentiles Talla (cm), mujeres [página 9]*
5. *Valores de Talla (cm) y Peso (kg) expresados como media y DE, mujeres [página 12]*





# Estudio Transversal Español de Crecimiento 2010

## MUJERES





## Valores de IMC expresados como Media y Desviación Estándar (DE)

### ◆ IMC (kg / m<sup>2</sup>)

Edad en años	Nº	Media	DE
0,00	2822	12,97	1,17
0,25	233	16,08	1,38
0,50	205	17,15	1,46
0,75	186	17,58	1,50
1,00	175	17,61	1,59
1,25	138	17,11	1,31
1,50	125	16,96	1,45
1,75	106	16,77	1,47
2,00	114	16,58	1,35
2,50	193	16,37	1,26
3,00	494	15,85	1,30
3,50	499	15,81	1,72
4,00	537	15,63	1,64
4,50	464	15,85	1,63
5,00	534	15,73	1,76
5,50	478	15,84	2,16
6,00	460	15,97	2,14
6,50	427	16,36	2,27
7,00	505	16,36	2,41
7,50	477	16,94	2,53
8,00	521	17,14	2,84
8,50	420	17,55	2,93
9,00	462	17,74	3,12
9,50	428	18,05	3,00
10,00	436	18,36	3,30
10,50	458	18,65	3,39
11,00	484	19,42	3,69
11,50	403	19,33	3,27
12,00	422	19,51	3,36
12,50	352	20,04	4,06
13,00	352	20,58	4,03
13,50	328	20,82	3,84
14,00	289	20,77	3,55
14,50	315	21,17	3,63
15,00	330	21,19	3,70
15,50	299	21,41	3,21
16,00	307	21,59	3,41
17,00	595	21,60	3,08
18,00	494	21,64	3,24
Adultas	1619	21,37	2,83

## MUJERES

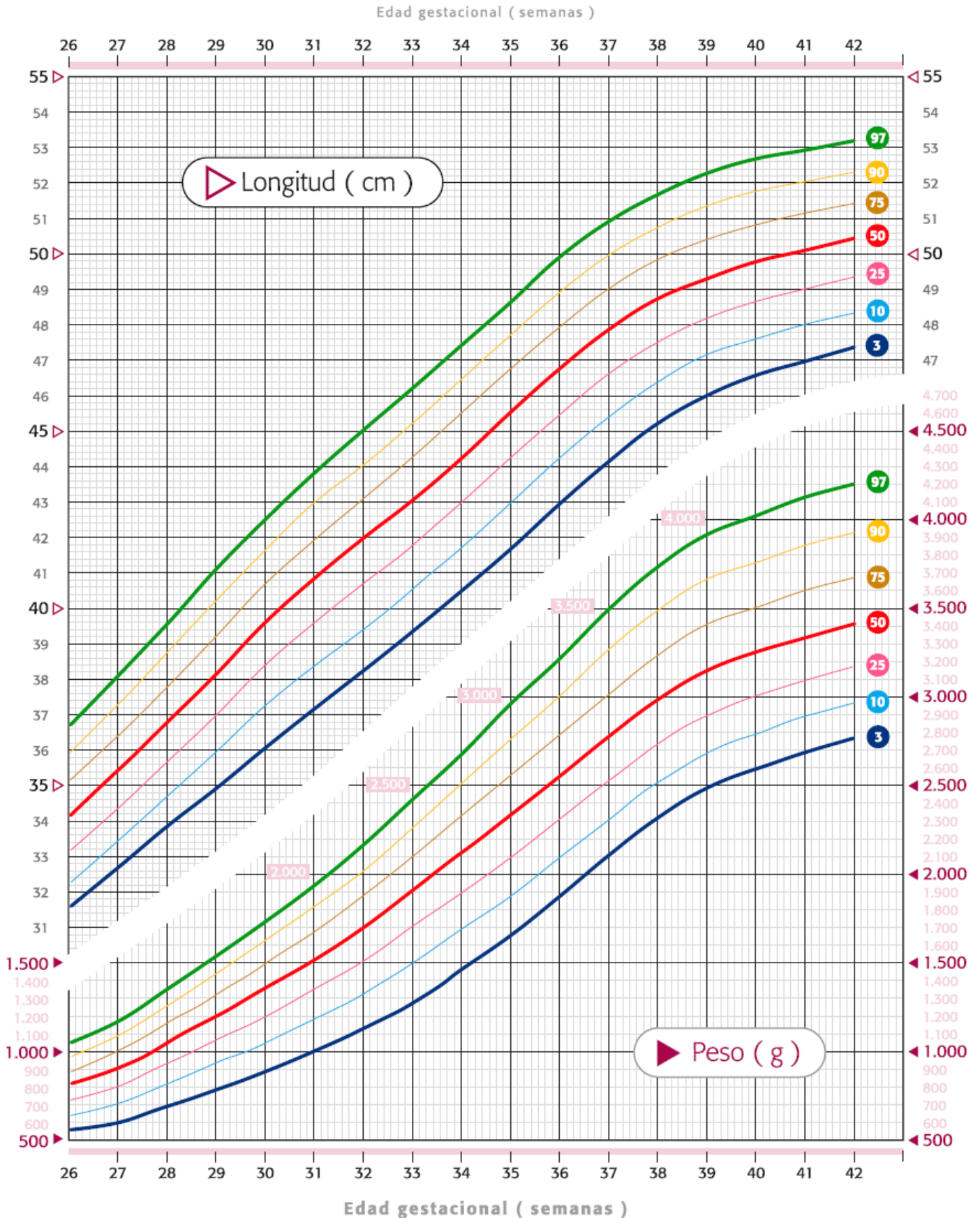
### IMC

Equivalencias aproximadas de los percentiles del **Estudio Español 2010** con los valores propuestos por **Cole (2000)** para definir sobrepeso y obesidad y con los percentiles de los estudios de la **OMS (2007)** y de **Bilbao 1988 (BIB 88)**.

	Español 2010
<b>Cole (obesidad)</b>	Percentil 97
<b>Cole (sobrepeso)</b>	Percentil 85
<b>OMS Percentil 97</b>	Percentil 95
<b>OMS Percentil 85</b>	Percentil 80
<b>BIB 1988, Percentil 97</b>	Percentil 97 (0-5 años) Percentil 95 (3-18 años)
<b>BIB 1988, Percentil 75</b>	Percentil 75
<b>BIB 1988, Percentil 50</b>	Percentil 50



