

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

AREANA DIOGO NASCIMENTO

***Efeitos da metformina nos níveis séricos de insulina, de
hormônio anti-mulleriano e no hiperandrogenismo em pacientes
com Síndrome dos Ovários Policísticos***

**RIBEIRÃO PRETO
2008**

AREANA DIOGO NASCIMENTO

Efeitos da metformina nos níveis séricos de insulina, de hormônio anti-mulleriano e no hiperandrogenismo em pacientes com Síndrome dos Ovários Policísticos

Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Área de concentração:
Tocoginecologia

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Maria dos Reis

Co-Orientadora: Profa. Dra. Carolina Sales Vieira Macedo

RIBEIRÃO PRETO

2008

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Nascimento, Areana Diogo. *Efeitos da metformina nos níveis séricos de insulina, de hormônio anti-mulleriano e no hiperandrogenismo em pacientes com Síndrome dos Ovários Policísticos*. Ribeirão Preto, 2008.

43p. : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Tocoginecologia.

Orientadora: Reis, Rosana Maria dos

1. Hormônio anti-mülleriano; 2. SOP; 3.Hiperandrogenismo; 4.Resistência insulínica.

“Ó profundidade da riqueza tanto da sabedoria como do conhecimento de Deus! Quão insondáveis são os seus juízos e quão inescrutáveis, os seus caminhos! Quem, pois, conheceu a mente do Senhor? Ou quem foi o seu conselheiro? Ou quem primeiro deu a Ele para que lhe venha a ser restituído? Porque Dele, e por meio Dele, e para Ele são todas as coisas. A Ele, pois, a glória eternamente. Amém!”;

(Rm 11: 33-36)

DEDICO ESSE TRABALHO:

A Deus,

Que por meio de Seu Filho, todos os dias manifesta suas
incontáveis bênçãos na minha vida.

À minha mãe, **Jane,**

Pelo seu amor incondicional e pelo exemplo de fé e
coragem inabaláveis.

A minha orientadora, **Profa. Dra. Rosana Maria dos**

Reis, por não ter permitido que eu desistisse e pelo
exemplo profissional e pessoal.

À amiga **Carolina Sales Vieira Macedo,** que sempre foi

uma referência profissional na minha formação, desde
meu primeiro ano de residência.

Ao meu querido **Fábio Henrique,**

Pelo incentivo e compreensão constantes.

AGRADECIMENTOS

À turma de residentes da Ginecologia e Obstetrícia dos anos de 2002 a 2004, meus companheiros: Cláudia, Wellington, William, Cleber, Camila, Maria Beatriz, Zahir, Omar, Conrado, Alexandre e Renato.

Ao residentes de anos à minha frente que tanto contribuíram para a minha formação. Agradeço especialmente a Vanessa, Carol Sales, Maria Rita, Carolzinha, Luciana, Débora, Kênia e Ângelo.

Às Profas. Dras. Ana Carolina Japur de Sá Rosa e Silva e Paula Andréa Albuquerque Sales Navarro e ao Prof. Dr. Julio César Rosa e Silva pela paciência e ensino durante meu R3.

À Profa. Dra. Silvana Maria Quintana por ter participado da minha banca de qualificação.

À Profa. Dra. Laura Santana pela inestimável contribuição à realização deste trabalho.

À Juliana Araújo pela imprescindível contribuição técnica e pela disponibilização do Laboratório de Imunologia Clínica do HC-FMRP.

A todos que compõem o Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, docentes, médicos assistentes e funcionários, pela minha formação profissional e pela disponibilidade

Aos meus companheiros de trabalho na Mater: Dra. Silvana, Dr. Ricardo, Cláudia, Maria Rita, Flávia, Toninho, Nelson, Conrado, Fernando, Alexandre, Ana Carolina, Marcos e Viviane. Foi um imenso prazer trabalhar com vocês!

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram com este trabalho.

RESUMO

NASCIMENTO, AD. Efeitos da metformina nos níveis séricos de insulina, de hormônio anti-mulleriano e no hiperandrogenismo em pacientes com Síndrome dos Ovários Policísticos. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

A síndrome dos ovários policísticos (SOP) constitui a causa mais freqüente de infertilidade, anovulação e hiperandrogenismo atualmente. Sua fisiopatogenia é em parte obscura. O hormônio anti-mülleriano (HAM), uma glicoproteína produzida pelas células da granulosa dos folículos pré-antrais e folículos antrais pequenos, parece exercer papel fundamental para seu surgimento, exacerbando o hiperandrogenismo intra-folicular e interferindo no mecanismo de seleção do folículo dominante. Além das alterações ovulatórias, há repercussões metabólicas decorrentes da síndrome, como a resistência à insulina (RI), que afeta entre 45 a 70% das mulheres com SOP em idade reprodutiva. Estratégias para aumentar a sensibilidade à insulina poderiam reduzir o impacto reprodutivo e metabólico da RI. Entre elas, destaca-se a metformina, uma droga anti-diabética oral, cuja utilização levaria a uma melhora dos padrões metabólicos e restabelecimento da ovulação. No presente estudo, foram avaliados a relação entre os níveis séricos de HAM e resistência insulínica antes e após o tratamento com metformina, comparados os níveis séricos de HAM na fase folicular precoce entre pacientes com e sem SOP e correlacionados os níveis de HAM com os níveis séricos de insulina,

gonadotrofinas e androgênios. Foram realizadas dosagens séricas de HAM, androgênios e gonadotrofinas em 36 pacientes (16 com SOP e resistência insulínica e 20 eumenorreicas, sendo grupos pareados quanto à idade e índice de massa corpórea). No grupo SOP, foram avaliados níveis de HAM, insulina, glicemia e QUICKI (quantitative insulin check index) antes e depois do tratamento com metformina 1500 mg/dia por oito semanas. Foram encontrados níveis de HAM mais elevados no grupo SOP do que no grupo controle ($49,9 \pm 6,1$ pmol/L versus $4,5 \pm 2,1$ pmol/L, $p < 0,0001$), assim como os níveis de hormônio luteinizante (LH) ($10,3 \pm 1,5$ mUI/L versus $3,5 \pm 0,5$ mUI/L, $p=0,0004$), testosterona ($64,9 \pm 5$ ng/mL versus $41,1 \pm 4,7$ ng/mL, $p=0,0017$) e 17-hidroxiprogesterona (17OHP) ($90 \pm 16,8$ ng/ml versus $49,1 \pm 6,6$ ng/ml; $p= 0,03$). Nas pacientes com SOP, houve correlação positiva forte entre os níveis de HAM pré-tratamento e testosterona (coeficiente r de Pearson – R – de 0,83; $p < 0,0001$). Também foi encontrada correlação positiva e significativa entre HAM e LH (R = 0,51; $p = 0,04$). As demais variáveis não apresentaram correlação significativa com o HAM pré-tratamento. Após o tratamento, houve redução significativa dos níveis de insulina ($16,4 \pm 2,6$ mUI/ml versus $12 \pm 1,9$ mUI/ml; $p=0,0132$). Os níveis de HAM tiveram redução, porém sem diferença estatística ($49,9 \pm 6,1$ versus $41,5 \pm 5,6$ pmol/L; $p=0,06$). Houve redução significativa nos níveis de testosterona ($64,9 \pm 5$ ng/mL versus $49,3 \pm 14$ ng/mL). A correlação do HAM com os níveis de testosterona não persistiu após o tratamento com a metformina (R=0,08 e $p=0,76$). Assim, a manutenção dos níveis séricos de HAM após o uso da metformina, mesmo com a comprovada melhora metabólica e redução dos níveis de gonadotrofinas sugere que o papel do HAM na SOP baseia-se num mecanismo intrínseco ovariano,

independente do eixo hipotálmo-hipófise-ovário e não influenciado pela resistência insulínica.

Palavras-chave: hormônio anti-mülleriano, SOP, hiperandrogenismo, resistência insulínica.

