

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas**

**Efeito da metformina sobre os níveis de IGF-1 e IGFBP-1, em pacientes obesas com
Síndrome dos Ovários Policísticos**

Aluno: Samuar Albano Seibel

Orientadora: Profa. Dra. Helena von Eye Corleta

Co-orientador: Prof. Dr. Edison Capp

Dissertação de Mestrado

2005

DEDICATÓRIAS

A minha Família, especialmente meus pais Albano Seibel (*in memorian*) e Odila Seibel, pelo incentivo, carinho e apoio.

A Lissandro Gehlen Kronhardt, pelo auxílio e estímulo a este trabalho.

S457e Seibel, Samuar Albano

Efeito da metformina sobre os níveis de IGF-1 e IGFBP-1, em pacientes obesas com Síndrome dos Ovários Policísticos / Samuar Albano Seibel ; orient. Helena von Eye Corleta ; co-orient. Edison Capp. – 2005.

92 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2005.

1. Síndrome do ovário policístico 2. Obesidade 3. Fator de crescimento insulin-like I 4. Proteína 1 de ligação a fator de crescimento insulin-like 5. Metformina I. Capp, Edison II. Corleta, Helena von Eye III. Título

NLM: WP 320

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

AGRADECIMENTOS

À Professora Helena von Eye Corleta pelo incentivo, carinho, orientação exemplar e suporte científico na realização deste trabalho.

Ao Professor Edison Capp pelas sugestões, críticas e coordenação objetiva em vários aspectos deste estudo.

À Doutora Chou Kai Hua pelo incentivo, palavras amigas e pelo exemplo profissional.

À Professora Poli Mara Spritzer pelo auxílio a este trabalho.

À FIPE-HCPA pelo auxílio financeiro a este trabalho.

A todas as pacientes que participaram deste estudo, pela paciência, disponibilidade e adesão a este trabalho.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | 5 |
| LISTA DE FIGURAS | 7 |
| LISTA DE TABELAS | 8 |
| INTRODUÇÃO | 9 |
| 1.0 Fisiopatologia da SOP | 11 |
| REVISÃO DA LITERATURA..... | 20 |
| TRATAMENTO DA SOP | 20 |
| 2.1 Uso da metformina na SOP | 22 |
| OBJETIVOS..... | 27 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 28 |
| ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS..... | 37 |
| Effect of metformin on IGF-1 and IGFBP-1 levels in obese patients with polycystic ovarian syndrome | 37 |
| ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS | 60 |
| Efeito da metformina sobre os níveis de IGF-1 e IGFBP-1, em pacientes obesas com Síndrome dos Ovários Policísticos..... | 60 |
| ANEXOS | 83 |
| Anexo 1 | 84 |
| Anexo 2..... | 89 |

LISTA DE ABREVIATURAS

SOP: Síndrome dos Ovários Policísticos

OP: Ovários Policísticos

ESHRE: The European Society for Human Reproduction and Embriology (Sociedade Européia de Reprodução Humana e Embriologia)

ASRM: American Society for Reproductive Medicine (Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva)

mm: Milímetros

cm³: Centímetros Cúbicos

DM: Diabete Mellitus

cm : Centímetros

GnRH: Gonadotropin Releasing Hormone (Hormônio Liberador de Gonadotrofinas)

LH: Luteinizing Hormone (Hormônio Luteinizante)

FSH: Follicle Stimulating Hormone (Hormônio Folículo Estimulante)

SHBG: Sex Hormone Binding Globulin (Globulina Transportadora de Hormônios Sexuais)

StAR: Steroidogenic Acute Regulator Protein (Proteína Reguladora da Esteroidogênese)

Aguda)

3_-HSD: 3_-Hidroxiesteróide Desidrogenase

ACTH: Adrenocorticotropic Hormone (Hormônio Adrenocorticotrópico)

IGFs: Insulin-Like Growth Factors (Fatores de Crescimento Semelhante à Insulina)

IGF-1: Insulin-Like Growth Factor 1 (Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1)

IGFBP-1: Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 1 (Proteína Ligadora do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1)

IGF-2: Insulin-Like Growth Factor 2 (Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 2)

IGFBPs: Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins (Proteínas Ligadoras do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina)

GH: Growth Hormone (Hormônio do Crescimento)

DNA: Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucléico)

AMPK: Activated Protein Kinase (Ativador da Proteína Quinase)

mg: Miligramas

cols: Colaboradores

FIV: Fertilização *In Vitro*

IMC: Índice de Massa Corporal

Kg/m_: Quilogramas por Metro Quadrado

µg: Microgramas

IC: Intervalo de Confiança

LDL: Low Density Lipoprotein (Lipoproteína de Densidade Baixa)

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---------------|----|
| FIGURA 1..... | 12 |
| FIGURA 2..... | 14 |
| FIGURA 3..... | 17 |
| FIGURA 4..... | 76 |
| FIGURA 5..... | 77 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|----------------|----|
| TABELA 1 | 73 |
| TABELA 2 | 74 |
| TABELA 3 | 75 |

INTRODUÇÃO

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é o distúrbio endócrino-metabólico, que mais freqüentemente afeta mulheres em idade reprodutiva, com uma prevalência de 5 a 10%. Mesmo sendo comum, é uma das endocrinopatias femininas menos compreendida.

Em 2003, um consenso entre a Sociedade Européia de Reprodução e Embriologia Humana (ESHRE - *The European Society for Human Reproduction and Embriology*) e a Sociedade Americana para Medicina Reprodutiva (ASRM - *American Society for Reproductive Medicine*), em Rotterdam, Holanda, definiu critérios diagnósticos e fatores de risco a longo prazo relacionados com SOP. Neste consenso, definiu-se SOP como uma síndrome de disfunção ovariana que apresenta no mínimo dois dos três critérios a seguir: oligomenorréia ou anovulação; sinais clínicos e/ou bioquímicos de hiperandrogenismo e ovários policísticos à ecografia, devendo ser excluídas causas secundárias como hiperplasia adrenal congênita, tumores secretores de androgênio e síndrome de Cushing (1-3).

A anovulação crônica é manifestada por oligomenorréia (menos de nove períodos menstruais por ano) ou amenorréia, produzindo sangramento uterino disfuncional e diminuição da fertilidade.

O hirsutismo é o primeiro sinal clínico de hiperandrogenismo, embora sua caracterização às vezes seja dificultada pelas diferenças raciais e também pela falta de utilização de escores padronizados. O Escore de Ferriman & Gallwey é um dos métodos semi-quantitativos simples para avaliação da distribuição e intensidade do excesso de pêlos (4). A acne é outro indicador de hiperandrogenismo, entretanto existem estudos discordantes quanto às dosagens séricas de androgênios em pacientes com acne (2, 5-7). A alopecia androgênica, quando presente em pacientes com oligomenorréia, é um bom marcador do hiperandrogenismo (8). A dificuldade em definir o hiperandrogenismo através de dosagens séricas ocorre devido a inacurácia e a variabilidade de métodos comumente empregados (9). Apesar destas limitações, dosagens elevadas de androstenediona, testosterona (total ou livre), são evidências bioquímicas de hiperandrogenismo (10).

O ovário policístico (OP) foi definido morfológicamente como um ovário com 12 ou mais folículos, medindo entre 2-9 mm de diâmetro ou um aumento de volume ovariano acima de 10 cm³. Entretanto, OP pode existir sem os sinais clínicos da SOP, cuja expressão pode ser precipitada por vários fatores, predominantemente por aumento de peso corporal (1).

A hiperinsulinemia, cuja manifestação clínica é *acanthosis nigricans*, é detectada em 20 a 50 % das pacientes com SOP que, independentemente da obesidade, têm uma maior incidência de resistência à insulina quando comparadas a mulheres sem SOP (11). Estas mulheres também têm maior risco de apresentarem Diabete Mellitus (DM) Insulino-Independente em idade jovem, cuja prevalência é estimada em 1,5 % para as magras e 7,5 % para as obesas com SOP (12).

Obesidade, hiperinsulinemia, hiperandrogenismo, distribuição androgênica de gordura (medida circunferência abdominal > 88 cm) são aspectos comumente vistos na SOP, que conferem um aumento do risco de doença cardiovascular e de DM do tipo II. Estas alterações ultrapassam o sistema reprodutivo e tornam as pacientes com SOP candidatas a apresentarem hipertensão arterial, perfil lipídico aterogênico, obesidade, intolerância a glicose e DM tipo II precocemente (13).

1.1 Fisiopatologia da SOP

Muitos autores buscam na fisiopatologia a elucidação desta síndrome, que é multifatorial e poligênica, pois, isoladamente, nenhum fator etiológico único justifica o amplo espectro de anormalidades encontrado na SOP (1, 13). Estudos indicam uma suscetibilidade genética para esta desordem, sendo que pelo menos 50 % a 87 % de parentes em primeiro grau de mulheres com SOP manifestarão algum sinal ou sintoma (14). Entretanto, não existem evidências de alterações cromossômicas em SOP.

Todos os níveis do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, que resultam no aumento da biossíntese de androgênios ovarianos, parecem estar envolvidos nas alterações da SOP (figura 1). No hipotálamo, ocorre um aumento na pulsatilidade da secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH - *Gonadotropin Releasing Hormone*), com aumento da secreção hipofisiária do hormônio luteinizante, (LH - *Luteinizing Hormone*), em relação ao hormônio folículo estimulante (FSH - *Follicle Stimulating Hormone*), resultando no aumento da produção androgênica pelas células da teca e na atresia folicular. Não está completamente esclarecido se o aumento da pulsatilidade do LH, é devido a uma anormalidade intrínseca no hipotálamo, gerador do pulso de GnRH ou se é causada pelos

níveis baixos de progesterona devido a anovulação (13). Existem alguns fatores que podem influenciar a atividade do GnRH: β endorfinas e peptídeos opiáceos, angiotensina II, serotonina, neuropeptídeo Y, neurotensina, somatostatina, fator liberador da corticotropina, dopamina, melatonina, norepinefrina, oxitocina e substância P. A inter-relação destas substâncias com GnRH não está completamente elucidada (1).

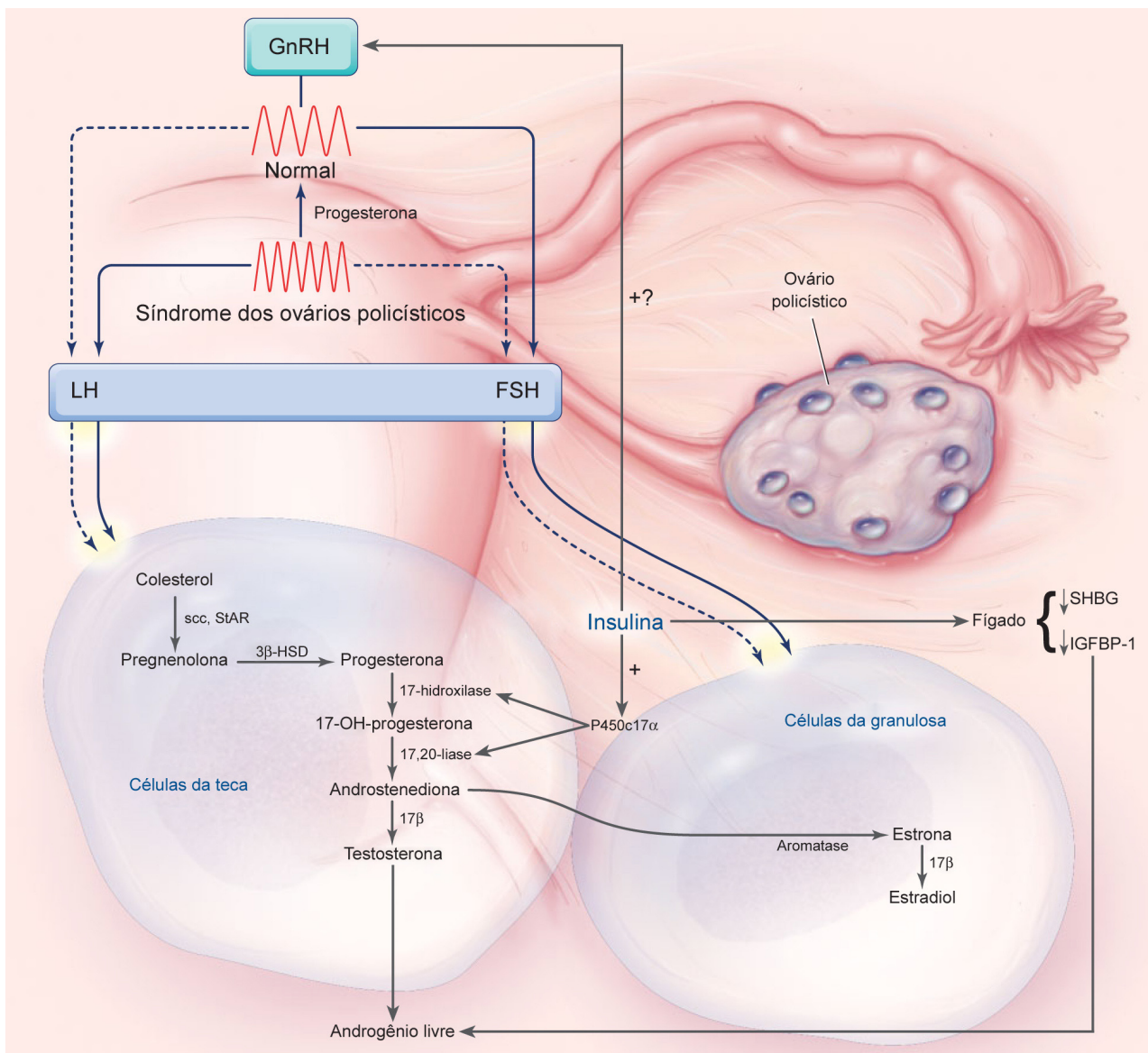


Figura 1 - O aumento da biossíntese de andrógenos ovarianos em SOP resulta da anormalidade em todos os níveis do eixo hipotálamo-hipófise-ovário. Aparentemente, o aumento da frequência dos pulsos de LH ocorre devido ao aumento da frequência dos

pulsos de GnRH, favorecendo a produção de LH em detrimento ao FSH em mulheres com SOP, nas quais a progesterona pode restringir a frequência de pulsos rápidos. O aumento da secreção de LH aumenta a produção de andrógenos nas células da teca. O aumento na conversão dos precursores androgênicos nas células da teca aumenta a produção de androstenediona, a qual é convertida pela 17 α em testosterona ou aromatizada para formar estrona e estradiol. A insulina atua sinergicamente com LH na produção de androgênios inibindo a produção hepática da globulina transportadora de hormônios sexuais (SHBG - *Sex Hormone Binding Globulin*), atuando no citocromo P450c17 ou através de uma provável ação central no hipotálamo.

Fonte: figura extraída e modificada do artigo de David A. Ehrmann (13).

No ovário, a transferência intracelular do colesterol é realizada pela proteína esteroidogênica reguladora aguda (StAR – *Steroidogenic Acute Regulator Protein*). Nas células da teca ocorre a conversão enzimática de colesterol em pregnenolona pela enzima P450scc, a qual é convertida em progesterona pela 3 α -hidroxiesteróide desidrogenase (3 α -HSD). Através das enzimas 17-hidroxilase e 17,20-liase, as quais são mediadas pelo citocromo P450c17, a progesterona é convertida em 17-hidroxiprogesterona e androstenediona, respectivamente. Após estas etapas, androstenediona é convertida por 17 α -hidroxiesteróide desidrogenase (17 α) em testosterona ou aromatizada (enzima aromatase) para formar estrona e estradiol, nas células da granulosa. Sendo assim, o fator limitante na formação androgênica é a expressão das enzimas do gene do citocromo P450c17, que é absolutamente dependente dos hormônios tróficos, LH no ovário e do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH- *Adrenocorticotropic Hormone*) no córtex adrenal. A síntese estrogênica é modulada pela oferta de androgênios e pela presença da enzima aromatase, que é estimulada pelo FSH. Outros hormônios tróficos, que incluem a insulina e os fatores de crescimento semelhante à insulina (IGFs - *Insulin-Like Growth Factors*), também têm papel na esteroidogênese

ovariana. Existem numerosos fatores moduladores autócrinos, parácrinos e endócrinos que modulam o efeito tanto do LH quanto da insulina na produção de andrógenos nas células da teca. Andrógenos e estrógenos são moduladores negativos do efeito do LH, enquanto os IGFs são moduladores positivos. A insulina, através de seus próprios receptores ou via receptores do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1 - *Insulin-Like Growth Factor 1*), atua sinergicamente com o LH, aumentando a produção androgênica, também inibe a produção hepática de SHBG, aumentando a porção biologicamente ativa de testosterona (testosterona livre) (1, 13, 15) (Figura 2).

