

**S. PALOMBA - A. FALBO**

# **METFORMINA**

## **IMPIEGHI CLINICI E SPERIMENTALI**



**EDIZIONI MINERVA MEDICA**  
**TORINO 2012**

AUTORI

**STEFANO PALOMBA**

*Cattedra di Ginecologia e Ostetricia, Università degli Studi "Magna Graecia", Catanzaro.*

**ANGELA FALBO**

*Cattedra di Ginecologia e Ostetricia, Università degli Studi "Magna Graecia", Catanzaro.*

ISBN 978-88-7711-718-2

© 2012 – EDIZIONI MINERVA MEDICA S.P.A. – CORSO BRAMANTE 83/85 – 10126 TORINO  
*Sito Internet:* [www.minervamedica.it](http://www.minervamedica.it) / *e-mail:* [minervamedica@minervamedica.it](mailto:minervamedica@minervamedica.it)

---

I diritti di traduzione, memorizzazione elettronica, riproduzione e adattamento totale o parziale, con qualsiasi mezzo (compresi microfilm e copie fotostatiche), sono riservati per tutti i Paesi.

# PREFAZIONE

La monografia *Metformina: impieghi clinici e sperimentali* è un testo che racchiude le conoscenze più aggiornate sulla metformina, farmaco insulino-sensibilizzante ampiamente diffuso in campo diabetologico che, negli ultimi tempi, è stato sperimentato per indicazioni cliniche alternative.

Perché un testo così in questo momento? Mai come oggi nel campo medico è impellente l'esigenza di un aggiornamento continuo al fine di poter seguire nella pratica quotidiana linee guida universalmente riconosciute che possano uniformare la condotta clinica a standard di eccellenza dettati da esperienze internazionali.

Il nostro gruppo di ricerca è diventato negli ultimi anni un riferimento nel campo della terapia della sindrome dell'ovaio policistico (PCOS), con particolare riguardo per l'impiego della metformina, grazie ai numerosi studi sperimentali condotti i cui risultati sono stati pubblicati sulle più prestigiose riviste scientifiche. I lavori sperimentali e clinici sono culminati nella stesura di un'ampia review sistematica dal titolo *Evidence-based and potential benefits of metformin in the polycystic ovary syndrome: a comprehensive review* pubblicata nel numero di febbraio 2009 della rivista ufficiale più prestigiosa dell'*Endocrine Society: Endocrine Reviews*.

Da qui l'esigenza di diffondere e stilare un testo in lingua italiana, completo ed aggiornato, che potesse essere consultato non solo da ultra-specialisti in materia ma anche da diabetologi, endocrinologi, ginecologi, medici interni, medici di medicina generale e studenti che abbiano la voglia e l'esigenza di aggiornarsi sulle conoscenze oramai consolidate e su quelle di recente acquisizione circa l'impiego diffuso della metformina nella pratica clinica.

Considerato il *background* degli autori, l'approccio all'argomento ed il taglio dato al testo seguono una metodologia rigorosamente scientifica, senza tralasciare di illustrare l'applicazione nella pratica clinica quotidiana dei risultati delle ricerche.

In una prima parte della monografia, gli autori hanno illustrato le caratteristiche generali della metformina con la descrizione del meccanismo d'azione e del rationale del suo impiego nella terapia del diabete e della PCOS. Segue l'illustrazione di farmacocinetica, effetti collaterali farmaco-correlati, regimi terapeutici nei diversi impieghi clinici e potenziali fattori predittivi di risposta.

Nella seconda parte sono stati, in primo luogo, analizzati i risultati dell'impiego della metformina per la sua indicazione classica, quale consolidata terapia per pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2. In secondo luogo, sono stati descritti i risultati degli studi clinici e sperimentali che hanno analizzato l'impiego innovativo della metformina in pazienti affette o ad alto rischio per PCOS.

Il risultato finale della monografia è stato quello di dare una quanto più ampia ed esaustiva *overview* delle evidenze attualmente disponibili sull'impiego della metformina in campo medico. Spero e, con una certa modestia, credo che l'obiettivo sia stato pienamente raggiunto. A voi il giudizio finale.

Buona lettura!