ABSTRACT

NASCIMENTO, AD. Effects of metformin on insulin resistance, serum hyperandrogenism and anti-mullerian hormone levels in women with polycystic ovary syndrome. Thesis - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most frequent cause of infertility, anovulatory disorders and hyperandrogenism in young women. Its pathophysiology remains unclear and anti-mullerian hormone (AMH), a glycoprotein produced by the granulosa cells of early developing follicles, seems to be fundamental to its development, by enhancing the intra-follicular hyperandrogenism and interfering in the selection of a dominant follicle. PCOS also causes metabolic disorders, such as insulin resistance (IR), that affects 45 to 70% of women with PCOS. Strategies to improve insulin sensitivity could reduce the reproductive and metabolic impact of IR. Metformin, an insulin-sensitizing agent, appears to improve the metabolic parameters and reestablish ovulatory cycles. In this study, we evaluated the relationship between anti-mullerian hormone serum levels and IR before and after protracted treatment with metformin; we also compared the anti-mullerian hormone levels in PCOS in the early follicular phase to normo-ovulatory women. The correlation of anti-mullerian hormone levels to insulin, gonatotropins and androgen serum levels was also evaluated. The study included 36 patients (20 with PCOS and IR and 16 with ovulatory cycles). Anti-mullerian hormone serum levels, insulin, glucose and QUICKI (quantitative insulin check index) were evaluated in patients with PCOS before and after treatment with metformin 1500 mg/day during eight

weeks. Anti-mullerian hormone serum levels were higher in PCOS ($49,9 \pm 6,1$ pmol/L versus $4,5 \pm 2,1$ pmol/L, $p < 0,0001$), as well as luteinizing hormone (LH) levels ($10,3 \pm 1,5$ mUI/L versus $3,5 \pm 0,5$ mUI/L, $p=0,0004$), testosterone ($64,9 \pm 5$ ng/mL versus $41,1 \pm 4,7$ ng/mL, $p=0,0017$) and 17-hydroxyprogesterone (17OHP) ($90 \pm 16,8$ ng/ml versus $49,1 \pm 6,6$ ng/ml; $p= 0,03$). In PCOS, there is a positive correlation between anti-mullerian hormone serum levels and testosterone ($R= 0,83$; $p<0,0001$) before treatment; this correlation did not persisted after treatment ($R=0,08$ e $p=0,76$). There is also a positive correlation between anti-mullerian hormone serum levels before metformin treatment and LH ($R= 0,83$; $p<0,0001$). No correlations were found between anti-mullerian hormone serum levels before treatment and other parameters. After treatment, insulin serum levels reduced ($16,4 \pm 2,6$ mUI/ml versus $12 \pm 1,9$ mUI/ml; $p=0,0132$). AMH serum levels also reduced, but there was no statically significant difference ($49,9 \pm 6,1$ versus $41,5 \pm 5,6$ pmol/L; $p=0,06$). Testosterone serum levels decreased significantly ($64,9 \pm 5$ ng/mL versus $49,3 \pm 14$ ng/mL). No correlation between AMH and testosterone levels was found after treatment ($r=0,08$ e $p=0,76$). The maintenance of AMH serum levels after treatment with metformin, despite the enhance of metabolic parameters and reduction of the gonadotropins levels, suggests that AMH acts in the pathophysiology of PCOS by a intra-ovarian mechanism, that does not depend on the neuroendocrine axis and that is not influenced by IR.

Key-words: anti-mullerian hormone, PCOS, hyperandrogenism, insulin resistance.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS (SOP) E RESISTÊNCIA À INSULINA.....	1
1.2 HORMÔNIO ANTI-MÜLLERIANO (HAM).....	6
1.3 HAM e SOP.....	10
2. JUSTIFICATIVA.....	14
3. OBJETIVOS.....	16
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	17
4.1 – Pacientes.....	17
4.2 – Métodos.....	18
4.3 – Análise estatística.....	20
5. RESULTADOS.....	21
6. DISCUSSÃO	28

7. CONCLUSÃO	34
---------------------------	-----------

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
---	-----------

1. INTRODUÇÃO

1.1 SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS (SOP) E RESISTÊNCIA À INSULINA

A síndrome dos ovários policísticos (SOP) é a causa mais freqüente de infertilidade, anovulação e hiperandrogenismo, afetando entre 5 a 10% das mulheres em idade reprodutiva (JONARD & DEWAILLY, 2004; The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group, 2004). A base da fisiopatologia é o hiperandrogenismo, que pode ser de origem ovariana, adrenal ou periférica. Os androgênios em excesso são convertidos em estrona nos tecidos periféricos. A estrona inibe a dopamina hipotalâmica e, conseqüentemente, há aumento dos pulsos de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), elevando a produção de hormônio luteinizante (LH) e estimulando as células da teca a produzir androgênios. A redução da dopamina hipotalâmica pode levar, em alguns casos, ao aumento da prolactina, que, por sua vez, estimula a adrenal a produzir mais androgênio. Esse ciclo repetitivo quebra completamente o ritmo fisiológico dos mecanismos de retrocontrole fundamentais ao estabelecimento dos ciclos ovulatórios, levando à anovulação crônica (REIS et al., 2004). Além disso, as evidências disponíveis sugerem que o mecanismo de desenvolvimento da SOP envolveria uma disfunção ovariana primária, que levaria a um crescimento folicular inicial excessivo e a não ocorrência da seleção de um folículo dominante e sua diferenciação. Distúrbios na ação e produção de fatores de crescimento, como fator básico de crescimento fibroblástico (bFGF), fator 9 de crescimento e diferenciação (GDF-9) e hormônio anti-mülleriano (HAM) levariam a problemas no recrutamento inicial e desenvolvimento folicular autônomo, com conseqüente alteração do mecanismo de diferenciação folicular (JONARD & DEWAILLY, 2004).

As manifestações clínicas da SOP são variáveis e podem incluir irregularidades do ciclo menstrual, sinais clínicos de excesso de androgênios e obesidade. Atualmente, o diagnóstico de SOP é feito de acordo com o consenso de Rotterdam (The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group, 2004) e baseia-se na presença de pelo menos dois dos seguintes itens:

- I. Oligomenorréia e/ou anovulação clínica;

- II. Hiperandrogenismo clínico e/ou laboratorial (atentar para a obrigatoriedade da investigação para exclusão de outras causas de hiperandrogenismo, como síndrome de Cushing, hiperplasia adrenal congênita e tumores virilizantes);
- III. 3. Ovários policísticos à ultrassonografia (presença de 12 ou mais folículos medindo entre 2 e 9 mm e/ou volume ovariano aumentado – maior que 10 mm³).

A SOP, por ser uma doença de múltiplas manifestações clínicas, apresenta conseqüências diversas. Além das alterações ovulatórias, devem ser consideradas as repercussões metabólicas decorrentes da síndrome, como a resistência à insulina (RI), obesidade, hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus e dislipidemia (The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group, 2004). A resistência à insulina, definida como uma diminuição na utilização da glicose mediada pela insulina, afeta entre 45 a 70% das mulheres com SOP em idade reprodutiva em nosso meio (MARTINS et al.;2006) e está relacionada à ocorrência de alterações reprodutivas. A hiperinsulinemia, decorrente de defeitos nos receptores de insulina, estimula as células da teca ovariana a aumentar a produção de androgênios, além de aumentar o risco para ocorrência de diabetes mellitus e doença cardiovascular (The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group, 2004).

Estratégias para aumentar a sensibilidade à insulina poderiam reduzir seu impacto reprodutivo e metabólico em pacientes com SOP. Dentre elas, destacam-se a mudanças de estilo de vida e intervenções farmacológicas (The Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group, 2008).

Das intervenções farmacológicas disponíveis para melhora da RI, a metformina aparece como o medicamento mais estudado e amplamente utilizado pelos ginecologistas. A metformina (figura 2) é uma droga anti-diabética oral pertencente ao grupo das biguanidas. São múltiplos os seus mecanismos de ação, incluindo inibição da neoglicogênese no fígado e estimulação da recaptção periférica de glicose (BAILEY 1992; BAILEY & TURNER, 1996).

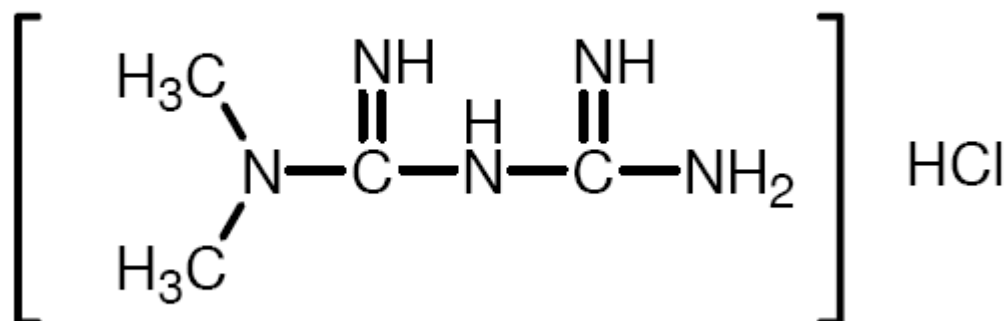


Figura 1. Estrutura química da metformina.

