

### Valutazione dell'induzione dell'ovulazione e dei fattori predittivi di risposta al trattamento con metformina in pazienti anovulatorie affette da PCOS

A.E. PARETO, M.L. FALCO, C. SERINO, R. FUSCO, M.E. FABBRINI, G. DE LUCA, A. VALENTINO, M. OTTAVIANO, A. D'ETTORE, A. TOLINO

**RIASSUNTO:** Valutazione dell'induzione dell'ovulazione e dei fattori predittivi di risposta al trattamento con metformina in pazienti anovulatorie affette da PCOS.

A.E. PARETO, M.L. FALCO, C. SERINO, R. FUSCO, M.E. FABBRINI, G. DE LUCA, A. VALENTINO, M. OTTAVIANO, A. D'ETTORE, A. TOLINO

La PCOS rappresenta la più frequente causa di infertilità anovulatoria interessando il 5-10% delle donne in età riproduttiva. Fra le opzioni terapeutiche per l'induzione dell'ovulazione in pazienti infertili affette da PCOS, è stata proposta la metformina, una biguanide insulino-sensibilizzante, poiché numerosi studi hanno evidenziato che la PCOS è associata ad insulino-resistenza con iperinsulinemia compensatoria. Un problema correlato all'impiego della metformina è relativo al confronto con il farmaco gold standard nell'infertilità anovulatoria, il clomifene citrato, da solo o in combinazione con la metformina, per i risultati discordanti probabilmente secondari alla eterogeneità delle popolazioni studiate e degli schemi di trattamento. Scopo del nostro studio è stato valutare l'induzione della ovulazione ed i fattori predittivi di risposta al trattamento con metformina, somministrata alla dose di 1700 mg/die, come approccio terapeutico di prima scelta in pazienti anovulatorie infertili affette da PCOS. I risultati ottenuti hanno dimostrato, su 408 cicli, un tasso di ovulazione per ciclo del 55.4%, un tasso di gravidanza per ciclo del 10.4%, un tasso di abortività del 19.5% ed un tasso cumulativo di gravidanza del 62.9%. L'impiego di analisi statistica univariata GLM ha evidenziato una significativa influenza ( $P < 0.05$ ) di diversi fattori sulla risposta alla metformina, in particolare età, indice di massa corporea, testosterone e indici di insulino-resistenza (HOMA, GIR e insulinenia basale). Lo studio condotto, quindi, individua l'efficacia di impiego della metformina in relazione ad una serie di fattori predittivi di risposta che potranno guidare la scelta terapeutica al fine di ottimizzare il trattamento dell'infertilità anovulatoria nelle pazienti con PCOS.

**SUMMARY:** Evaluation of ovulation induction and predictor factors of response to treatment with metformin in anovulatory patients with PCOS.

A.E. PARETO, M.L. FALCO, C. SERINO, R. FUSCO, M.E. FABBRINI, G. DE LUCA, A. VALENTINO, M. OTTAVIANO, A. D'ETTORE, A. TOLINO

The most common cause of anovulatory infertility is PCOS, which affects 5-10% of women during reproductive age. Among the treatment options for ovulation induction in infertile patients with PCOS, metformin (a biguanide antidiabetic medication) has been proposed because numerous studies have shown that PCOS is associated with insulin resistance and compensatory hyperinsulinemia. A problem related to the use of metformin in comparison with the gold standard drug for anovulatory infertility, clomiphene citrate, alone or in combination with metformin, gave discordant results probably secondary to the heterogeneity of the populations studied and treatment schemes. The aim of our study was to evaluate the induction of ovulation and predictors of response to treatment with metformin, administered at a dose of 1700 mg/day, as a therapeutic approach of choice in infertile anovulatory patients with PCOS. The results obtained showed that on 408 cycles, there was an ovulation rate per cycle of 55.4%, a pregnancy rate per cycle of 10.4%, an abortion rate of 19.5% and a cumulative pregnancy rate of 62.9%. The use of univariate statistical analysis GLM showed a significant influence ( $P < 0.05$ ) of various factors on the response to metformin, in particular, age, body mass index, testosterone and indices of insulin resistance (HOMA, GIR and insulin baseline). The study then identified the effectiveness of the use of metformin in relation to a number of factors predictive of response, that can guide the therapeutic choice to optimize treatment of infertility in anovulatory patients with PCOS.