FULVIO ZULLO  
*Direttore della Cattedra di Ginecologia e Ostetricia,  
Università degli Studi, "Magna Graecia, Catanzaro*

# INDICE

<i>Prefazione</i> .....	III
<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	1
Background .....	1
Razionale terapeutico .....	3
Meccanismi d'azione .....	5
Farmacocinetica .....	14
Formulazioni e regimi terapeutici .....	17
Effetti collaterali .....	20
Potenziali fattori predittivi .....	23
<b>2. INDICAZIONE CLASSICA ALL'IMPIEGO DELLA METFORMINA: IL DIABETE MELLITO (DM)</b> .....	29
Controllo glucidico .....	29
<i>Metformina in monoterapia</i> .....	29
<i>Metformina in combinazione con altri trattamenti</i> .....	30
Effetti a lungo termine.....	30
Gravidanza e DM.....	34
DM di tipo 1 .....	34
<b>3. INDICAZIONI SPERIMENTALI ALL'IMPIEGO DELLA METFORMINA: LA PCOS</b> .....	37
Disfunzioni mestruali .....	40
Anovulazione e infertilità.....	43
Metformina come primo step terapeutico .....	45
Metformina come secondo step terapeutico .....	50
<i>Metformina come singolo agente</i> .....	50
<i>Metformina combinata con altri trattamenti</i> .....	50
<i>Metformina come pre-trattamento</i> .....	52
Metformina in pazienti trattate con gonadotropine.....	53
<i>Cicli mono-ovulatori</i> .....	53

<i>Stimolazione dell'ovulazione multipla in cicli di fertilizzazione in vitro (IVF)</i> .....	54
Complicanze della gravidanza.....	55
<i>Aborto</i> .....	55
<i>DM gestazionale</i> .....	59
<i>Iperensione indotta dalla gravidanza (PIH) e pre-eclampsia (PE)</i> .....	60
<i>Outcome fetali avversi</i> .....	61
Anomalie endometriali.....	62
<i>Implicazioni sulla fertilità</i> .....	62
<i>Implicazioni oncologiche</i> .....	65
Iperandrogenismo clinico/biochimico.....	67
Neoplasie.....	70
Alterazioni della qualità di vita (QoL).....	71
Obesità.....	72
Rischio cardiovascolare.....	76
Alterazioni cardio-polmonari.....	77
DM tipo 2.....	78
Iperensione arteriosa.....	80
Dislipidemia.....	81
Alterazioni della coagulazione.....	83
Infiammazione cronica.....	83
Alterazioni endoteliali.....	85
Sindrome XX.....	86
Altre disfunzioni d'organo.....	86
<i>Disfunzioni epatiche</i> .....	86
<i>Disfunzioni tiroidee</i> .....	87
<i>Funzioni cognitive</i> .....	88
<i>Disturbi del sonno</i> .....	88
<b>4. METFORMINA IN SOGGETTI A RISCHIO PER DM tipo 2</b> .....	89
<b>5. METFORMINA IN DONNE A RISCHIO PER PCOS</b> .....	91
<b>6. PROSPETTIVE FUTURE</b> .....	93
<b>7. CONCLUSIONE</b> .....	95
<b>Bibliografia</b> .....	99

# INTRODUZIONE



La metformina è un farmaco insulino-sensibilizzante orale (*insulin sensitizing drug*, ISD). Da tempo il suo impiego è ben consolidato nel trattamento del diabete mellito (DM) di tipo 2, mentre solo recentemente è stato sperimentato nel management di pazienti affette da sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) per il trattamento dell'oligo-amenorrea e/o dell'infertilità anovulatoria.

La presente monografia avrà come scopo quello di illustrare gli attuali impieghi clinici e sperimentali della metformina. In particolare, il testo sarà articolato in una prima parte, in cui sarà descritta la storia del farmaco, il suo razionale e meccanismo d'azione, la farmacocinetica, i regimi terapeutici comunemente impiegati, gli effetti collaterali ad esso correlati ed i potenziali fattori predittivi di efficacia. Nella seconda parte del testo, saranno invece analizzati in primo luogo gli impieghi clinici attuali della metformina, consolidata terapia per pazienti affetti da diabete mellito (DM) di tipo 2, ed in secondo luogo quelli sperimentali, consistenti essenzialmente nel trattamento di pazienti affette da PCOS. Un cenno verrà, infine, dato all'impiego della metformina quale trattamento preventivo in pazienti ad alto rischio per DM e per PCOS.

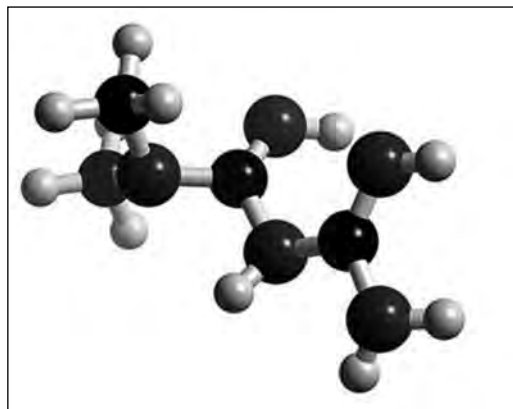
L'approccio alla nostra ricerca ha tentato di seguire un metodo rigorosamente scientifico analizzando tutti i dati presenti in letteratura aventi come oggetto l'impiego della metformina al fine di ottenere una quanto più ampia ed esaustiva *overview* delle evidenze attualmente disponibili.