Embora o exato mecanismo de ação pelo qual a metformina diminui a produção hepática de glicose não seja totalmente esclarecido, tem sido demonstrado que o uso da metformina leva à diminuição da gliconeogênese hepática, interferindo com o processo respiratório oxidativo na mitocôndria. Assim, a gliconeogênese a partir de vários substratos, incluindo lactato, piruvato, glicerol e aminoácidos, é inibida. Além disso, a metformina facilita o transporte de glicose através do aumento da atividade tirosina-quinase nos receptores de insulina, melhorando a sensibilidade tecidual à insulina (DOMINGUEZ et al., 1996). Está estabelecido que os efeitos anti-hiperglicemiantes da metformina são principalmente devidos à redução da produção hepática de glicose, à diminuição da absorção intestinal de glicose e à melhora da sensibilidade dos tecidos à insulina, otimizando a utilização de glicose no músculo esquelético e nos adipócitos (BAILEY & TURNER, 1996; MOGHETTI et al., 2000; MORIN-PAPUNEN et al., 2000; PASQUALI et al., 2000; UNLUHIZARCI et al., 1999; WIERNSPERGER & BAILEY, 1999). Embora a metformina possa influenciar diretamente a esteroidogênese ovariana *in vitro* (inibição do CYP17 com diminuição da expressão de seu RNA mensageiro), a diminuição da produção androgênica pelas células da teca decorre predominantemente da menor concentração de insulina plasmática secundária

à inibição da gliconeogênese hepática (EHRMANN, 2005; HARBORNE et al.,2003)

Efeitos colaterais como náusea, vômito e diarreia podem limitar o uso da metformina. O principal risco durante a utilização da droga é a ocorrência de acidose láctica, cuja incidência é estimada em 0,03 casos/1.000 pacientes ano, sendo que 91% dos pacientes que desenvolveram esta intercorrência tiveram algum fator predisponente, como insuficiência renal, hepática ou cardíaca (BAILEY & TURNER, 1996). A metformina está contra-indicada em mulheres com creatinina sérica maior ou igual a 1,4 mg/dL, disfunção hepática e alcoolismo (EHRMANN, 2005).

A utilização da metformina para o tratamento da RI em pacientes com SOP levaria a uma melhora dos padrões metabólicos e restabelecimento dos ciclos ovulatórios (SANTANA et al.,2004). O uso da metformina por estas pacientes parece melhorar os níveis séricos de insulina (PALOMBA et al., 2007) e, quando observado um tempo de tratamento de pelo menos um ano, ocorreria a diminuição da chance de desenvolvimento de intolerância à glicose e diabetes tipo 2 (SHARMA et al, 2007).

Além da melhora da resistência à insulina e da diminuição do risco de desenvolvimento de diabetes mellitus, a utilização da metformina em pacientes com SOP e RI parece também interferir positivamente nos parâmetros cardiovasculares. Heutling et al. (2008), avaliando 83 pacientes com SOP e RI que utilizaram metformina por 6 meses, observaram uma redução significativa de marcadores séricos de risco cardiovascular, mesmo sem diminuição do índice de massa corporal (IMC). Outros autores também observaram que o tratamento com metformina foi capaz de melhorar a estrutura e função do endotélio de pacientes com SOP jovens e não-obesas, sugerindo que essa droga poderia ser eficaz para reduzir o risco cardiovascular a longo prazo (ORIO et al.,2005)..

Orio et al. (2007), num estudo prospectivo que incluiu cinquenta pacientes com SOP, observaram uma redução significativa dos níveis séricos de SHBG e do índice de androgênio livre após a utilização de metformina por seis meses. Yilmaz et al. (2006), através de um estudo randomizado e prospectivo, observaram não apenas uma melhora do hiperandrogenismo laboratorial, com a redução sérica da testosterona livre e androstenediona, mas também do

hiperandrogenismo clínico, através da melhora do índice de Ferriman-Gallwey. Assim, a utilização da metformina no tratamento da RI em pacientes com SOP também levaria à melhora do perfil androgênico.

1.2 HORMÔNIO ANTI-MÜLLERIANO (HAM)

O hormônio anti-mülleriano (HAM) é uma glicoproteína membro da superfamília do fator de crescimento tumoral β (TGF- β). Sua expressão é limitada às células de Sertoli e da granulosa. No sexo feminino, seus níveis são indetectáveis ao nascimento e mais elevados na puberdade em relação sexo masculino (LA MARCA et al., 2004). Enquanto que no sexo masculino o HAM estaria envolvido na diferenciação sexual, levando à degeneração dos ductos de Müller durante a vida intra-uterina, no sexo feminino o HAM exerceria papel fundamental no desenvolvimento folicular (ELDAR-GEVA et al., 2005).

O HAM é produzido pelas células da granulosa dos folículos pré-antrais e folículos antrais pequenos (JONARD & DEWAILLY, 2004). Ele atuaria no estágio de recrutamento inicial e crescimento folicular autônomo, independente do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, inibindo o início da diferenciação folicular. Apenas os folículos que já iniciaram seu desenvolvimento produzem HAM, parecendo assim que, através de atividade parácrina, o desenvolvimento dos folículos em repouso seria inibido (LA MARCA et al., 2004). Além disso, o HAM também inibiria a atividade da aromatase nas células da granulosa, reduzindo a produção de estradiol (JOSSO et al, 2001). Em ratas, o HAM inibe o recrutamento dos folículos primordiais e diminui a sensibilidade das células da granulosa ao hormônio folículo estimulante (FSH) (KEVENAAR et al., JONARD & DEWAILLY, 2004), impedindo o recrutamento de múltiplos folículos (JONARD & DEWAILLY, 2004). As ações fisiológicas do HAM encontram-se resumidas no quadro 1.

Quadro 1: Ações fisiológicas do hormônio anti-mülleriano (HAM)

- atuação no recrutamento folicular inicial
- atuação no crescimento folicular autônomo
- inibição do início da diferenciação folicular
- inibição da atividade da aromatase
- diminuição da sensibilidade das células da granulosa ao FSH

Durlinger et al. (2002) avaliaram células ovarianas de ratas recém-nascidas cultivadas in vitro na presença de HAM e constataram uma diminuição em 40 a 50% do número de folículos em crescimento depois de dois a quatro dias de cultura em comparação com os controles. Nilsson et al. (2007), através de um modelo experimental com ratas, investigaram o mecanismo através do qual o HAM inibiria a diferenciação inicial folicular. Os autores observaram que nos ovários cultivados na presença de HAM houve diminuição da expressão de fatores estimuladores da foliculogênese, aumento da expressão de fatores inibidores e alteração de mecanismos celulares regulados pelo TGF- β , resultando na inibição do desenvolvimento dos folículos primordiais. Outros fatores atuantes no ovário, como fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e as gonadotrofinas, estariam envolvidos na regulação da expressão do HAM em modelos experimentais (6). Andersen et al. (2006), avaliando ovários de mulheres com ciclos ovulatórios que se submeteram à ooforectomia para preservação da fertilidade previamente a tratamento de câncer, observaram que os níveis de HAM nas células da granulosa de folículos pré-antrais e antrais eram significativamente mais elevados do que no fluido folicular. Também foi encontrada uma correlação negativa entre estradiol e HAM no fluido dos pequenos folículos antrais, sugerindo que o FSH inibiria a expressão do HAM. O HAM também é um bom preditor de retomada da função ovariana em pacientes com anorexia nervosa em tratamento para ganho de peso (VAN HELBURG et al., 2007).

O HAM parece não apresentar variações significativas em sua concentração sérica ao longo do ciclo menstrual (LA MARCA et al., 2006; TSEPELIDIS et al.,

2007), o que o tornaria um meio interessante de avaliação de reserva ovariana. No entanto, recentemente este dado foi contestado no estudo de Wunder et al. (2008). Em comparação com outros marcadores, a produção do HAM ocorreria numa população celular bem definida e com pouca suscetibilidade a desordens do crescimento do folículo antral durante a transição para a fase lútea (FEYEREISEN et al., 2006). Lekamge et al. (2007) avaliaram 126 pacientes submetidas à fertilização in vitro (FIV) e concluíram que aquelas com níveis séricos mais baixos de HAM tiveram menos oócitos, taxas de fertilização mais baixas, menor número de embriões e maior incidência de abortamentos, culminando numa taxa mais baixa de gravidez do que no grupo com níveis mais elevados de HAM.