KEY WORDS: PCOS - Metformina - Induzione dell'ovulazione.  
PCOS - Metformin - Ovulation induction.

### Introduzione e obiettivo dello studio

La PCOS (sindrome dell'ovaio policistico) rappresenta la più frequente causa di infertilità anovulatoria ed interessa il 5-10% delle donne in età riproduttiva.

Diverse opzioni terapeutiche sono state proposte per l'induzione dell'ovulazione in pazienti infertili affette da PCOS. Tra queste, è stata recentemente introdotta la metformina, una biguanide insulino-sensibilizzante già utilizzata per il trattamento del diabete mellito di tipo 2. La sua principale azione farmacologica consiste nell'inibire la gluconeogenesi epatica ma anche nell'aumentare il consumo periferico di glucosio e l'insulino-sensibilità. La metformina esercita un'azione diretta sull'utero e le ovaie migliorando il microambiente periferico con una riduzione dell'insulino-resistenza e dell'iperandrogenismo. Diverse evidenze scientifiche mostrano che la metformina è un farmaco sicuro ed efficace e rappresenta una valida opzione terapeutica per l'induzione dell'ovulazione nella PCOS. È stata dimostrata, infatti, la sua efficacia in confronto al placebo in termini di tasso di ovulazione mentre non è stato possibile trarre alcuna conclusione circa la sua efficacia sugli altri outcome riproduttivi.

Inoltre, pochi studi clinici randomizzati controllati (RCTs) sono stati pubblicati al fine di valutare il più efficace approccio terapeutico di prima scelta confrontando la metformina con il farmaco considerato il *gold standard* nell'infertilità anovulatoria, il clomifene citrato (CC), da solo o in combinazione con la metformina stessa, dando risultati discordanti probabilmente secondari alla notevole eterogeneità delle popolazioni studiate e degli schemi di trattamento. Uno dei principali problemi correlato all'impiego della metformina è dato dalla mancanza di fattori predittivi di risposta che ottimizzino il trattamento.

Scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'induzione della ovulazione ed i fattori predittivi di risposta al trattamento con metformina, somministrata alla dose fissa di 1700 mg/die, come approccio terapeutico di prima scelta in pazienti anovulatorie infertili affette da PCOS.

## Pazienti e metodi

Tra febbraio 2009 ed aprile 2010 sono state arruolate 80 donne con PCOS affette da infertilità anovulatoria, che si erano recate presso gli ambulatori del Dipartimento di Scienze Ostetrico-Ginecologiche, Urologiche e Medicina della Riproduzione dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II", lamentando segni e/o sintomi della sindrome dell'ovaio policistico con infertilità anovulatoria.

Le pazienti, di età compresa tra 21 e 33 anni, non sono state selezionate in base al peso, BMI o desiderio di gravidanza, ma secondo i criteri di Rotterdam (almeno 2 dei 3 sintomi seguenti: oligo-ovulazione e/o anovulazione, iperandrogenismo, cisti ovariche osservate mediante l'ecografia con esclusione di altri disor-

dini che possano causare cisti ovariche). Esse sono state sottoposte ad ecografia transvaginale in fase follicolare precoce (5° giorno). Sono stati inoltre misurati i livelli ematici di androstenedione, DHEA, testosterone, DHT, estrone, LH e FSH. Ne è stato effettuato un singolo dosaggio, al momento della selezione delle pazienti, allo scopo di includerle correttamente nello studio con diagnosi certa di PCOS. Quindi la diagnosi di PCOS è stata formulata sulla base della presenza di iperandrogenismo clinico e/o biochimico ed anovulazione cronica.

Sono state escluse pazienti affette da altre patologie neoplastiche, endocrine, metaboliche, epatiche, renali e cardiovascolari o pazienti che avessero fatto uso negli ultimi sei mesi di contraccettivi orali, glucocorticoidi, antiandrogeni induttori dell'ovulazione, antidiabetici ed altri farmaci ormonali. Sono state inoltre escluse pazienti con patologie pelviche o sospetti fattori di infertilità/subfertilità peritoneale, tubarica e maschile.