## Recién Nacidas NIÑAS ♀



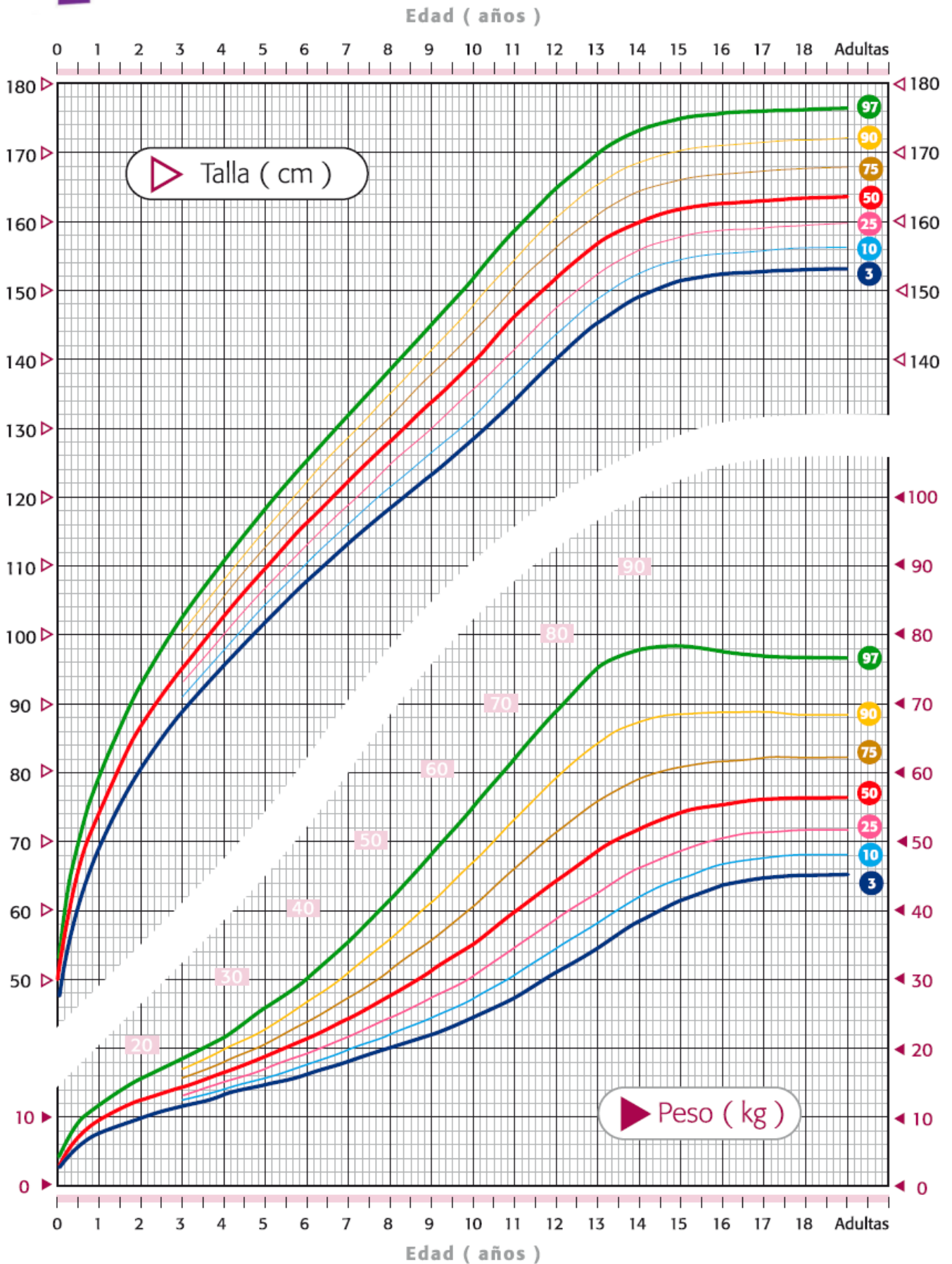
Representación gráfica percentilada de los valores de peso y longitud al nacimiento de las recién nacidas niñas según su edad gestacional.

An Pediatr (Barc) 2008;68:544-51



# Estudio Transversal Español de Crecimiento 2010

## MUJERES ♀





# Estudio Transversal Español de Crecimiento 2010

## Mujeres

Valores de talla (cm)  
expresados como Media y  
Desviación Estándar (DE)



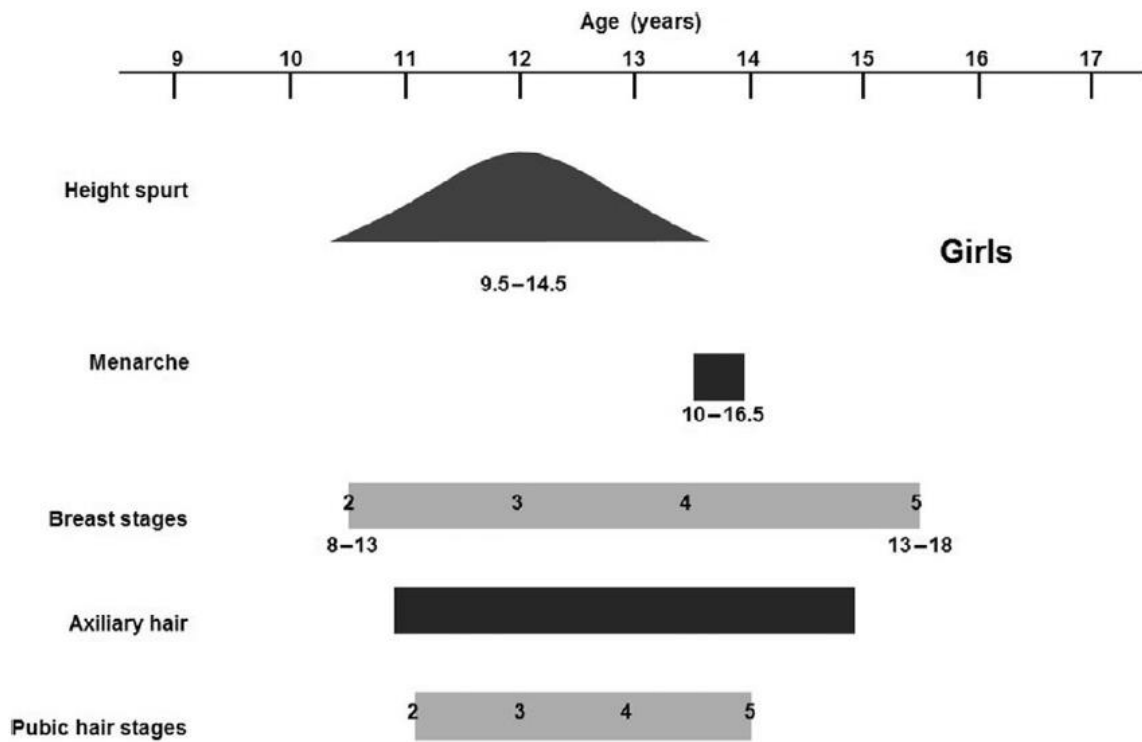
Valores de peso (kg)  
expresados como Media y  
Desviación Estándar (DE)

▶ Talla (cm)			
Edad en años	Nº	Media	DE
0,00	2822	49,43	1,73
0,25	233	59,06	2,81
0,50	205	65,60	2,65
0,75	186	70,26	2,75
1,00	175	74,27	2,47
1,25	138	77,57	2,67
1,50	125	80,91	2,85
1,75	106	83,93	3,08
2,00	114	86,73	2,96
2,50	193	91,11	3,55
3,00	494	95,58	3,75
3,50	499	98,96	3,83
4,00	537	103,07	4,10
4,50	464	106,24	4,01
5,00	534	109,94	4,49
5,50	478	113,08	4,54
6,00	460	116,47	4,57
6,50	427	119,47	4,98
7,00	505	122,30	4,59
7,50	477	125,59	5,00
8,00	521	128,34	5,11
8,50	420	130,99	5,59
9,00	462	134,15	5,92
9,50	428	136,84	6,13
10,00	436	139,33	6,40
10,50	458	143,45	6,70
11,00	484	146,21	6,77
11,50	403	149,48	6,58
12,00	422	151,76	6,52
12,50	352	154,96	6,67
13,00	352	156,96	6,09
13,50	328	159,02	6,30
14,00	289	160,66	6,70
14,50	315	161,10	6,30
15,00	330	162,35	6,69
15,50	299	162,28	6,46
16,00	307	163,64	6,97
17,00	595	163,11	6,37
18,00	494	163,98	6,52
Adultas	1619	164,10	5,97

▶ Peso (Kg)			
Edad en años	Nº	Media	DE
0,00	2822	3,18	0,41
0,25	233	5,64	0,80
0,50	205	7,40	0,92
0,75	186	8,71	1,15
1,00	175	9,73	1,08
1,25	138	10,32	1,14
1,50	126	11,12	1,29
1,75	106	11,82	1,31
2,00	115	12,49	1,40
2,50	195	13,62	1,53
3,00	496	14,50	1,69
3,50	499	15,52	2,22
4,00	537	16,65	2,34
4,50	464	17,95	2,57
5,00	534	19,08	2,95
5,50	478	20,35	3,72
6,00	460	21,76	3,75
6,50	429	23,46	4,14
7,00	505	24,56	4,49
7,50	479	26,84	5,08
8,00	521	28,38	5,79
8,50	421	30,30	6,45
9,00	462	32,19	7,41
9,50	428	34,05	7,48
10,00	436	35,93	8,31
10,50	458	38,62	8,65
11,00	484	41,76	9,58
11,50	403	43,38	8,85
12,00	422	45,20	9,73
12,50	352	48,37	11,38
13,00	352	50,85	11,03
13,50	328	52,81	10,86
14,00	289	53,68	10,07
14,50	315	55,03	10,46
15,00	330	55,96	10,95
15,50	299	56,45	9,53
16,00	307	57,96	10,76
17,00	595	57,55	9,46
18,00	494	58,27	10,02
Adultas	1619	57,58	8,35