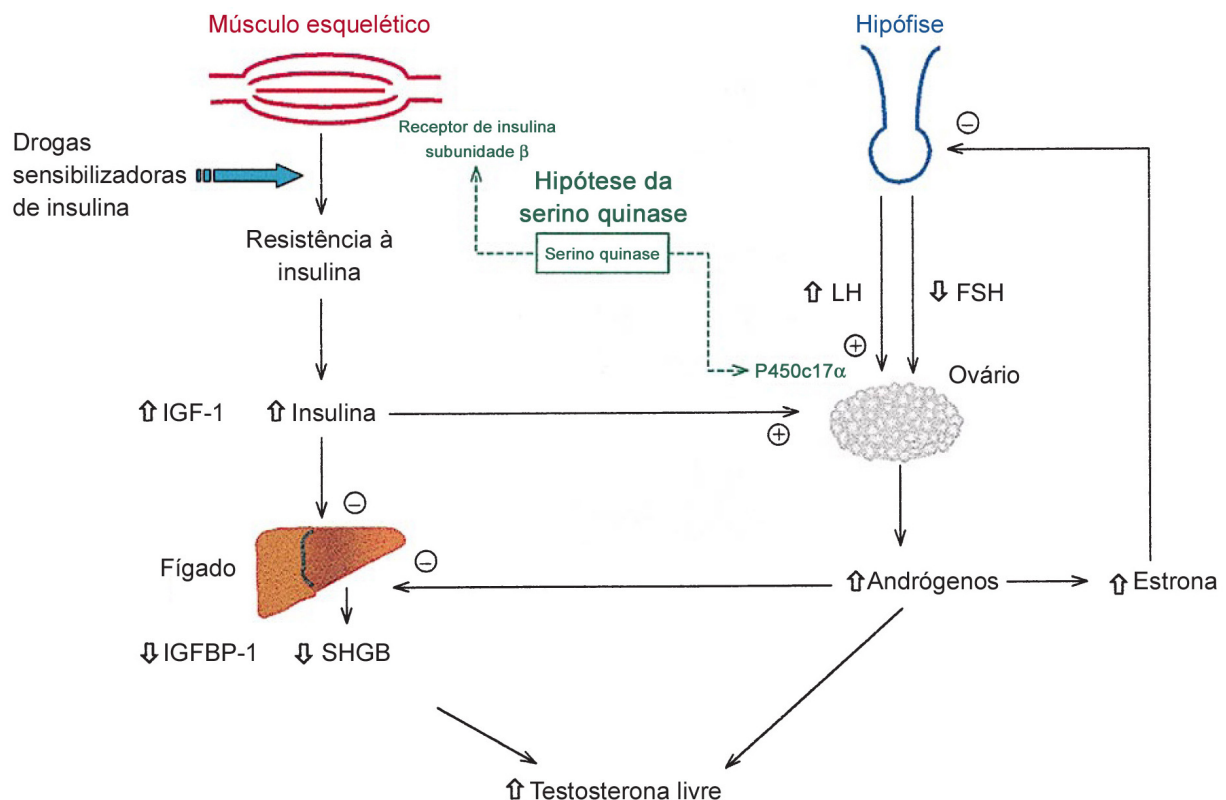


Figura 2 – Patogênese hormonal e metabólica da SOP. O aumento do LH estimula as células da teca na produção de andrógenos, os quais inibem a SHBG e da proteína ligadora do fator de crescimento semelhante à insulina (IGFBP-1 - *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1*) aumentando a fração livre de andrógenos. A conversão periférica de andrógenos em estrona resulta num estímulo negativo no hipotálamo e na

hipófise, com inibição do FSH, que inibe a maturação folicular e causa ciclos anovulatórios. Estas alterações hormonais causam a formação de cistos no ovário. A resistência à insulina e o aumento do IGF-1 é manifestada por hiperinsulinemia e graus variados de intolerância a glicose.

Fonte: figura extraída e modificada do artigo de Steven J. Hunter e col. (16).

A maioria das mulheres com SOP apresenta uma resistência periférica à insulina envolvendo músculo esquelético e o tecido adiposo, que resulta em hiperinsulinemia compensatória (17). Estas alterações afetam tanto mulheres obesas como magras com SOP, sendo a resistência à insulina maior nas obesas (18). Estudos clínicos têm demonstrado diminuição nos níveis de testosterona sérica e melhora da sensibilidade à insulina em mulheres com SOP que perderam peso (16, 19).

Muito se tem debatido se a hiperandrogenemia é primária ou secundária à resistência à insulina. Uma visão é de que a resistência à insulina seja o evento inicial, através da estimulação da atividade ovariana do citocromo P450c17_ (20, 21). Alternativamente, hiperandrogenismo pode causar resistência à insulina, através da excessiva secreção hipofisária de LH. A administração de androgênios exógenos ou anticoncepcionais contendo progestogênios com atividade androgênica podem causar intolerância à glicose (22). Entretanto, nem a supressão da produção androgênica ovariana ou a ooforectomia são associadas com a melhora da sensibilidade à insulina em mulheres com SOP (22).

A teoria mais provável em relação à SOP, talvez seja uma combinação de defeitos separados na ação da insulina e na síntese ovariana de esteróides sendo que estas anormalidades são mutuamente exacerbatórias (16).

A resistência à insulina em SOP, provavelmente seja resultado de um defeito nas

etapas iniciais da transdução da insulina, cujo mecanismo de resistência tem sido estudado no músculo esquelético e tecido adiposo (23, 24). No músculo esquelético, a subunidade β do receptor de insulina exibe um excesso de fosforilação nos resíduos de serina associado com decréscimo na autofosforilação do estímulo insulínico da tirosina e na atividade da tirosina quinase (25). A estrutura do gene do receptor da insulina é normal nos pacientes com SOP e a fosforilação da serina parece ser induzida por uma proteína quinase e serina /treonine extrínseca. Estudos em adipócitos isolados de pacientes com SOP também demonstram um decréscimo da sensibilidade da insulina para a estimulação tanto do transporte de glicose como da anti-lipólise, apesar do número normal e da afinidade dos receptores de insulina na superfície das células (26-29).

Com a descoberta da resistência à insulina e hiperinsulinemia compensatória na patofisiologia da SOP, outros fatores relacionados à insulina começaram a ser pesquisados. Os fatores de crescimento semelhantes à insulina e a insulina, atuando em conjunto ou separadamente com o LH, podem ser responsáveis, ao menos em parte, pela esteroidogênese anormal, observada em inúmeros estados hiperandrogênicos e hiperinsulinêmicos, como síndromes de resistência a insulina tipo A e B ou síndrome dos ovários policísticos (30). O aumento da insulina e dos níveis de IGF-1 podem agir diretamente nas células intersticiais da teca, através dos receptores de insulina, como dos receptores do IGF-1 e IGF-2 (*Insulin-like Growth Factor 2*) (31, 32). Figura 3.

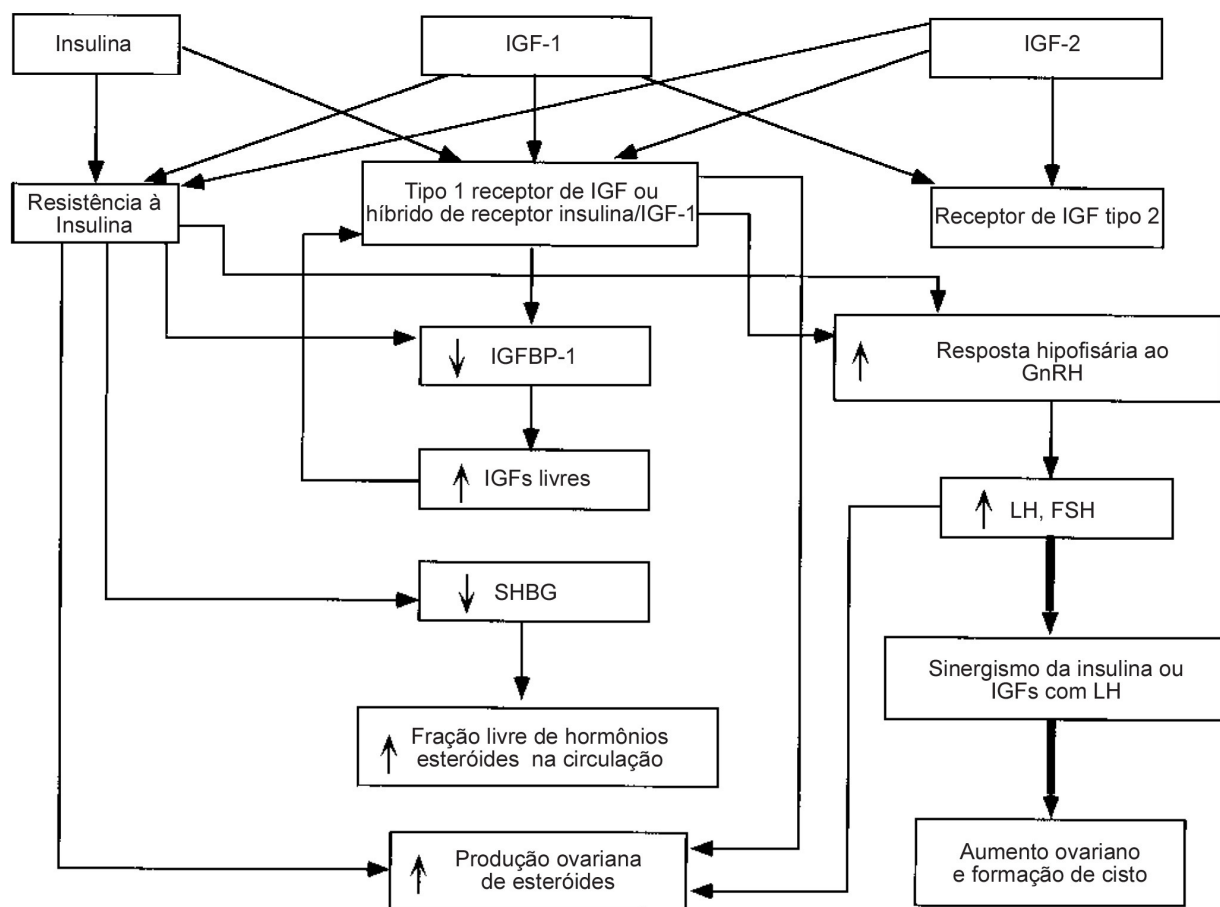


Figura 3 - A relação entre os componentes da resistência a insulina no ovário. Insulina, IGF-1 e IGF-2, atuando através dos receptores da insulina ou dos receptores de IGF-1, aumentando a resposta hipofisária ao GnRH; estimulando a secreção hipofisária de gonadotrofinas; estimulando a esteroidogênese ovariana; inibindo a produção de IGFBP-1 e SHBG; e atuando sinergicamente com gonadotrofinas no crescimento e formação de cistos ovarianos.

Fonte: figura extraída e modificada do artigo de Leonid Poretsky e cols (17).

Embora tanto o IGF-1 como o IGF-2 tenham demonstrado atividade ovariana *in vitro*, em várias espécies, o IGF-2 aparenta ser o fator predominante na espécie humana. Entretanto, os efeitos metabólicos e de crescimento relacionados com os IGFs, seriam mediados, na maioria das circunstâncias pelos receptores de IGF-1, que estão presentes em todos os compartimentos ovarianos. Além disso, os efeitos do IGF-2 no ovário

humano são semelhantes aos do IGF-1 (17).

As ações do IGF-1 são moduladas por um sistema de proteínas de ligação, as proteínas ligadoras do fator de crescimento semelhante à insulina (IGFBPs - *Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins*). Existem 10 proteínas de ligação isoladas, que apresentam estrutura homóloga, mas funcionalmente distinta e numeradas de acordo com sua seqüência de identificação. Sorologicamente, a IGFBP-1 correlaciona-se com a fração livre do IGF-1, relação esta que não têm sido descrita com outras IGFBPs (33).

Têm sido demonstrado que insulina em altas concentrações é capaz de ligar-se aos receptores de IGF-1 (34) que apresentam uma similaridade com os receptores de insulina, tornando possível uma reação cruzada (35).

O IGF-1 é produzido principalmente no fígado e controlado por fatores nutricionais e pelo hormônio de crescimento, GH (*Growth Hormone*) (36). O IGF-1 apresenta efeitos anabólicos no metabolismo das proteínas e carboidratos, aumento da captação celular de aminoácidos e glicose, estimula a formação de glicogênio e síntese proteica, e também atuam na proliferação, diferenciação e apoptose celular (37). Em uma grande variedade de células, o IGF-1 apresenta atividade mitogênica aumentando a síntese de ácido desoxirribonucléico, DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) (38).

Em SOP, o IGF-1 tem demonstrado ter uma atividade semelhante a do LH e da insulina na produção androgênica (39). A hiperinsulinemia, diminuindo a produção hepática de IGFBP-1 e de SHBG, acarreta maior biodisponibilidade do IGF-1 e de esteróides sexuais, principalmente os androgênios, que atuarão nas células-alvo (35). Os níveis totais de IGF-1 não estão elevados na SOP, e sim a fração sérica livre (33). Através do aumento da expressão do IGF-1 e da diminuição da ação inibitória das IGFBPs, em

folículos sadios e atrésicos, a bioatividade do IGF-1 é modulada (17).

A busca de definições precisas e a elucidação da fisiopatologia que envolvem a SOP, têm finalidade de minimizar os sinais e sintomas que acometem estas pacientes. A pesquisa de novos fármacos que atuem no tratamento desta síndrome tem sido alvo de vários estudos (40-46). Sendo assim, é fundamental a pesquisa de fármacos que atuem na prevenção e no tratamento dos distúrbios apresentados por esta desordem.

REVISÃO DA LITERATURA

TRATAMENTO DE SOP

O tratamento das mulheres com SOP é direcionado para o controle das manifestações clínicas. Mulheres inférteis são tratadas com indutores de ovulação. Aquelas que apresentam distúrbios menstruais são tratadas com reguladores de ciclo. Para as que apresentam manifestações androgênicas são oferecidas medicações anti-androgênicas e tratamentos estéticos. As pacientes obesas são encorajadas a perda de peso. As pacientes que apresentam alterações nos níveis de insulina, são indicadas ao tratamento com agentes insulino-sensibilizantes, direcionadas aos sintomas e sinais de SOP. Outros aspectos relevantes no tratamento seria a diminuição do risco de doença cardiovascular e de diabetes. (6, 47, 48).

Vários fármacos, desde a década de 80, buscam a regularização dos níveis séricos de insulina em pacientes com SOP (49). Um dos primeiros fármacos testados foi o diazoxide. Seu uso foi descontinuado pelos para efeitos (aumento de massa corporal e alteração da tolerância a glicose) (50). Drogas do grupo das tiazolidinedionas têm sido

utilizadas. A troglitazona, devido a hepatotoxicidade não é mais utilizada (51). Entretanto a rosiglitazona e a pioglitazona encontram-se a disposição (40).

A metformina e a fenformina, as duas principais biguanidas, foram introduzidas no mercado para o tratamento de pacientes diabéticos não-dependentes da insulina, no final dos anos cinqüenta, apesar de seu uso na Europa remontar a idade medieval, através da *Galega officinalis*. No final dos anos setenta, a fenformina foi retirada do mercado devido a sua associação com acidose láctica em pacientes com doença hepática ou renal. Esta associação não foi evidenciada com a metformina (52, 53).