Tutte le pazienti sono state trattate con metformina alla dose di 1700 mg/die. La somministrazione di metformina è iniziata con una compressa da 850 mg/die per una settimana, incrementando fino a 1700 mg/die la settimana successiva (Tab. 1). Il trattamento è stato sospeso in caso di gravidanza o di persistenza di anovulazione dopo sei mesi di terapia, mentre le pazienti ovulatorie hanno proseguito la somministrazione di metformina per un totale di sei cicli ovulatori.

Impiego della metformina (dose)	
Prima settimana	850 mg/die
Settimane successive fino a sei cicli ovulatori (*)	1700 mg/die
* trattamento sospeso in caso di gravidanza o di persistenza di anovulazione dopo 6 mesi di terapia.	

Durante lo studio sono stati valutati i tassi di ovulazione, gravidanza, abortività, nati vivi ed eventi avversi.

## Risultati

In tutti i casi sono stati soddisfatti i criteri di diagnosi di PCOS dell'*European Society for Human Reproduction and Embryology* (ESHRE)/*American Society of Reproductive Medicine* (ASRM) e del *National Institutes of Health* (NIH). In occasione dell'ASRM/ESHRE tenutosi a Rotterdam nel maggio 2003 sono stati proposti nuovi criteri di diagnosi:

1. iperandrogenismo clinico o biologico;

2. anovulazione cronica;
3. ovaie policistiche.

La diagnosi richiede almeno due dei suddetti criteri. A Rotterdam fu quindi concordata una nuova definizione di PCOS che, per la prima volta, includeva una descrizione della morfologia dell'ovaio policistico. Infatti, tutte le pazienti arruolate presentavano ovaie policistiche all'esame ecografico.

Il tasso di pazienti magre, normopeso, sovrappeso ed obese è stato, rispettivamente, dell'11.1%, 28.6%, 37.1% e 22.9%.

Cinque donne sono state escluse dall'analisi finale perché non si sono presentate alla prima visita di *follow-up*.

I cicli studiati sono stati in totale 408. Al termine dello studio sono stati osservati un tasso di ovulazione per ciclo del 55.4%, un tasso di gravidanza per ciclo del 10.4%, un tasso di abortività del 19.5% ed un tasso cumulativo di gravidanza del 62.9% (Tab. 2).

Non è stato registrato alcun caso di gravidanza multipla. Nessun evento avverso severo è stato osservato durante il periodo di studio.

	Tasso per ciclo (%)
Tasso di ovulazione	55.4
Tasso di gravidanza	10.4
Tasso di abortività	19.5
Tasso cumulativo di gravidanza	62.9
Tasso di gravidanza multipla	0

L'impiego di analisi statistica univariata GLM ha messo in evidenza una significativa influenza ( $P < 0.05$ ) di diversi fattori sulla risposta alla metformina. In particolare, l'età, l'indice di massa corporea (IMC o BMI), i livelli di testosterone e gli indici di insulino-resistenza [*homeostasis model of assessment* (HOMA), rapporto glucosio-insulina basali (GIR), e livelli basali di insulina] sono risultati tutti fattori predittivi di risposta al trattamento.

Il parametro che più significativamente ha influenzato i nostri risultati è stato l'IMC.

La nostra popolazione è stata inoltre stratificata per i singoli fattori predittivi (iperandrogenismo, insulino-resistenza e IMC) e le maggiori differenze di risposta sono state rilevate nella popolazione classificata per IMC.

## Discussione e conclusioni

Il nostro studio è stato condotto al fine di valutare l'induzione dell'ovulazione ed i fattori predittivi di risposta al trattamento con metformina.