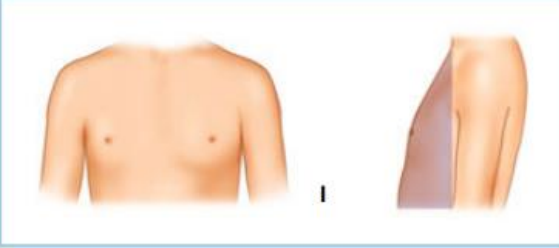
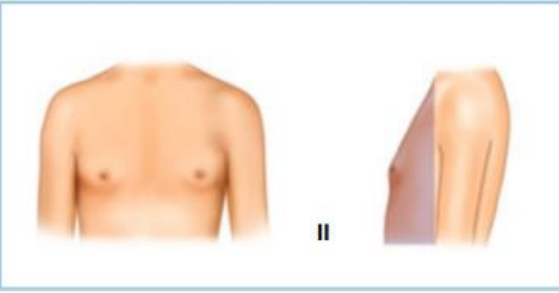
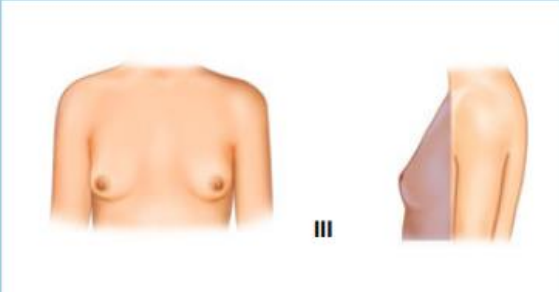
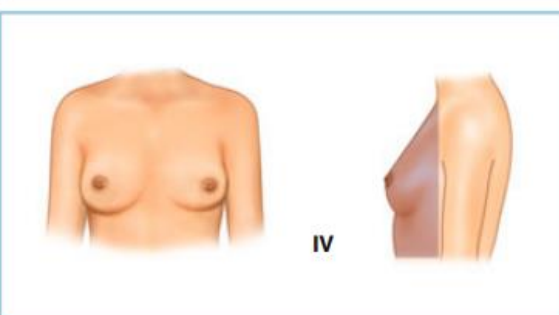
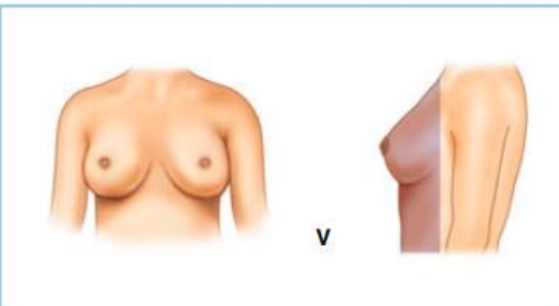
# ANNEX 2:

*Sequences of events at puberty in girls (8).*








# **ANNEX 3:**

*Tanner Stages (breast and pubic hair)*

<b>Tanner Stage 1</b>	Preadolescent	Only papilla is elevated	
<b>Tanner Stage 2</b>	Breast budding	Enlargement and widening of the areola and mound-like elevation of the breast and papilla	
<b>Tanner Stage 3</b>		Further enlargement of breast and areola with NO separation of contours	
<b>Tanner Stage 4</b>		Projection of the areola and papilla to form secondary mound above the level of the breast and further enlargement	
<b>Tanner Stage 5</b>	Adult Breast	Projection of the papilla only, as the areola recesses to the mature contour of the breast	

*Tanner stages of female pubertal breast development. (Created from data in Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls) (57)*



<b>Tanner Stage 1</b>	Preadolescent	No discernable difference between vellus hair on the mons and anterior abdominal wall, no pubic hair	<b>I</b> 
<b>Tanner Stage 2</b>		Appearance of few, sparse, lightly pigmented hairs, with minimal curl on the labia	<b>II</b> 
<b>Tanner Stage 3</b>		Hair becomes darker, coarser and begins to spread over the junction of the labia	<b>III</b> 
<b>Tanner Stage 4</b>		Adult hair type emerges, covers mons pubis, but does not extend to the thighs	<b>IV</b> 
<b>Tanner Stage 5</b>	Adult hair pattern	Adult hair type in the classic female pattern	<b>V</b> 

*Tanner stages of female pubertal pubic hair development. (Created from data in Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls) (57)*

# **ANNEX 4:**

*Ficha técnica METFORMINA*

## **FICHA TÉCNICA O RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO**

### **1. NOMBRE DEL MEDICAMENTO**

Metformina KERN PHARMA 850 mg comprimidos recubiertos con película EFG.

### **2. COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA**

Cada comprimido recubierto con película contiene 850 mg de hidrocloreuro de metformina correspondientes a 662,9 mg de metformina base.

Para consultar la lista completa de excipientes ver sección 6.1.

### **3. FORMA FARMACÉUTICA**

Comprimido recubierto con película blanco, oblongo y biconvexo con doble ranura. El comprimido se puede dividir en mitades iguales.

### **4. DATOS CLÍNICOS**

#### **4.1. Indicaciones terapéuticas**

Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, especialmente en pacientes con sobrepeso, cuando la dieta prescrita y el ejercicio por sí solos no sean suficientes para un control glucémico adecuado.

- En adultos, metformina puede utilizarse en monoterapia o en combinación con otros antidiabéticos orales, o con insulina.

- En niños a partir de 10 años de edad y adolescentes, metformina puede utilizarse en monoterapia o en combinación con insulina.

Se ha demostrado una reducción de las complicaciones relacionadas con la diabetes en pacientes adultos diabéticos tipo 2 con sobrepeso tratados con metformina como tratamiento de primera línea tras el fracaso de la dieta (ver 5.1. Propiedades farmacodinámicas).

#### **4.2. Posología y forma de administración**

*Adultos:*

##### **Monoterapia y combinación con otros antidiabéticos orales**

- La dosis inicial normal es un comprimido 2 ó 3 veces al día administrado durante o después de las comidas.

- Al cabo de 10 a 15 días, la posología se ajustará en función de los niveles de glucosa en sangre. Un aumento lento de la dosis puede mejorar la tolerancia gastrointestinal. La dosis máxima recomendada es de 3 g de metformina al día.

- Si se pretende administrar metformina en sustitución de otro antidiabético oral: suspender la terapia anterior e iniciar la terapia con metformina a la posología indicada anteriormente.

##### **Combinación con insulina**

La metformina y la insulina pueden ser utilizadas en terapia combinada para lograr un mejor control de la glucosa en sangre. La metformina se administrará a la dosis inicial normal de un comprimido 2 ó 3 veces al día, mientras que la posología de insulina se ajusta en función de los niveles de glucosa en sangre.

*Pacientes de edad avanzada:* Debido al potencial de reducción de la función renal en personas mayores, la posología de la metformina debe ajustarse según la función renal. Es necesaria una evaluación regular de la función renal (ver sección 4.4).

*Niños y adolescentes:*

**Monoterapia y combinación con insulina:**

- Metformina puede administrarse a niños a partir de 10 años de edad y adolescentes.
- La dosis inicial habitual es de 1 comprimido de 500 mg o de 850 mg una vez al día, administrado durante o después de las comidas.
- Tras 10-15 días de tratamiento, se debe ajustar la dosis en función de los valores de glucosa en sangre. Una disminución gradual de la dosis, puede mejorar la tolerabilidad gastrointestinal.
- La dosis máxima recomendada es de 2 g al día, divididas en 2 ó 3 dosis.

**4.3. Contraindicaciones**

- Hipersensibilidad a hidrocloreto de metformina o a alguno de los excipientes.
- Cetoacidosis diabética, precoma diabético.
- Insuficiencia o disfunción renal (aclaramiento de creatinina < 60 ml/mn).
- Patología aguda que implique un riesgo de alteración de la función renal como:
  - Deshidratación
  - Infección grave
  - Shock
  - Administración intravascular de productos de contraste yodados (ver 4.4 Advertencias y precauciones especiales de empleo).
- Enfermedad aguda o crónica capaz de provocar una hipoxia tisular, como:
  - Insuficiencia cardíaca o respiratoria
  - Infarto de miocardio reciente
  - Shock
- Insuficiencia hepática, intoxicación alcohólica aguda, alcoholismo
- Embarazo y lactancia (ver sección 4.6).

