

THE EFFECT OF METFORMIN ON CLINICAL FEATURES OF
WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROMEEFEKAT METFORMINA NA KLINIČKE KARAKTERISTIKE
ŽENA SA SINDROMOM POLICISTIČNIH JAJNIKAMiljanja Bilibajkić¹, Ivana Božić Antić^{1,2}, Đuro Macut^{1,2}¹ Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd Srbija² Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija**Correspondence:** miljanabilibajkic94@gmail.comAbstract

Introduction: Insulin resistance (IR) is one of the main features of polycystic ovary syndrome (PCOS), and metformin is one of the most commonly prescribed insulin sensitizers in its treatment. Research carried out so far shows heterogeneous results on the effects of metformin on the hormonal and metabolic status of women with PCOS.

The aim of the study was to investigate the effect of six-month treatment with metformin (2000 mg per day) on the hormonal and metabolic characteristics of women with PCOS, paired with healthy women by body mass index (BMI) and age.

Material and Methods: A number of 20 women with PCOS [age: 23.5 ± 5.9 years, BMI: $24.8 \pm 4.2 \text{ kg / m}^2$] and 20 healthy control group women were tested (age: 24.5 ± 5.3 years, BMI: $23.6 \pm 3.0 \text{ kg / m}^2$). Polycystic ovary syndrome was diagnosed with ESHRE / ASRM criteria. Standard biochemical and hormonal parameters were determined, which were repeated in the PCOS group and after six months of metformin therapy. Insulin resistance was determined using a homeostatic model (HOMA-IR).

Results: After six months of metformin therapy in the PCOS group, there was a significant increase in the frequency of menstrual cycle (65% versus 87%, $p < 0.001$), reduction of the degree of hirsutism towards Ferriman - Galway score (9.5 versus 8.5, $p = 0.025$), but after the therapy all parameters were still significantly different from the ZK group. After therapy, there was no difference in the concentration of triglycerides between PCOS and ZK (1.3 ± 0.7 versus $0.9 \pm 0.4 \text{ mmol / L}$, $p = 0.19$), which were significantly higher in PCOS compared to ZK before therapy (1.4 ± 0.8 vs $0.9 \pm 0.4 \text{ mmol / L}$, $p = 0.03$). There was no significant effect of BMI therapy, as well as on HOMA-IR and the concentration of androgens that were significantly higher in PCOS compared to ZK, while there was a favorable effect of metformin on the liver.

Conclusion: Six-month treatment with metformin, at a dose of 2000 mg per day in women with PCOS, leads to a significant increase in the incidence of menstrual cycle, ovulation and reduction in the degree of hirsutism, as well as a beneficial effect on lipids and liver, and the independent effects of the drug on BMI and IR.

Keywords:polycystic ovarian
syndrome,
metformin,
insulin resistance,
hyperlipidaemia,
fatty liver

Sažetak

Uvod: Insulinska rezistencija (IR) jedna je od glavnih karakteristika sindroma policističnih jajnika (engl. *Polycystic ovary syndrome*, PCOS), a metformin je jedan od najčešće propisanih insulinskih „senzitajzera” u njegovom lečenju. Do sada sprovedena istraživanja pokazuju heterogene rezultate o uticaju metformina na hormonski i metabolički status žena sa PCOS.

Cilj rada je ispitivanje efekta šestomesečnog lečenja metforminom (2000 mg dnevno) na hormonske i metaboličke karakteristike žena sa PCOS, uparenih sa zdravim ženama prema indeksu telesne mase (ITM) i godinama starosti.

Materijal i metode: Ispitano je 20 žena sa PCOS (starost: $23,5 \pm 5,9$ godina, ITM: $24,8 \pm 4,2$ kg/m²) i 20 zdravih žena kontrolne grupe (ZK) (starost: $24,5 \pm 5,3$ godina, ITM: $23,6 \pm 3,0$ kg/m²). Sindrom policističnih jajnika je dijagnostikovao pomoću ESHRE/ASRM kriterijuma. Određivani su standardni biohemijski i hormonski parametri, koji su u grupi sa PCOS ponavljani i nakon šest meseci terapije metforminom. Insulinska rezistencija je određivana pomoću homeostaznog modela (HOMA-IR).

Rezultati: Nakon šest meseci terapije metforminom u grupi sa PCOS došlo je do značajnog povećanja frekvencije menstrualnih ciklusa (65% vs. 87%, $p < 0,001$), smanjenja stepena hirzutizma prema Feriman-Galvejevom (Ferrimann-Galway) skor (9,5 vs. 8,5, $p = 0,025$), s tim da su nakon terapije svi parametri i dalje bili značajno različiti u odnosu na ZK grupu. Nakon terapije nije više bilo razlike u koncentraciji triglicerida između PCOS i ZK ($1,3 \pm 0,7$ vs. $0,9 \pm 0,4$ mmol/L, $p = 0,19$), koji su pre terapije bili značajno veći u PCOS u odnosu na ZK ($1,4 \pm 0,8$ vs. $0,9 \pm 0,4$ mmol/L, $p = 0,03$). Nije zabeležen značajniji efekat terapije na ITM, kao ni na HOMA-IR i koncentraciju androgena koji su bili značajno veći u PCOS u odnosu na ZK, dok je postojao povoljan efekat metformina na jetru.