Seifer et al. (2007) revisaram os estudos publicados que avaliaram o papel do HAM como marcador de reserva ovariana, preditor de resposta à indução da ovulação e marcador diagnóstico da SOP. Concluíram que, quando comparado a outros marcadores de reserva ovariana como FSH e inibina B, o HAM é o primeiro marcador a se alterar com a idade e tem a menor variabilidade inter e intraciclo de estimulação ovariana. Entretanto, em metaanálise que avaliou vários marcadores de reserva ovariana, concluiu-se que o HAM apresenta baixa sensibilidade e especificidade como preditor de avaliação de reserva ovariana e de resposta à indução da ovulação; porém, os autores desta metaanálise ressaltam a necessidade de realização de novos estudos, visto a escassez de dados relativos ao HAM quando comparados ao número de estudos que avaliam o FSH basal para o mesmo propósito (BROEKMANS et al., 2006). Assim, o papel do HAM para marcador de reserva ovariana ainda é controverso.

1.3 HAM E SOP

Pacientes com SOP apresentam produção ovariana aumentada de HAM (CHU et al., 2005; COOK et al., 2002; LA MARCA et al., 2004; PELLAT et al., 2007; PIGNY et al., 2003; SLOW et al., 2005) e, conseqüentemente, níveis séricos significativamente mais elevados quando comparadas a mulheres ovulatórias (ELDAR-GEVA et al., 2005; LA MARCA et al., 2004; PIGNY et al., 2003). Pellat et al. (2007) avaliaram a produção de HAM em folículos de pacientes hípidas e compararam com pacientes com SOP com ciclos ovulatórios e não-ovulatórios.

Analisando as células da granulosa, os níveis de HAM foram quatro vezes mais elevados nas pacientes com SOP com ciclos ovulatórios e 75 vezes mais elevados nas pacientes com SOP com ciclos anovulatórios, comparadas aos controles. Os autores observaram também que, nos folículos maiores do que nove milímetros das pacientes normais, os níveis de HAM foram muito baixos ou indetectáveis, o que demonstraria que a redução do HAM nos folículos maiores seria um requisito importante para a seleção do folículo dominante.

Na SOP, o HAM inibiria tanto a sensibilidade das células da granulosa ao FSH quanto a atividade da aromatase (ELDAR-GEVA et al., 2005), exacerbando o hiperandrogenismo intra-folicular (PIGNY et al., 2003). O hiperandrogenismo intra-ovariano levaria ao aumento do número de folículos em estágio inicial de desenvolvimento, ricos em receptores para androgênio. Com o aumento dos folículos pré-antrais e antrais, o hiperandrogenismo causaria, assim, o aumento da produção de HAM, com conseqüente refratariedade à ação do FSH para a diferenciação folicular, como observado na SOP (ELDAR-GEVA et al., 2005).

Catteau-Jonard et al. (2007) avaliaram o efeito da administração exógena de FSH sobre os níveis séricos de HAM em pacientes com SOP. Avaliando prospectivamente 30 mulheres submetidas à indução da ovulação com FSH recombinante, os autores observaram que os níveis de HAM sofreram uma redução significativa ao longo de 14 dias de tratamento, concomitante com o aumento do FSH, numa correlação negativa. Isso sugere que, o aumento gradual do FSH levaria a uma redução do excesso de HAM, culminando no surgimento de um folículo dominante.

Para avaliar o papel do HAM como preditor de resposta ao tratamento da SOP, Moran et al. (2007) coletaram amostras séricas de HAM de 26 pacientes com SOP e IMC médio de $36,1 \pm 7$ kg/m² previamente à introdução de um programa de oito semanas para perda de peso e de seis meses de manutenção. Todas as pacientes apresentaram redução significativa de peso corporal, mas apenas 15 (57,7%) começaram a apresentar ciclos menstruais regulares, sendo consideradas respondedoras. Foi observado que o grupo das respondedoras apresentava valores de HAM prévios ao tratamento mais baixos do que as pacientes que mantiveram irregularidade menstrual. Isso sugere que o HAM pode ser utilizado como um preditor de retomada de ciclos menstruais regulares associada à perda de peso em pacientes com SOP e RI.

Somunkiran et al. (2007) estudaram o efeito do uso de contraceptivos orais sobre os níveis séricos de HAM em pacientes com SOP e com ciclos menstruais regulares. Não houve diferença entre as dosagens de HAM realizadas na fase folicular precoce antes da introdução do contraceptivo oral e após seis meses de uso em ambos os grupos. Assim, os autores sugerem que o HAM poderia ser utilizado como um marcador diagnóstico em pacientes com SOP que já estejam em uso de contracepção hormonal.

A ação da metformina sobre os níveis séricos de HAM permanece controversa. Há estudos que concluem pela diminuição dos níveis de HAM em pacientes com SOP e RI em uso de metformina (FLEMING et al., 2005) e outros que os autores não observaram alterações com a introdução do tratamento (BAYRAK et al., 2007). Essa diferença talvez se deva à heterogeneidade do tempo de tratamento nas casuísticas dos diversos estudos. Assim, a possibilidade da dosagem do HAM como um marcador de melhora da RI ou de redução dos folículos antrais pequenos com o uso de metformina em portadoras de SOP ainda necessita de mais estudos para uma conclusão definitiva.

2. JUSTIFICATIVA

A estabilidade dos níveis séricos de HAM ao longo do ciclo menstrual associada à elevação característica deste hormônio em pacientes com SOP torna interessante a possibilidade de sua utilização como auxílio diagnóstico da síndrome, visto que estas pacientes freqüentemente apresentam distúrbios menstruais do tipo amenorréia, dificultando a caracterização do ciclo e, conseqüentemente, da fase folicular precoce para a coleta hormonal. Além disso, as concentrações séricas de HAM parecem não ser alteradas pelo uso de contraceptivos hormonais orais, permitindo sua dosagem mesmo na vigência da utilização deste medicamento, o que seria de grande utilidade naquelas pacientes que não podem ou não desejam suspender a contracepção hormonal para a realização da propedêutica adequada para o diagnóstico de suspeição de SOP.

Alguns pontos relativos à participação do HAM na fisiopatologia da SOP ainda necessitam ser melhor estudados. A interação entre o HAM e as características do perfil hormonal encontradas na síndrome, como o hiperandrogenismo laboratorial e a alteração das gonadotrofinas, ainda não foi totalmente elucidada. Necessita ainda ser avaliada se existe uma relação causal entre a elevação sérica dos níveis de HAM e o desenvolvimento da SOP ou se o HAM constitui apenas marcador da doença, sem correlação com sua fisiopatologia. Além disso, a correlação positiva entre resistência insulínica e níveis séricos de HAM sugere a existência de uma ação da insulina sobre a síntese e secreção de HAM (JONARD & DEWAILLY, 2004), ainda não totalmente compreendida. Aventa-se, assim, a possibilidade de que a dosagem sérica de HAM auxilie tanto no diagnóstico quanto na avaliação da resposta terapêutica em pacientes com SOP e resistência insulínica (LAVEN et al., 2004), o que seria útil no seguimento destas pacientes, visto a atual ausência de preditores laboratoriais que se relacionem à resposta ao tratamento. Entretanto, a utilização do HAM como marcador sérico de avaliação de resposta à terapêutica com metformina para a abordagem da RI nas pacientes com SOP permanece controversa e a literatura existente sugere a necessidade de novos estudos com o objetivo de avaliar a utilização do HAM para esta finalidade.

3. OBJETIVOS

Objetivo principal:

- Avaliar a relação entre os níveis séricos de HAM e resistência insulínica antes e após o tratamento com metformina.

Objetivos secundários:

- Comparar os níveis séricos de HAM na fase folicular precoce entre pacientes com e sem SOP;
- Correlacionar os níveis de HAM com os níveis séricos de insulina, gonadotrofinas e androgênios.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (Processo HCRP número 1550/2005) e todas as pacientes assinaram o termo de consentimento informado.

4.1 Pacientes

O grupo controle consistiu de 20 mulheres voluntárias eumenorreicas e sem endocrinopatias, com idade média de $26,6 \pm 1$ ano e IMC médio de $30 \pm 1,8$ kg/m², recrutadas no Ambulatório de Infertilidade Conjugal do Setor de Reprodução Humana do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP). Todas apresentavam infertilidade conjugal causada por fator masculino. O exame ultrassonográfico destas pacientes realizado em fase folicular precoce foi normal e nenhuma delas apresentava hiperandrogenismo clínico ou laboratorial.

No grupo de estudo, foram selecionadas de maneira consecutiva 16 mulheres com SOP, logo após o diagnóstico no Ambulatório de Endocrinologia Ginecológica do HCFMRP-USP. O diagnóstico destas pacientes foi feito de acordo com o consenso de Rotterdam (The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group, 2004). A idade média foi de $26,6 \pm 1$ ano e o IMC médio, de $29,1 \pm 1,7$ kg/m².