**4.4. Advertencias y precauciones especiales de empleo**

**Acidosis láctica**

La acidosis láctica es una complicación metabólica rara pero grave (alta mortalidad en ausencia de tratamiento precoz) que puede aparecer en caso de acumulación de metformina. Los casos descritos de acidosis láctica en pacientes tratados con metformina, han aparecido principalmente en pacientes diabéticos con una insuficiencia renal marcada. La incidencia de la acidosis láctica puede y debe reducirse evaluando también otros factores de riesgo asociados como una diabetes mal controlada, cetosis, ayuno prolongado, consumo excesivo de alcohol, insuficiencia hepática y cualquier estado asociado con la hipoxia.

*Diagnóstico*

La acidosis láctica se caracteriza por una disnea acidótica, dolor abdominal e hipotermia seguidos por coma. Los resultados diagnósticos de laboratorio incluyen la reducción del pH sanguíneo, unos niveles de lactatos en plasma superiores a 5 mmol/L y un incremento del desequilibrio aniónico (anión gap) y de la relación lactatos/piruvatos. Si se sospecha la presencia de acidosis metabólica, debe interrumpirse el tratamiento con metformina y hospitalizar al paciente inmediatamente (Ver sección 4.9).

### **Función renal**

Como la metformina se elimina por el riñón, deben determinarse los niveles de creatinina en suero antes de iniciarse el tratamiento y vigilarse de forma regular:

- al menos una vez al año en pacientes con función renal normal
- al menos de dos a cuatro veces al año en pacientes cuyos niveles de creatinina en suero estén en el límite superior del valor normal y en pacientes de edad avanzada.

En pacientes de edad avanzada, la aparición de una insuficiencia renal es frecuente y asintomática. Debe tenerse especial cuidado en situaciones en las que pueda producirse un deterioro de la función renal, por ejemplo, al iniciar una terapia antihipertensiva o una terapia diurética y al iniciar una terapia con fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE).

#### *Administración de productos de contraste yodados*

Como la administración intravascular de materiales de contraste yodados en exploraciones radiológicas puede desembocar en un fracaso renal, debe suspenderse el tratamiento con metformina antes o en el momento de la exploración y no reanudarlo hasta pasadas 48 horas, y sólo tras haber evaluado la función renal y comprobar que es normal (ver sección 4.5.).

#### *Cirugía*

El tratamiento con metformina hidrocloreuro debe interrumpirse 48 horas antes de una cirugía programada con anestesia general, y normalmente no debe reanudarse hasta pasadas 48 horas.

#### *Niños y adolescentes*

El diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 debe ser confirmado antes de iniciar el tratamiento con metformina.

Durante ensayos clínicos controlados de 1 año de duración no se han detectado efectos de la metformina en el crecimiento o en la pubertad, pero no se dispone de información a largo plazo sobre estos efectos específicos. Por consiguiente, se recomienda un seguimiento cuidadoso sobre los efectos de la metformina en los niños tratados con metformina, especialmente en edad prepuberal.

#### *Niños entre 10 y 12 años de edad*

Solamente 15 individuos con edades comprendidas entre 10 y 12 años fueron incluidos en los estudios clínicos llevados a cabo en niños y adolescentes. Aunque la eficacia y seguridad de metformina en niños menores de 12 años no difieren de la eficacia y seguridad en niños mayores, se recomienda especial precaución al prescribir metformina en niños con edades comprendidas entre 10 y 12 años.

### **Otras precauciones**

- Todos los pacientes deben continuar su dieta con una distribución regular de la ingesta de carbohidratos durante el día. Los pacientes con sobrepeso deben continuar con su dieta hipocalórica.
- Deberán realizarse regularmente las pruebas de laboratorio habituales para el control de la diabetes.
- La metformina sola no provoca jamás hipoglucemia; no obstante, se recomienda precaución cuando se utiliza en asociación con insulina o sulfonilureas.

#### 4.5. Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción

##### Asociaciones desaconsejadas

###### **Alcohol**

Aumento del riesgo de acidosis láctica durante la intoxicación alcohólica aguda, especialmente en caso de:

- ayuno o desnutrición
- insuficiencia hepática

Evitar el consumo de alcohol y medicamentos que contengan alcohol.

###### **Productos de contraste yodados (ver sección 4.4.)**

La administración intravascular de productos de contraste yodados puede producir un fracaso renal que desemboque en la acumulación de metformina y riesgo de acidosis láctica.

El tratamiento con metformina debe suspenderse antes o en el momento de la exploración y no reanudar hasta pasadas 48 horas y sólo tras haber re-evaluado la función renal y haber comprobado que es normal.

##### Asociaciones que requieren precauciones de empleo

**Los glucocorticoides (vías sistémicas y local), agonistas beta-2, y diuréticos** poseen una actividad hiperglucémica intrínseca. Informar al paciente y realizar un control más frecuente de la glucosa en sangre, especialmente al principio del tratamiento. Si es necesario, ajustar la posología del antidiabético durante la terapia con el otro medicamento y tras su suspensión.

**Los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA)** pueden reducir los niveles de glucosa en sangre. Si es necesario, ajustar la posología del antidiabético durante la terapia con el otro medicamento y tras su suspensión.

#### 4.6. Embarazo y lactancia

Hasta la fecha no existen datos epidemiológicos relevantes. Los estudios realizados en animales no indican efectos perjudiciales con respecto al embarazo, el desarrollo embrionario o fetal, el parto o el desarrollo postnatal (ver también la sección 5.3.).

Cuando el paciente proyecte tener un hijo y durante el embarazo, la diabetes no debe ser tratada con metformina, sino que debe utilizarse la insulina para mantener los niveles de glucosa en sangre lo más próximo posible a los valores normales con el fin de reducir el riesgo de malformaciones fetales asociadas con niveles anormales de glucosa en sangre.

La metformina se excreta en la leche en ratas lactantes. No se dispone de datos similares en humanos, por lo que debe adoptarse una decisión acerca de si interrumpir la lactancia o interrumpir el tratamiento con metformina, teniendo en cuenta la importancia del compuesto para la madre.

#### 4.7. Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas

Metformina en monoterapia no provoca hipoglucemia y por tanto no produce ningún efecto en la capacidad para conducir o utilizar máquinas.

No obstante, se debe advertir al paciente de los riesgos de aparición de hipoglucemia cuando la metformina se utiliza en asociación con otros antidiabéticos (sulfonilureas, insulina, repaglinida).

#### 4.8. Reacciones adversas

Durante el tratamiento con metformina pueden ocurrir las siguientes reacciones adversas. Las frecuencias se definen de la siguiente forma: muy frecuentes > 1/10; frecuentes  $\geq$  1/100, <1/10; poco frecuentes  $\geq$ 1/1.000, <1/100; raras  $\geq$ 1/10.000, <1/1.000; muy raras <1/10.000 y casos aislados.

##### Trastornos del metabolismo y nutrición

Muy raras: Reducción de la absorción de la vitamina B12 con reducción de los niveles en suero en pacientes tratados con metformina durante un periodo prolongado. Se recomienda considerar esta etiología en pacientes que presenten anemia megaloblástica.

Muy raras: Acidosis láctica (ver 4.4 advertencias y precauciones especiales de empleo).

##### Trastornos del sistema nervioso:

Frecuentes: alteraciones del gusto

##### Trastornos hepato biliares:

Comunicaciones aisladas: alteración de pruebas hepáticas o hepatitis, que se resuelven tras la discontinuación de metformina.

##### Trastornos gastrointestinales:

Muy frecuentes: Trastornos gastrointestinales como náuseas, vómitos, diarreas, dolor abdominal y pérdida de apetito. Estos trastornos aparecen con mayor frecuencia durante el inicio del tratamiento y desaparecen espontáneamente en la mayoría de los casos. Para prevenirlos se recomienda administrar la metformina en 2 ó 3 dosis al día, durante o después de las comidas. Un lento incremento de la dosis puede también mejorar la tolerabilidad gastrointestinal.

##### Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo:

Muy raras: reacciones cutáneas tales como eritema, prurito, urticaria.

En datos publicados, datos post-comercialización y en estudios clínicos controlados en una población pediátrica limitada con edades comprendidas entre 10-16 años y tratados durante un año, las reacciones adversas comunicadas fueron similares en naturaleza y gravedad a las observadas en adultos.

#### 4.9. Sobredosis

No se ha observado hipoglucemia con dosis de metformina que alcanzan los 85 g, aunque en estas condiciones ha aparecido acidosis láctica. Una gran sobredosis o riesgos concomitantes de la metformina pueden desembocar en acidosis láctica. La acidosis láctica es una urgencia médica y debe ser tratada en hospital. El método más eficaz para eliminar los lactatos y la metformina es mediante hemodiálisis.