Zaključak: Šestomesečno lečenje metforminom u dozi od 2000 mg dnevno kod žena sa PCOS dovodi do značajnog povećanja učestalosti menstrualnih ciklusa, ovulacije i smanjenja stepena hirzutizma, kao i povoljnog efekta na lipide i jetru, nezavisno od dejstva leka na ITM i IR.

Ključne reči:

sindrom policističnih jajnika,
metformin,
insulinska rezistencija,
hiperlipidemija,
masna jetra

Uvod

Sindrom policističnih jajnika (engl. *Polycystic ovary syndrome*, PCOS) je endokrinopatija koja pogađa oko 6-25% žena u reproduktivnom dobu (1). Karakterišu ga klinički i/ili biohemijski hiperandrogenizam, hronična oligo- ili anovulacija i morfološki policistični jajnici. Postoje, međutim, velike varijacije u kliničkoj manifestaciji PCOS. Naročito se razlikuje zastupljenost različitih značajnih komorbiditeta koji prate ovaj sindrom, kao što su gojaznost, insulinska rezistencija (IR), hiperlipidemija, tip 2 dijabetesa melitusa (T2DM), kardiovaskularna i psihička oboljenja (2). Po Roterdamskim kriterijumima, za dijagnozu PCOS, je potrebno da se zadovolje dva od sledeća tri kriterijuma: višak androgena, ovarijalna disfunkcija i policistični jajnici (3).

Insulinska rezistencija predstavlja smanjenu osetljivost perifernih tkiva na insulin i jedno je od glavnih metaboličkih svojstava PCOS (4). Prevalencija IR u PCOS iznosi oko 85% (75% kod normalno uhranjenih i 95% kod gojaznih) (5). Insulinska rezistencija povećava rizik za nastanak metaboličkih komplikacija kao što su T2DM, hiperlipidemija, hipertenzija i masna jetra (6,7,8). Ovaj poremećaj potencira i hiperandrogenemiju u PCOS indukcijom proizvodnje androgenih hormona u teka ćelijama jajnika (9) i smanjuje sintezu globulina koji vezuje polne hormone (engl. *Sex-hormone binding globuline*, SHBG) u

jetri, što dovodi do povećanja slobodnog, biološki aktivnog testosterona (10).

Metformin je biguanid, insulinski senzitivator koji se često koristi u lečenju žena sa PCOS. Glavni mehanizam dejstva metformina je inhibicija glukoneogeneze u jetri i poboljšanje insulinske senzitivnosti u perifernim tkivima (11). Metformin deluje i direktno na jajnik, mehanizmom nezavisnim od insulina (12). Prema važećim smernicama, metformin se kod žena sa PCOS primenjuje radi indukcije ovulacije tokom lečenja infertiliteta, regulacije frekvencije menstrualnih ciklusa (MC), kao i za lečenje predijabetesa i T2DM (13). Pokazano je da u opštoj populaciji metformin sprečava progresiju predijabetesa u dijabetes, pomaže redukciju telesne težine, obima struka, krvnog pritiska i hiperlipidemije, sprečava nastanak i progresiju masne jetre i redukuje kardiovaskularne rizike kod ljudi sa T2DM (14,15,16). U populaciji sa PCOS postoji velika varijabilnost u kliničkom odgovoru na metformin u smislu redukcije hiperandrogenizma, hiperinsulinemije, regulacije menstrualnog ciklusa i efekta na težinu i telesni sastav (17).

Cilj ovog rada je da se ispita efekat šestomesečnog lečenja metforminom (2000 mg dnevno podeljeno u dve doze) na hormonske i metaboličke karakteristike žena sa PCOS.

Materijal i metode

Rad je sproveden u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Srbije, kao klinička studija praćenja.

1. Izbor ispitanika

a) Grupa sa sindromom policističnih jajnika

Ispitano je 20 žena sa PCOS koje su upućene na lečenje u Kliniku za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Srbije zbog neurednih menstrualnih ciklusa, pojačane maljavosti, akni i/ili infertiliteta. Sindrom policističnih jajnika je dijagnostikovano pomoću Roterdamskih (ESHRE/ASRM) kriterijuma koji podrazumevaju da su zadovoljena bilo koja 2 od sledeća 3 kriterijuma: 1) hiperandrogenizam (klinički i/ili biohemijski), 2) ovulatorna disfunkcija (oligo- ili anovulacija) i 3) morfološki policistično izmenjeni jajnici (3). Klinički hiperandrogenizam (hirzutizam) je dijagnostikovano pomoću modifikovanog Ferriman-Galvejevog (Ferriman-Galway, FG) sistema skorovanja zlatnog standarda za evaluaciju hirzutizma ($FG \geq 8$ označava prisustvo hirzutizma) (18). Biohemijski hiperandrogenizam je definisan kao indeks slobodnih androgena (engl. *Free androgen index, FAI*) > 6 i/ili serumski nivo ukupnog testosterona $> 2,0$ nmol/L. Oligomenoreja je definisana kao godišnji broj menstrualnih ciklusa manji od 8, amenoreja kao odsustvo menstrualnog krvarenja u dužini trajanja od 6 meseci, a anovulacija kao lutealni nivo serumskog progesterona ≤ 10 nmol/l (19). Morfološki, policistično izmenjeni jajnici su definisani kao postojanje 12 ili više folikula veličine 2- 9 mm (3).