I nostri risultati hanno confermato che la metformina è un farmaco sicuro ed efficace nel trattamento dell'infertilità anovulatoria correlata alla PCOS. Gli RCT riportati in letteratura danno risultati contrastanti per quanto riguarda il confronto con il CC o la combinazione dei due farmaci. Una recente metanalisi ha confermato le incongruenze dei risultati degli RCT considerati ma ha evidenziato la significativa eterogeneità degli studi e, pertanto, l'impossibilità di trarre dati conclusivi. Una delle possibili spiegazioni a tale situazione è certamente dovuta alle caratteristiche disomogenee delle popolazioni confrontate. Tale dato suggerisce una possibile influenza di queste sulla risposta al trattamento.

Come già dimostrato per il CC, il nostro studio, mediante l'analisi statistica univariata GLM, ha messo in evidenza una significativa influenza di diversi fattori sulla risposta alla metformina. In particolare, l'IMC, l'iperandrogenemia e l'insulino-resistenza hanno influenzato significativamente la risposta alla metformina in termini di ovulazione.

Inoltre, al fine di individuare quale tra questi fattori possa essere il più determinante per una risposta ovulatoria, la nostra popolazione è stata suddivisa in base ai diversi fattori predittivi e le maggiori differenze di risposta si sono osservate nelle popolazioni classificate per IMC.

È stato già ampiamente dimostrato in numerosi studi come la metformina determini un miglioramento significativo della ciclicità mestruale, il ripristino della capacità ovulatoria, una riduzione dei livelli di androgeni circolanti ed un'attenuazione dell'insulino-resistenza e delle alterazioni metaboliche a questa associate.

L'insulino-resistenza (IR) con l'iperinsulinemia compensatoria è, infatti, una condizione pressoché costante nelle donne affette da PCOS. L'insulina, come l'IGF-I, è un importante regolatore della funzione ovarica, influenzando direttamente e indirettamente la steroidogenesi e lo stato androgenico. L'insulina agisce direttamente sulle cellule della teca ovarica, attivando il citocromo P450c17, enzima chiave nella sintesi degli androgeni, ed inoltre potenzia la sintesi di androgeni indotta dall'ormone luteinizzante. Ma agisce anche indirettamente sopprimendo i livelli circolanti di SHBG, con conseguente aumento del testosterone libero. Può sopprimere la sintesi epatica della proteina 1 di legame delle IGF (IGFBP-1), aumentando così la biodisponibilità di IGF-I. Sembra inoltre possibile che l'insulina possa agire a livello ipotalamico modificando la secrezione pulsatile di LH, influenzando anche in questo modo la steroidogenesi gonadica. Sul metabolismo agisce riducendo l'attività dell'aromatasi ed aumentando quella della 5- $\alpha$ -reduktasi. Infine, a livello surrenalico induce l'attività dell'enzima p450c17a e

sensibilizza tale enzima alla stimolazione da parte dell'ACTH.

Il meccanismo molecolare più probabilmente responsabile dell'IR nella PCOS sarebbe una alterata fosforilazione del recettore insulinico, con conseguente difetto nella trasduzione del segnale. Nelle donne con PCOS il tessuto ovarico rimane sensibile all'azione dell'insulina, nonostante esista una resistenza sistemica all'ormone. La stimolazione ovarica sembra infatti coinvolgere un sistema di trasduzione del segnale diverso da quello per il trasporto del glucosio, in particolare un differente secondo messaggero, probabilmente l'inositolfosfoglicano.

A seguito del trattamento con metformina alla dose di 1700 mg/die, iniziando con una compressa da 850 mg/die per una settimana ed incrementando fino a 1700 mg/die la settimana successiva, è stato osservato al termine dello studio, e cioè fino a sei cicli ovulatori per un totale di 408 cicli, un tasso di ovulazione per ciclo del 55.4%, un tasso di gravidanza per ciclo del 10.4%, un tasso di abortività del 19.5% ed un tasso cumulativo di gravidanza del 62.9%, mentre non è stato registrato alcun caso di gravidanza multipla; inoltre, nessun evento avverso severo è stato osservato durante il periodo di studio.