### 5. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

#### 5.1. Propiedades farmacodinámicas

Grupo farmacoterapéutico: hipoglucemiantes orales biguanídicos; Código ATC: A10BA02

La metformina es una biguanida con efectos antihiper glucemiantes, que reduce la glucosa en plasma postprandial y basal. No estimula la secreción de insulina, por lo que no provoca hipoglucemia.

La metformina actúa por medio de 3 mecanismos:

(1) reducción de la producción hepática de glucosa mediante la inhibición de la gluconeogénesis y la glucogenolisis (2) en el músculo, incrementando la sensibilidad de la insulina, mejorando la captación de glucosa periférica y su utilización (3) y retraso de la absorción intestinal de glucosa.

La metformina estimula la síntesis intracelular del glucógeno actuando sobre la glucógeno sintetasa.

La metformina incrementa la capacidad de transporte de todos los tipos de transportadores de membrana de glucosa (GLUT).

En humanos, independientemente de su acción sobre la glucemia, la metformina presenta efectos favorables sobre el metabolismo lipídico. Este hecho se ha demostrado con dosis terapéuticas en estudios controlados a medio o largo plazo: la metformina reduce el colesterol total, el colesterol LDL y los niveles de triglicéridos.

Eficacia clínica:

El estudio prospectivo aleatorio (UKPDS) ha establecido el beneficio a largo plazo de un control intensivo de la glucemia en sangre en pacientes adultos con diabetes tipo 2.

El análisis de los resultados de los pacientes con sobrepeso tratados con metformina tras el fracaso del régimen dietético solo, muestra:

- una reducción significativa del riesgo absoluto de complicaciones relacionadas con la diabetes en el grupo de metformina (29,8 sucesos/ 1.000 pacientes-año) frente al régimen dietético solo (43,3 sucesos/1.000 pacientes-año),  $p=0,0023$  y frente a los grupos de monoterapia de insulina y sulfonilureas combinados (40,1 sucesos/1.000 pacientes-año),  $p=0,0034$ ;
- una reducción significativa del riesgo absoluto de mortalidad relacionada con la diabetes: metformina: 7,5 sucesos/1.000 pacientes-año, régimen dietético solo: 12,7 sucesos/1.000 pacientes-año,  $p=0,017$ ;
- una reducción significativa del riesgo absoluto de mortalidad global: metformina: 13,5 sucesos/1.000 pacientes-año, frente a la dieta sola: 20,6 sucesos/1.000 pacientes-año ( $p=0,011$ ) y frente a los grupos de monoterapia de insulina y sulfonilureas combinados: 18,9 sucesos/1.000 pacientes-año ( $p=0,021$ );
- una reducción significativa del riesgo absoluto de infarto de miocardio: metformina: 11 sucesos/1.000 pacientes-año, régimen dietético solo: 18 sucesos/1.000 pacientes-año ( $p=0,01$ ).

Para la metformina utilizada como terapia de segunda línea, en combinación con una sulfonilurea, no se han demostrado los beneficios con respecto al resultado clínico.

En diabetes del tipo 1, se ha utilizado la combinación de metformina e insulina en pacientes seleccionados, pero no se han establecido formalmente los beneficios clínicos de esta combinación.

Los estudios clínicos controlados llevados a cabo en una población pediátrica limitada de edades comprendidas entre los 10 y los 16 años y tratados durante un año, mostraron una respuesta al control glucémico parecida a la observada en adultos.



## 5.2. Propiedades farmacocinéticas

### **Absorción:**

Tras la administración por vía oral de una dosis de metformina, el T<sub>max</sub> se alcanza en 2,5 horas. La biodisponibilidad absoluta de un comprimido de 500 ó 850 mg de metformina es aproximadamente del 50 al 60% en sujetos sanos. Tras una dosis oral, la fracción no absorbida recuperada en las heces fue del 20-30%.

Tras la administración oral, la absorción de la metformina es saturable e incompleta. Esto sugiere que la farmacocinética de la absorción de la metformina no es lineal.

Con las dosis y las posologías usuales de metformina, las concentraciones plasmáticas estables se alcanzan en un periodo de 24 a 48 horas y generalmente son inferiores a 1 microgramos/mL. En los ensayos clínicos controlados, los niveles plasmáticos máximos de metformina (C<sub>max</sub>) no exceden los 4 microgramos/mL, incluso con dosis máximas.

La alimentación reduce y retrasa ligeramente la absorción de metformina. Tras la administración de una dosis de 850 mg, se observa una disminución del pico de concentración plasmática del 40%, una disminución del 25% del AUC (área bajo la curva) y una prolongación de 35 minutos en tiempo hasta alcanzar el pico de concentración plasmática. No se conoce la importancia clínica de las reducciones de estos parámetros.

### **Distribución:**

La fijación a las proteínas plasmáticas es despreciable. La metformina se difunde por los eritrocitos. El pico sanguíneo es menor que el pico plasmático y aparece aproximadamente al mismo tiempo. Los glóbulos rojos representan probablemente un compartimento secundario de distribución. El V<sub>d</sub> medio osciló entre 63-276 litros.

### **Metabolismo:**

La metformina se excreta inalterada en la orina. En el hombre no se ha identificado ningún metabolito.

### **Eliminación:**

El aclaramiento renal de la metformina es > 400 ml/min, lo que indica que la metformina se elimina por filtración glomerular y por secreción tubular. Tras la administración oral, la vida media aparente de eliminación total es de aproximadamente 6,5 horas.

En caso de que la función renal esté alterada, el aclaramiento renal disminuye proporcionalmente al de la creatinina, con lo que se prolonga la vida media de eliminación, conduciendo a un aumento de los niveles de metformina en plasma.

### Pediatría:

Estudio a dosis única: Tras una dosis única de metformina 500 mg, la población pediátrica ha mostrado un perfil farmacocinético similar al observado en adultos sanos.

Estudio a dosis múltiples: La información está limitada a un estudio. Tras dosis repetidas de 500 mg BID durante 7 días en pacientes pediátricos, la concentración plasmática máxima (C<sub>max</sub>) y la exposición sistémica (AUC<sub>0-t</sub>) se redujo aproximadamente un 33% y un 44% respectivamente en comparación a los pacientes diabéticos adultos que recibieron dosis repetidas de 500 mg BID durante 14 días. Dado que la dosis se administra individualmente según un control glucémico, este hecho posee una relevancia clínica limitada.

### **5.5. Datos preclínicos sobre seguridad**

Los datos preclínicos no revelan un peligro especial para el hombre en función de estudios convencionales sobre farmacología, seguridad, toxicidad con dosis repetidas, genotoxicidad, potencial carcinogénico, reproducción de la toxicidad.

## **6. DATOS FARMACÉUTICOS**

### **6.1. Lista de excipientes**

Núcleo del comprimido:

Hipromelosa (E-464)

Povidona (E-1201)

Estearato de magnesio (E-470b)

Cubierta pelicular:

Hipromelosa (E-464)

Macrogol

Dióxido de titanio (E-171)

### **6.2. Incompatibilidades**

No aplicable

### **6.3. Periodo de validez**

3 años

### **6.4. Precauciones especiales de conservación**

Ninguna especial

### **6.5. Naturaleza y contenido del recipiente**

Blisters de PVC-Aluminio. Envase conteniendo 50 comprimidos y 500 comprimidos (envase clínico).

### **6.6. Instrucciones de uso / manipulación y eliminación**

Ninguna especial

## **7. TITULAR DE LA AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN**

KERN PHARMA, S.L.

Polígono Ind. Colón II

Venus, 72

08228 Terrassa (Barcelona)

## **8. NÚMERO(S) DE AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN**

67.066

## **9. FECHA DE LA PRIMERA AUTORIZACIÓN/RENOVACIÓN DE LA AUTORIZACIÓN**

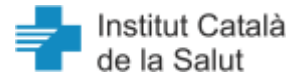
Fecha de autorización: 28/09/2005

Fecha de la última renovación: Marzo 2005

# **ANNEX 5:**

*Hoja de información al paciente*

Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	<b>HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE</b>	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	--	--



## **HOJA DE INFORMACIÓN SOBRE EL ENSAYO CLÍNICO:**

METFORMIN THERAPY IN GIRLS TO DELAY PROGRESSION OF PUBERTY

Código del Protocolo: **HJT-PEDUDG-MET1**

Versión 1 final de fecha **01-11-15**

Su hija y ustedes, como padres/tutores legales, están invitados a participar en un estudio clínico que pretende estudiar el efecto del tratamiento con Metformina sobre la pubertad cuando ésta se adelanta.