La ricerca bibliografica è stata effettuata utilizzando come fonte la Libreria Governativa Statunitense di Medicina mediante il sito web del NIH (*National Institute of Health*), senza limiti di tempo di pubblicazione o di linguaggio. La metodologia utilizzata è consistita nella ricerca di tutte le meta-analisi disponibili e nel loro aggiornamento con i più recenti trial randomizzati controllati (RCTs) fino alla pubblicazione. In caso di assenza di dati meta-analitici o di RCTs, sono stati presi in considerazione i dati ottenuti da studi prospettici non randomizzati, prospettici non controllati fino a studi retrospettivi.

## BACKGROUND

---

La metformina (1,1-dimetilbiguanide idroclorido; Figura 1.1) è un biguanide attualmente impiegato come ipoglicemizzante orale. La sua sintesi risale al 1922 ad opera di Werner e Bell, mentre nel 1929 Hesse e Taubman descrissero i suoi effetti ipoglicemizzanti nel modello animale (Figura 1.2). Per paura della sua potenziale tossicità epatica,



**Fig. 1.1.** – 1,1-dimetilbiguanide idrocloridrato.

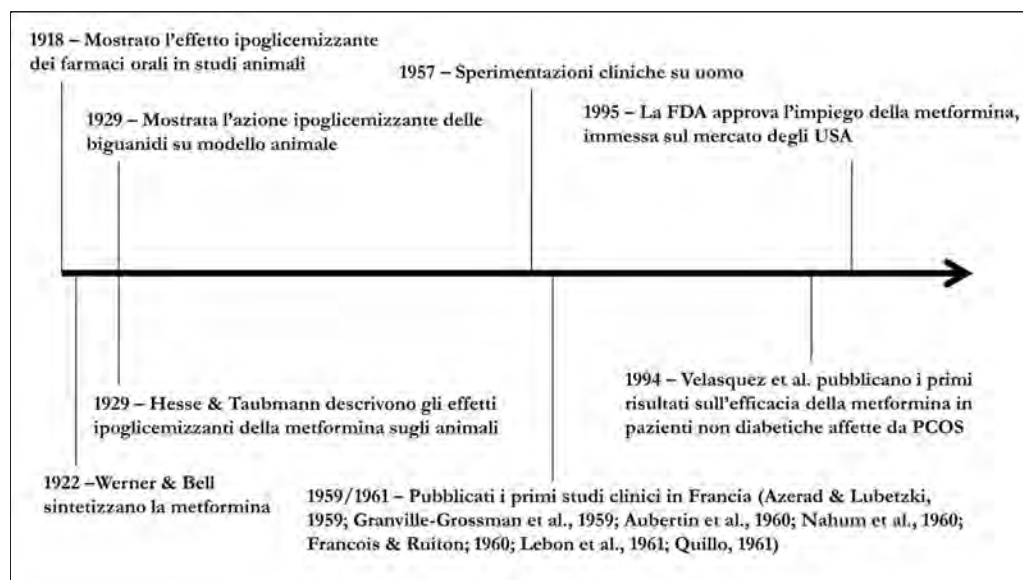
solo circa 30 anni più tardi furono pubblicate le prime esperienze cliniche sull'uomo ed iniziarono i primi *trial* clinici (Figura 1.2). Nel 1995 la metformina è stata approvata dalla *Food and Drugs Administration* (FDA) statunitense per il trattamento del DM di tipo 2 e, successivamente, immessa nel mercato farmaceutico (Figura 1.2).

Ad oggi, la metformina è probabilmente l'ISD con il miglior profilo di sicurezza<sup>1</sup>. Essa, infatti, migliora nel paziente diabetico l'insulino-sensibilità e sopprime l'*output* di glucosio epatico (vedi Razionale e Meccanismi d'azione). Nonostante il suo eccellente rapporto rischio/beneficio, per alcuni auto-

ri, quale sia il trattamento di scelta (metformina o sulfanilurea) in pazienti con DM di tipo 2 nel momento in cui la dieta fallisca, è tuttora materia di dibattito.