A metformina, na diabetes insulino-dependente, pode ser usada como terapia inicial ou adjuvante, quando o tratamento com sulfoniluréias isoladamente é inadequado. Acredita-se que o mecanismo de ação primário da metformina esteja relacionado com o aumento da captação periférica da glicose em resposta a insulina no nível dos pós-receptores, com redução da produção hepática basal de glicose. Além disso, diminui a lipólise dos tecidos adiposos e aumenta a sensibilidade à insulina no músculo esquelético (40, 54). Recentemente, achados sugerem um papel unificado da proteinoquinase AMP-ativada (AMPK - *Activated Protein Kinase*) em todos os mecanismos de ação da metformina (55).

Aumentando a sensibilidade à insulina, tanto ao nível periférico como hepático, a metformina diminui a secreção da insulina e a hiperinsulinemia sem ocasionar hipoglicemia (53, 56). Atualmente, por não ocasionar aumento de peso, a metformina é preferencialmente usada em pacientes obesas com resistência à insulina, embora a sua eficácia anti-hiperglicêmica é similar em pacientes obesas e magras (53). Seu uso na SOP, objetiva a redução da resistência à insulina e suas seqüelas, incluindo o

hiperandrogenismo, apesar de nem todos os estudos apresentarem estes benefícios (57, 58).

A metformina é rapidamente absorvida no intestino delgado, atingindo a concentração sérica máxima em duas horas após a ingestão. Sua excreção é renal, sendo 90% na forma não metabolizada, apresentando depuração renal 3,5 vezes maior do que a depuração da creatinina, indicando que a secreção tubular é a principal via de excreção. A meia-vida da metformina é de aproximadamente 6 horas. A dose geralmente utilizada é de 1500 a 2550 mg/dia. Os principais efeitos adversos são diarreia, náusea ou vômitos, indigestão e desconforto abdominal (41, 42).

2.1 Uso da metformina na SOP

Vários estudos (44, 45, 59) controlados buscam comprovar os benefícios encontrados em estudos não randomizados em relação a metformina. Entretanto, devido a heterogenicidade dos delineamentos, doses e tempo de utilização da metformina, a validade de alguns estudos (57, 60, 61) é questionada.

Em 2000, de Leo e cols. recrutaram 17 pacientes com SOP, em um estudo não controlado, com uso da metformina por 30-32 dias, com uma diminuição estatisticamente significativa da curva da insulina e da testosterona livre e um aumento da SHBG. Um aumento não significativo de IGF-1 foi observado, mas com um significativo aumento sérico de IGFBP-1 (62).

Em 2001, Jakubowicz e cols., em um ensaio clínico randomizado com 48 pacientes com SOP, 26 pacientes com uso de metformina e 22 pacientes com uso de placebo por 4

semanas hipotetizaram que a hiperinsulinemia contribui para perda gestacional precoce devido à alteração endometrial. Foram analisadas a curva de insulina, dosagem sérica de glicodelina na fase folicular, IGFBP-1, e avaliação das artérias uterinas com dopplerfluxometria. Em conclusão, foi observado que no grupo da metformina houve uma redução da concentração de insulina, com aumento da concentração sérica de glicodeína nas fases folicular e lútea, aumento do IGFBP-1 e melhora da vascularização na fase lútea e do fluxo vascular em pacientes com SOP (43).

No mesmo ano, Staudtmauer e cols., compararam, num estudo retrospectivo, 46 pacientes resistentes ao citrato de clomifeno que usaram metformina e foram submetidas a fertilização *in vitro* (FIV – *Fertilization in Vitro*), com pacientes que não usaram a metformina. As pacientes tratadas com metformina tiveram diminuição do número de folículos, no dia do tratamento com hCG, sem alteração dos folículos > 14 cm de diâmetro. Entretanto, houve uma melhora no número dos oócitos maduros, embriões clivados e nas taxas de fertilização e de gravidez no grupo que usou metformina. Também foi observado um aumento dos níveis de IGF-1 e diminuição dos níveis de IGFBP-1 no fluido folicular destas pacientes (63).

Kowalska e cols., num estudo prospectivo em 2001, analisaram 23 pacientes obesas com SOP, 19 pacientes obesas sem SOP e 11 pacientes controles, que usaram metformina 500 mg 3 vezes ao dia e uma dieta hipocalórica por 4-5 meses. Foram analisados, antes e após o tratamento: padrão menstrual, leptina, IGF-1, SHBG, IGFBP-1, gonadotrofinas e esteróides sexuais. As pacientes obesas com SOP apresentaram concentrações aumentadas de insulina, testosterona e LH comparadas com os outros grupos. A leptina sérica, IGF-1, IGFBP-1 e SHBG não diferiram no grupo das pacientes

obesas, mas diferiram significativamente com o grupo controle. Após o uso da metformina houve uma redução do índice de massa corporal, leptina e massa gorda em ambos os grupos de pacientes obesas. Insulina em jejum, testosterona e LH diminuíram significativamente no grupo de SOP. Entretanto, o estudo sugere um ensaio clínico randomizado mais amplo (64).

Morin-Papunen e cols., em um ensaio clínico randomizado, alocaram 17 pacientes não obesas ($IMC < 25 \text{ kg/m}^2$) com SOP, sendo que 8 pacientes receberam metformina (500mg 2 vezes ao dia) e 9 pacientes receberam anticoncepcional combinado contendo etinilestradiol (35 μg) e acetato de ciproterona (2 mg) por 3 meses. No grupo que usou metformina não houve qualquer efeito na tolerância à glicose ou sensibilidade à insulina, mas houve diminuição da insulina em jejum e da relação cintura-quadril. Além disso, este grupo apresentou diminuição dos níveis séricos de testosterona e melhora do padrão menstrual. No grupo que usou anticoncepcional combinado, não houve efeito sobre a tolerância a glicose, níveis séricos de insulina ou sensibilidade à insulina. Entretanto, houve diminuição dos níveis de leptina sérica e da testosterona. Em conclusão, pílulas combinadas contendo acetato de ciproterona aparentam ser eficientes no tratamento dos sintomas hiperandrogênicos da SOP, mas não melhoram a insulina e o metabolismo da glicose em pacientes não obesas com SOP. A metformina melhorou o hiperandrogenismo, hiperinsulinemia e o padrão menstrual através de seu efeito positivo na depuração da insulina e na adiposidade abdominal (65).

Em 2004, Lord e cols. realizaram uma revisão sistemática e uma meta-análise sobre metformina em pacientes com SOP. Treze estudos foram selecionados, incluindo 543 pacientes com SOP. Os desfechos principais foram gravidez e taxas de ovulação, e

os secundários foram parâmetros clínicos e bioquímicos em SOP. Na meta-análise, a metformina aumentou as taxas de ovulação quando comparada com placebo com razão de chances de 3,88 (IC de 95%=2,25-6,69); e quando a metformina foi usada associada ao citrato de clomife, a razão de chances foi de 4,41 (2,37-8,22) comparado com o uso isolado de clomifene. Com o uso da metformina foi observada uma redução na concentração da insulina em jejum, pressão arterial e lipoproteína de baixa densidade (LDL – *Low Density Lipoprotein*), mas nenhum efeito no índice de massa corporal e na relação cintura-quadril. A mesma foi associada com alta incidência de náuseas, vômitos e desordens gastrointestinais. Sendo assim, a metformina mostrou-se efetiva no tratamento da anovulação em pacientes com SOP. Em relação à segurança do uso a longo prazo em pacientes jovens e em gestações iniciais, os dados são limitados e inconclusivos (41).

Em outra revisão sistemática realizada por Costello e cols. em 2003, cujo objetivo foi analisar a eficácia da metformina na regularização dos ciclos menstruais, ovulação e gestação em mulheres com SOP, foram analisados 30 estudos: 12 estudos eram estudos randomizados, 2 estudos de coorte e 16 estudos descritivos não controlados. Não foi possível realizar uma meta-análise nos 12 estudos randomizados devido a grande variabilidade no uso da metformina, assim como a heterogenicidade das populações em estudo e os desfechos de interesse. Dados limitados, predominantemente em relação a pacientes obesas com SOP, demonstram que metformina isoladamente regulariza os ciclos menstruais bem como a ovulação espontânea, mas não suportam o aumento da taxa de gestação. O uso associado da metformina com citrato de clomifeno resulta num aumento da ovulação e das taxas de gravidez em pacientes citrato de clomifene resistentes e em pacientes não selecionadas. Em relação à FIV e indução da ovulação com FSH, não há dados suficientes para qualquer conclusão a este respeito (56).

Barbiere revisou a literatura desde 1996, excluindo os artigos sem grupo controle, sem apresentar os critérios do Instituto Nacional de Saúde (*National Institute of Health*) para SOP, os que não eram em inglês e os que não possuíam desfechos clínicos, tendo permanecido 21 artigos. Em três ensaios, a associação entre metformina e clomifeno foi mais efetiva que a metformina isolada, em relação a indução da ovulação. No tratamento da irregularidade menstrual, sem objetivar a concepção, o tratamento com metformina restaurou os ciclos ovulatórios na maioria das pacientes, em 4 a 6 meses de terapia. Em pacientes obesas com SOP, a maior perda de peso obtida foi através da associação da metformina com dieta hipocalórica, do que a dieta isoladamente. O estudo sugere que ginecologista e obstetras familiarizem-se com o uso da metformina em sua prática diária (42).

Harbone e cols., numa revisão não sistemática, descritiva das evidências para o uso da metformina em SOP, constataram que a metformina restaura a regularidade menstrual geralmente em 5 meses, com perda de peso aproximada de 4 %. Em relação à indução da ovulação e ao tratamento da infertilidade, vários aspectos permaneceram obscuros: a dose ideal da metformina, sua relação com índice de massa corporal e as complicações em relação às gestações. Em relação à acne e ao hirsutismo, até o presente momento, não existem recomendações para o uso. Concluiu com a necessidade de um estudo multicêntrico para validação do fármaco (40).

Sendo assim, constata-se a necessidade de novos estudos para uma melhor definição em relação ao grupo de tratamento que mais se beneficia com o uso da metformina. Também é necessário identificar precisamente em que pontos na fisiopatologia da SOP a metformina pode interferir.

OBJETIVOS

Avaliar o efeito da metformina nos níveis de IGF-1 e IGFBP-1, sobre o padrão menstrual, o hiperandrogenismo, insulinemia e sobre níveis plasmáticos hormonais em mulheres obesas com SOP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Balen A. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome: trying to understand PCOS and its endocrinology. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18(5):685-706.
2. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004;81(1):19-25.
3. Azziz R. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: A reappraisal. *Fertil Steril* 2005;83(5):1343-1346.
4. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1961;21:1440-7.
5. Slayden SM, Moran C, Sams WM, Jr., Boots LR, Azziz R. Hyperandrogenemia in patients presenting with acne. *Fertil Steril* 2001;75(5):889-92.
6. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995;333(13):853-61.
7. Apter D, Butzow T, Laughlin GA, Yen SS. Metabolic features of polycystic ovary syndrome are found in adolescent girls with hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80(10):2966-73.
8. Futterweit W, Dunaif A, Yeh HC, Kingsley P. The prevalence of hyperandrogenism

in 109 consecutive female patients with diffuse alopecia. *J Am Acad Dermatol* 1988;19(5 Pt 1):831-6.

9. Cibula D, Hill M, Starka L. The best correlation of the new index of hyperandrogenism with the grade of increased body hair. *Eur J Endocrinol* 2000;143(3):405-8.

10. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(10):3666-72.

11. Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL, Kaplan SA. Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57(2):356-9.

12. Legro RS, Kusanman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(1):165-9.

13. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2005;352(12):1223-36.

14. Legro RS. The genetics of polycystic ovary syndrome. *Am J Med* 1995;98(1A):9S-16S.

15. Speroff LF, Marc A. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 2005:34-96.

16. Hunter SJ, Garvey WT. Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system. *Am J Med* 1998;105(4):331-45.

17. Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z, Giudice LC. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocr Rev* 1999;20(4):535-82.
18. Gambineri A, Pelusi C, Vicennati V, Pagotto U, Pasquali R. Obesity and the polycystic ovary syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002;26(7):883-96.
19. Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Bush A, Short F, Anyaoku V, Reed MJ, et al. Improvement in endocrine and ovarian function during dietary treatment of obese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992;36(1):105-11.
20. Poretsky L, Kalin MF. The gonadotropic function of insulin. *Endocr Rev* 1987;8(2):132-41.
21. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL. Polycystic ovary syndrome as a form of functional ovarian hyperandrogenism due to dysregulation of androgen secretion. *Endocr Rev* 1995;16(3):322-53.
22. Dunaif A, Green G, Futterweit W, Dobrjansky A. Suppression of hyperandrogenism does not improve peripheral or hepatic insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70(3):699-704.
23. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989;38(9):1165-74.
24. Silfen ME, Denburg MR, Manibo AM, Lobo RA, Jaffe R, Ferin M, et al. Early endocrine, metabolic, and sonographic characteristics of polycystic ovary syndrome (PCOS): comparison between nonobese and obese adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*

2003;88(10):4682-8.

25. Dunaif A, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1995;96(2):801-10.
26. Ciaraldi TP, Morales AJ, Hickman MG, Odom-Ford R, Olefsky JM, Yen SS. Cellular insulin resistance in adipocytes from obese polycystic ovary syndrome subjects involves adenosine modulation of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(5):1421-5.
27. Shoupe D, Kumar DD, Lobo RA. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1983;147(5):588-92.
28. Geffner ME, Kaplan SA, Bersch N, Golde DW, Landaw EM, Chang RJ. Persistence of insulin resistance in polycystic ovarian disease after inhibition of ovarian steroid secretion. *Fertil Steril* 1986;45(3):327-33.
29. Cama A, de la Luz Sierra M, Ottini L, Kadowaki T, Gorden P, Imperato-McGinley J, et al. A mutation in the tyrosine kinase domain of the insulin receptor associated with insulin resistance in an obese woman. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73(4):894-901.
30. Poretsky L, Chandrasekher YA, Bai C, Liu HC, Rosenwaks Z, Giudice L. Insulin receptor mediates inhibitory effect of insulin, but not of insulin-like growth factor (IGF)-I, on IGF binding protein 1 (IGFBP-1) production in human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(2):493-6.
31. Duleba AJ, Spaczynski RZ, Olive DL. Insulin and insulin-like growth factor I stimulate the proliferation of human ovarian theca-interstitial cells. *Fertil Steril*

1998;69(2):335-40.

32. el-Roeiy A, Chen X, Roberts VJ, LeRoith D, Roberts CT, Jr., Yen SS. Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II and the IGF-I, IGF-II, and insulin receptor genes and localization of the gene products in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77(5):1411-8.

33. Thierry van Dessel HJ, Lee PD, Faessen G, Fauser BC, Giudice LC. Elevated serum levels of free insulin-like growth factor I in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(9):3030-5.

34. Rechler MM, Nissley SP. The nature and regulation of the receptors for insulin-like growth factors. *Annu Rev Physiol* 1985;47:425-42.

35. Druckmann R, Rohr UD. IGF-1 in gynaecology and obstetrics: update 2002. *Maturitas* 2002;41 Suppl 1:S65-83.

36. Premoli AC, Santana LF, Ferriani RA, Moura MD, De Sa MF, Reis RM. Growth hormone secretion and insulin-like growth factor-1 are related to hyperandrogenism in nonobese patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005;83(6):1852-5.

37. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995;16(1):3-34.

38. Dufourny B, Alblas J, van Teeffelen HA, van Schaik FM, van der Burg B, Steenbergh PH, et al. Mitogenic signaling of insulin-like growth factor I in MCF-7 human breast cancer cells requires phosphatidylinositol 3-kinase and is independent of mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* 1997;272(49):31163-71.