### **Introducción**

La pubertad adelantada no es una situación patológica, sino una variante de la normalidad en el tiempo de inicio del desarrollo puberal. Se produce por una activación temprana del “centro” cerebral que inicia la pubertad, por varios factores. Parece que hay dos hormonas (llamadas leptina e insulina) que podrían tener un papel clave en este inicio temprano si se encuentran en niveles elevados, y su elevación parece estar en proporción al nivel de grasa corporal.

La metformina ha demostrado en un grupo de niñas con pubertad avanzada, pero con características distintas a las niñas que se pretenden incluir en este estudio, disminuir los niveles de estas hormonas y retrasar la edad de menarquia, mejorando consecuentemente la talla adulta. Además, en estas niñas, se ha observado un efecto positivo en disminuir tanto los niveles de colesterol en la sangre como la cantidad de grasa corporal.

### **Objetivo del estudio**

El estudio actual persigue demostrar que el tratamiento con un conocido fármaco: la metformina, en niñas con un índice de masa corporal por encima de la media (comparado con niñas de su misma edad) que inician la pubertad entre los 8 y los 9 años, normaliza o disminuye los niveles de leptina, insulina y colesterol, así como la cantidad de grasa corporal. Al normalizar los niveles de leptina e insulina, o al menos disminuirlos, se espera que se retrase la aparición de la menarquia, y así se conseguiría más tiempo para que las niñas crezcan antes de alcanzar la talla adulta.

Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	<b>HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE</b>	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	--	--

## **Procedimientos**

El medicamento objeto de este estudio, metformina, pertenece al grupo de los denominados medicamentos que mejoran la acción de la insulina. Este producto se utiliza desde hace años en el tratamiento de la diabetes tipo 2 en adultos y adolescentes. Posteriormente se ha demostrado sus efectos positivos en adolescentes con síndrome del ovario poliquístico, y en mujeres con problemas de fertilidad para inducir la ovulación.

Si le estamos ofreciendo esta hoja de información es porque, después de explorar a su hija y leído los datos de su historia clínica, consideramos que cumple criterios para entrar en el estudio.

Este estudio no conlleva la realización de ninguna prueba o tratamiento especial; sólo se realizarán análisis de sangre para la determinación de variables del estudio, y radiografías de la mano izquierda para determinar la edad de los huesos y ver si ésta va acorde con la edad cronológica de su hija.

Las analíticas que solicitamos se han valorado detenidamente para poder cumplir con los objetivos del estudio y para poder proporcionarles también a ustedes información relevante acerca del metabolismo de su hija, como los niveles de colesterol o triglicéridos, o el azúcar en sangre.

Los pacientes candidatos al ensayo serán distribuidos al azar en dos grupos. A la mitad de ellos se les administrará metformina (850 mg) en forma de un comprimido que deberá tomar por la boca una vez al día durante 36 meses. La otra mitad recibirá, durante el mismo periodo, un comprimido similar al medicamento pero que no contiene el fármaco activo; a este comprimido se le denomina placebo.

El periodo de duración del estudio será de CINCO AÑOS, durante los cuales se van a recoger datos clínicos, analíticos y radiológicos, coincidiendo con los controles de salud con el endocrinólogo pediátrico. Los dos años siguientes al tratamiento, se seguirán realizando visitas, y algunas analíticas y radiografías de control, hasta que su hija finalice el crecimiento y el desarrollo puberal.

A continuación, se detallan los datos que se van a recoger en el estudio:

### Variables analíticas

Se realizará una analítica general, y se recogerá y congelará una muestra de sangre para un estudio analítico específico (leptina).

Todas las extracciones de las niñas se realizarán en un ambiente tranquilo, después de aplicar crema anestésica en la piel (crema EMLA, de uso habitual en pediatría) y con personal experimentado que minimizarán las molestias a su hija. Serán suficientes 10 cc de sangre. Esta cantidad, en una niña de su edad, no constituye riesgo alguno para la salud.

Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	<b>HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE</b>	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	--	--

### Variables clínicas

Peso, talla, perímetro abdominal y exploración del estadio puberal. Son pruebas incruentas, que no supondrán ninguna molestia a su hija, y que son realizadas rutinariamente a todas las niñas durante la pubertad.

### Variables radiológicas

La radiografía solo se realizará limitada a la mano izquierda. Dura unos cinco minutos, es indolora e imparte una pequeña radiación.

En la siguiente tabla, se indica el calendario de las visitas y las pruebas a efectuar:

	0 m	6 m	1 a	1.5 a	2 a	2.5 a	3 a	4 a	5 a
<b>Peso, talla, perímetro abdominal, índice de masa corporal y pubertad</b>	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>Analítica de sangre: glucosa, insulina, colesterol y triglicéridos</b>	x		x		x		x		x
<b>Vitamina B12 y perfil renal y hepático</b>	x	x	x		x		x		
<b>Leptina**</b>	x			x			x		x
<b>Edad ósea (Radiografía de la mano)</b>	x		x		x		x	x	x
<b>Evaluación efectos adversos</b>		x	x	x	x	x	x		

\*Para la vitamina B12 y el perfil renal y hepático, es necesario que se realice una analítica de más a los 6 meses para asegurar que la metformina está siendo segura para su organismo, antes de seguir con el tratamiento.

\*\*Para el test de detección de niveles de leptina también se realizará una analítica extra a los 18 meses. Se congelará la muestra de sangre hasta que se recojan suficientes muestras de pacientes para realizar la prueba.

Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	------------------------------------	--

### Posibles riesgos

La medicación objeto de estudio es bien tolerada, aunque a veces puede producir leves molestias digestivas, sabor metálico o bien disminuir ligeramente la glucosa en sangre. En personas mayores y con problemas de deshidratación, se han descrito trastornos de acidez de la sangre que no se espera que se produzcan en los niños. Todos los pacientes estarán estrictamente vigilados en cuanto a la seguridad del tratamiento.

Si en cualquiera de los controles se detectara una alteración mínima de la función del hígado, del riñón, de la glucosa, o de las cifras de glóbulos rojos o blancos, se suspenderá inmediatamente la medicación y se tomarán las medidas necesarias.

Todos los pacientes del ensayo tienen un seguro de ensayo clínico según el REAL DECRETO 223/2004, de 6 de febrero, para hacer frente a posibles eventualidades derivadas del ensayo. Todos los acontecimientos graves que se manifiesten durante el estudio, se consideren o no relacionados con el mismo, se deben comunicar al investigador que les evaluará específicamente la presencia de efectos adversos.

### Precauciones

Si en algún momento su hija debe realizarse alguna prueba que requiera la administración de contraste yodado o debe someterse a una cirugía programada que requiera anestesia general, deberá suspender la medicación un día antes, y no reanudarla hasta 48 horas después. En caso de deshidratación (por diarreas, vómitos, etc.), suspender también la medicación durante 3 días.

Consulte inmediatamente con el investigador responsable de su seguimiento si en algún momento su hija debe tomar algún medicamento distinto de los que tomaba hasta la fecha de la última visita.

---

### Confidencialidad

La información recogida en este estudio será introducida en una base de datos computarizada (en un ordenador) para su análisis. Los resultados de este estudio se utilizarán para su presentación en congresos médicos o publicación en revistas científicas.

Todos los datos de carácter personal e información recogida o generada en el estudio quedan protegidos de acuerdo con la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre). Nadie, excepto su médico y el personal directamente relacionado con este estudio, podrá conocer la identidad. Únicamente las autoridades sanitarias pueden tener acceso a las secciones relevantes del estudio si así lo solicitaran.

Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	<b>HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE</b>	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	--	--

### **Compensación**

Los investigadores no tienen beneficio económico con este estudio que está patrocinado por el Ministerio de Salud y Política Social dentro del programa de promoción de la Investigación Clínica no Comercial.

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto y le serán reintegrados los gastos extraordinarios (por ejemplo: comidas y traslados) si usted lo solicita. Usted no tendrá que pagar por los medicamentos ni las pruebas del estudio.