Velazquez *et al.*<sup>2</sup> nel 1994 per primi hanno valutato gli effetti della somministrazione della metformina in pazienti non diabetici (Figura 1.2). In particolare, gli Autori hanno studiato in 26 donne obese affette da PCOS il trattamento con metformina al fine di valutare il ruolo dell'insulino-resistenza nella patogenesi della sindrome. Dopo sei mesi di trattamento alla dose di 1500 mg/ giorno è stata osservata una significativa riduzione dei livelli di androgeni sierici e del peso corporeo. È stata, inoltre, dimostrata in un'alta percentuale di pazienti trattate, sebbene non in tutte, un ripristino di cicli mestruali ovulatori<sup>2</sup>.

Nonostante la gran parte dei ginecologi e degli endocrinologi prescriva la metformina per trattare pazienti affette da PCOS, l'*Androgen Excess Society and Polycystic Syndrome* (AEPS)<sup>3</sup> ne limita l'impiego nelle pazienti affette da PCOS solo al fine di prevenire l'istaurarsi di uno



**Fig. 1.2.** – Excursus storico dell'impiego della metformina.



stato di intolleranza al glucosio (*impaired glucose tolerance*, IGT); le linee guida dell'*American Association of Clinical Endocrinologists*<sup>4</sup>, invece, ne suggeriscono l'impiego come intervento iniziale nelle pazienti sovrappeso ed obese. Attualmente, né in Europa né negli Stati Uniti tale farmaco è stato approvato come trattamento per le pazienti con PCOS.

Nel Marzo 2007, a Tessaloniki, in Grecia, si è tenuta una seconda *Consensus Conference* internazionale congiunta della *Società Europea di Riproduzione Umana ed Embriologia* (ESHRE) e di quella *Americana di Medicina della Riproduzione* (ASRM) patrocinata dal *PCOS Consensus Workshop Group*<sup>5</sup> per discutere sulle strategie terapeutiche per indurre l'ovulazione in pazienti infertili affette da PCOS e per rispondere alle importanti domande riguardanti l'efficacia e la sicurezza dei diversi trattamenti disponibili in queste donne. Gli esperti internazionali intervenuti sono giunti alla conclusione che gli ISD non dovrebbero essere impiegati come agenti di prima scelta per indurre l'ovulazione nelle donne con PCOS e che il loro uso dovrebbe essere ristretto a quelle pazienti con IGT. Tale conclusione è, probabilmente, legata alle conoscenze limitate che si hanno circa gli effetti ed i regimi di somministrazione nelle pazienti affette da PCOS.

## RAZIONALE TERAPEUTICO

---

La Figura 1.3 riassume il razionale per l'impiego della metformina nel trattamento delle pazienti affette da PCOS.

Il razionale per l'impiego della metformina nel trattamento di pazienti affetti da DM di tipo 2 è ovviamente correlato, come dettagliato di seguito nel paragrafo, all'azione ipoglicemizzante secondaria al miglioramento dello stato di insulino-resistenza caratteristico del DM di tipo 2.

Studi familiari, infatti, hanno dimostrato nei parenti di soggetti con DM di tipo 2 un rischio aumentato di sviluppare DM<sup>6</sup>. Probabilmente il *primum movens* dello sviluppo della patologia diabetica è rappresentato dall'insulino-resistenza. A tal proposito, dati recenti hanno fatto ipotizzare che l'insulino-resistenza sia correlata ad un difetto ereditario mitocondriale dell'attività di fosforilazione ossidativa nel tessuto muscolare<sup>7</sup>; ne conseguirebbe una ridotta ossidazione dei lipidi che predispone questi soggetti all'accumulo di metaboliti degli acidi grassi intramiocellulari. Sebbene il meccanismo che sottende la patogenesi dell'insulino-resistenza in soggetti con DM di tipo 2 non sia stato ancora ben delucidato, è stato ipotizzato che un incremento della concentrazione intracellulare del *fatty-acylCoA* e del diacilglicerolo possa attivare la cascata della serina/treonina chinasi alterando il segnale insulinico a livello del substrato-1 del recettore dell'insulina (*insulin receptor substrate-1*, IRS-1) ed inducendo insulino-resistenza<sup>8-14</sup>. Di recente è stato osservato come l'eccesso di acidi grassi a livello epatico contribuisca all'insulino-resistenza epatica e allo stress a carico del reticolo endoplasmatico, favorendo la morte epatocellulare con insorgenza di steatosi epatica non alcolica<sup>15</sup>.