39. Morris DV, Falcone T. The relationship between insulin sensitivity and insulin-like growth factor-binding protein-1. *Gynecol Endocrinol* 1996;10(6):407-12.
40. Harborne L, Fleming R, Lyall H, Norman J, Sattar N. Descriptive review of the evidence for the use of metformin in polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2003;361(9372):1894-901.
41. Lord JM, Flight IH, Norman RJ. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Bmj* 2003;327(7421):951-3.
42. Barbieri RL. Metformin for the treatment of polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 2003;101(4):785-93.
43. Jakubowicz DJ, Seppala M, Jakubowicz S, Rodriguez-Armas O, Rivas-Santiago A, Koistinen H, et al. Insulin reduction with metformin increases luteal phase serum glycodelin and insulin-like growth factor-binding protein 1 concentrations and enhances uterine vascularity and blood flow in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(3):1126-33.
44. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, et al. 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(8):2767-74.
45. Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, et al. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(1):139-

46.

46. Glueck CJ, Wang P, Fontaine R, Tracy T, Sieve-Smith L. Metformin-induced resumption of normal menses in 39 of 43 (91%) previously amenorrheic women with the polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1999;48(4):511-9.

47. Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Tomlinson L, Galletly C, Norman RJ. Dietary composition in restoring reproductive and metabolic physiology in overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(2):812-9.

48. Cusan L, Dupont A, Gomez JL, Tremblay RR, Labrie F. Comparison of flutamide and spironolactone in the treatment of hirsutism: a randomized controlled trial. *Fertil Steril* 1994;61(2):281-7.

49. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;50(1):113-6.

50. Hasegawa I, Murakawa H, Suzuki M, Yamamoto Y, Kurabayashi T, Tanaka K. Effect of troglitazone on endocrine and ovulatory performance in women with insulin resistance-related polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1999;71(2):323-7.

51. Elkind-Hirsch KE, McWilliams RB. Pregnancy after treatment with the insulin-sensitizing agent troglitazone in an obese woman with the hyperandrogenic, insulin-resistant acanthosis nigricans syndrome. *Fertil Steril* 1999;71(5):943-7.

52. Bell PM, Hadden DR. Metformin. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1997;26(3):523-37.

53. Bailey CJ, Turner RC. Metformin. *N Engl J Med* 1996;334(9):574-9.

54. Dunn CJ, Peters DH. Metformin. A review of its pharmacological properties and therapeutic use in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Drugs* 1995;49(5):721-49.
55. Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001;108(8):1167-74.
56. Costello MF, Eden JA. A systematic review of the reproductive system effects of metformin in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003;79(1):1-13.
57. 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):524-30.
58. Acbay O, Gundogdu S. Can metformin reduce insulin resistance in polycystic ovary syndrome? *Fertil Steril* 1996;65(5):946-9.
59. Chou KH, von Eye Corleta H, Capp E, Spritzer PM. Clinical, metabolic and endocrine parameters in response to metformin in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind and placebo-controlled trial. *Horm Metab Res* 2003;35(2):86-91.
60. Diamanti-Kandarakis E, Kouli C, Tsianateli T, Bergiele A. Therapeutic effects of metformin on insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 1998;138(3):269-74.
61. Velazquez EM, Mendoza S, Hamer T, Sosa F, Glueck CJ. Metformin therapy in polycystic ovary syndrome reduces hyperinsulinemia, insulin resistance,

hyperandrogenemia, and systolic blood pressure, while facilitating normal menses and pregnancy. *Metabolism* 1994;43(5):647-54.

62. De Leo V, La Marca A, Orvieto R, Morgante G. Effect of metformin on insulin-like growth factor (IGF) I and IGF-binding protein I in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(4):1598-600.

63. Stadtmauer LA, Toma SK, Riehl RM, Talbert LM. Metformin treatment of patients with polycystic ovary syndrome undergoing in vitro fertilization improves outcomes and is associated with modulation of the insulin-like growth factors. *Fertil Steril* 2001;75(3):505-9.

64. Kowalska I, Kinalski M, Straczkowski M, Wolczynski S, Kinalska I. Insulin, leptin, IGF-I and insulin-dependent protein concentrations after insulin-sensitizing therapy in obese women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2001;144(5):509-15.

65. Morin-Papunen L, Vauhkonen I, Koivunen R, Ruukonen A, Martikainen H, Tapanainen JS. 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(1):148-56.

ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS

EFFECT OF METFORMIN ON IGF-1 AND IGFBP-1 LEVELS IN OBESE PATIENTS WITH POLYCYSTIC OVARIAN SYNDROME.

AUTHORS: Seibel, Samuar Albano¹; Chou, Kai Hua⁴; Capp, Edison^{1,2}; Spritzer, Poli Mara⁵; Helena von Eye Corleta^{1,2,3}.

¹Graduate Program in Medicine: Medical Sciences, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

²Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

³Gerar - Center for Assisted Reproduction, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, RS, Brazil.

⁴Hospital Femina, GHNSC, Porto Alegre, RS, Brazil.

⁵Gynecological Endocrinology Unit, Division of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Porto Alegre, RS, Brazil.

Correspondence to: Dr Helena von Eye Corleta - Núcleo Gerar de Reprodução Assistida-Hospital Moinhos de Vento. Rua Ramiro Barcelos, 910 conj. 905 - CEP 90035-001 - Porto Alegre, RS - Brazil. Tel.: +55 51 33115699 - fax:+55 51 33116588 - E-mail: hcorleta@portoweb.com.br

ABSTRACT

Objective: to assess the effect of metformin on IGF-1 and IGFBP-1 levels, on menstrual pattern, hyperandrogenism, insulin concentration and on plasma and hormonal levels in obese women with polycystic ovarian syndrome (PCOS).

Design: Randomized, double-blind and placebo-controlled clinical trial.

Setting: Gynecological Outpatient Clinic, Division of Gynecological Endocrinology and Infertility of Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre and Graduate Program in Medical Sciences of Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Methods: During 90 days, 30 obese and nondiabetic patients with PCOS received metformin in the dose of 500 mg, three times a day, or were treated with placebo. The following parameters were analyzed: IGF-1, IGFBP-1, BMI, WHR, systolic and diastolic blood pressure, FSH, LH, total testosterone, SHBG, fasting insulin levels, fasting insulin/glucose ratio, total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides and menstrual patterns before and after the use of metformin.

Results: No statistically significant difference was observed in the analyzed parameters between the groups before metformin use. After three months of treatment, no difference was found between the serum levels of IGF-1 and IGFBP-1. Statistically significant difference was noted in total testosterone levels ($p=0.030$) and in total cholesterol ($p=0.023$) in comparison to the placebo-treated patients.

Conclusions: The use of metformin, compared to placebo, substantially improves hyperandrogenism (testosterone) without remarkably influencing other metabolic parameters (IGF-1, IGFBP-1 and insulin).

Keywords: Obesity – Polycystic ovarian syndrome – IGF-1 – IGFBP-1 – Metformin.

INTRODUCTION

The polycystic ovarian syndrome (PCOS) is a metabolic endocrine disorder that affects 5-10% of women of reproductive age (1). It is characterized by a wide variety of signs and symptoms, which combined form a wide range of moderate to severe reproductive, endocrine and metabolic disorders (2). The diagnosis is based on the presence of oligomenorrhea or anovulation, clinical or laboratory signs of hyperandrogenism and polycystic ovaries, excluding other pathologies (congenital adrenal hyperplasia, Cushing's syndrome and androgen-secreting tumors) (3, 4). Its etiology remains unknown, but it is well established that hyperinsulinemia, secondary to insulin resistance, plays an important role in the pathogenesis of reproductive disorders by stimulating androgen production by the ovaries (5-7). These disorders affect both thin and obese women with PCOS (8). Insulin resistance in PCOS increases the risk for impaired glucose tolerance, type 2 diabetes mellitus, lipoprotein disorders and development of macrovascular disease (9).

Several studies have suggested that insulin-like growth factor (IGF-1) can play an important role in regulating ovarian follicular maturation and steroidogenesis (10, 11). The increase in insulin levels in PCOS may increase the bioavailability of IGF-1, due to the reduction in the hepatic synthesis of its binding protein, the insulin-like growth factor binding protein (IGFBP-1), and of the sex hormone binding globulin (SHBG), causing an increase in the free fraction of sex steroids, especially androgens (12, 13). The search for insulin-sensitizing drugs and for the elucidation of factors related to the pathophysiology of PCOS have been of great interest (1, 14). In a recent meta-analysis, metformin, a biguanide used for the treatment of type 2 diabetes mellitus, proved effective in treating

PCOS, remarkably improving clinical parameters, such as ovulation and response to ovulation-inducing agents and testosterone concentration (14). However, controversy exists over the improvement in serum insulin levels. The first studies (15-17) showed remarkable improvement in serum insulin levels, but subsequent studies (18-22) were not able to reproduce those findings. To shed some light on the effect of metformin on PCOS, this study analyzed its effect on IGF-1 and on its carrier protein, IGFBP-1.

PATIENTS AND METHODS

Population: Thirty patients with PCOS were assessed while treated at the Gynecology Outpatient Clinic, Division of Gynecological Endocrinology and Infertility, of Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. The patients presented with oligomenorrhea (at least six spontaneous menstrual periods per year prior to the study) and hyperandrogenism (presence of hirsutism, according to Ferriman and Gallwey's classification (23), or elevated serum concentration of testosterone) All of the analyzed patients did not smoke, did not have kidney or liver disease, had not used any medication three months prior to the study, and were obese, with body mass index (body weight in kilograms divided by height in meters squared) greater than 30, according to the World Health Organization classification (24). The exclusion criteria were: oligomenorrhea and hyperandrogenism associated with pregnancy and with abnormal prolactin levels, thyroid disorders, androgen-secreting tumors or late-onset congenital suprarenal hyperplasia, confirmed by basal concentration of 17-hydroxyprogesterone and 60 minutes after the IV administration of 0.25 mg of ACTH – the disease is diagnosed if the concentration > 12ng/ml (25).

Study protocol: A randomized, double-blinded clinical trial was used, and the patients were randomly assigned to two groups. An initial assessment was carried out before administering the medication, and height, body weight, blood pressure, and waist and hip circumferences were measured. Patients fasted for 12 hours before they had their blood collected for laboratory exams. Blood was collected at time zero and at two hours after the intake of 75 grams of glucose, for the analysis of glucose, LH, FSH, total testosterone, total cholesterol, LDL, HDL and triglycerides. In order to determine the concentrations of insulin, SHBG, IGF-1 and IGFBP-1, serum was centrifuged and frozen at -70°C , for later analysis. The glucose-insulin and LH/FSH ratios were also calculated. The clinical exams and assessment mentioned previously were repeated within 90 days.

Proposed treatment:

-Group 1: 500mg metformin tablets, given every eight hours for 90 days

-Group 2: tablets containing placebo, given every eight hours for 90 days

The patients returned for follow-up every month in order to receive the medication for the subsequent month, to have their treatment compliance evaluated and be instructed about possible abnormalities and adverse effects. Patients were instructed about the use of birth control methods during the study period. All patients signed an informed consent form, and the study was approved by the local Research Ethics Committee.

Laboratory analyses: For IGF-1 and IGFBP-1 measurements, a two-site immunoradiometric assay (IRMA) was used, as described by Milles et al. (26) (DSL® Diagnostic Systems Laboratories, Texas, USA). LH and FSH concentrations were

analyzed by chemiluminescence (Chiron Diagnostics ACS: 180 ® Automated Chemiluminescence Systems, Chiron Diagnostics Corporation, USA). An enzyme assay (Cobas® Integra da Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) was used to determine the serum concentrations of glucose, total cholesterol and fractions (HDL and LDL) and triglycerides. Total testosterone was measured by the radioimmunoassay method (DPC, Los Angeles, USA). Insulin levels were determined by the radioimmunoassay method (CIS Bio International, Massachusetts, USA) and SHBG, by chemiluminescence (DPC, Los Angeles, USA). All samples were analyzed in duplicate to avoid variations between trials.

Statistical analysis: Sample size was calculated using the results for IGFBP-1 obtained by De Leo et al. (De Leo et al., 2000), with a significance level of 0.05 and an 80% statistical power. In order for the difference between the means to be at least 0.32 mg/L, it is necessary to assess 16 patients in each group (11). There was no stratification; the study involved two groups (one treated with metformin and another one treated with placebo), and the means and standard deviation for the quantitative variables were calculated. In cases of asymmetry, the medians and interquartile range were calculated. The categorical variables were expressed as percentage. Student's t test for independent samples was used to compare the normally distributed quantitative data of the groups. In cases without normal distribution, the non-parametric Mann-Whitney test was used. The chi-square test was used for categorical variables. A significance level of 5% was utilized. The following statistical programs were used: EXCEL 2000, EPI-Info v 6.04C, SPSS for Windows v 8.0 and PEPI v 3.0.

RESULTS

Thirty obese women with PCOS were studied (16 in the placebo group and 14 in the metformin group). At the beginning of treatment, patients of either group did not have any differences in terms of age, body mass index, waist-to-hip ratio, blood pressure, menstrual pattern, and hormonal parameters (LH, total testosterone and fasting insulin) and metabolic parameters (SHBG, fasting glucose, total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides, and insulin/glucose ratio). After three months of intervention, statistically significant difference was found in testosterone levels ($p=0.030$) and total cholesterol ($p=0.023$). In relation to menstrual cycles, women from metformin group had an improvement in the pattern of menstrual cycles, a value of $p=0.067$, in the metformin group. These results had been previously published by our research group in another study (27). Tables 1, 2 and 3.

Serum IGF-1 and IGFBP-1 levels: No significant difference was observed in IGF-1 concentrations after three months of treatment between the groups treated with metformin: 27.6(9.3-106.3), and with placebo: 15.5(5.9-30.1). P value:0.274. Figure 1.

No significant difference was found in IGFBP-1 concentrations after three months of treatment between the groups treated with metformin: 7.2(6.0-8.2), and with placebo: 7.2(6.2-9.3). P value:0.980. Figure 2.

DISCUSSION

Insulin disorders of PCOS were first highlighted in 1980 (28). Subsequent studies have shown that insulin resistance is one of the characteristics found in PCOS, especially among obese women (29, 30). Several authors (31-34) have sought to understand the mechanism of insulin action and of other related factors, which may influence the pathophysiology of PCOS. It has been postulated that IGF-1 is associated with LH increase, acting upon theca cells and contributing to hyperandrogenism that is clinically observed in PCOS (5, 12, 35). So far, the investigation of insulin-sensitizing agents has focused on the search of drugs that improve the signs and symptoms of PCOS: ovulation induction in case of infertility and antiandrogen therapy for hirsutism. Non-randomized studies of metformin have demonstrated a wide series of metabolic, clinical and reproductive benefits (1). In a meta-analysis and in a systematic review of the use of metformin in PCOS, there was some improvement in menstrual patterns and in ovulation in the analyzed studies, but no evidence regarding an improvement in insulin concentration could be found.

Given that insulin and IGF-1 stimulate the *in vivo* and *in vitro* production of androgens, we may hypothesize that the use of metformin could act by reducing insulin and IGF-1 levels, and increasing the levels of its carrier protein (IGFBP-1). Some non-controlled studies on metformin yielded promising results, with an increase in IGFBP-1 and a reduction in fasting insulin levels, without reducing total IGF-1 concentration, but its bioavailability instead (11, 36). In another controlled study, there was a reduction in insulin levels, without any change in IGF-1 concentration and a tendency towards an IGFBP-1 increase with the use of metformin (37).

With regard to clinical and laboratory parameters, no difference was observed

between the treatment groups, mainly concerning reference laboratory values of IGF-1 and IGFBP- 1, which were within normal range. This may be explained by the fact that patients with PCOS can have hyperandrogenism due to an increase in the biologically active fraction of IGF-1(12). After three months of metformin use, the clinical and laboratory parameters did not show remarkable findings, especially with regard to IGF-1 and IGFBP- 1, suggesting that metformin may have a local ovarian action on the free fractions of IGF-1 and IGFBP- 1, without consequences on their total serum concentrations (17, 38), as there was a tendency towards improvement of the menstrual pattern and some important improvement in total testosterone concentration. As to insulin, although 23 patients initially presented with hyperinsulinemia (12 in the metformin group and 11 in the placebo group), with a reduction in fasting insulin levels in 15 of these hyperinsulinemic patients (7 in the metformin group and 8 in the placebo group), no statistical significance was noted, as pointed out by other studies (1, 14).