### **Participación voluntaria**

Su participación y la de su hija en este estudio es voluntaria, por lo que, aunque inicialmente se acepte participar, usted puede pedir a los responsables del estudio, en cualquier momento y sin necesidad de especificar el motivo, la eliminación de todas las muestras recogidas que se encuentren almacenadas y de la información relacionada con estas, sin que eso repercuta en su cuidado médico.

Puede comentar la información recibida con su familia, con su médico o con quien considere oportuno para sentirse bien aconsejado. El médico del estudio le contestará a cualquier pregunta o duda que no haya quedado clara.

Por favor, no dude en preguntar cualquier duda al respecto.



# **ANNEX 6:**

*Hoja de consentimiento informado*

<p>Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona</p>	<p>HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO</p>	<p>Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height</p>
---	---	---

**CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DE LOS PADRES/TUTORES**

**TÍTULO DEL ESTUDIO: Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height**

Yo.....

Como padre, madre o tutor de la niña: .....

Confirmo que:

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido realizar preguntas sobre el estudio.

Se han respondido mis preguntas de forma satisfactoria.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con (nombre del investigador/pediatra):.....

Comprendo que la participación es voluntaria, y que puedo retirarme del estudio cuando lo desee, sin que eso repercute en los cuidados médicos y sin dar explicaciones.

En consecuencia,

Doy mi conformidad para que mi hija participe en este estudio.

SI

No

Firma del padre/madre/tutor del participante:

Firma del investigador:

Lugar y fecha: \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 20\_\_

Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	<b>HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO</b>	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	---	--

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, \_\_\_\_\_, revoco el consentimiento previamente firmado para la participación del ensayo clínico especificado arriba.

Firma del padre/madre/tutor del paciente:

Firma del investigador

Lugar y fecha: \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 20\_\_

# **ANNEX 7:**

*Cuaderno de recogida de datos*



Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	<b>CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS</b>	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	--	--

Código paciente  / _ / _ / _ /	Fecha  / _ / _ / / _ / _ / _ / _ / Día                  Mes                  Año
--------------------------------------	---

## Visita 6 meses

Años	Edad cronológica	Peso actual	Talla actual	Velocidad cr.
	a      m	g	cm	cm/año

IMC	Cintura
Kg/m <sup>2</sup>	cm

Estadio puberal de Tanner:

S (seno)	
P (pubis)	

Laboratorio	Valores	Unidades
Vitamina B12		pg/ml
ALT/GPT		U/l
AST/GOT		U/l
GGT		U/l
Creatinina		mg/dl

---

**Medicamentos:** \_\_\_\_\_

**Observaciones:** \_\_\_\_\_

---



---



---

Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	<b>CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS</b>	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	--	--

Código paciente  / _ / _ / _ /	Fecha  / _ / _ / / _ / _ / _ / _ / Día Mes Año
--------------------------------------	---

## Visita 12 meses

Edad cronológica  
Años  a  m

Edad ósea  a  m      Peso actual  g      Talla actual  cm      Velocidad cr.  cm/año

Predicción talla adulta  cm      IMC , Kg/m<sup>2</sup>      Cintura  cm

Estadio puberal de Tanner:

S (seno)   
P (pubis)

Laboratorio	Valores	Unidades
Colesterol - LDL		mg/dL
Colesterol - HDL		mg/dL
Colesterol total		mg/dL
Triglicéridos		mg/dL
Glucosa		mg/dL
Insulina		μU/ml
IFG-I		ng/ml
HOMA - IR		-
Vitamina B12		pg/ml
ALT/GPT		U/l
AST/GOT		U/l
GGT		U/l
Creatinina		mg/dl

**Medicamentos:** \_\_\_\_\_

**Observaciones:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	<b>CUADERNO DE          RECOGIDA DE DATOS</b>	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	---	--

Código paciente	Fecha
/ _ / _ / _ /	/ _ / _ / / _ / _ / / _ / _ / _ / _ /
	Día                      Mes                      Año

## Visita 18 meses

Años	Edad cronológica	Peso actual	Talla actual	Velocidad cr.										
	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; text-align: center;">a</td> <td style="width: 20px; text-align: center;">m</td> </tr> </table>	a	m	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> </tr> </table> g					<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> </tr> </table> cm				<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 40px; height: 20px;"></td> </tr> </table> cm/año	
a	m													

IMC <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 10px; text-align: center;">,</td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> </tr> </table> Kg/m <sup>2</sup>			,			Cintura <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> </tr> </table> cm		
		,						

Estadio puberal de Tanner:

S (seno)

P (pubis)

Laboratorio	Valores	Unidades
Leptina		ng/ml

---

**Medicamentos:** \_\_\_\_\_

**Observaciones:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_





Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	<b>CUADERNO DE          RECOGIDA DE DATOS</b>	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	---	--

Código paciente  /_/_/_/_/	Fecha  /_/_/_/ /_/_/_/ /_/_/_/_/_/ Día Mes Año
----------------------------------	---

## Visita 30 meses

Años	Edad cronológica <input type="text"/> a <input type="text"/> m	Peso actual <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> g	Talla actual <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> cm	Velocidad cr. <input type="text"/> cm/año
	IMC <input type="text"/> <input type="text"/> , <input type="text"/> <input type="text"/> Kg/m <sup>2</sup>	Cintura <input type="text"/> <input type="text"/> cm		

Estadio puberal de Tanner:

S (seno)	
P (pubis)	

---

**Medicamentos:** \_\_\_\_\_

**Observaciones:** \_\_\_\_\_

---



---



---



Hospital Dr. Josep Trueta, Av. França s/n 17007 Girona	<b>CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS</b>	Metformin therapy in girls to delay progression of puberty and increase the adult height
--	--	--

Código paciente  / _ / _ / _ /	Fecha  / _ / _ / / _ / _ / _ / _ / Día                      Mes                      Año
--------------------------------------	---

## Visita 48 meses

Edad cronológica

Años 

a	m
---	---

Edad ósea                      Peso actual                      Talla actual                      Velocidad cr.

Años 

a	m
---	---

--	--	--	--

 g      

--	--	--

 cm      

--

 cm/año

Predicción talla adulta                      IMC                      Cintura

cm 

--	--	--

--	--	--	--

 Kg/m<sup>2</sup>

--	--

 cm

Estadio puberal de Tanner:

S (seno) 

--

P (pubis) 

--

---

**Medicamentos:** \_\_\_\_\_

**Observaciones:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



# **ANNEX 8:**

*Declaración de Helsinki, octubre 2013*

---

## *Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos*

---

Adoptada por la

18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964

y enmendada por la

29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975

35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983

41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989

48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996

52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre 2000

Nota de Clarificación, agregada por la Asamblea General de la AMM, Washington 2002

Nota de Clarificación, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio 2004

59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008

64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013

### **Introducción**

1. La Asociación Médica Mundial (AMM) ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables. La Declaración debe ser considerada como un todo y un párrafo debe ser aplicado con consideración de todos los otros párrafos pertinentes.
2. Conforme al mandato de la AMM, la Declaración está destinada principalmente a los médicos. La AMM insta a otros involucrados en la investigación médica en seres humanos a los médicos. La AMM insta a otros involucrados en la investigación médica en seres humanos a adoptar estos principios.

### **Principios generales**

3. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe considerar lo mejor para el paciente cuando preste atención médica".

4. El deber del médico es promover y velar por la salud, bienestar y derechos de los pacientes, incluidos los que participan en investigación médica. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.
5. El progreso de la medicina se basa en la investigación que, en último término, debe incluir estudios en seres humanos.
6. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Incluso, las mejores intervenciones probadas deben ser evaluadas continuamente a través de la investigación para que sean seguras, eficaces, efectivas, accesibles y de calidad.
7. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover y asegurar el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales.
8. Aunque el objetivo principal de la investigación médica es generar nuevos conocimientos, este objetivo nunca debe tener primacía sobre los derechos y los intereses de la persona que participa en la investigación.
9. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación. La responsabilidad de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.
10. Los médicos deben considerar las normas y estándares éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que las normas y estándares internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico nacional o internacional disminuya o elimine cualquiera medida de protección para las personas que participan en la investigación establecida en esta Declaración.
11. La investigación médica debe realizarse de manera que reduzca al mínimo el posible daño al medio ambiente.
12. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas con la educación, formación y calificaciones científicas y éticas apropiadas. La investigación en pacientes o voluntarios sanos necesita la supervisión de un médico u otro profesional de la salud competente y calificado apropiadamente.