Più complesso è il razionale terapeutico dell'impiego della metformina nelle pazienti affette da PCOS. Questo, infatti, deriva dalla consapevolezza che l'insulino-resistenza e l'iperinsulinemia compensatoria giochino un ruolo chiave nella patogenesi della sindrome, nonostante non siano un criterio essenziale per la diagnosi. L'insulino-resistenza e l'iperinsulinemia secondaria colpiscono approssimativamente dal 65% al 70% delle donne con PCOS<sup>16</sup>. Le pazienti affette da PCOS sono più insulino-resistenti e iperinsulinemiche rispetto a pazienti sane confrontabili per età ed indice di massa corporea (*body mass index*, BMI), indipendentemente dal BMI<sup>17</sup>. Inoltre, nelle pazienti con PCOS è stata descritta una

disfunzione delle cellule pancreatiche con un aumento della secrezione basale di insulina ed inadeguato rilascio insulinico post-prandiale<sup>18</sup>. Il difetto maggiore dell'azione dell'insulina nelle pazienti con PCOS è probabilmente la ridotta sensibilità all'insulina secondaria ad un'alterazione post-recettoriale di trasduzione del segnale e ad un'alterazione poco sostanziale, ma significativa, del legame al recettore<sup>19</sup>. La riduzione dell'insulinosensibilità nelle pazienti affette da PCOS è potenzialmente un difetto intrinseco in soggetti geneticamente predisposti. Infatti, indipendentemente dall'obesità, dalla distribuzione del grasso corporeo, dai livelli ormonali e dalle alterazioni metaboliche, sono presenti anomalie genetiche nella regolazione della fosforilazione dei recettori dell'insulina risultanti in un'aumentata fosforilazione insulino-indipendente della serina ed in una ridotta fosforilazione insulino-dipendente della tirosina<sup>19</sup>.

Come già sottolineato, l'insulino-resistenza è presente indipendentemente dal BMI. Tuttavia, essa può essere ulteriormente peggiorata dalla coesistenza con l'obesità esercitando un impatto deleterio diretto e sinergico o indiretto sul metabolismo del glucosio con un possibile peggioramento delle caratteristiche cliniche e biochimiche della PCOS stessa.

Sia nei soggetti obesi sia nelle donne con PCOS è stato osservato un difetto dell'accoppiamento insulina-recettore per il rilascio del mediatore insulinico *d-chiro-inositol-containing inositolphosphoglycan* (DCI-IPG), tale anomalia contribuisce all'insulino-resistenza periferica<sup>20</sup>.

L'insulino-resistenza e l'iperinsulinemia secondaria potrebbero influenzare lo spettro dei disordini correlati alla PCOS mediante diversi meccanismi ancora sconosciuti. L'argomento più discusso è sicuramente l'effetto dell'alterazione insulinica sulle specifiche caratteristiche della sindrome: disfunzione ovulatoria ed iperandrogenismo.

Sono stati ipotizzati meccanismi centrali e periferici per chiarire il ruolo dell'insulino-resistenza sulla patogenesi della PCOS.

A livello centrale, l'insulina è implicata nella regolazione della secrezione dell'ormone luteinizzante (LH), anche se dati contrastanti sono emersi da studi *in-vitro* ed *in-vivo*<sup>19</sup>. In particolare, cellule ipofisarie di topo pre-incubate con insulina hanno mostrato una risposta aumentata dell'LH dopo la somministrazione dell'ormone rilasciante gonadotropine (GnRH). D'altra parte, l'infusione di insulina nelle donne con PCOS non causa alterazioni significative nella secrezione o nel rilascio di LH dopo la stimolazione con GnRH<sup>19</sup>. Inoltre, la riduzione sperimentale dell'iperinsulinemia ha indotto una riduzione anche dei livelli sierici di LH<sup>19</sup>, anche se non è chiaro se il decremento sierico di LH sia un risultato diretto dei ridotti livelli circolanti di insulina o secondario all'effetto a *feedback* dell'incrementata produzione degli estrogeni ovarici da ripristinata follicologenesi (vedi in seguito).

Recentemente è stata valutata l'influenza dell'insulina sulla secrezione di gonadotropine nelle pazienti con PCOS e nei controlli sani. In entrambi i gruppi non è stata osservata alcuna alterazione dovuta all'infusione di insulina oltre un intervallo di 12 ore nella secrezione episodica di gonadotropine e nella risposta dell'LH alla stimolazione multidoso con GnRH<sup>19</sup>.

A livello periferico, l'insulino-resistenza influenza la funzione epatica, muscolare ed ovarica.