Po postavljanju dijagnoze i indikacije za lečenje metforminom započeto je lečenje dozom 2 x 1000 mg tokom šest meseci.

b) Kontrolna grupa

Grupu zdravih kontrolnih ispitanica (ZK) činile su reproduktivno zdrave žene (ukupno 20), uparene sa ženama iz grupe sa PCOS prema indeksu telesne mase (ITM) i godinama starosti. Ove ispitanice su imale redovne ovulatorne MC, morfološki normalne jajnike i nisu imale hiperandrogenizam niti bilo koji drugi hormonski poremećaj.

Kriterijumi za isključivanje iz studije bili su postojanje bilo kog drugog endokrinološkog poremećaja sem gojaznosti, disglukemije i dislipidemije; korišćenje oralnih kontraceptiva u poslednja 3 meseca; korišćenje kortikosteroida bilo kada tokom života; trenutna trudnoća i postojanje drugih hroničnih bolesti.

2. Kliničko-laboratorijski parametri

U grupi sa PCOS sva dole navedena ispitivanja su vršena pre započinjanja lečenja i 6 meseci nakon terapije metforminom. Zdrava kontrolna grupa je testirana samo inicijalno.

Telesna težina (TT, kg) i telesni sastav mereni su električnom bioimpedancijom (Tanita), visina (TV, m) stadiometrom, a obim struka (OS, cm) je meren na nivou najmanjeg obima struka u regiji pupka. Indeks telesne mase je računat formulom: TT / TV^2 (kg/m²). Sistolni i dijastolni krvni pritisak (SKP i DKP) mereni su nakon 15 minuta mirovanja u sedećem stavu. Uzorci krvi su uzimani našte u folikularnoj fazi MC kod onih sa redovnim MC (između 3. i 7. dana MC), odnosno nakon potvrde anovulatornog nivoa progesterona i isključivanja trudnoće kod onih sa neredovnim MC. Određivani su glikemija našte, ukupni holesterol (UH), lipoprotein visoke gustine (engl. *high density lipoprotein, HDL*), lipoprotein niske gustine (engl. *Low density lipoprotein, LDL*), trigliceridi (TG), aspartat aminotransferaza (AST), alanin aminotransferaza (ALT), γ -glutamamil transaminaza (γ -GT), alkalna fosfataza (ALP); folikulostimulišući hormon (FSH), luteinizirajući hormon (LH), testosteron, globulin koji vezuje polne hormone (engl. *sex hormone binding globulin, SHBG*), dehidroepiandrosteron-sulfat (DHEAS), 17OH-progesteron, androstenedion, estradiol (E2) i insulin. Indeks slobodnih androgena je izračunavan formulom: $FAI = (\text{testosteron} \times 100) / SHBG$ (21). Insulinska rezistencija je određivana pomoću homeostaznog modela insulinske rezistencije, koji je izračunavan formulom: $HOMA-IR = (\text{glikemija našte} \times \text{insulin našte}) / 22,5$ (22).

3. Statistička obrada podataka

Statističke analize su rađene pomoću programa SPSS Ver. 13.0. Vrednost statističkih testova manja od 0,05 ($p < 0,05$) smatrana je značajnom. U analizi podataka korišćene su metode deskriptivne i analitičke statistike. Procena normalnosti empirijskih raspodela je vršena Šapiro-Vilkovom (engl. *Shapiro-Wilk*) metodom. Za procenu značajnosti razlike između kontinuiranih obeležja korišćen je Studentov t-test za međugrupne razlike, a upareni Studentov t-test za analizu razlika unutar grupa pre i nakon terapije. Za procenu značajnosti razlike između kategorijskih obeležja korišćen je Hi-kvadrat test (χ^2 test). Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija i kao procenti.

Rezultati

Kliničke karakteristike

Kliničke karakteristike ispitanica prikazane su u tabeli 1. Grupe se međusobno nisu razlikovale prema godinama starosti (PCOS: $23,5 \pm 5,9$ godina; ZK: $24,5 \pm 5,3$ godina; $p = 0,596$). Nije bilo razlike između PCOS i ZK u ITM, OS, SKP i DKP (Tabela 1). Nakon 6 meseci terapije metforminom nije došlo do značajne promene u ITM, ali je postojalo statistički granično smanjenje OS. Dodatno je došlo do značajnog povećanja učestalosti MC i smanjenja hirzutizma kod PCOS nakon 6 meseci terapije metforminom.