4.2. Métodos

Trata-se de um estudo prospectivo, longitudinal, aberto, não-randomizado. A figura 2 mostra o seguimento das pacientes durante o estudo.

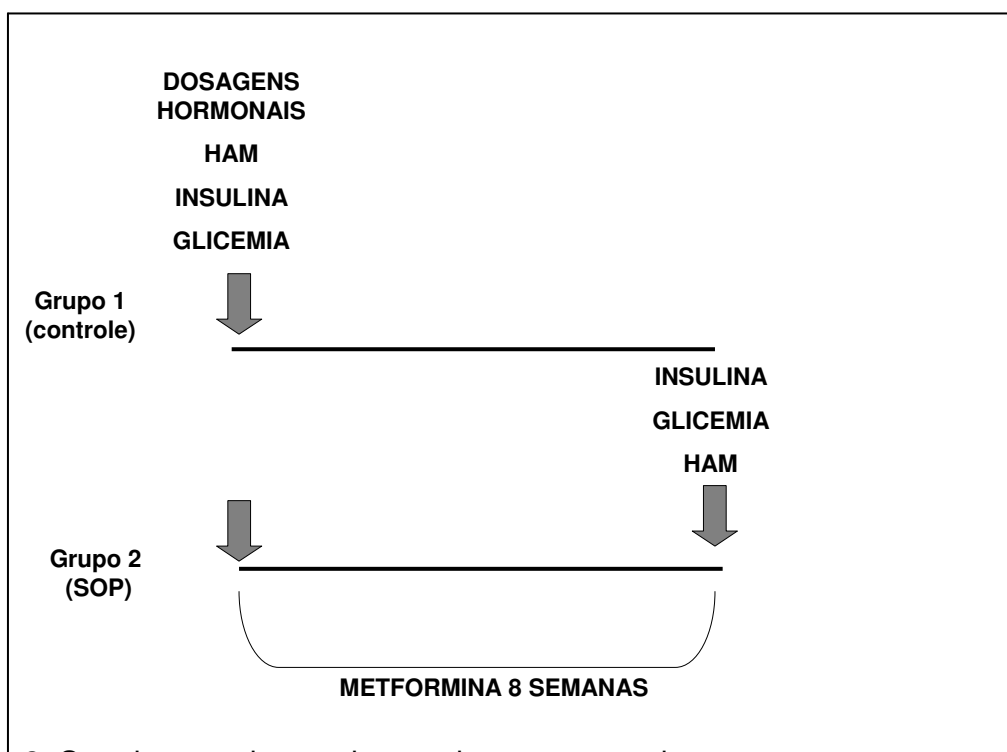


Figura 2. Seguimento das pacientes durante o estudo.

As dosagens hormonais foram realizadas na fase folicular precoce ou após sangramento induzido por progestágeno nas pacientes com SOP em amenorréia. As dosagens de LH e FSH foram realizadas por quimioluminescência no Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia do HCFMRP-USP com o aparelho Imulite 2000 (DPC Immulite® 2000 (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA)). A insulina sérica foi dosada em duplicata, utilizando-se o método de radioimunoensaio, com a técnica sólida, seguindo o protocolo do Kit da DPC (DPC Immulite® 2000 (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA)). As dosagens de testosterona, 17-hidroxiprogesterona (17OHP) e dehidroepiandrostenediona-sulfato (DHEA-S) foram realizadas por radioimunoensaio no Laboratório de Endocrinologia do HCFMRP-USP.

O HAM foi dosado em duplicata utilizando-se um kit ELISA ultra-sensível (AMH-EIA, Beckman Coulter, França), conforme as instruções do fabricante. Todas as dosagens foram realizadas em um único kit e no mesmo momento no Laboratório de Imunologia Clínica do HCFMRP-USP.

A glicemia foi determinada pelo método GOD POD, utilizando-se o aparelho Konelab 60i (Wiener lab®, Rosario, Argentina), com kit de Glicemia enzimática AA líquida Wiener® (Wiener lab®, Rosario, Argentina).

As dosagens de HAM, insulina e glicemia foram realizadas novamente nas pacientes com SOP após oito semanas de uso de metformina (Glucoformin da Biobras®, Brasil) na dose de 1500 mg/dia, divididas em três dosagens diárias de 500 mg.

Para o cálculo da resistência insulínica, utilizou-se o Quantitative Insulin Check Index (QUICKI), cuja fórmula encontra-se na figura 3. Foram consideradas como portadoras de resistência à insulina as pacientes com QUICKI menor que 0,34 previamente à introdução da metformina (CARMINA & LOBO, 2004; MARTINS et al., 2007).

$$\text{QUICKI} = \frac{1}{\log \text{ insulina (mUI/mL)} + \log \text{ glicemia (mg/dL)}}$$

FIGURA 3: Fórmula para o cálculo do Quantitative Insulin Check Index (QUICKI)

4.3 Análise estatística

A normalidade destas variáveis foi avaliada pelo teste de Kolmogorov–Smirnov. As diferenças entre os grupos de pacientes portadoras de SOP e as controles foram analisadas pelo teste t não pareado bicaudal. A variância de cada variável foi avaliada pelo teste F e, caso não houvesse igualdade de variância entre os grupos, foi utilizada a correção de Welch. As diferenças entre as variáveis mensuradas pré e pós-tratamento (insulina basal, QUICKI e HAM) foram acessadas pelo teste t pareado bicaudal. Foi realizada correlação de Pearson entre os níveis de HAM de pacientes com SOP e insulina basal, testosterona, QUICKI, FSH, LH, IMC e 17OHP. Foi considerado significativo $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

Na tabela 1a, encontram-se a idade e o IMC das pacientes com SOP. A tabela 1b mostra as mesmas características das pacientes do grupo controle.

Tabela 1a. Idade e IMC das pacientes com SOP.

Paciente	Idade (anos)	IMC (kg/m ²)
A	24	30,1
B	28	29,2
C	25	29,2
D	28	21,9
E	26	19,3
F	28	21,2
G	37	38,4
H	25	28,2
I	22	31
J	24	32,2
L	20	20,2
M	30	34,8
N	33	26,9
O	27	45,3
P	24	24,9
MÉDIA	26,6 ± 1	30 ± 1,8

Tabela 1b. Idade e IMC das pacientes do grupo controle

paciente	idade (anos)	IMC(kg/m ²)
A	17	27
B	17	21
C	29	20,1
D	35	26,3
E	39	38,3
F	31	22

G	36	28,3
H	38	32,9
I	38	39,6
J	33	30,1
L	16	18
M	17	21
N	27	22,7
O	28	22
P	22	35
Q	38	38
R	30	25,8
S	38	32,9
T	33	18,7
U	38	23,2
MÉDIA	26,6 ± 1	29,1 ± 1,7

A tabela 2 mostra as dosagens hormonais dos grupos controle e das pacientes com SOP antes do tratamento com metformina. Foram encontrados níveis de HAM mais elevados no grupo SOP do que no grupo controle ($49,9 \pm 6,1$ pmol/L versus $4,5 \pm 2,1$ pmol/L, $p < 0,0001$), assim como os níveis de LH ($10,3 \pm 1,5$ mUI/L versus $3,5 \pm 0,5$ mUI/L, $p=0,0004$), testosterona ($64,9 \pm 5$ ng/mL versus $41,1 \pm 4,7$ ng/mL, $p=0,0017$) e 17OHP ($90 \pm 16,8$ ng/ml versus $49,1 \pm 6,6$ ng/ml; $p= 0,03$). As demais variáveis não foram diferentes entre os grupos.

Tabela 2. Dosagens hormonais nas pacientes com SOP pré- metformina e controles.

	SOP	CONTROLES
	(média ± SD)	(média ± SD)
LH (mUI/l)	$10,3 \pm 1,5$	$3,5 \pm 0,5$ ^a
FSH (mUI/l)	$4,3 \pm 0,4$	$4,4 \pm 0,4$
17 OHP (ng/ml)	$90 \pm 16,8$	$49,1 \pm 6,6$ ^a
DHEA-S (ng/ml)	$107 \pm 9,4$	$95,6 \pm 17,3$
Testosterona (ng/ml)	$64,9 \pm 5$	$41,1 \pm 4,7$ ^b
HAM (pmol/l)	$49,9 \pm 6,1$	$4,5 \pm 2,1$ ^b

^aTeste t não pareado com correção de Welch. ^bTeste t não pareado.

SD: desvio padrão; LH: hormônio luteinizante; FSH: hormônio foliculo-estimulante; 17 OHP: 17 hidroxiprogesterona; DHEA-S: dehidroepiandrosterona sulfato; HAM: hormônio anti-mülleriano.