L'uso della metformina determina un miglioramento significativo della ciclicità mestruale, il ripristino della capacità ovulatoria, una riduzione dei livelli di androgeni circolanti, un'attenuazione dell'insulino-resistenza e delle alterazioni metaboliche a questa associate, un miglioramento del quadro ecografico delle ovaie policistiche con una riduzione significativa del volume ovarico, in particolare in relazione all'influenza di diversi fattori predittivi dell'efficacia del trattamento (l'età, l'indice di massa corporea IMC, i livelli di testosterone e gli indici di insulino-resistenza - *homeostasis model of assessment* (HOMA), rapporto glucosio-insulina basali (GIR), livelli basali di insulina).

Lo studio condotto individua quindi l'efficacia di impiego della metformina in relazione ad una serie di fattori predittivi di risposta che potranno nel prossimo futuro guidare la scelta terapeutica al fine di personalizzare il trattamento dell'infertilità anovulatoria nelle pazienti PCOS ottimizzandone l'impiego e riducendo al minimo gli eventi avversi correlati al trattamento. In particolare, IMC, età, androgeni ed insulino-resistenza influenzano l'efficacia del trattamento con metformina, sebbene l'IMC sembri essere il maggior determinante di risposta clinica.

## Bibliografia

1. The 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) (2004) *Hum Reprod* 19, 41-47.
2. Hull MG (1987) Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: endocrinological and demographic studies. *Gynecol Endocrinol* 1, 235-245.
3. Frank S (1995) Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 333, 853-861.
4. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO (2004) The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab* 89, 2745-2749.
5. Stummvoll M, Nurjhan N, Perriello G, Dailey G, Gerich JE (1995) Metabolic effects of metformin in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 333, 550-554.
6. Bailey CJ, Turner RC (1996) Metformin. *N Engl J Med* 334, 574-579.
7. Costello MF, Eden JA (2003) A systematic review of the reproductive system effects of metformin in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 79, 1-13.
8. Lord JM, Flight IH, Norman RJ (2003) Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 327, 951-953.
9. Kashyap S, Wells GA, Rosenwaks Z (2004) Insulin-sensitizing agents as primary therapy for patients with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 19, 2474-2483.
10. Siebert TI, Kruger TF, Steyn DW, Nosarka S (2006) Is the addition of metformin efficacious in the treatment of clomiphene citrate-resistant patients with polycystic ovary syndrome? A structured literature review. *Fertil Steril* 86, 1432-1437.
11. Palomba S, Orio F Jr, Falbo A, Manguso F, Russo T, Cascella T, Tolino A, Carmina E, Colao A, Zullo F (2005) Prospective parallel randomized, double-blind, double-dummy controlled clinical trial comparing clomiphene citrate and metformin as the first-line treatment for ovulation induction in nonobese anovulatory women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 90, 4068-4074.
12. Moll E, Bossuyt PM, Korevaar JC, Lambalk CB, van der Veen F (2006) Effect of clomifene citrate plus metformin and clomifene citrate plus placebo on induction of ovulation in women with newly diagnosed polycystic ovary syndrome: randomized double blind clinical trial. *BMJ* 332, 1485.
13. Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, Carr BR, Diamond MP, Carson SA, Steinkampf MP, Coutifaris C, McGovern PG, Cataldo NA, Gosman GG, et al.; Cooperative Multicenter Reproductive Medicine Network (2007) Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 356, 551-566.
14. Zawadzki JK and Dunaif A (1992) Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GR, eds. *Polycystic ovary syndrome*. Boston: Blackwell, pp. 337-384.
15. Balen AH, Laven JS, Tan SL and Dewailly D (2003) Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum Reprod Update* 9, 505-514.
16. Palomba S, Pasquali R, Orio F, Nestler JE (2007) Clomiphene

- citrate versus metformin or both as first-step approach in treating anovulatory infertility in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update (in press).
17. Imani B, Eijkemans MJC, te Velde ER, Habbema JD, Fauser BCJM (1998) Predictors of patients remaining anovulatory during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrheic infertility. J Clin Endocrinol Metab 83, 2361-2365.
  18. Imani B, Eijkemans MJC, te Velde ER, Habbema JDF, Fauser BCJM (1999) Predictors of chances to conceive in ovulatory patients during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrheic infertility. J Clin Endocrinol Metab 84, 1617-1622.
- 

© CIC Edizioni Internazionali