Tabela 1. Kliničke karakteristike grupe sa PCOS i zdrave kontrolne grupe (ZK)

	Vreme	PCOS (N = 20)	ZK (N = 20)	P (PCOS vs. ZK)
ITM (kg/m ²)	Bazno	24,8 ± 4,2	23,6 ± 3,0	0,374
	6 meseci th	24,2 ± 5,5		0,276
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,094		
OS (cm)	bazno	86,0 ± 15,9	79,4 ± 10,4	0,111
	6 meseci th	84,6 ± 16,3		0,241
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,052		
Učestalost MC (%)	bazno	65 ± 33	100 ± 0,0	< 0,001
	6 meseci th	87 ± 27		0,003
	P (bazno vs. 6 meseci th)	< 0,001		
Oligomenoreja (% ispitanica)	bazno	47%	0%	< 0,001
	6 meseci th	18%		0,015
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,020		
Najveći prečnik jajnika (mm)	bazno	36,7 ± 4,6	28,3 ± 6,8	0,001
	6 meseci th	37,1 ± 4,4		< 0,001
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,832		
FG skor	bazno	9,5 ± 6,3	4,1 ± 1,4	0,003
	6 meseci th	8,5 ± 5,5		0,004
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,025		
SKP (mm Hg)	bazno	117,8 ± 11,2	114,3 ± 6,7	0,306
	6 meseci th	117,4 ± 12,6		0,335
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,768		
DKP (mm Hg)	Bazno	75,8 ± 10,7	74,0 ± 6,2	0,526
	6 meseci th	73,2 ± 8,5		0,751
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,056		

ITM - indeks telesne mase, OS - obim struka, MC - menstrualni ciklus, FG - Feriman-Galvejev skor maljavosti, SKP – sistolni krvni pritisak, DKP - dijastolni krvni pritisak

Hormonske analize

U tabeli 2 su prikazane hormonske analize u ZK grupi i grupi sa PCOS pre i nakon terapije metforminom. Nakon 6 meseci terapije metforminom nije došlo do

promene ni jednog merenog hormona, a razlike koje su postojale između ove dve grupe pre, bile su prisutne i posle terapije.

Tabela 2. Hormonske analize u PCOS i ZK grupama

	Vreme	PCOS (N = 20)	ZK (N = 20)	P (PCOS vs. ZK)
FSH (IU/L)	Bazno	6,9 ± 2,8	7,8 ± 2,7	0,815
	6 meseci th	7,5 ± 3,2		0,876
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,774		
LH (IU/L)	bazno	7,6 ± 6,7	4,7 ± 2,1	0,141
	6 meseci th	7,7 ± 5,1		0,071
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,959		
T (mmol/L)	bazno	2,6 ± 1,2	1,3 ± 0,4	0,002
	6 meseci th	2,3 ± 0,8		0,003
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,674		
SHBG (mmol/L)	bazno	23,9 ± 13,6	57,8 ± 20,9	< 0,001
	6 meseci th	25,4 ± 10,4		0,044
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,308		
FAI (%)	bazno	11,6 ± 9,7	2,6 ± 1,1	0,007
	6 meseci th	10,9 ± 7,4		< 0,001
	P (bazno vs. 6meseci th)	0,760		

A-dion (nmol/L)	bazno	3,3 ± 1,7		0,001
	6 meseci th	2,8 ± 0,8	1,7 ± 0,5	0,007
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,461		/
DHEAS (nmol/L)	bazno	7,9 ± 6,4		0,032
	6 meseci th	8,1 ± 3,6	4,9 ± 2,2	0,009
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,408		/
17OH-P (nmol/L)	Bazno	0,9 ± 0,5		0,055
	6 meseci th	0,9 ± 0,6	0,5 ± 0,3	0,063
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,069		/
E2 (nmol/L)	Bazno	161,7 ± 86,9		0,271
	6 meseci th	137,5 ± 57,2	197,1 ± 154,3	0,333
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,620		

FSH - folikulostimulišući hormon, LH - luteinizirajući hormon, T - testosteron, SHBG - globulin koji vezuje polne hormone (engl. *sex hormone binding globulin*), FAI - indeks slobodnih androgena (engl. *free androgen index*), A-dion – androstenedion, DHEAS - dehidroepiandrostenedion-sulfat, 17OH-P - 17-hidroksiprogesteron, E2 - estradiol

Biohemijske analize

U **tabeli 3** su prikazani rezultati biohemijskih analiza u ZK grupi i grupi sa PCOS pre i posle terapije metforminom. Nakon terapije metforminom u grupi sa PCOS došlo je do blagog, statistički neznačajnog pada koncentracije TG i ALP, ali se nakon terapije oni nisu razlikovali u

odnosu na ZK. S druge strane, terapija metforminom je u grupi sa PCOS dovela do blagog sniženja γ -GT, koje je bilo statistički neznačajno u odnosu na vrednost pre terapije, ali dovoljno da dovede do toga da je vrednost γ -GT kod PCOS nakon terapije metforminom značajno niža u odnosu na ZK.