A livello epatico, l'iperinsulinemia inibisce la sintesi della globulina legante gli ormoni sessuali (SHBG) aumentando la quantità di androgeni liberi e, di conseguenza, l'azione periferica degli androgeni; l'iperinsulinemia inibisce anche la secrezione epatica della proteina legante l'*Insulin-like Growth Factor* (IGF-1) (*IGF-1-binding protein*, IGF-1-BP) con conseguente aumento della bioattività dell'IGF-1 e -2, due importanti regolatori del-

la maturazione follicolare ovarica e della steroidogenesi<sup>19</sup>. L'aumento sistemico di IGF-1 e -2 determina un aumento della produzione di androgeni ovarici da parte delle cellule della teca agendo sui recettori dell'IGF-1<sup>19</sup>.

A livello muscolare, l'insulino-resistenza è associata ad una ridotta espressione dei geni coinvolti nel metabolismo ossidativo mitocondriale<sup>21</sup>. Dati sperimentali, inoltre, hanno indicato che l'insulino-resistenza nelle pazienti con PCOS induce alterazioni trascrizionali nelle vie di segnalazione dell'insulina, nel metabolismo degli acidi grassi liberi (*free fat acid*, FFA) e nell'omeostasi del calcio<sup>21</sup>.

A livello ovarico, l'iperinsulinemia potrebbe contribuire direttamente alla genesi dell'anovulazione interferendo con lo sviluppo follicolare causandone una prematura atresia ed un arresto allo stadio antrale e, indirettamente, influenzando l'effetto delle gonadotropine in un ambiente intraovarico alterato<sup>19</sup>. D'altra parte, l'ambiente iperinsulinemico stimola il legame dell'insulina stessa ai recettori dell'IGF-1, aumentando ulteriormente la produzione di androgeni da parte delle cellule della teca in risposta alla stimolazione dell'LH<sup>19</sup>. Infatti, l'insulina stimola la secrezione basale di androgeni da parte delle cellule della teca umane in coltura di donne iperandrogeniche, suggerendo che l'effetto stimolatorio dell'insulina sulla steroidogenesi tecale è aumentata nella PCOS<sup>19</sup>. L'insulina, inoltre, aumenta le concentrazioni endogene di androgeni stimolando l'attività del citocromo P450c-17 $\alpha$ , un enzima chiave nella biosintesi degli androgeni ovarici e surrenalici con attività sia 17 $\alpha$ -idrossilasica sia 17 $\alpha$ , 20-liasica. Nelle cellule della teca ovarica l'attività 17 $\alpha$ -idrossilasica del P450c-17 $\alpha$  converte il progesterone (P) in 17-idrossiprogestosterone (OHP), mentre la sua attività 17,20-liasica converte il 17 $\alpha$ -idrossiprogestosterone in androstenedione. L'androstenedione è successivamente convertito in testosterone dall'enzima 17 $\alpha$ -reduttasi. Quindi, la stimolazione dell'attività del P450c-17 $\alpha$  risulta essere accompagnata da un aumento della concentrazione sierica di testosterone. A tal proposito, nella PCOS queste alterazioni potrebbero essere responsabili dell'incremento abnorme del 17-idrossiprogestosterone dopo stimolazione con analogo del GnRH (GnRHa)<sup>22</sup>.

I livelli di androgeni intraovarici sembrano modulare la funzione follicolare agendo direttamente sull'ovaio. In particolare, l'esposizione acuta agli androgeni sopprime l'apoptosi delle cellule della granulosa prolungando la sopravvivenza di piccoli follicoli antrali<sup>23,24</sup>. Al contrario, l'esposizione cronica ad alte concentrazioni androgeniche, come in caso di PCOS, induce collasso degli stessi follicoli ed ipertrofia stromale promuovendo, nel contempo, il processo di atresia ovarica con conseguente anovulazione<sup>25</sup>.