In our study, there is some improvement in the clinical parameters of PCOS with the use of metformin, but a direct relationship of insulin and hyperandrogenism with the IGF system could not be established. This suggests that this may not be the mechanism of action by which insulin-sensitizing agents act on PCOS.

Some studies have shown that insulin blocks the peripheral action of the growth hormone (GH) (39), which has been associated with the etiopathogenesis of PCOS (40). The complete mechanism of the relationship between GH and PCOS has not been clearly established, but it is found among thin and obese patients who do not follow the same pattern in GH secretion.

Recent studies have suggested that the presence of PCOS in patients without

weight problems is associated with high levels of GH and IGF-1, whose values indicate the involvement of two different mechanisms, according to the body mass index. Therefore, the combined action of GH and IGF-1 may be responsible for the increase in LH levels and for hyperandrogenism in nonobese patients with PCOS, whereas in obese patients with PCOS, obesity and insulin resistance allow for a decrease in GH release (41). In a prospective, noncontrolled clinical trial with obese patients with PCOS treated with metformin, there was a postprandial increase in GH levels, in response to the GHRH test, without affecting the BMI, with remarkable improvement of insulin and IGF-1 after three months of treatment (39).

In conclusion, metformin is still an alternative to treat patients with PCOS, mainly because it can regulate menstrual cycles and correct ovulatory disorders, either in isolation or combined with other ovulation-inducing agents. Further randomized clinical trials are necessary to explain aspects regarding its site of action on PCOS and the characteristics of patients for whom it may be indicated.

Table 1 – Clinical and laboratory parameters of obese patients with PCOS before metformin therapy.

| <i>Variable</i> | <i>Placebo (n=16)</i> | <i>Metformin (n=14)</i> | <i>P value</i> |
|--|-----------------------|-------------------------|----------------|
| Age (in years) | 24.5±6.1 | 24±5 | 0.809 |
| IBMI (kg/m ²) | 37.4±6 | 35.6±4.9 | 0.377 |
| WHR ^a | 0.9 (0.1-1.0) | 1.0(0.9-1.0) | 0.698 |
| Systolic blood pressure | 124.2±12.8 | 120.1±11.5 | 0.372 |
| Diastolic blood pressure | 85.4±6.7 | 86.8±8.3 | 0.609 |
| LH (mIU/ml) ^a | 9.4(7.3-13.1) | 7.4(4.1-9.8) | 0.109 |
| Total testosterone (ng/dl) | 69.1±31.8 | 58±20 | 0.291 |
| IGF-1 (ng/mL) ^a | 9.3 (6.8 – 31.4) | 15.4 (7.8 – 73.6) | 0.608 |
| IGFBP-1(ng/mL) ^a | 7.7 (5.6 – 8.9) | 7.0 (6.1 – 11.4) | 0.437 |
| SHBG (nmol/L) ^a | 27.8(20.0-40.6) | 26.1(17.3-37.7) | 0.454 |
| Fasting insulin (μIU/ml) | 33.4(22.0-57.2) | 40.3(29.2-50.6) | 0.617 |
| Fasting glucose (mg/dl) | 97.8±14.3 | 101.8±21.8 | 0.562 |
| Fasting insulin/glucose ratio (mIU/mg) | 35(24-56) | 41(27-62) | 0.588 |
| Total cholesterol (mg/dl) | 198.2±50.6 | 170.7±28 | 0.081 |
| LDL (gm/dl) ^a | 129.3±49.4 | 102.8±21.6 | 0.073 |
| HDL (mg/dl) ^a | 43.4±10.4 | 41.7±10.4 | 0.655 |

Abbreviations (^a): BMI: mass body index; WHR: waist-to-hip ratio; LH: Luteinizing hormone; IGF-1: Insulin-like growth factor-1; IGFBP-1: Insulin-like growth factor binding protein -1; SHBG: Sex hormone binding globulin; LDL: Low-density lipoprotein; HDL: High-density lipoprotein. Values expressed as mean ± standard deviation for variables with a symmetric distribution, and as median and interquartile range for asymmetric variables. The p values correspond to the comparison between the groups for each variable. Significance was calculated using Student's t test for independent variables or the *Mann-Whitney* test.

Table 2 – Clinical and laboratory parameters of obese patients with PCOS after metformin therapy.

| <i>Variable</i> | <i>Placebo (n=16)</i> | <i>Metformin (n=14)</i> | <i>P value</i> |
|--|-----------------------|-------------------------|----------------|
| BMI (kg/m ²) | 37.2±6.4 | 34.9±5.0 | 0.276 |
| WHR | 0.9(0.9-1.0) | 1.0(0.9-0.9) | 0.662 |
| Systolic blood pressure | 126.1±18.4 | 121.6±10.5 | 0.420 |
| Diastolic blood pressure | 84.8±10.9 | 84.6±10 | 0.963 |
| LH (mIU/ml) | 9.3(6.1-11.0) | 8.5(5.7-12.5) | 0.632 |
| Total testosterone (ng/dl) | 64.9±25 | 46±19.4 | 0.030 |
| IGF-1 (ng/mL) | 15.5 (5.9 – 30.1) | 27.6 (9.3 – 106.3) | 0.274 |
| IGFBP-1(ng/mL) | 7.2 (6.2 – 9.3) | 7.2 (6.0 – 8.2) | 0.980 |
| SHBG (nmol/L) | 21.5(16.3-27.2) | 23.4(16.4-30.8) | 0.925 |
| Fasting insulin (μIU/ml) | 32.0(25.0-36.4) | 39.7(29.7-49.1) | 0.228 |
| Fasting glucose (mg/dl) | 91.4±10.9 | 90.4±12.3 | 0.812 |
| Fasting insulin/glucose ratio (mIU/mg) | 33(28-44) | 44(34-54) | 0.157 |
| Total cholesterol (mg/dl) | 196.7±54 | 160.8±20.1 | 0.023 |
| LDL (gm/dl) | 127.5±55 | 99.4±18.4 | 0.070 |
| HDL (mg/dl) | 41.8±8.7 | 38.8±10.8 | 0.402 |

Values expressed as mean ± standard deviation for variables with a symmetric distribution, and as median and interquartile range for asymmetric variables. The p values correspond to the comparison between the groups for each variable after 3 months of metformin and placebo therapy. Significance was calculated using Student's t test for independent variables or the *Mann-Whitney* test.

Table 3 – Frequency of patients in relation with the pattern of menstrual cycles in obese human with polycystic ovary syndrome before and after daily 1.500mg of metformin or placebo for 3 months.

| <i>Pattern of menstrual cycles</i> | <i>METFORMIN n (%)</i> | | <i>PLACEBO n (%)</i> | |
|------------------------------------|------------------------|--------------|----------------------|--------------|
| | Before | After | Before | After |
| Regular (A) | 0 (0%) | 4 (28.6%) | 0 (0%) | 4 (25%) |
| Oligomenorreic (B) | 3 (21%) | 6 (42.8%) | 4 (25%) | 1 (6.25%) |
| Amenorreic (C) | 11 (79%) | 4 (28.6%) | 12 (75%) | 11 (68.75%) |
| Total (A+B)* | 3 (21%) | 10 (71.4%)* | 4 (25%) | 5 (31.3%)* |
| Total (A+B+C) | 14 (100%) | 14 (100%) | 16 (100%) | 16 (100%) |

*The difference between the groups was $p= 0.0067$

Figure 1 – IGF-1 in obese patients with PCOS before and after treatment with metformin and placebo.

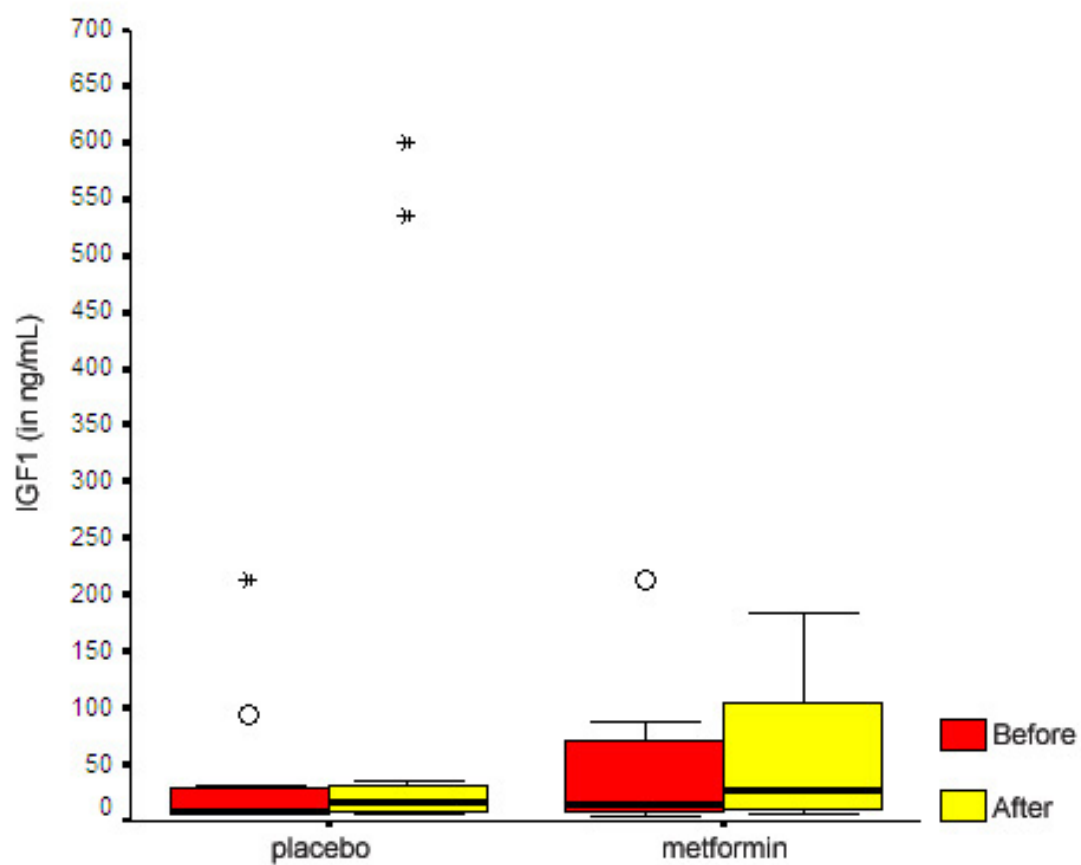
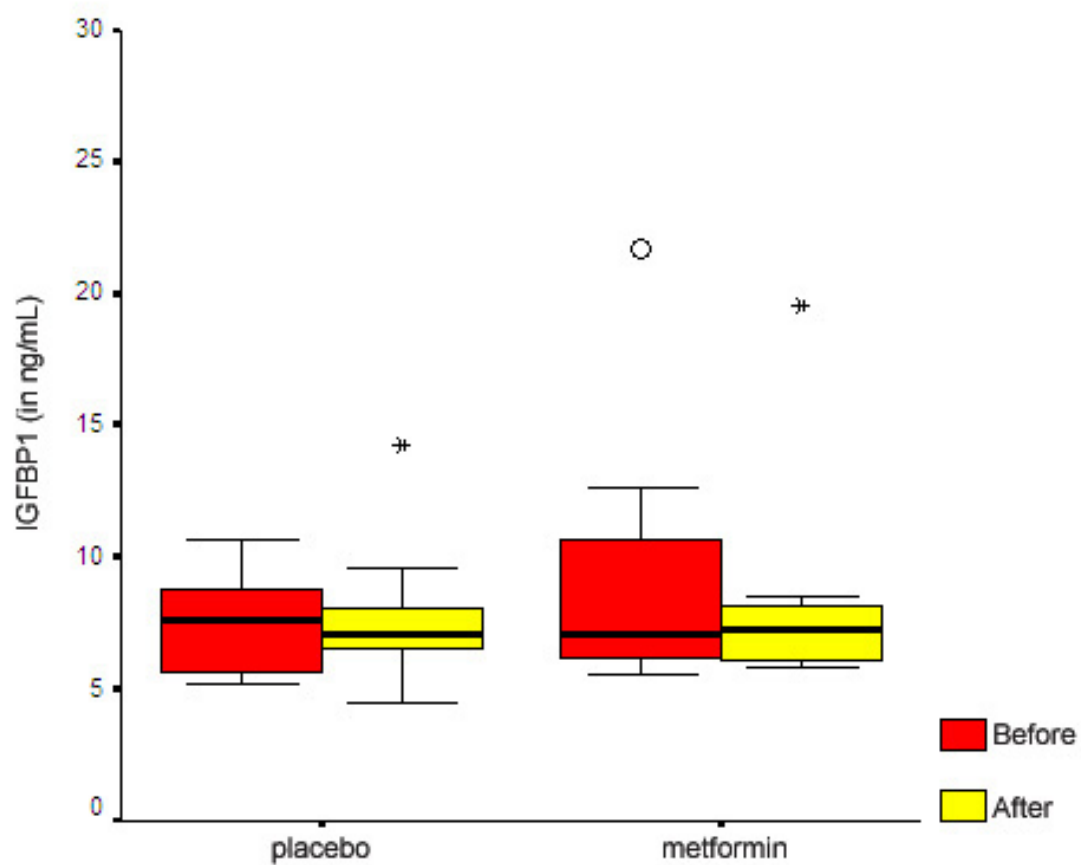


Figure 2 – IGFBP-1 in obese patients with PCOS before and after treatment with metformin and placebo.



REFERENCES

1. Harborne L, Fleming R, Lyall H, Norman J, Sattar N. Descriptive review of the evidence for the use of metformin in polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2003;361(9372):1894-901.
2. Balen A. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome: trying to understand PCOS and its endocrinology. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18(5):685-706.
3. Azziz R. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: A reappraisal. *Fertil Steril* 2005;83(5):1343-1346.
4. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004;81(1):19-25.
5. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997;18(6):774-800.
6. Dunaif A, Scott D, Finegood D, Quintana B, Whitcomb R. The insulin-sensitizing agent troglitazone improves metabolic and reproductive abnormalities in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(9):3299-306.
7. Nestler JE, Barlascini CO, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Clore JN, et al. Suppression of serum insulin by diazoxide reduces serum testosterone levels in obese

women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68(6):1027-32.

8. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989;38(9):1165-74.

9. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2005;352(12):1223-36.

10. Utiger RD. Insulin and the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1996;335(9):657-8.

11. De Leo V, La Marca A, Orvieto R, Morgante G. Effect of metformin on insulin-like growth factor (IGF) I and IGF-binding protein I in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(4):1598-600.

12. Thierry van Dessel HJ, Lee PD, Faessen G, Fauser BC, Giudice LC. Elevated serum levels of free insulin-like growth factor I in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(9):3030-5.

13. Book CB, Dunaif A. Selective insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(9):3110-6.

14. Lord JM, Flight IH, Norman RJ. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Bmj* 2003;327(7421):951-3.

15. Jakubowicz DJ, Seppala M, Jakubowicz S, Rodriguez-Armas O, Rivas-Santiago A, Koistinen H, et al. Insulin reduction with metformin increases luteal phase serum glycodelin and insulin-like growth factor-binding protein 1 concentrations and enhances uterine vascularity and blood flow in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol*

Metab 2001;86(3):1126-33.

16. Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, et al. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(1):139-46.
17. Nestler JE, Jakubowicz DJ. Decreases in ovarian cytochrome P450c17 alpha activity and serum free testosterone after reduction of insulin secretion in polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1996;335(9):617-23.
18. 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(2):569-74.
19. Kocak M, Caliskan E, Simsir C, Haberal A. Metformin therapy improves ovulatory rates, cervical scores, and pregnancy rates in clomiphene citrate-resistant women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;77(1):101-6.
20. Vandermolen DT, Ratts VS, Evans WS, Stovall DW, Kauma SW, Nestler JE. Metformin increases the ovulatory rate and pregnancy rate from clomiphene citrate in patients with polycystic ovary syndrome who are resistant to clomiphene citrate alone. *Fertil Steril* 2001;75(2):310-5.
21. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, et al. 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(8):2767-74.