Tabela 3. Biohemijske analize u PCOS i ZK grupama

	Vreme	PCOS (N = 20)	ZK (N = 20)	P (PCOS vs. ZK)
UH (mmol/L)	Bazno	5,1 ± 1,1		0,616
	6 meseci th	4,9 ± 1,3	4,9 ± 0,8	0,837
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,845		
HDL (mmol/L)	Bazno	1,4 ± 0,3		0,064
	6 meseci th	1,5 ± 0,3	1,6 ± 0,3	0,444
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,428		
LDL (mmol/L)	Bazno	3,1 ± 1,5		0,602
	6 meseci th	2,9 ± 1,1	2,9 ± 0,7	0,820
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,863		
TG (mmol/L)	Bazno	1,4 ± 0,8		0,033
	6 meseci th	1,3 ± 0,7	0,9 ± 0,4	0,197
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,620		
AST (U/L)	Bazno	19,3 ± 5,9		0,477
	6 meseci th	15,3 ± 2,3	21,9 ± 3,4	0,117
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,389		
ALT (U/L)	Bazno	17,5 ± 9,9		0,450
	6 meseci th	13,4 ± 3,9	20,8 ± 3,8	0,095
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,215		
γ-GT (U/L)	Bazno	15,5 ± 7,9		0,706
	6 meseci th	11,5 ± 4,6	16,6 ± 6,4	0,036
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,061		
ALP (U/L)	Bazno	63,7 ± 10,7		0,012
	6 meseci th	60,2 ± 9,2	50,6 ± 15,5	0,082
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,215		

UH - ukupni holesterol, HDL - lipoprotein visoke gustine (engl. *high density lipoprotein*), LDL - lipoprotein niske gustine (engl. *low density lipoprotein*), TG - trigliceridi, AST – aspartat aminotransferaza, ALT - alanin aminotransferaza, γ -GT – gama glutamil transpeptidaza, ALP - alkalna fosfataza

Parametri insulinske rezistencije

U tabeli 4 su prikazani parametri insulinske rezistencije u ZK grupi i grupi sa PCOS pre i posle terapije metforminom. U grupi sa PCOS je nakon terapije

metforminom postojala tendencija smanjenja nivoa insulina i HOMA-IR, ali ova promena nije bila statistički značajna.

Tabela 4. Parametri insulinske rezistencije u PCOS i ZK grupama

	Vreme	PCOS (N = 20)	ZK (N = 20)	P (PCOS vs. ZK)
Glikemija (mmol/L)	Bazno	4,8 ± 0,5	4,8 ± 0,4	0,776
	6 meseci th	4,9 ± 0,5		0,836
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,600		
Insulin (mIU/L)	Bazno	17,8 ± 5,5	13,8 ± 3,9	0,013
	6 meseci th	17,2 ± 9,3		0,039
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,340		
HOMA-IR	Bazno	3,9 ± 1,4	2,9 ± 0,8	0,002
	6 meseci th	3,7 ± 2,1		0,042
	P (bazno vs. 6 meseci th)	0,436		

Diskusija

U ovom istraživanju smo pokazali da kod žena sa PCOS nakon šestomesečne terapije metforminom u dozi od 2000 mg dnevno dolazi do značajnog poboljšanja frekvencije menstrualnih ciklusa, ovulacije i smanjenja hirzutizma, dok je efekat na metabolički i hormonski status znatno manji.

Podaci drugih istraživanja o efektu metformina kod žena sa PCOS na regulaciju frekvencije menstrualnih ciklusa su heterogeni. Postoje studije koje nisu pokazale ovaj efekat metformina (23,24), ali i one koje potkrepljuju naše rezultate (25,26). Objašnjenje efekta metformina na uspostavljanje redovnih MC u našem istraživanju može da bude direktan efekat metformina na endometrijum materice. Pokazano je da metformin na endometrijum deluje slično kao i progesteron, tako što smanjuje debljinu endometrijuma direktnim sprečavanjem proliferacije endometrijalnih ćelija (27), povećava prokrvljenost endometrijuma (28) i smanjuje ekspresiju estrogenskog i progesteronskog receptora u endometrijumu (29).

Kod naših ispitanica sa PCOS je nakon 6 meseci lečenja metforminom došlo i do značajnog poboljšanja ovulatornosti MC. Naime, pre terapije ovulaciju je imalo 27% žena, a nakon 6 meseci terapije metforminom 53%, što je značajna razlika ($p = 0,029$). Postoji više radova koji su pokazali isti efekat metformina na ovulatornost MC kod žena sa PCOS (17,31,32), ali i radova u kojima to nije pokazano (23,33). Uspostavljanje ovulatornih MC nakon terapije metforminom može biti posledica smanjenja ITM. U većini radova se ovaj efekat metformina u PCOS populaciji i objašnjava njegovim dejstvom na smanjenje ITM i IR (25,26,31,34,35). U našem istraživanju, međutim, to nije bio slučaj. Naime, u grupi sa PCOS nije postojala razlika u ITM između žena sa oligomenorejom i žena sa redovnim menstrualnim ciklusima, kao ni između žena sa ovulatornim i anovulatornim MC, ni pre ni posle terapije metforminom. Ovaj rezultat je u skladu sa nalazom metaanalize