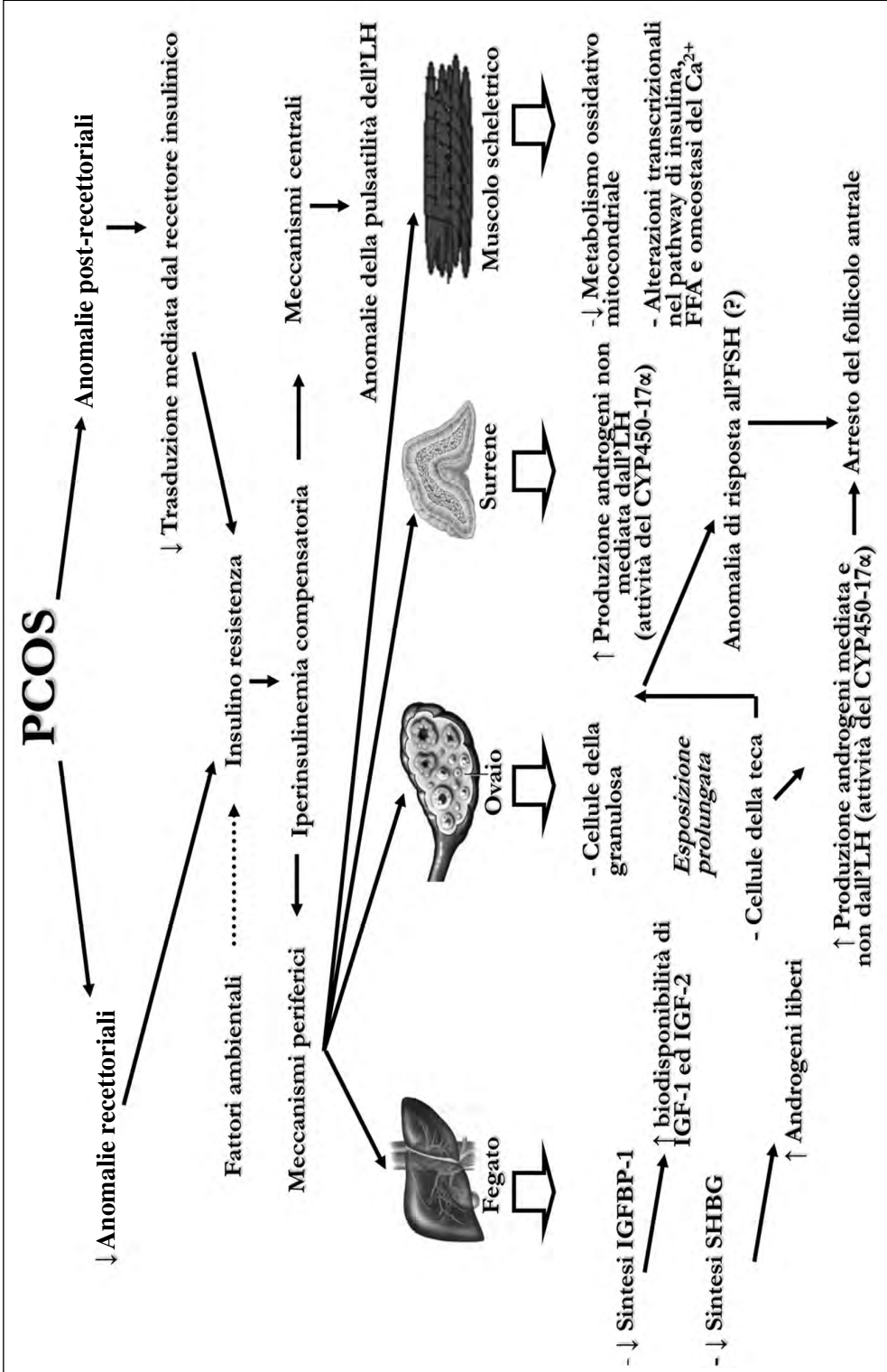
## MECCANISMI D'AZIONE

---

Il meccanismo d'azione della metformina in pazienti affette da DM di tipo 2 è sicuramente correlato alla sua azione insulino-sensibilizzante, al contrario nelle pazienti affette da PCOS, nonostante tale azione abbia indotto inizialmente diversi ricercatori al suo impiego, non è stata ritrovata alcuna chiara evidenza che possa supportare o escludere che la sua efficacia sia legata all'azione insulino-sensibilizzante. Similmente, nella PCOS possono essere supposti, ovvero non possono essere esclusi, meccanismi alternativi a quelli mediati dall'effetto insulino-sensibilizzante.

In Figura 1.4 sono illustrati i principali meccanismi d'azione della metformina.

Pochi sono gli studi disponibili in letteratura circa il meccanismo d'azione della metformina nelle donne affette da PCOS. Una recente metanalisi sugli ISD<sup>26</sup> ha mostrato che la metformina somministrata a pazienti con PCOS determina una riduzione significativa, rispetto al placebo, della glicemia e dell'insulinemia a digiuno e dei livelli di insulina nel-