22. Yarali H, Yildiz BO, Demiroglu A, Zeyneloglu HB, Yigit N, Bukulmez O, et al. Co-administration of metformin during rFSH treatment in patients with clomiphene citrate-resistant polycystic ovarian syndrome: a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2002;17(2):289-94.

23. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1961;21:1440-7.

24. Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1990;797:1-204.

25. Spritzer P, Billaud L, Thalabard JC, Birman P, Mowszowicz I, Raux-Demay MC, et al. Cyproterone acetate versus hydrocortisone treatment in late-onset adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70(3):642-6.

26. Miles LE, Lipschitz DA, Bieber CP, Cook JD. Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay. *Anal Biochem* 1974;61(1):209-24.

27. Chou KH, von Eye Corleta H, Capp E, Spritzer PM. Clinical, metabolic and endocrine parameters in response to metformin in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind and placebo-controlled trial. *Horm Metab Res* 2003;35(2):86-91.

28. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;50(1):113-6.

29. Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL, Kaplan SA. Insulin resistance in nonobese

patients with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57(2):356-9.

30. Nestler JE, Jakubowicz DJ. Lean women with polycystic ovary syndrome respond to insulin reduction with decreases in ovarian P450c17 alpha activity and serum androgens. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(12):4075-9.

31. Harrison LC, Dean B, Peluso I, Clark S, Ward G. Insulin resistance, acanthosis nigricans, and polycystic ovaries associated with a circulating inhibitor of postbinding insulin action. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;60(5):1047-52.

32. Shoupe D, Kumar DD, Lobo RA. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1983;147(5):588-92.

33. Franks S, Gilling-Smith C, Watson H, Willis D. Insulin action in the normal and polycystic ovary. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999;28(2):361-78.

34. Hunter SJ, Garvey WT. Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system. *Am J Med* 1998;105(4):331-45.

35. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995;333(13):853-61.

36. Pawelczyk L, Spaczynski RZ, Banaszewska B, Duleba AJ. Metformin therapy increases insulin-like growth factor binding protein-1 in hyperinsulinemic women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;113(2):209-13.

37. Kowalska I, Kinalski M, Straczkowski M, Wolczynski S, Kinalska I. Insulin, leptin, IGF-I and insulin-dependent protein concentrations after insulin-sensitizing therapy in obese women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2001;144(5):509-15.

38. Eagleson CA, Bellows AB, Hu K, Gingrich MB, Marshall JC. Obese patients with polycystic ovary syndrome: evidence that metformin does not restore sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by ovarian steroids. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(11):5158-62.
39. Guido M, Romualdi D, Giuliani M, Suriano R, Tienforti D, Costantini B, et al. Effect of metformin on the growth hormone response to growth hormone-releasing hormone in obese women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005;84(5):1470-6.
40. de Boer JA, Lambalk CB, Hendriks HH, van Aken C, van der Veen EA, Schoemaker J. Growth hormone secretion is impaired but not related to insulin sensitivity in non-obese patients with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2004;19(3):504-9.
41. Premoli AC, Santana LF, Ferriani RA, Moura MD, De Sa MF, Reis RM. Growth hormone secretion and insulin-like growth factor-1 are related to hyperandrogenism in nonobese patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005;83(6):1852-5.

ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS

EFEITO DA METFORMINA SOBRE OS NÍVEIS DE IGF-1 E IGFBP-1, EM PACIENTES OBESAS COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS.

AUTORES: Seibel, Samuar Albano¹; Chou, Kai Hua⁴; Capp, Edison^{1,2}; Spritzer, Poli Mara⁵; Helena von Eye Corleta^{1,2,3}.

Instituições: ¹Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

²Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

³Núcleo Gerar de Reprodução Assistida, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁴Hospital Femina, GHNSC, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁵Unidade de Endocrinologia Ginecológica, Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Porto Alegre, RS, Brasil.

Correspondência: Dra Helena von Eye Corleta - Núcleo Gerar de Reprodução Assistida-
Hospital Moinhos de Vento. Rua Ramiro Barcelos, 910 conj. 905 - CEP 90035-001 - Porto
Alegre, RS - Brasil. Telefones: +55 (51) 33115699 - fax: +55 (51) 33116588 - E-mail:
hcorleta@portoweb.com.br

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito da metformina nos níveis de IGF-1 e IGFBP-1, sobre o padrão menstrual, o hiperandrogenismo, insulinemia e sobre níveis plasmáticos hormonais em mulheres obesas com Síndrome dos Ovários Policísticos.

Delineamento: Ensaio clínico randomizado, uso de placebo e duplo-cego.

Instituição: Ambulatório de Ginecologia, setor de endocrinologia-ginecológica e infertilidade da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre e Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Métodos: Por um período de 90 dias, trinta pacientes obesas, não diabéticas com SOP foram tratadas com metformina na dose de 500 mg, três vezes ao dia ou receberam placebo. Os parâmetros analisados foram: IGF-1, IGFBP-1, IMC, RCQ, PA, FSH, LH, Testosterona Total, SHBG, insulina em jejum, relação glicemia e insulinemia, colesterol total, LDL, HDL, triglicerídeos e ciclos menstruais antes e depois do uso da metformina.

Resultados: Não houve diferença de parâmetros entre os grupos antes da utilização do tratamento proposto com metformina. Após 3 meses de tratamento não houve diferença entre os níveis séricos de IGF-1 e IGFBP-1. Houve diferença significativa nos níveis de testosterona total ($p=0,030$) e de colesterol total ($p=0,023$) em relação às pacientes que usaram placebo.

Conclusões: O uso de metformina, em comparação ao placebo, melhora significativamente o hiperandrogenismo (testotosterona) sem alterar significativamente outros parâmetros metabólicos (IGF-1, IGFBP- 1 e insulina).

Palavras-chave: Obesidade – Síndrome dos Ovários Policísticos – IGF-1 – IGFBP-1 – Metformina.

ABSTRACT

Objective: to assess the effect of metformin on IGF-1 and IGFBP-1 levels, on menstrual pattern, hyperandrogenism, insulin concentration and on plasma and hormonal levels in obese women with polycystic ovarian syndrome (PCOS).

Design: Randomized, double-blind and placebo-controlled clinical trial.

Setting: Gynecological Outpatient Clinic, Division of Gynecological Endocrinology and Infertility of Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre and Graduate Program in Medical Sciences of Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Methods: During 90 days, 30 obese and nondiabetic patients with PCOS received metformin in the dose of 500 mg, three times a day, or were treated with placebo. The following parameters were analyzed: IGF-1, IGFBP-1, BMI, WHR, systolic and diastolic blood pressure, FSH, LH, total testosterone, SHBG, fasting insulin levels, fasting insulin/glucose ratio, total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides and menstrual patterns before and after the use of metformin.

Results: No statistically significant difference was observed in the analyzed parameters between the groups before metformin use. After three months of treatment, no difference was found between the serum levels of IGF-1 and IGFBP-1. Statistically significant difference was noted in total testosterone levels ($p = 0.030$) and in total cholesterol

($p=0.023$) in comparison to the placebo-treated patients.

Conclusions: The use of metformin, compared to placebo, substantially improves hyperandrogenism (testosterone) without remarkably influencing other metabolic parameters (IGF-1, IGFBP- 1 and insulin).

Keywords: Obesity – Polycystic ovarian syndrome – IGF-1 – IGFBP-1 – Metformin.

INTRODUÇÃO

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é uma desordem endócrino metabólica que afeta mulheres em idade reprodutiva em 5-10% (1). É caracterizada por uma variedade heterogênea de sinais e sintomas, que juntas formam um espectro de desordens de apresentação moderada a severa, em relação a distúrbios reprodutivos, endocrinológico e metabólicos (2). O diagnóstico baseia-se na presença de oligomenorréia ou anovulação, sinais clínicos e ou laboratoriais de hiperandrogenismo e ovários policísticos, excluindo-se outras patologias (hiperplasia adrenal congênita, síndrome de Cushing e tumores secretores de androgênio) (3, 4). Sua etiologia permanece desconhecida, mas está bem estabelecido que a hiperinsulinemia, secundária à resistência à insulina, desempenha um papel importante na fisiopatologia das anormalidades reprodutivas através da estimulação da produção androgênica ovariana (5-7). Estas alterações acometem tanto mulheres obesas quanto magras com SOP (8). A resistência à insulina em SOP acarreta um aumento do risco de intolerância à glicose, Diabetes Mellitus tipo II, alterações de lipoproteínas e o desenvolvimento de doença macrovascular (9).

Vários estudos têm sugerido que o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) pode desempenhar um papel importante na regulação da maturação folicular ovariana e esteroidogênese (10, 11). O aumento de insulina na SOP pode aumentar a biodisponibilidade de IGF-1, em decorrência da diminuição da síntese hepática de sua proteína de ligação, a proteína ligadora do fator de crescimento semelhante à insulina (IGFBP-1) e da globulina transportadora de hormônios sexuais (SHBG), ocasionando aumento da fração livre dos esteróides sexuais, principalmente os androgênios (12, 13). A

busca de fármacos sensibilizadores de insulina e a busca da elucidação de fatores relacionados com a fisiopatologia da SOP tem sido alvo de grande interesse (1, 14). Em meta-análise recente a metformina, biguanida usada no tratamento de Diabete Mellitus tipo II, demonstrou ser efetiva na SOP, melhorando significativamente parâmetros clínicos como a ovulação à resposta aos indutores da ovulação e a dosagem de testosterona (14). Quanto à melhora dos níveis séricos de insulina, os trabalhos são conflitantes. Os primeiros estudos (15-17) mostraram melhora significativa dos níveis séricos de insulina e trabalhos posteriores (18-22) não conseguiram reproduzir estes achados. Para elucidar a ação da metformina na SOP, este estudo analisou o seu efeito sobre o IGF-1 e sua proteína carreadora, o IGFBP-1.

PACIENTES E MÉTODOS

População: Foram analisadas trinta pacientes com SOP, apresentando oligomenorréia, (no mínimo seis menstruações espontâneas nos doze meses que antecederam o estudo) e hiperandrogenismo (presença de hirsutismo, segundo a classificação de Ferriman e Gallwey (23), ou dosagem sérica aumentada de testosterona) as quais foram atendidas no ambulatório de ginecologia, setor endocrinologia-ginecológica e infertilidade da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. Todas pacientes em estudo eram não fumantes, não apresentavam nefropatia ou hepatopatia, não utilizaram qualquer medicação prévia nos três meses que antecederam o estudo e eram obesas, com índice de massa corporal (relação entre peso em quilogramas sobre a altura em metros ao quadrado) acima de trinta, segundo classificação da Organização Mundial da Saúde (24). Os critérios de exclusão foram pacientes com oligomenorréia e hiperandrogenismo

associado à gestação e a alterações da prolactina, tireoidopatias, neoplasia produtoras de androgênios ou hiperplasia supra-renal congênita de início tardio, testada através da dosagem basal de 17-hidroxiprogesterona e em 60 minutos após a aplicação de 0,25 mg de ACTH intramuscular – o diagnóstico da doença é estabelecido se a dosagem for > 12ng/ml (25).

Protocolo de estudo: Através de um ensaio clínico randomizado, as pacientes foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos, usando a tabela de números aleatórios, sendo um estudo duplo-cego. Foi realizada uma avaliação inicial, antes da entrega da medicação, com medida da altura, do peso corporal, da pressão arterial, do quadril e da cintura. Após, as pacientes foram submetidas à coleta de exames laboratoriais séricos, estando em jejum por 12 horas, onde a coleta foi realizada no tempo zero e após 2 horas da ingestão de 75 gramas de glicose, para a análise de glicose, LH, FSH, testosterona total, colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos. Para as dosagens de insulinemia, SHBG, IGF-1 e IGFBP-1, o soro foi centrifugado e congelado a -70°C , para análise posterior. Também foram calculadas a razão glicose-insulina e a razão LH/FSH. Os exames e avaliações clínicas citados anteriormente, foram repetidos em 90 dias.

Tratamento proposto:

-Grupo 1: comprimidos de 500mg de metformina, de 8/8 horas por 90 dias.

-Grupo 2: comprimidos com placebo de 8/8 horas por 90 dias.

As pacientes foram acompanhadas mensalmente para receberem a medicação para o mês seguinte, avaliar adesão ao tratamento e orientadas sobre eventuais

alterações e efeitos adversos. O uso de métodos de barreira foi orientado durante o período de estudo. Todas as pacientes assinaram o termo de consentimento informado e o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição.

Análises laboratoriais: Para a extração de IGF-1 e IGFBP-1, foi empregado um ensaio imunorradiométrico (IRMA) de dois sítios descrito por Milles et al (26) (DSL ® Diagnostic Systems Laboratories, Texas, Estados Unidos). As dosagens de LH e FSH foram analisadas pelo método de quimioluminescência (Chiron Diagnostics ACS: 180 ® Automated Chemiluminescence Systems, Chiron Diagnostics Corporation, EUA). Para a determinação de glicose plasmática, colesterol total e frações (HDL e LDL) e triglicerídeos foi empregado o método enzimático (Cobas® Integra da Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha). A dosagem de testosterona total foi determinada pelo método RIA (DPC, Los Angeles, Estados Unidos). A dosagem de insulina foi determinada pelo método RIA (CIS Bio International, Massachusetts, EUA) e a da SHBG pelo método de quimioluminescência (DPC, Los Angeles, Estados Unidos). Todas as amostras foram analisadas em duplicata para evitar variações entre os ensaios.

Análise estatística: O tamanho da amostra foi calculado a partir dos resultados de IGFBP-1 de De Leo e cols. (De Leo e cols., 2000) para um nível de significância estatística de 0,05 e um poder de amostra de 80 %. Para que a diferença entre as médias seja de pelo menos 0,32 mg/L, são necessárias 16 pacientes em cada grupo (11). Não houve estratificação, o estudo foi planejado com dois grupos, sendo um grupo de tratamento com a meformina e um grupo placebo, onde foram calculadas as médias e o

desvio-padrão para as variáveis quantitativas. Em situações de assimetria, foram calculadas as medianas e amplitude interquartis. As variáveis categóricas foram descritas em percentuais. O teste t de student para amostras independentes foi utilizado na comparação entre grupos nos dados quantitativos com distribuição normal. Nos casos em que não houve distribuição normal foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Nas variáveis categóricas foi utilizado o Teste qui-quadrado. O nível de significância adotado no estudo foi de 5 %. Os programas estatísticos utilizados foram: EXCEL 2000, EPI-Info v 6.04C, SPSS for Windows v 8.0 e PEPI v 3.0.

RESULTADOS

Foram analisadas 30 mulheres obesas com SOP, sendo 16 no grupo placebo e 14 no grupo da metformina. No início do tratamento, as pacientes dos dois grupos não apresentavam diferenças na idade, índice de massa corporal, razão cintura-quadril, na pressão arterial, no padrão menstrual, nos parâmetros hormonais (LH, testosterona total e insulina jejum) e metabólicos (SHBG, glicemia em jejum, colesterol total, LDL, HDL, triglicerídeos, razão glicemia-insulina). Após os três meses de intervenção houve diferença significativa na dosagem de testosterona ($p=0,030$) e no colesterol total ($p=0,023$). Houve também uma tendência em relação à melhora do padrão dos ciclos menstruais ($p=0,06$) no grupo da metformina. Estes resultados foram previamente publicados por nosso grupo em outro estudo (27). Tabelas 1, 2 e 3.

Níveis séricos de IGF-1 e IGFBP-1: Não houve diferença significativa nas dosagens de

IGF-1 após 3 meses de tratamento, entre o grupo tratado com metformina: 27.6 (9.3-106.3), e placebo: 15.5 (5.9-30.1). Valor $p=0.274$. Figura 4.

Não houve diferença significativa nas dosagens de IGBP-1 após 3 meses de tratamento, entre o grupo tratado com metformina: 7.2 (6.0-8.2), e placebo: 7.2 (6.2-9.3). Valor $p=0.980$. Figura 5.