koja je pokazala da je povoljan efekat metformina na ovulaciju kod žena sa PCOS nezavisan u odnosu na telesnu masu (26). Generalno, postoje studije u kojima je pokazan povoljan efekat metformina na redukciju ITM kod žena sa PCOS (31,36), kao i one u kojima nije zabeleženo smanjenje telesne mase nakon primene metformina (23,26). U našem istraživanju je postojao statistički granično značajan efekat na smanjenje OS i pored toga što je nakon lečenja ITM ostala ista. Ovo je važan podatak s obzirom na to da je obim struka surogat marker visceralne gojaznosti (36), tako da je moguće da bi dugotrajnije lečenje metforminom naših žena sa PCOS moglo da dovede i do značajnije redukcije obima struka, odnosno metabolički aktivnog visceralnog masnog tkiva.

Efekat metformina na povećanje frekvencije MC i ovulacije kod žena sa PCOS može da bude posledica dvostrukog dejstva na jajnik, i to indirektnog (smanjenje hiperinsulinemije) i direktnog (smanjenje sinteze androgenih hormona), kao i direktnog efekta na centralnu, hipotalamusnu regulaciju ovulacije (12).

U našem istraživanju, žene sa PCOS su i pre i nakon terapije metforminom imale veću IR merenu sa HOMA-IR i veći nivo insulina u odnosu na ZK. Uprkos tome što je mehanizam dejstva metformina taj da smanjuje IR, u našoj studiji je nakon šestomesečne terapije ovim lekom postojala tendencija ka smanjenju HOMA-IR i insulinemije, ali to nije bilo statistički značajno. Postoje studije u kojima je dokazana redukcija HOMA-IR prilikom primene metformina u populaciji sa PCOS (34), kao i one u kojima je zapaženo da metformin ne deluje na smanjenje IR u slučajevima kada nema i smanjenja ITM, što je bio slučaj i u našoj studiji (37,38,39). Slično kao i u našem istraživanju, Gambineri i sar. pokazali su da, i pored ispoljavanja pozitivnih metaboličkih efekata, metformin ne dovodi do značajne redukcije insulinemije kod svih žena sa PCOS (25). Konačno, naš rezultat se može objasniti i manjkavošću same HOMA-IR kao markera IR (40), s obzirom na to da je zlatni standard da procenu IR tehnički zahtevan i skup metod

euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa (41). Po pitanju veze između IR i ovulacije, naši rezultati su u skladu sa većinom studija u kojima nije pokazano da IR ima prediktivnu važnost za indukciju ovulacije kod žena sa PCOS (42, 43).

Direktan antiandrogeni efekat metformina još uvek nije razjašnjen. Primena ovog insulinskog senzitivizera u lečenju hirzutizma i hiperandrogenemije zasniva se na tome da hiperinsulinemija povećava hiperandrogenemiju povećavajući proizvodnju androgena u teka ćelijama jajnika, istovremeno smanjujući proizvodnju SHBG u jetri (12). Naš rezultat se jednim delom može objasniti i suviše kratkim vremenom primene metformina. Izostanak efekta metformina kod žena sa PCOS na nivo testosterona, SHBG i FAI u našoj studiji u skladu je sa rezultatima nekih drugih studija (32,44). U većini studija u kojima je pokazan povoljan efekat metformina na smanjenje testosterona i FAI istovremeno je pokazano i smanjenje ITM i poboljšanje IR kod žena sa PCOS (34,36), što nije bio slučaj u našoj studiji.

I pored toga što nije došlo do promena u nivou hormona, u našem istraživanju su žene sa PCOS nakon 6 meseci terapije metforminom imale značajno manji stepen hirzutizma meren FG skorom. Treba imati u vidu da je ovaj metod za procenu hirzutizma izuzetno subjektivan i ima tehničke nedostatke (45). I pored toga, naši rezultati su u skladu sa nalazom Kelija (Kelly) i saradnika, koji su pokazali značajno smanjenje stepena hirzutizma kod žena sa PCOS nakon lečenja metforminom iako nije bilo značajnije promene nivoa testosterona i FAI (32). Shodno tome, možemo zaključiti da je u našem istraživanju možda postojao direktan efekat metformina na smanjenje osetljivosti pilosebacealne jedinice na androgene ili da je blaga izmena hormonskog miljea u kojem funkcioniše folikul dlake bila dovoljna za ispoljavanje povoljnih efekata (46).

Povoljan efekat metformina na lipidogram sastoji se u njegovom dejstvu pre svega na smanjenje aterogene dislipidemije (smanjenje TG i povećanje HDL) (47), mada su rezultati u populaciji sa PCOS heterogeni. Tome u prilog govore i potpuno drugačiji nalazi dve skorašnje metaanalize: jedna nije pokazala povoljan efekat metformina na ukupni holesterol i trigliceride (26), dok je druga pokazala značajno sniženje triglicerida (48). Naše žene su pre terapije imale znacajno veće trigliceride u odnosu na ZK, i to je bila jedina razlika u lipidogramu između dve grupe ispitanica. Iako nakon terapije nije došlo do statistički značajnog smanjenja vrednosti TG, ipak je postojala tendencija pada, što je dovelo do toga da se nakon terapije metforminom vrednosti TG između PCOS i ZK ne razlikuju.