Nas pacientes com SOP, houve correlação positiva forte entre os níveis de HAM pré-tratamento e testosterona, como mostrado na figura 4a (coeficiente r de Pearson – R – de 0,83; $p < 0,0001$). Também foi encontrada correlação positiva e significativa entre HAM e LH, ilustrada na figura 4b ($R = 0,51$; $p = 0,04$). As demais variáveis não apresentaram correlação significativa com o HAM pré-tratamento.

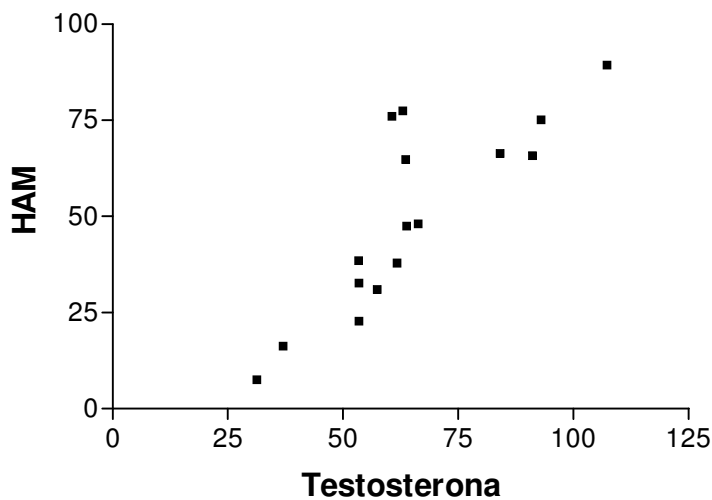


Figura 4a. Correlação entre HAM e testosterona nas pacientes com SOP no período pré-tratamento.

Coeficiente r de Person de 0,83; $p < 0,0001$.

HAM (hormônio anti-mülleriano): pmol/; testosterona: ng/ml.

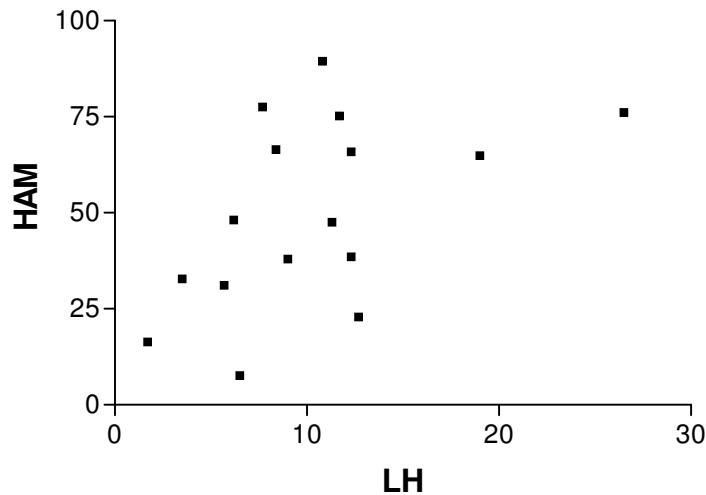


Figura 4b. Correlação entre HAM e LH nas pacientes com SOP no período pré-tratamento.

Coeficiente r de Person de 0,51; $p < 0,04$.

HAM (hormônio anti-mülleriano): pmol/l; LH (hormônio luteinizante): mUI/l.

Após o tratamento, como demonstrado na tabela 3, houve redução significativa dos níveis de insulina ($16,4 \pm 2,6$ mUI/ml versus $12 \pm 1,9$ mUI/ml; $p=0,0132$). Os níveis de HAM tiveram redução, porém sem diferença estatística ($49,9 \pm 6,1$ versus $41,5 \pm 5,6$ pmol/L; $p=0,06$). Houve redução significativa nos níveis de testosterona ($64,9 \pm 5$ ng/mL versus $49,3 \pm 14$ ng/mL). A correlação do HAM com os níveis de testosterona não persistiu após o tratamento com a metformina (coeficiente r de Pearson de 0,08 e $p=0,76$).

Tabela 3. Dosagens de HAM e insulina nas pacientes com SOP pré e pós-tratamento com metformina.

	Pré-tratamento	Pós-tratamento
Insulina	$16,4 \pm 2,6$	$12 \pm 1,9^*$
QUICKI	$0,33 \pm 0,01$	$0,35 \pm 0,01^*$
HAM (pmol/l)	$49,9 \pm 6,1$	$41,5 \pm 5,6$

* $p < 0,05$ pelo teste T pareado.

QUICKI: quantitative insulin check index; HAM: hormônio anti-mülleriano.

6. DISCUSSÃO

O aumento da produção de HAM pelas células da granulosa de pacientes com SOP, consistente com os dados encontrados no presente estudo, aponta para duas hipóteses. Na primeira, haveria a participação do HAM na fisiopatologia da doença, contribuindo para um desenvolvimento folicular inadequado e para a anovulação crônica. Na segunda, esta participação não ocorreria e o HAM seria apenas um marcador de que a SOP está presente.

Corroborando a primeira hipótese, que o HAM estaria envolvido na fisiopatologia da SOP, deve-se considerar seu papel sobre a alteração da diferenciação folicular. Eldar-Geva et al. (2005) sugerem que, devido à sua produção nos pequenos folículos antrais, à inibição da sensibilidade folicular ao FSH e da atividade da aromatase, o HAM estaria diretamente relacionado à desordem da foliculogênese relacionada ao hiperandrogenismo intra-ovariano. A relação positiva entre os níveis séricos de HAM e androgênios parece ser específica da SOP (CATTEAU-JONARD et al., 2007; JONARD & DEWAILLY, 2004; PIGNY et al., 2003) e também foi encontrada no presente estudo. Entretanto, Pigny et al. (2003) sugerem que a correlação positiva entre HAM e androgênios deve ser considerada mais como uma consequência do aumento do número de pequenos folículos induzido pelo hiperandrogenismo do que como um indicador de algum tipo de efeito positivo dos androgênios sobre a síntese de HAM.

Além de inibir a sensibilidade das células da granulosa ao FSH, o HAM também exerceria um efeito negativo sobre a atividade da aromatase (ELDAR-GEVA et al., 2005), contribuindo para o surgimento e a manutenção do hiperandrogenismo intra-folicular (PIGNY et al., 2003). Assim, ocorreria o aumento do número de folículos em estágio inicial de desenvolvimento, os quais apresentam grande número de receptores para androgênios. O consequente aumento dos folículos pré-antrais e antrais levaria ao aumento da produção de HAM e, assim, à alteração da diferenciação folicular decorrente da refratariedade à ação do FSH. A ação do HAM na fisiopatologia da SOP encontra-se ilustrada na figura 5.

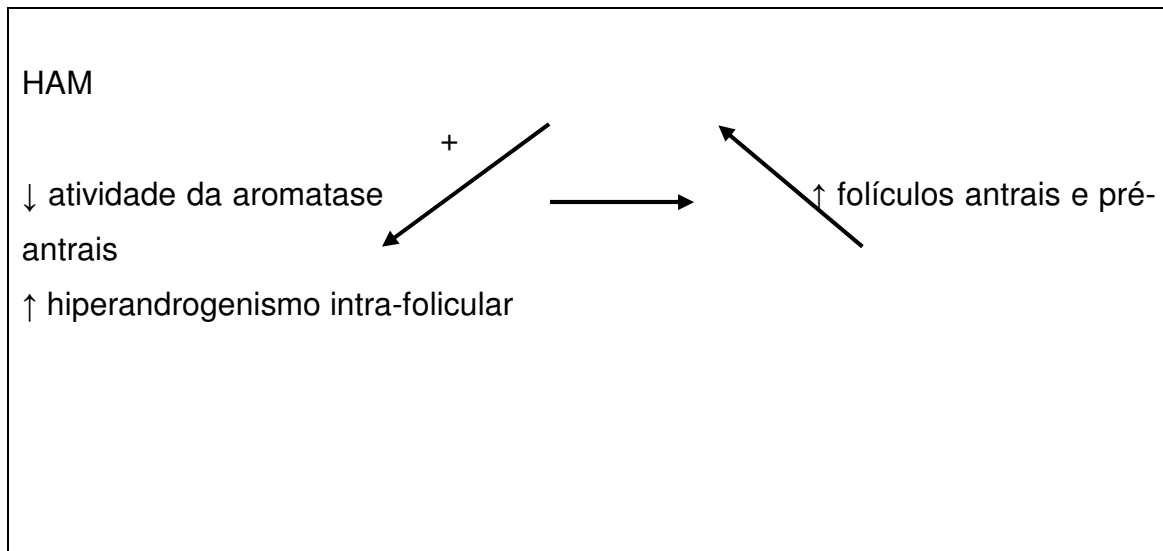


Figura 5. Ação do hormônio anti-mülleriano (HAM) na fisiopatologia da SOP

Para a consideração da segunda hipótese, que o HAM constitui tão somente um marcador da presença da doença, a participação dos diversos mecanismos relacionados ao distúrbio da foliculogênese na SOP tem que ser avaliada. O hiperandrogenismo intra-folicular pode ser explicado tanto pela influência de fatores gonadais locais (por exemplo, o HAM), como por fatores extra-ovarianos e genéticos. Destacam-se entre os fatores extra-ovarianos o LH e a hiperinsulinemia.