13. Los grupos que están subrepresentados en la investigación médica deben tener un acceso apropiado a la participación en la investigación.
14. El médico que combina la investigación médica con la atención médica debe involucrar a sus pacientes en la investigación sólo en la medida en que esto acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico y si el médico tiene buenas razones para creer que la participación en el estudio no afectará de manera adversa la salud de los pacientes que toman parte en la investigación.
15. Se debe asegurar compensación y tratamiento apropiados para las personas que son dañadas durante su participación en la investigación.

### **Riesgos, Costos y Beneficios**

16. En la práctica de la medicina y de la investigación médica, la mayoría de las intervenciones implican algunos riesgos y costos. La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo y los costos para la persona que participa en la investigación.
17. Toda investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos y los costos para las personas y los grupos que participan en la investigación, en comparación con los beneficios previsibles para ellos y para otras personas o grupos afectados por la enfermedad que se investiga. Se deben implementar medidas para reducir al mínimo los riesgos. Los riesgos deben ser monitoreados, evaluados y documentados continuamente por el deben ser monitoreados, evaluados y documentados continuamente por el investigador.
18. Los médicos no deben involucrarse en estudios de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria.  
Cuando los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados definitivos, los médicos deben evaluar si continúan, modifican o suspenden inmediatamente el estudio.

### **Grupos y personas vulnerables**

19. Algunos grupos y personas sometidas a la investigación son particularmente vulnerables y pueden tener más posibilidades de sufrir abusos o daño adicional. Todos los grupos y personas vulnerables deben recibir protección específica.

20. La investigación médica en un grupo vulnerable sólo se justifica si la investigación responde a las necesidades o prioridades de salud de este grupo y la investigación no puede realizarse en un grupo no vulnerable. Además, este grupo podrá beneficiarse de los conocimientos, prácticas o intervenciones derivadas de la investigación.

### **Requisitos científicos y protocolos de investigación**

21. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

22. El proyecto y el método de todo estudio en seres humanos deben describirse claramente y ser justificados en un protocolo de investigación.

El protocolo debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso y debe indicar cómo se han considerado los principios enunciados en esta Declaración. El protocolo debe incluir información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio y la información sobre las estipulaciones para tratar o compensar a las personas que han sufrido daños como consecuencia de su participación en la investigación.

En los ensayos clínicos, el protocolo también debe describir los arreglos apropiados para las estipulaciones después del ensayo.

### **Comités de ética de investigación**

23. El protocolo de la investigación debe enviarse, para consideración, comentario, consejo y aprobación al comité de ética de investigación pertinente antes de comenzar el estudio. Este comité debe ser transparente en su funcionamiento, debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida y debe estar debidamente calificado.

El comité debe considerar las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación, como también las normas internacionales vigentes, pero no se debe permitir que éstas disminuyan o eliminen ninguna de las protecciones para las personas que participan en la investigación establecidas en esta Declaración.

El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. No se debe hacer ninguna enmienda en el protocolo sin la consideración y aprobación del comité. Después que termine el estudio, los investigadores deben presentar un informe final al comité con un resumen de los resultados y conclusiones del estudio.

### **Privacidad y confidencialidad**

24. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de la persona que participa en la investigación y la confidencialidad de su información personal.

### **Consentimiento informado**

25. La participación de personas capaces de dar su consentimiento informado en la investigación médica debe ser voluntaria. Aunque puede ser apropiado consultar a familiares o líderes de la comunidad, ninguna persona capaz de dar su consentimiento informado debe ser incluida en un estudio, a menos que ella acepte libremente.
26. En la investigación médica en seres humanos capaces de dar su consentimiento informado, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento, estipulaciones post estudio y todo otro aspecto pertinente de la investigación. La persona potencial debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Se debe prestar especial atención a las necesidades específicas de información de cada individuo potencial, como también a los métodos utilizados para entregar la información. Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico u otra persona calificada apropiadamente debe pedir entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede otorgar por escrito, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestiguado formalmente. Todas las personas que participan en la investigación médica deben tener la opción de ser informadas sobre los resultados generales del estudio

27. Al pedir el consentimiento informado para la participación en la investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el individuo potencial está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En una situación así, el consentimiento informado debe ser pedido por una persona calificada adecuadamente y que nada tenga que ver con aquella relación.
28. Cuando el individuo potencial sea incapaz de dar su consentimiento informado, el médico debe pedir el consentimiento informado del representante legal. Estas personas no deben ser incluidas en la investigación que no tenga posibilidades de beneficio para ellas, a menos que ésta tenga como objetivo promover la salud del grupo representado por el individuo potencial y esta investigación no puede realizarse en personas capaces de dar su consentimiento informado y la investigación implica sólo un riesgo y costo mínimos.
29. Si un individuo potencial que participa en la investigación considerado incapaz de dar su consentimiento informado es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el médico debe pedirlo, además del consentimiento del representante legal. El desacuerdo del individuo potencial debe ser respetado.
30. La investigación en individuos que no son capaces física o mentalmente de otorgar consentimiento, por ejemplo, los pacientes inconscientes, se puede realizar sólo si la condición física/mental que impide otorgar el consentimiento informado es una característica necesaria del grupo investigado. En estas circunstancias, el médico una característica necesaria del grupo investigado. En estas circunstancias, el médico debe pedir el consentimiento informado al representante legal. Si dicho representante no está disponible y si no se puede retrasar la investigación, el estudio puede llevarse a cabo sin consentimiento informado, siempre que las razones específicas para incluir a individuos con una enfermedad que no les permite otorgar consentimiento informado hayan sido estipuladas en el protocolo de la investigación y el estudio haya sido aprobado por un comité de ética de investigación. El consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.
31. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación o su decisión de retirarse nunca debe afectar de manera adversa la relación médico-paciente.

32. Para la investigación médica en que se utilice material o datos humanos identificables, como la investigación sobre material o datos contenidos en biobancos o depósitos similares, el médico debe pedir el consentimiento informado para la recolección, almacenamiento y reutilización. Podrá haber situaciones excepcionales en las que será imposible o impracticable obtener el consentimiento para dicha investigación. En esta situación, la investigación sólo puede ser realizada después de ser considerada y aprobada por un comité de ética de investigación.

### **Uso del placebo**

33. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de toda intervención nueva deben ser evaluados mediante su comparación con las mejores intervenciones probadas, excepto en las siguientes circunstancias:

Cuando no existe una intervención probada, el uso de un placebo, o ninguna intervención, es aceptable; o

cuando por razones metodológicas científicamente sólidas y convincentes, sea necesario para determinar la eficacia y la seguridad de una intervención el uso de cualquier intervención menos eficaz que la mejor probada, el uso de un placebo o ninguna intervención.

Los pacientes que reciben cualquier intervención menos eficaz que la mejor probada, el placebo o ninguna intervención, no correrán riesgos adicionales de daño grave o irreversible como consecuencia de no recibir la mejor intervención probada.

### **Estipulaciones post ensayo**

34. Antes del ensayo clínico, los auspiciadores, investigadores y los gobiernos de los países anfitriones deben prever el acceso post ensayo a todos los participantes que todavía necesitan una intervención que ha sido identificada como beneficiosa en el ensayo. Esta información también se debe proporcionar a los participantes durante el proceso del consentimiento informado.

35. Inscripción y publicación de la investigación y difusión de resultados 35. Todo estudio de investigación con seres humanos debe ser inscrito en una base de datos disponible al público antes de aceptar a la primera persona.

36. Los investigadores, autores, auspiciadores, directores y editores todos tienen obligaciones éticas con respecto a la publicación y difusión de los resultados de su investigación. Los investigadores tienen el deber de tener a la disposición del público los resultados de su investigación en seres humanos y son responsables de la integridad y exactitud de sus informes. Todas las partes deben aceptar las normas éticas de entrega de información. Se deben publicar tanto los resultados negativos e inconclusos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y conflictos de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

#### **Intervenciones no probadas en la práctica clínica**

37. Cuando en la atención de un enfermo las intervenciones probadas no existen u otras intervenciones conocidas han resultado ineficaces, el médico, después de pedir consejo de experto, con el consentimiento informado del paciente o de un representante legal autorizado, puede permitirse usar intervenciones no comprobadas, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Tales intervenciones deben ser investigadas posteriormente a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, puesta a disposición del público.

# **ANNEX 9:**

*Hoja de recogida de efectos adversos*