Alkalna fosfataza i γ -GT su markeri holestaznog oštećenja jetre (49). Žene sa PCOS imaju sklonost ka postojanju nealkoholne masne bolesti jetre, čijem nastanku značajno doprinosi IR (50). U našem istraživanju su žene sa PCOS inicijalno imale veću koncentraciju ALP u odnosu na ZK. Nakon 6 meseci terapije metforminom došlo je do blagog, statistički neznačajnog smanjenja ALP, ali je to bilo dovoljno da razlika između PCOS nakon terapije i ZK postane neznačajna. Takođe, nakon terapije je u grupi sa

PCOS došlo do statistički granično značajnog smanjenja γ -GT, što je bilo dovoljno da nakon terapije vrednosti ovog markera budu značajno niže u grupi sa PCOS u odnosu na ZK. Ovi nalazi ukazuju na povoljno dejstvo metformina na jetru kod žena sa PCOS i u skladu su sa nalazima drugih istraživača (8,50,51).

Zaključak

U ovom radu smo pokazali da šestomesečno lečenje metforminom u dozi od 2000 mg dnevno kod žena sa PCOS dovodi do značajnog povećanja učestalosti menstrualnih ciklusa, ovulacije i smanjenja stepena hirzutizma. Ovi efekti su nezavisni od dejstva metformina na indeks telesne mase i stepen insulinske rezistencije i najverovatnije su posledica direktnog efekta leka na jajnik, endometrijum i folikul dlake. Kako za šest meseci ipak nije došlo do potpune normalizacije navedenih parametara, može se zaključiti da je za taj efekat neophodno duže lečenje. Dodatno, šestomesečno lečenje metforminom je dovoljan vremenski period da se ispolje povoljna dejstva leka na lipidogram i funkciju jetre.

Literatura

1. Livadas S, Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovary syndrome: definitions, phenotypes and diagnostic approach. *Front Horm Res* 2013;40:1-21
2. Conway GS, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E et al. The Polycystic Ovary Syndrome: an Endocrinological Perspective from the European Society of Endocrinology. *Eur J Endocrinol* 2014;171:489-498
3. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS) *Fertil Steril* 2004;81:19-25
4. Dunaif A, Segal KR, Shelley DR, et al. Evidence for distinctive and intrinsic defects in insulin action in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1992;41:1257-1266
5. Stepto NK, Cassar S, Joham AE, et al. Women with polycystic ovary syndrome have intrinsic insulin resistance on euglycaemic-hyperinsulaemic clamp. *Hum Reprod* 2013;28:777-784
6. Celik C, Tasdemir N, Abali R et al. Progression to impaired glucose tolerance or type 2 diabetes mellitus in polycystic ovary syndrome: a controlled follow-up study. *Fertil Steril* 2014;101:1123-1128 e1121
7. Macut D, Bacevic M, Bozic-Antic I, et al. Predictors of subclinical cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome: interrelationship of dyslipidemia and arterial blood pressure. *Int J Endocrinol* 2015;2015:81261
8. Macut D, Božić-Antić I, Bjekić-Macut J, Tziomalos K. Polycystic ovary syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Endocrinol*. 2017;177(3):R145-R158
9. Dunaif A, Graf M. Insulin administration alters gonadal steroid metabolism independent of changes in gonadotropin secretion in insulin-resistant women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1989;83:23-29