Pacientes com SOP apresentam aumento tanto na frequência quanto na amplitude de pulsos de LH (JONARD et al., 2004; TAYLOR et al., 1997). A elevação sérica de LH aumentaria a esteroidogênese pela teca ovariana e, conseqüentemente, o hiperandrogenismo. A hiperinsulinemia seria um outro fator extra-ovariano determinante do hiperandrogenismo através da exacerbação dos efeitos do LH sobre as células da teca ovariana e sua produção hormonal. A influência da hiperinsulinemia sobre o hiperandrogenismo é corroborada pelo fato de que as concentrações séricas de androgênios são reduzidas após a utilização de agentes hipoglicemiantes por pacientes com SOP e RI (HEUTLING et al., 2008; ORIO et al., 2005; YILMAZ et al., 2005). A melhora do perfil androgênico após o uso da metformina também foi observada no presente estudo, com a redução significativa dos níveis séricos de testosterona após o tratamento.

Outros autores sugerem ainda que o hiperandrogenismo encontrado na SOP seria geneticamente determinado (JONARD & DEWAILLY, 2004). A transcrição

de genes específicos relacionados a enzimas envolvidas na esteroidogênese ovariana estaria aumentada em pacientes com SOP. Wood et al. (2003), avaliando células da granulosa de pacientes com SOP, encontraram um aumento do RNA mensageiro (RNAm) correspondente a enzimas que aumentam a expressão da 17-hidroxiase. Assim, o aumento da produção de androgênios seria geneticamente determinado (WICKENHEISER et al., 2000), conforme demonstrado por estudos familiares (LEGRO et al., 1998). Portanto, se considerados os mecanismos extrínsecos ovarianos e a determinação genética do distúrbio de diferenciação folicular na SOP, sugere-se que o HAM seria apenas um marcador de presença da síndrome, não participante da sua fisiopatologia.

Pacientes com SOP sabidamente apresentam alterações dos níveis de gonadotrofinas. Neste estudo, não apenas foram encontrados níveis elevados de LH nas pacientes com SOP, mas também foi estabelecida uma correlação significativa, importante e positiva entre LH e HAM, não demonstrada anteriormente. Alguns autores sugerem que, em pacientes com SOP, haveria uma ação inadequada do LH não só nas etapas mais tardias do desenvolvimento folicular, mas também em fases iniciais (JONARD & DEWAILLY, 2004). Como a ação do HAM nas etapas de desenvolvimento folicular inicial ocorre independente do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, a correlação entre os níveis de LH e HAM reforçaria a hipótese da ação sinérgica destes hormônios na disfunção do recrutamento e desenvolvimento foliculares na SOP.

A forte correlação encontrada neste estudo entre HAM e testosterona pode ser um achado específico da SOP, corroborando com estudo previo de Pellat et al. (2007). Esta associação pode ser decorrente da diminuição da sensibilidade das células da granulosa ao FSH, com conseqüente inibição da conversão de androgênios em estradiol pela diminuição da atividade da aromatase causada pelo HAM, afetando diretamente o processo de seleção folicular. Além disso, células da teca cultivadas de pacientes com SOP apresentam maior produção androgênica, sugerindo que esta produção desregulada seria uma propriedade intrínseca destas células, talvez geneticamente determinada (JONARD & DEWAILLY, 2004). Assim, o aumento do número de folículos em estágios iniciais de desenvolvimento decorrente do hiperandrogenismo intra-ovariano

causaria o aspecto micropolicístico visto à ultrassonografia, o qual guarda íntima relação com o hiperandrogenismo laboratorial.

A resistência à insulina nas pacientes com SOP surge como um fator coadjuvante, amplificando o hiperandrogenismo intra-ovariano ou atuando diretamente no aumento da produção de esteróides pelas células da teca (JONARD & DEWAILLY, 2004). O uso da metformina nas pacientes com SOP observadas neste estudo levou à melhora na sensibilidade a insulina, traduzida pela queda significativa nos níveis de insulina, assim como nos valores de QUICKI pós-tratamento. Como consequência, as pacientes apresentaram redução significativa dos níveis de testosterona, refletindo uma melhora metabólica relacionada ao uso da metformina.

Entretanto, não foi observada redução significativa nos níveis de HAM após o tratamento com a metformina no presente estudo. Estes achados são consistentes com os resultados do estudo de Bayrak et al. (2007), que não encontraram alteração dos níveis de HAM precocemente, sete dias após o início do uso da metformina. Os níveis de HAM no estudo de Fleming et al. (2005), em pacientes com SOP e resistência insulínica submetidas a tratamento com metformina, apresentaram queda significativa apenas após oito meses de uso da medicação, não sendo detectado redução significativa dos níveis de HAM na avaliação realizada quatro meses após o início do tratamento. Esses dados sugerem que o HAM não pode ser considerado um marcador ideal para o seguimento de pacientes com SOP em tratamento de resistência insulínica a curto prazo. Ressaltam-se, porém, as limitações do presente estudo, destacando-se o número limitado de pacientes, a ausência de um grupo placebo e o tempo de seguimento. O aumento do número de pacientes avaliadas e do seu tempo de seguimento poderia contribuir para a melhor avaliação das repercussões do uso da metformina em pacientes com RI no tocante à variação do HAM na vigência do seu uso. Quanto ao seguimento de um grupo placebo, surge aqui um dilema ético: o da não-introdução de um tratamento comprovadamente benéfico para as pacientes visando a melhoria da RI.

Assim, a manutenção dos níveis séricos de HAM após o uso da metformina, mesmo com a comprovada melhora metabólica e redução dos níveis de gonadotrofinas sugere que o papel do HAM na SOP baseia-se num

mecanismo intrínseco ovariano, independente do eixo hipotálmo-hipófise-ovário e não influenciado pela resistência insulínica.

7. CONCLUSÃO

As pacientes com SOP apresentaram níveis de HAM mais elevados que as controles ovulatórias e estes correlacionaram-se com os níveis de testosterona e LH pré-tratamento com metformina.

Não houve alteração dos níveis de HAM após oito semanas de uso de metformina em pacientes com SOP e RI. Estudos com seguimento mais prolongado devem ser realizados para o estabelecimento do tempo de seguimento necessário para que ocorram alterações significativas dos níveis de HAM após a introdução do uso da metformina em pacientes com SOP e RI.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andersen CY, Byskov AG. Estradiol and regulation of anti-mullerian hormone, inhibin-A, and inhibin-B secretion: analysis of small antral and preovulatory human follicles' fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(10): 4064-9.

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

Bailey CJ. Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care*. 1992; 15: 755-72.

Bayrak A, Terbell H, Urwitz-Lane R, Mor R, Stanczyk FZ, Paulson RJ. Acute effects of metformin therapy include improvement of insulin resistance and ovarian morphology. *Fertil Steril* 2007; 87(4): 870-5.

Broekmans FJ; Kwee J; Hendriks DJ; Mol BW; Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reprod Update* 2006; 12(6): 685-718.

Carmina E, Lobo RA. Use of fast blood to assess the prevalence of insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004; 82(3): 661-5.

Catteau-Jonard S, Pigny P, Reyss AC, Decanter C, Poncelet E, Dewailly D. Changes in serum anti-mullerian hormone level during low-dose recombinant follicular-stimulating hormone therapy for anovulation in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92 (11): 4138-43.

Chu MC, Carmina E, Wang J, Lobo RA. Mullerian-inhibiting substance reflects ovarian findings in women with polycystic ovary syndrome better than does inhibin B. *Fertil Steril* 2005; 84(6): 1685-8.

Cook CL, Siow Y, Brenner AG, Fallat ME. Relationship between serum mullerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women. *Fertil Steril* 2002; 77(1): 141-6.

Dominguez LJ, Davidoff AJ, Srinivas PR, Standley PR, Walsh MF, Sowers JR. Effects of metformin on tyrosine kinase activity, glucose transport, and intracellular calcium in rat vascular smooth muscle. *Endocrinology*. 1996; 137: 113-21.