DISCUSSÃO

Os distúrbios da ação da insulina em SOP foram apresentados em 1980 (28). Estudos subseqüentes têm demonstrado que resistência à insulina é uma das características integralizadas em SOP, principalmente em mulheres obesas (29, 30). Muitos autores (31-34) buscam o entendimento do mecanismo de ação da insulina e de outros fatores interligados, os quais podem influenciar na fisiopatologia da SOP. Têm sido postulado que IGF-1 apresenta relação com o aumento de LH atuando nas células da teca, contribuindo para o hiperandrogenismo observado clinicamente em SOP (5, 12, 35). Até o presente momento, a pesquisa de agentes insulino-sensibilizantes tem sido direcionada na busca de fármacos que melhorem os sintomas e sinais de SOP: indução da ovulação para infertilidade e terapia antiandrogênica para o hirsutismo. Estudos não randomizados com metformina, têm demonstrado uma série de benefícios metabólicos, clínicos e reprodutivos (1). Em uma meta-análise e uma revisão sistemática sobre a metformina em SOP, observou-se uma melhora nos padrões menstruais e em relação a ovulação nos trabalhos analisados, entretanto, sem evidências na melhora da insulina.

Com a observação que insulina e IGF-1 estimulam a produção de androgênios *in*

vivo e *in vitro*, isto nos leva a hipotetizar que o uso da metformina atuaria através da redução da insulina e IGF-1, com o aumento de sua proteína carreadora, o IGFBP-1. Alguns estudos não controlados com metformina apresentaram resultados promissores, com aumento do IGFBP-1 e diminuição da insulina em jejum, sem, entretanto, redução do IGF-1 total, mas sim de sua fração biodisponível (11, 36). Em outro estudo controlado, observou-se uma diminuição da insulina, sem alteração do IGF-1 e uma tendência ao aumento do IGFBP-1, com uso da metformina (37).

Em relação às características clínicas e laboratoriais, não houve diferença entre o grupo antes do tratamento, principalmente em relação aos valores de referência laboratoriais de IGF-1 e IGFBP-1, que se apresentavam com valores dentro da normalidade. Isto pode ser justificado, pois pacientes com SOP podem apresentar hiperandrogenismo devido ao aumento da fração biologicamente ativa do IGF-1 (12). Após 3 meses de tratamento com metformina, os parâmetros clínicos e laboratoriais não apresentaram alterações significativas, principalmente em relação à IGF-1 e IGFBP-1, sugerindo que a metformina pode apresentar uma atuação ovariana local nas frações livres do IGF-1 e IGFBP-1, sem repercussões em suas concentrações séricas totais (17, 38), pois houve uma tendência a melhora do padrão menstrual e uma melhora significativa da concentração da testosterona total. Em relação à insulina, apesar de inicialmente 23 pacientes apresentarem hiperinsulinemia (12 no grupo da metformina e 11 no grupo placebo), com redução da insulina em jejum em 15 destas pacientes hiperinsulinêmicas (7 no grupo da metformina e 8 no grupo placebo), não houve significância estatística, como demonstrado em outros estudos (1, 14).

Em nosso estudo há uma melhora nos padrões clínicos da SOP com o uso da

metformina, uma relação direta da insulina e hiperandrogenismo com o sistema de IGFs não pode ser estabelecida. Isto sugere que esta pode não ser a via pela qual os agentes insulino-sensibilizantes possam atuar na SOP.

Alguns estudos demonstram que a insulina bloqueia a ação periférica do hormônio de crescimento (GH) (39), que tem sido relacionado a etiopatogenia da SOP (40). O mecanismo completo da relação entre o GH e SOP não está completamente elucidado, mas se apresenta em pacientes magras e obesas que não seguem o mesmo padrão.

Estudos recentes sugerem que a presença de SOP em pacientes sem alterações de peso é associada com valores aumentados de GH e IGF-1, cujos valores indicam o envolvimento de dois mecanismos diferentes de acordo com o índice de massa corporal. Sendo assim, a ação combinada do GH e do IGF-1 pode ser responsável pela elevação do LH e do hiperandrogenismo em pacientes não obesas com SOP, enquanto que nas pacientes obesas com SOP, a obesidade e a resistência à insulina promovem a redução da secreção do GH (41). Em um estudo clínico prospectivo, não controlado, com pacientes obesas com SOP que utilizaram metformina, encontrou-se um aumento do GH pós-prandial, em resposta ao teste com GHRH, sem afetar o IMC, com melhora significativa da insulina e do IGF-1 após 3 meses de tratamento (39).

Concluindo, a metformina mantém-se como uma alternativa de tratamento em pacientes com SOP, principalmente na regularização dos ciclos menstruais e na correção dos distúrbios da ovulação isoladamente ou associada a outros indutores de ovulação. Novos ensaios clínicos randomizados são necessários para elucidar os aspectos em relação ao seu local de atuação em SOP, e as características das pacientes as quais podem ser direcionadas o seu uso.

Tabela 1 – Aspectos clínicos e laboratoriais das pacientes obesas com SOP antes do uso da metformina.

| <i>Variável</i> | <i>Placebo (n=16)</i> | <i>Metformina (n=14)</i> | <i>Valor P</i> |
|--|-----------------------|--------------------------|----------------|
| Idade (anos) | 24,5±6,1 | 24±5 | 0,809 |
| IMC (kg/m ²) | 37,4±6 | 35,6±4,9 | 0,377 |
| RCQ ^a | 0,9(0,1-1,0) | 1,0(0,9-1,0) | 0,698 |
| Pressão arterial sistólica | 124,2±12,8 | 120,1±11,5 | 0,372 |
| Pressão arterial diastólica | 85,4±6,7 | 86,8±8,3 | 0,609 |
| LH (mUI/ml) ^a | 9,4(7,3-13,1) | 7,4(4,1-9,8) | 0,109 |
| Testosterona total (ng/dl) | 69,1±31,8 | 58±20 | 0,291 |
| IGF-1 (ng/mL) ^a | 9,3 (6,8 – 31,4) | 15,4 (7,8 – 73,6) | 0,608 |
| IGFBP-1(ng/mL) ^a | 7,7 (5,6 – 8,9) | 7,0 (6,1 – 11,4) | 0,437 |
| SHBG (nmol/L) ^a | 27,8(20,0-40,6) | 26,1(17,3-37,7) | 0,454 |
| Insulina em jejum (μIU/ml) | 33,4(22,0-57,2) | 40,3(29,2-50,6) | 0,617 |
| Glicemia em jejum (mg/dl) | 97,8±14,3 | 101,8±21,8 | 0,562 |
| Razão insulina-glicose em jejum (mIU/mg) | 35(24-56) | 41(27-62) | 0,588 |
| Colesterol total (mg/dl) | 198,2±50,6 | 170,7±28 | 0,081 |
| LDL (gm/dl) ^a | 129,3±49,4 | 102,8±21,6 | 0,073 |
| HDL (mg/dl) ^a | 43,4±10,4 | 41,7±10,4 | 0,655 |

Abreviações (^a): IMC: índice de massa corporal; RCQ: razão cintura quadril; LH: Hormônio luteinizante; IGF-1: Fator de crescimento semelhante à insulina-1; IGFBP-1: Proteína ligadora do fator de crescimento semelhante à insulina-1; SHBG: Globulina transportadora de hormônios sexuais; LDL: Lipoproteína de densidade baixa; HDL: Lipoproteína de densidade alta. Valores são expressos em média ± desvio padrão para variáveis com distribuição simétrica e mediana e intervalo interquartil para variáveis não simétricas. Os valores para P referem-se a comparação entre os dois grupos para cada variável. Significância foi calculada usando Teste t-Student para amostras independentes ou Teste de *Mann-Whitney*.

Tabela 2 – Aspectos clínicos e laboratoriais das pacientes obesas com SOP após o uso da metformina.

| <i>Variável</i> | <i>Placebo (n=16)</i> | <i>Metformina (n=14)</i> | <i>Valor P</i> |
|--|-----------------------|--------------------------|----------------|
| IMC (kg/m ²) | 37,2±6,4 | 34,9±5,0 | 0,276 |
| RCQ | 0,9(0,9-1,0) | 1,0(0,9-0,9) | 0,662 |
| Pressão arterial sistólica | 126,1±18,4 | 121,6±10,5 | 0,420 |
| Pressão arterial diastólica | 84,8±10,9 | 84,6±10 | 0,963 |
| LH (mUI/ml) | 9,3(6,1-11,0) | 8,5(5,7-12,5) | 0,632 |
| Testosterona total (ng/dl) | 64,9±25 | 46±19,4 | 0,030 |
| IGF-1 (ng/mL) | 15,5 (5,9 – 30,1) | 27,6 (9,3 – 106,3) | 0,274 |
| IGFBP-1(ng/mL) | 7,2 (6,2 – 9,3) | 7,2 (6,0 – 8,2) | 0,980 |
| SHBG (nmol/L) | 21,5(16,3-27,2) | 23,4(16,4-30,8) | 0,925 |
| Insulina em jejum (μIU/ml) | 32,0(25,0-36,4) | 39,7(29,7-49,1) | 0,228 |
| Glicemia em jejum (mg/dl) | 91,4±10,9 | 90,4±12,3 | 0,812 |
| Razão insulina-glicose em jejum (mIU/mg) | 33(28-44) | 44(34-54) | 0,157 |
| Colesterol total (mg/dl) | 196,7±54 | 160,8±20,1 | 0,023 |
| LDL (gm/dl) | 127,5±55 | 99,4±18,4 | 0,070 |
| HDL (mg/dl) | 41,8±8,7 | 38,8±10,8 | 0,402 |

Valores são expressos em média ± desvio padrão para variáveis com distribuição simétrica e mediana e intervalo interquartil para variáveis não simétricas. Os valores para P referem-se a comparação entre os dois grupos para cada variável depois de 3 meses com uso da metformina e placebo. Significância foi calculada usando Teste t-Student para amostras independentes ou Teste de *Mann-Whitney*.

Tabela 3 – Frequência de pacientes em relação ao padrão dos ciclos menstruais em mulheres obesas com SOP, antes e após o uso da metformina ou placebo.

| <i>Padrão dos ciclos menstruais</i> | <i>METFORMINA n (%)</i> | | <i>PLACEBO n (%)</i> | |
|-------------------------------------|-------------------------|---------------|----------------------|---------------|
| | Antes | Depois | Antes | Depois |
| Regular (A) | 0 (0%) | 4 (28,6%) | 0 (0%) | 4 (25%) |
| Oligomenorréia (B) | 3 (21%) | 6 (42,8%) | 4 (25%) | 1 (6,25%) |
| Amenorréia (C) | 11 (79%) | 4 (28,6%) | 12 (75%) | 11 (68,75%) |
| Total (A+B)* | 3 (21%) | 10 (71,4%)* | 4 (25%) | 5 (31,3%)* |
| Total (A+B+C) | 14 (100%) | 14 (100%) | 16 (100%) | 16 (100%) |

* A diferença entre os grupos apresentou um $p= 0,067$.

Figura 4 – IGF-1 nas pacientes obesas com SOP antes e após o uso da metformina e placebo.

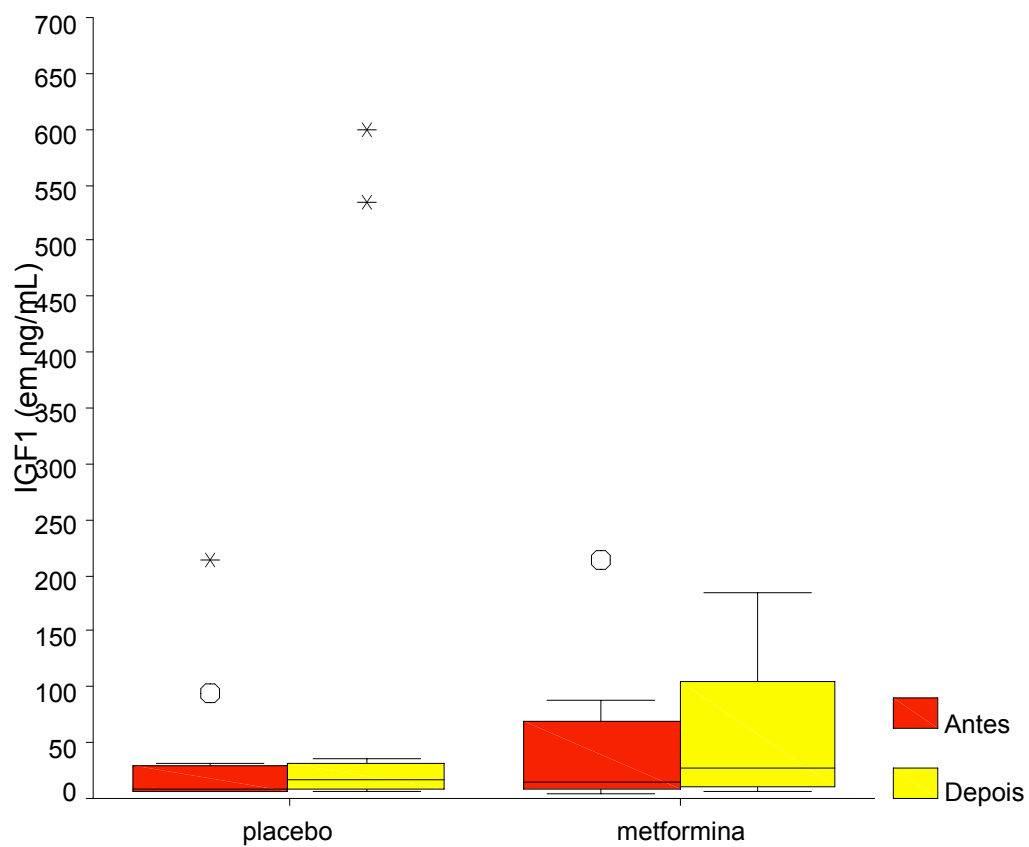
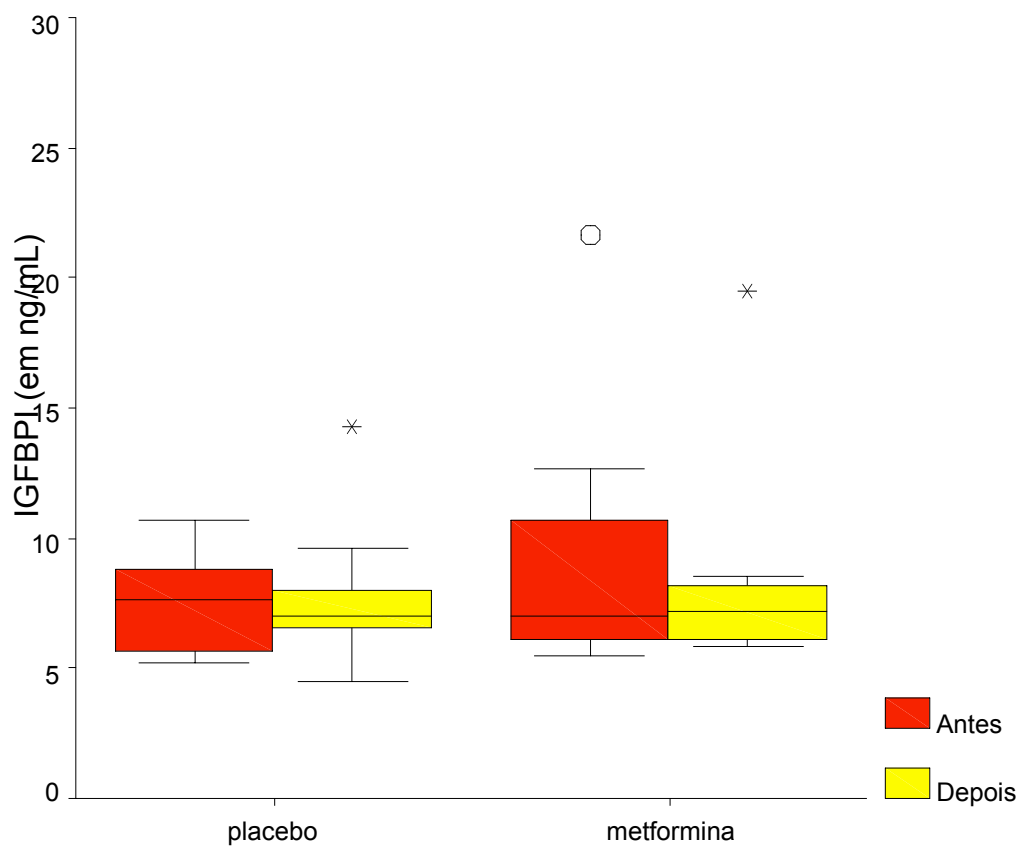


Figura 5 – IGFBP-1 nas pacientes obesas com SOP antes e após o uso da metformina e placebo.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Harborne L, Fleming R, Lyall H, Norman J, Sattar N. Descriptive review of the evidence for the use of metformin in polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2003;361(9372):1894-901.
2. Balen A. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome: trying to understand PCOS and its endocrinology. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18(5):685-706.
3. Azziz R. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: A reappraisal. *Fertil Steril* 2005;83(5):1343-1346.
4. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004;81(1):19-25.
5. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997;18(6):774-800.
6. Dunaif A, Scott D, Finegood D, Quintana B, Whitcomb R. The insulin-sensitizing agent troglitazone improves metabolic and reproductive abnormalities in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(9):3299-306.
7. Nestler JE, Barlascini CO, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Clore JN, et al. Suppression of serum insulin by diazoxide reduces serum testosterone levels in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68(6):1027-32.
8. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin

resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989;38(9):1165-74.

9. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2005;352(12):1223-36.

10. Utiger RD. Insulin and the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1996;335(9):657-8.

11. De Leo V, La Marca A, Orvieto R, Morgante G. Effect of metformin on insulin-like growth factor (IGF) I and IGF-binding protein I in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(4):1598-600.

12. Thierry van Dessel HJ, Lee PD, Faessen G, Fauser BC, Giudice LC. Elevated serum levels of free insulin-like growth factor I in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(9):3030-5.

13. Book CB, Dunaif A. Selective insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(9):3110-6.

14. Lord JM, Flight IH, Norman RJ. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Bmj* 2003;327(7421):951-3.

15. Jakubowicz DJ, Seppala M, Jakubowicz S, Rodriguez-Armas O, Rivas-Santiago A, Koistinen H, et al. Insulin reduction with metformin increases luteal phase serum glycodelin and insulin-like growth factor-binding protein 1 concentrations and enhances uterine vascularity and blood flow in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(3):1126-33.

16. Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, et al. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(1):139-

46.

17. Nestler JE, Jakubowicz DJ. Decreases in ovarian cytochrome P450c17 alpha activity and serum free testosterone after reduction of insulin secretion in polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1996;335(9):617-23.

18. 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(2):569-74.

19. Kocak M, Caliskan E, Simsir C, Haberal A. Metformin therapy improves ovulatory rates, cervical scores, and pregnancy rates in clomiphene citrate-resistant women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;77(1):101-6.

20. Vandermolen DT, Ratts VS, Evans WS, Stovall DW, Kauma SW, Nestler JE. Metformin increases the ovulatory rate and pregnancy rate from clomiphene citrate in patients with polycystic ovary syndrome who are resistant to clomiphene citrate alone. *Fertil Steril* 2001;75(2):310-5.

21. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, et al. 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(8):2767-74.

22. Yarali H, Yildiz BO, Demiroglu A, Zeyneloglu HB, Yigit N, Bukulmez O, et al. Co-administration of metformin during rFSH treatment in patients with clomiphene citrate-resistant polycystic ovarian syndrome: a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2002;17(2):289-94.

23. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1961;21:1440-7.

24. Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases. Report of a WHO Study Group. World Health Organ Tech Rep Ser 1990;797:1-204.
25. Spritzer P, Billaud L, Thalabard JC, Birman P, Mowszowicz I, Raux-Demay MC, et al. Cyproterone acetate versus hydrocortisone treatment in late-onset adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70(3):642-6.
26. Miles LE, Lipschitz DA, Bieber CP, Cook JD. Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay. *Anal Biochem* 1974;61(1):209-24.
27. Chou KH, von Eye Corleta H, Capp E, Spritzer PM. Clinical, metabolic and endocrine parameters in response to metformin in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind and placebo-controlled trial. *Horm Metab Res* 2003;35(2):86-91.
28. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;50(1):113-6.
29. Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL, Kaplan SA. Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57(2):356-9.
30. Nestler JE, Jakubowicz DJ. Lean women with polycystic ovary syndrome respond to insulin reduction with decreases in ovarian P450c17 alpha activity and serum androgens. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(12):4075-9.
31. Harrison LC, Dean B, Peluso I, Clark S, Ward G. Insulin resistance, acanthosis nigricans, and polycystic ovaries associated with a circulating inhibitor of postbinding insulin action. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;60(5):1047-52.
32. Shoupe D, Kumar DD, Lobo RA. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1983;147(5):588-92.
33. Franks S, Gilling-Smith C, Watson H, Willis D. Insulin action in the normal and

polycystic ovary. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999;28(2):361-78.

34. Hunter SJ, Garvey WT. Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system.

Am J Med 1998;105(4):331-45.

35. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995;333(13):853-61.

36. Pawelczyk L, Spaczynski RZ, Banaszewska B, Duleba AJ. Metformin therapy increases insulin-like growth factor binding protein-1 in hyperinsulinemic women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;113(2):209-13.

37. Kowalska I, Kinalski M, Straczkowski M, Wolczynski S, Kinalska I. Insulin, leptin, IGF-I and insulin-dependent protein concentrations after insulin-sensitizing therapy in obese women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2001;144(5):509-15.

38. Eagleson CA, Bellows AB, Hu K, Gingrich MB, Marshall JC. Obese patients with polycystic ovary syndrome: evidence that metformin does not restore sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by ovarian steroids. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(11):5158-62.

39. Guido M, Romualdi D, Giuliani M, Suriano R, Tienforti D, Costantini B, et al. Effect of metformin on the growth hormone response to growth hormone-releasing hormone in obese women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005;84(5):1470-6.

40. de Boer JA, Lambalk CB, Hendriks HH, van Aken C, van der Veen EA, Schoemaker J. Growth hormone secretion is impaired but not related to insulin sensitivity in non-obese patients with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2004;19(3):504-9.

41. Premoli AC, Santana LF, Ferriani RA, Moura MD, De Sa MF, Reis RM. Growth hormone secretion and insulin-like growth factor-1 are related to hyperandrogenism in nonobese patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005;83(6):1852-5.

ANEXOS

ANEXO 1 : Termo de Consentimento Informado

I - Conteúdo

Este texto é direcionado às pacientes que possuem características das mulheres obesas com Síndrome dos Ovários Policísticos, isto é, mulheres com irregularidade menstrual (pouca menstruação ou com sangramento uterino anormal) ou com problemas com aumento de pêlos ou queda de cabelo, acne, espinhas aumentadas, seborréia, ou dificuldade de engravidar espontaneamente. Estas mulheres devem ser atendidas no ambulatório de ginecologia-endócrina da Irmandade da Santa Casa de Porto Alegre. Por este texto, chamado de Consentimento Informado, estamos informando sobre a pesquisa que queremos realizar nestas pacientes utilizando um remédio (o metformin) que parece diminuir todos esses problemas.

Este texto será aplicado, através do médico responsável, em todas as candidatas da pesquisa e antes do estudo, para que sejam esclarecidas sobre o trabalho e tudo o que as envolver. A pesquisa não será aplicada nas mulheres que não quiserem participar do estudo após a leitura do Consentimento Informado. As que aceitarem, deverão deixar ao término do Consentimento Informado a sua assinatura.

II - Justificativa e os objetivos da pesquisa

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é caracterizada por mulheres que apresentam problemas devidos à desregulação endocrinológica do organismo. Envolve a pouca ação da insulina (hormônio que faz com que o açúcar do sangue entre nas células) nas células, deixando o sangue cheio de insulina e de açúcar (às vezes provocando diabete e aumento de peso). Essa insulina aumentada provoca, também no ovário, um aumento na quantidade de andrógenos (hormônios masculinos que normalmente estão presentes nas

mulheres, mas em pouca quantidade), provocando pêlos, queda de cabelos, espinhas, acne, voz engrossadas e falta de menstruação ou menstruações irregulares. Também pode dar problemas para engravidar, aumentando o colesterol ruim no sangue e peso bem aumentado na mulher. Para controlar esse problemas estamos estudando o **Metformin**, que é um remédio que deixa a insulina entrar livremente nas células (é como se estivesse dando a “chave” para abrir a fechadura das células) ocasionado diminuição da mesma, do açúcar, do colesterol ruim e dos hormônios masculinos no sangue. Assim, as mulheres que usam o remédio deixam de estar desreguladas e pode voltar tudo ao normal - as menstruações se tornam regulares; as que não conseguem engravidar têm chance de engravidar normalmente e as mulheres que têm pêlos aumentados, podem ter estes pêlos diminuídos, após vários meses de uso.

III – Procedimentos que serão realizados

Antes do uso do remédio procederemos à coleta de sangue para a análise de: curva glicêmica (açúcar no sangue em várias medidas) , insulinemia de jejum (insulina no sangue dosada em jejum), prolactina sérica, LH, FSH, TSH, T3, T4 (hormônios que avaliam a pituitária e a tireóide), perfil lipídico (colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos), SHBG (globulina ligadora de hormônios sexuais), 17-hidroxiprogesterona basal e 60 minutos após estímulo com ACTH (que diagnostica problema com a glândula que fica acima do rim - a supra-renal, que quando doente pode dar esses mesmos problemas encontrados na SOP) e testosterona total (medidas dos hormônios masculinos). Após, segue-se a tomada dos comprimidos durante 3 meses seguidos, sendo que um grupo de pacientes receberá comprimidos com a substância ativa - o remédio (grupos casos) e outro receberá comprimidos sem a substância em estudo - comprimidos “ de farinha”, isto é, as pacientes

deste grupo receberão comprimidos sem ação alguma sobre a sua doença (grupo controle).

Então, realizaremos medidas sangüíneas dos mesmos elementos citados anteriormente após o final dos três meses para comparação. A paciente não pagará por nenhum exame ou comprimido durante o estudo.

IV – Riscos ou desconfortos potenciais

Os efeitos ruins que poderão ocorrer com a ingestão do comprimido são: náuseas, vômitos, desconforto abdominal e diarreia, que ocorrem mais no início do tratamento e desaparecem espontaneamente na maioria dos casos. Tais efeitos geralmente são raros de ocorrer, porém se os sintomas gastrointestinais forem incômodos e se não puderem ser tolerados, deve-se parar com o tratamento e procurar o médico responsável pela pesquisa.

V - Benefícios esperados

Com a correção dos distúrbios endócrinos, haverá regularização dos problemas característicos das pacientes com SOP, isto é, aqueles problemas descritos anteriormente em relação à menstruação, infertilidade, obesidade e pelos incômodos ou queda de cabelos com acne espinhas serão corrigidos. Além de proporcionar uma proteção (diminuir os fatores ruins) para as dislipidemias (colesterol aumentado) e doenças cardiovasculares.

VI - Formas de acompanhamento e assistência

As pacientes serão acompanhadas durante todo o estudo, ficando a disposição, no ambulatório da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre pelos telefones de contato, a equipe médica responsável pela pesquisa, esclarecendo sob quaisquer dúvidas que surgirem.

Pelo presente Consentimento Informado, declaro que fui esclarecida, de forma clara, e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, dos objetivos, a justificativa, dos procedimentos que serei submetida, dos riscos, dos desconfortos e benefícios do presente Projeto de Pesquisa, todos acima listados. Fui, igualmente, informada:

- da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;
- da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento;
- da segurança de que não serie identificada e que se manterá o caráter confidencial das informações relacionadas com a minha privacidade;
- do compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante estudo, ainda que esta possa afetar a minha vontade em continuar participando.

* O Pesquisador Responsável por este Projeto de Pesquisa é a Dr^a HELENA VON EYE CORLETA tendo este documento sido revisado e aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa da Irmandade Santa casa de Misericórdia em 15/03/1998.

Nome e assinatura da Paciente:

Data: ____/____/____

Nome e assinatura do Responsável Legal, quando for o caso:

ANEXO 2: Banco de Dados

1. Identificação:

Número: _____

Data: ___/___/___ Registro: _____

Nome: _____

D.N. ___/___/___ (Idade: __anos) Raça: ()b()p()m()a()_____

Endereço: _____

Fone: _____

2. Queixa Principal: _____

3. Antecedentes Gineco-obstétricos:

G__P__C__Ab__Ect__

Método Anticoncepcional: ()ACO ()DIU ()Condom ()Injetável () Nenhum

()Outro: _____

Ciclos Menstruais: ()reg ()irreg _____ DUM: ___/___/___

Cirurgias Ginecológicas: _____

4. Antecedentes Mórbitos :

Enfermidades: _____

Cirurgias: _____

Alergias: _____

5. Perfil psico-social:

Tabagismo: ()sim ()não Cigarros/dia: ___ Etilismo: ()sim ()não

Uso de drogas: ()sim ()não Tipo: _____

6. Exame Físico:

Altura: _____ m Peso: _____ kg IMC: _____ kg/m_

Perímetro Braquial: _____ cm Desconto: _____ e _____

Pressão Arterial com desconto: _____ x _____ mmHg

Medida cintura: _____ cm Medida quadril: _____ cm

Índice de Gallwey e Ferriman: ____/____/____/____/____/____/____/____/____/____/____/____/____/____/____/____ Total: _____

7. Exames laboratoriais iniciais (data ____/____/____) :

Glicemia de jejum: _____ mg/dl; 120 minutos após a ingestão de 75 gr de

glicose: _____ mg/dl

Insulinemia de jejum: _____ UI/ml

Prolactina: _____ ng/ml LH _____ mUI/ml FSH: _____ mUI/ml TSH: _____ mUI/ml

T3 _____ ng/dl T4: _____ ng/dl

Colesterol total: _____ mg/dl HDL: _____ mg/dl LDL _____ mg/dl TG: _____ mg/dl

SHBG: _____ nmol/L Testosterona total: _____ ng/ml

17-OHP basal: _____ ng/ml 17-OHP-60 min após ACTH: _____ ng/ml

IGF-1 _____ ng/ml IGFBP-1 _____ ng/ml

8. Avaliações mensais:

1º mês:

Queixas: _____

Efeitos colaterais: _____

Altura: _____ m Peso: _____ kg IMC _____ kg/m₂

Perímetro Braquial: _____ cm Desconto _____ e _____

Pressão Arterial com desconto: _____ x _____ mmHg

Medida cintura: _____ cm Medida do quadril: _____ cm

2º mês:

Queixas: _____

Efeitos colaterais: _____

Altura:_____m Peso:_____kg IMC_____kg/m₂

Perímetro Braquial:_____cm Desconto_____e_____

Pressão Arterial com desconto:_____x_____mmHg

Medida cintura:_____cm Medida do quadril:_____cm

3º mês

Queixas:_____

Efeitos colaterais:_____

Altura:_____m Peso:_____kg IMC_____kg/m₂

Perímetro Braquial:_____cm Desconto_____e_____

Pressão Arterial com desconto:_____x_____mmHg

Medida cintura:_____cm Medida do quadril:_____cm

Índice de Gallwey e Ferriman: ___/___/___/___/___/___/___/___/___/___/___/___/___/___ Total:_____

9. Exames laboratoriais finais (data___/___/___):

Glicemia de jejum: _____ mg/dl; 120 minutos após a ingesta de 75 gr de

glicose:_____mg/dl

Insulinemia de jejum:_____UI/ml

LH_____mUI/ml FSH:_____mUI/ml

Colesterol total: _____mg/dl HDL:_____mg/dl LDL_____mg/dl TG:_____mg/dl

SHBG:_____nmol/L Testosterona total:_____ng/ml

IGF-1_____ng/ml IGFBP-1_____ng/ml

10. Fármaco Administrado:

Número:_____

Posologia: 500 mg 8/8h

Início: ___/___/___ Término: ___/___/___

Metformina () Placebo()