10. Nestler JE, Powers LP, Matt DW, et al. A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:83-89
11. Palomba S, Falbo A, Zullo F, Orio F, Jr. Evidence-based and potential benefits of metformin in the polycystic ovary syndrome: a comprehensive review. *Endocr Rev* 2009;30:1-50
12. Diamanti-Kandarakis E, Christakou CD, Kandaraki E, Economou FN. Metformin: an old medication of new fashion: evolving new molecular mechanisms and clinical implications in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2010;162:193-212
13. Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, et al. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:4565-4592
14. Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care. *Diabetes Care* 2007;30:753-759
15. Desilets AR, Dhakal-Karki S, Dunican KC. Role of metformin for weight management in patients without type 2 diabetes. *Ann Pharmacother* 2008;42:817-826
16. Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, et al. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci (Lond)* 2012;122:253-270
17. Tang T, Lord JM, Norman RJ, Yasmin E, Balen AH. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2012:CD003053
18. Escobar-Morreale HF, Carmina E, Dewailly D et al. Epidemiology, diagnosis and management of hirsutism: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Hum Reprod Update* 2012;18:146-170
19. De Cherney AH, Nathan L, Murphy Goodwin T, Laufer N. *Current Diagnosis and Treatment Obstetrics & Gynecology*. 10th ed. Columbus: The McGraw-Hill Companies; 2006
20. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502
21. Mathur RS, Moody LO, Landgrebe S, Williamson HO. Plasma androgens and sex hormone-binding globulin in the evaluation of hirsute females. *Fertil Steril* 1981;35:29-35
22. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004;27:1487-1495
23. Ladson G, Dodson WC, Sweet SD, et al. The effects of metformin with lifestyle therapy in polycystic ovary syndrome: a randomized double-blind study. *Fertil Steril* 2011;95:1059-1066 e1051-1057
24. Karimzadeh MA, Javedani M. An assessment of lifestyle modification versus medical treatment with clomiphene citrate, metformin, and clomiphene citrate-metformin in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2010;94:216-220
25. Gambineri A, Patton L, Vaccina A, et al. Treatment with flutamide, metformin, and their combination added to a hypocaloric diet in overweight-obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized, 12-month, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3970-3980
26. Morley LC, Tang T, Yasmin E, Norman RJ, Balen AH. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2017;11:CD003053
27. Zhang Q, Celestino J, Schmandt R, et al. Chemopreventive effects of metformin on obesity-associated endometrial proliferation. *Am J Obstet Gynecol* 2013;209:24 e21-24 e12
28. Palomba S, Russo T, Orio F, Jr., et al. Uterine effects of metformin administration in anovulatory women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2006;21:457-465
29. Markowska A, Pawalowska M, Filas V, et al. Does Metformin affect ER, PR, IGF-1R, beta-catenin and PAX-2 expression in women with diabetes mellitus and endometrial cancer? *Diabetol Metab Syndr* 2013;5:76
30. Tan BK, Adya R, Chen J, et al. Metformin treatment exerts antiinvasive and antimetastatic effects in human endometrial carcinoma cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:808-816
31. Naderpoor N, Shorakae S, de Courten B, et al. Metformin and lifestyle modification in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2015;21:560-574
32. Kelly CJ, Gordon D. The effect of metformin on hirsutism in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2002;147:217-221
33. Sahin Y, Yirmibes U, Kelestimur F, Aygen E. The effects of metformin on insulin resistance, clomiphene-induced ovulation and pregnancy rates in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;113:214-220
34. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, Fiorini S, Cognigni GE, Filicori M, Morselli-Labate AM. Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2767-2774
35. Hoeger KM, Kochman L, Wixom N, Craig K, Miller RK, Guzick DS. A randomized, 48-week, placebo-controlled trial of intensive lifestyle modification and/or metformin therapy in overweight women with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Fertil Steril* 2004;82:421-429
36. Morin-Papunen L, Vauhkonen I, Koivunen R, et al. Metformin versus ethinyl estradiol-cyproterone acetate in the treatment of nonobese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:148-156
37. Pau CT, Keefe C, Duran J, Welt CK. Metformin improves glucose effectiveness, not insulin sensitivity: predicting treatment response in women with polycystic ovary syndrome in an open-label, interventional study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(5):1870-1878
38. Ehrmann DA, Cavaghan MK, Imperial J, Sturis J, Rosenfield

- RL, Polonsky KS. Effects of metformin on insulin secretion, insulin action, and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(2):524-530
39. Diamanti-Kandarakis E, Kouli C, Tsianateli T, Bergiele A. Therapeutic effects of metformin on insulin resistant and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 1998;138(3):269-274
40. Diamanti-Kandarakis E, Kouli C, Alexandraki K, Spina G. Failure of mathematical indices to accurately assess insulin resistance in lean, overweight, or obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1273-1276
41. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214-223
42. Tan S, Hahn S, Benson S, et al. Metformin improves polycystic ovary syndrome symptoms irrespective of pre-treatment insulin resistance. *Eur J Endocrinol* 2007;157:669-676
43. Fleming R, Hopkinson ZE, Wallace AM, Greer IA, Sattar N. Ovarian function and metabolic factors in women with oligomenorrhea treated with metformin in a randomized double blind placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:569-574
44. Panidis D, Georgopoulos NA, Piouka A, et al. The impact of oral contraceptives and metformin on anti-Mullerian hormone serum levels in women with polycystic ovary syndrome and biochemical hyperandrogenemia. *Gynecol Endocrinol* 2011;27:587-592
45. Yildiz BO, Bolour S, Woods K, Moore A, Azziz R. Visually scoring hirsutism. *Hum Reprod Update* 2010;16:51-64
46. Azziz R. The evaluation and management of hirsutism. *Obstet Gynecol* 2003;101:995-1007
47. Macut D, Bjekic-Macut J, Savic-Radojevic A. Dyslipidemia and oxidative stress in PCOS. *Front Horm Res* 2013;40:51-63
48. Patel R, Shah G. Effect of metformin on clinical, metabolic and endocrine outcomes in women with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Curr Med Res Opin* 2017;33:1545-1557
49. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ* 2005;172(3):367-379
50. Angelico F, Burattin M, Alessandri C, Del Ben M, Lirussi F. Drugs improving insulin resistance for non-alcoholic fatty liver disease and / or non-alcoholic steatohepatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 1: CD005166
51. Preiss D, Sattar N, Harborne L et al. The effects of 8 months of metformin on circulating GGT and ALT levels in obese women with polycystic ovarian syndrome. *Int. J Clin Pract* 2008; 62, 9, 1337-1343