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

Eldar-Geva T; Margalioth EJ; Gal M; Den-Chetrit A; Algur N; Zylber-Haran E et al. Serum anti-mullerian hormone levels during controlled ovarian

hyperstimulation in women with polycystic ovaries with and without hyperandrogenism. *Human Reprod* 2005; 20(7): 1814-19.

Feyereisen E, Méndez-Lozano DH, Taieb J, Hersters I, Frydman R, Fanchin R. Anti-mullerian hormone: clinical insights into a promising biomarker of follicular status. *Reprod Biomed Online* 2006; 12(6):695-703.

Fleming R, Harborne L, MacLaughlin DT, Ling D, Norman J, Sattar N et al. Metformin reduces serum mullerian-inhibiting substance levels in women with polycystic ovary syndrome after protracted treatment. *Fertil Steril* 2005; 83(1):130-6.

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;361:1894–901.

Heutling D, Schulz H, Nickel I, Kleinstein J, Kaltwasser P, Westphal S et al. Asymmetrical dimethylarginine , inflammatory and metabolic parameters in women with polycystic ovary syndrome before and after metformin treatment. *Comment in: J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(1):34-6.

Jonard S, Dewailly D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra-ovarian hyperandrogenism, may be the culprit for the follicular arrest. *Hum Reprod Update* 2004; 10(92): 107-17.

Josso N, di Clemente N, Gouedard L. Anti-mullerian hormone and its receptors. *Mol Cell endocrinol* 2001; 179:25-32.

Kevenaar ME, Themmen AP, Laven JS, Sonntag B, Fong SL, Uitterlinden AG et al. Anti-mullerian hormone and anti-mullerian hormone type II receptor polymorphisms are associated with follicular phase estradiol levels in normo-ovulatory women. *Human Reprod* 2007; 22(6): 1547-54.

La Marca A, Orvieto R, Giulini S, Jasonni VM, Volpe A, De Leo V. Mullerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: relationship with hormonal and metabolic characteristics. *Fertil Steril* 2004; 82(4): 970-2.

La Marca A, Stabile G, Arsenio AC, Volpe A. Serum anti-mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod* 2006; 21(12): 3103-7.

La Marca A, Volpe A. Anti-mullerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 64(6): 603-10.

Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Anti-mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(1): 318-23.

Legro RS, Spielman R, Urbanek M, Driscoll D, Strauss JF, Dunaif A. Phenotype and Genotype in polycystic ovary syndrome. *Recent Prog Horm Res* 1998; 53: 217-56.

Lekamge DN, Barry M, Kolo M, Lane M, Gilchrist RB, Tremellen KP. Anti-mullerian hormone as a predictor of IVF outcome. *Reprod Biomed Online* 2007; 14(5): 602-10.

Martins W P, Santana L F, Nastri C O, Ferriani R A, de Sa M F S, Reis RM. Agreement among insulin sensitivity indexes on the diagnosis of insulin resistance in polycystic ovary syndrome and ovulatory women. *Eur J Obst Gynecol Reprod Biol* 2007; 133 (2) 203–207.

McIlveen M, Skull JD, Ledger WL. Evaluation of the utility of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian reserve in prediction of cycle cancellation in a high-risk IVF population. *Human Reprod* 2007; 22 (3): 778-85.

Moggetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, Zanolin E, Muggeo M. 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: 139-146.

Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Norman RJ. The use of anti-mullerian hormone in predicting menstrual response after weight loss in overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92 (10): 3796-802.

Morin-Papunen LC, Koivunen RM, Ruokonen A and Martikainen HK. Metformin therapy improves the menstrual pattern with minimal endocrine and metabolic effects in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 1998; 69: 691-696

Nakhuda GS, Sauer MV, Wang JG, Ferin M, Lobo RA. Mullerian inhibiting substance is an accurate marker of ovarian response in women of advanced reproductive age undergoing IVF. *Reprod Biomed Online* 2007; 14(4): 450-4.

Nelson SM, Yates RW, Fleming R. Serum anti-mullerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of responses in stimulated cycles -

implications for individualization of therapy. *Human Reprod* 2007; 22(9): 2414-21.

Nilsson E, Rogers N, Skinner MK. Actions of anti-mullerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition. *Reproduction* 2007; 134(2): 209-21.

Orio Jr F, Palomba S, Cascella T, de Simone B, Manguso F, Savastano S, et al. Improvement in endothelial structure and function after metformin treatment in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome: results of a 6-month study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:6072-6.

Palomba S, Falbo A, Russo T, Manguso F, Tolino A, Zullo F et al. Insulin sensitivity after metformin suspension in normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Metab* 2007; 92(8): 3120-35.

Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, Fiorini S, Cognigni GE, Filicori M, Morselli-Labate AM. Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 2767-2774.

Pellat L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S et al. Granulosa cell production of anti-mullerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(1);240-5.

Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum anti-mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Metab* 2006; 91(3):841-5.

Pigny P, Merlen E, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Jonard S et al. Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(12): 5957-62.

Reis RM, Rosa e Silva ACJS, Navarro PAAS, Sa MFS e Ferriani RA. *Protocolos de Conduta em Infertilidade Conjugal – Setor de Reprodução Humana do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP – 1ª edição (2004) Cap 04: 27-48.*

Santana LF, Silva de Sá MF, Ferriani RA, de Moura MD, Foss MC and dos Reis RM. Effect of metformin on the clinical and metabolic assessment of women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2004 Aug; 19 (2): 88-96.

Seifer DB, Maclaughlin DT. Mullerian inhibiting substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. *Fertil Steril* 2007; 88(3); 539-46.

Sharma ST, Wickham EP, Nestler JE. Changes in glucose tolerance with metformin treatment in polycystic ovary syndrome. *Endocr Pract* 2007; 13(4):373-9.

Siow W, Kives S, Hertweck P, Perlman S, Fallat ME. Serum mullerian-inhibiting substance levels in adolescent girls with normal menstrual cycles or with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005; 84(4): 938-44.

Somunkiran A, Yavuz T, Yucel O, Ozdemir I. Anti-mullerian hormone levels during hormonal contraception in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007; 134(2): 196-201.

Tang T, Glanville J, Hayden CJ, White D, Barth JH, Balen AH. Combined lifestyle modification and metformin in obese patients with polycystic ovary syndrome: a randomized, placebo-controlled double blind multicentre study. *Human Reprod* 2006; 21(1):80-9.

Taylor AE, McCourt B, Martin KA, Anderson EJ, Adams JM, Schoenfeld D et al. Determinant of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2248-56.

The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Human Reprod* 2004; 19(1): 41-7.

The Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2008; article in press.

Thomas FH, Telfer EE, Fraser HM. Expression of anti-mullerian hormone protein during early follicular phase development in the primate ovary in vivo is influenced by suppression of gonadotropin secretion and inhibition of vascular endothelial growth factor. *Endocrinology* 2007; 148(5); 2273-81.

Tsepelidis S, Derveker F, Demeestere I, Flahaut A, Gervy Ch, Englert Y. Stable serum levels of anti-mullerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod* 2007; 22(7): 1837-4.

Unluhizarci K, Kelestimur F, Bayram F, Sahin Y, Tutus A. The effects of metformin on insulin resistance and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol*. 1999; 51: 231-6.

van Helburg AA, Eijkemans MJ, Kas MJ, Themmen AP, de Jong FH, van Engeland H et al. Predictors of recovery of ovarian function during weight gain in anorexia nervosa. *Fertil Steril* 2007; 87(4): 902-8.

Wachs DS, Coffler MS, Malcolm PJ, Chang RJ. Serum anti-müllerian hormone concentrations are not altered by acute administration of follicle stimulating hormone in polycystic ovary syndrome and normal women. *Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(5): 1871-4.

Wickenheisser JK, Quinn PG, Nelson VL, Legro RS, Strauss JF, McAllister JM. Differential activity of the cytochrome P450 17 α -hydroxylase and steroidogenic acute regulatory protein gene promoters in normal and polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85; 2304-11.

Wiernsperger NF, Bailey CJ. The antihyperglycaemic effect of metformin: therapeutic and cellular mechanisms. *Drugs* 1999;58 Suppl 1: 31-9; discussion 75-82.

Wunder DM; Bersinger NA; Yared M; Kretschmer R; Birkhäuser MH. Statistically significant changes of anti-müllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertil Steril* 2008; 84(9): 927-33.

Yilmaz M; Karakoç A; Törüner FB; Cakir N; Tiras B; Ayvaz G; Arslan M. The effects of rosiglitazone and metformin on menstrual cyclicity and hirsutism in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2005;21(3):154-60.