**Fig. 1.3.** – Razionale per l'impiego della metformina nel trattamento delle pazienti affette da PCOS.

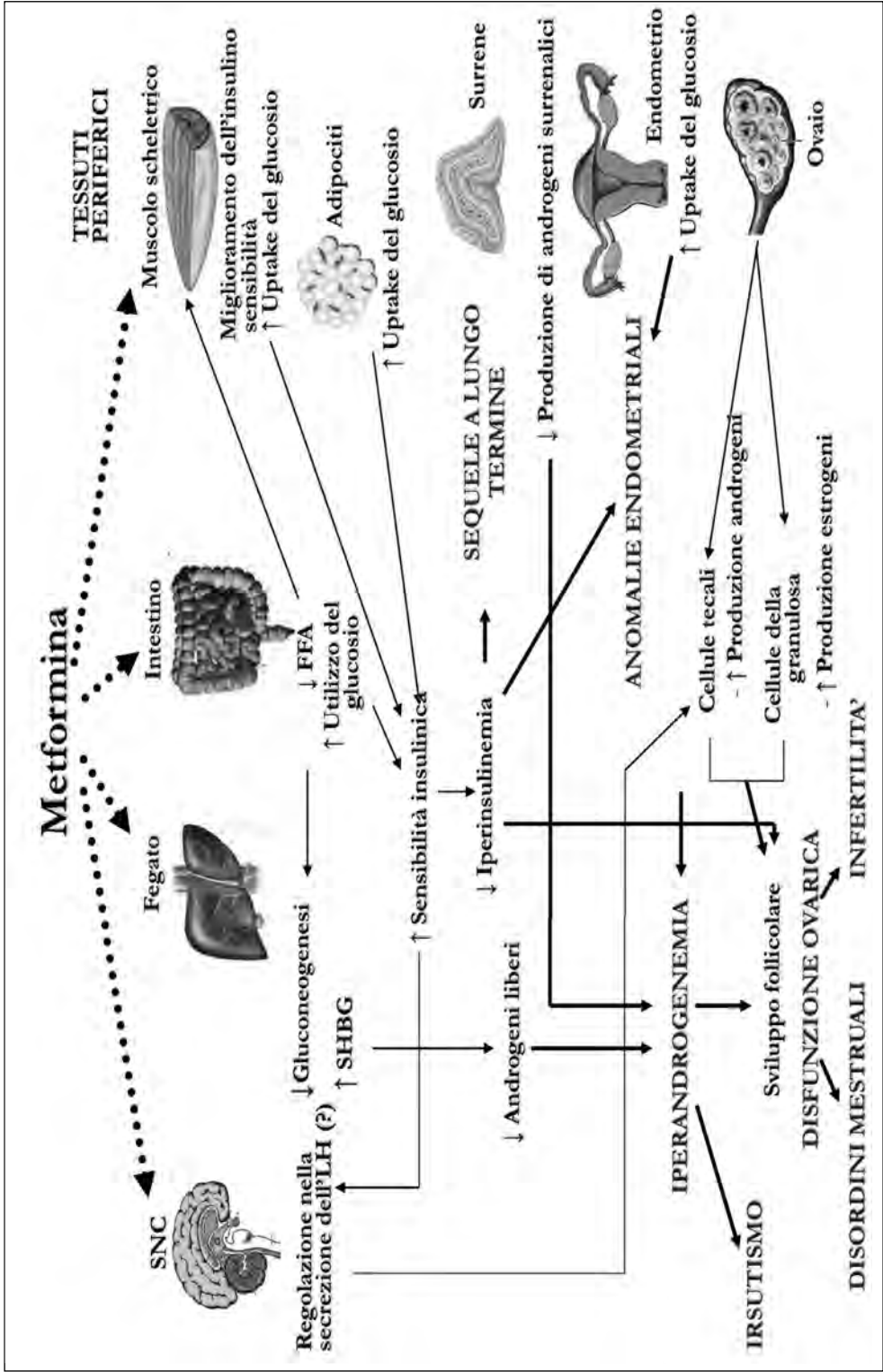


Fig. 1.4.. - Principali meccanismi d'azione della metformina.

l'area sotto la curva (*area under the curve*, AUC) dopo test da carico orale di glucosio (*oral glucose tolerance test*, OGTT). Studi sperimentali hanno mostrato che la metformina migliora la disponibilità di glucosio nelle donne con PCOS<sup>27</sup>. Tuttavia, al fine di meglio comprendere i principali meccanismi d'azione della metformina in questa popolazione, sono stati utilizzati numerosi dati traslazionali ottenuti in pazienti con DM di tipo 2.

È dimostrato che la metformina riduce la produzione basale di glucosio epatico del 9%-30% in pazienti con DM di tipo 2 mediante meccanismi multipli<sup>28</sup>. L'effetto stimolante di tale farmaco sul metabolismo non ossidativo del glucosio, inclusa la glicogenosintesi, la conversione a lattato e l'incorporazione ai trigliceridi, è responsabile dell'utilizzazione del glucosio insulino-dipendente stimata di oltre il 50% in pazienti con DM di tipo 2<sup>29</sup> e nei loro parenti di primo grado<sup>30</sup>.

Studi sperimentali<sup>31</sup>, che hanno valutato la produzione di glucosio in epatociti isolati di topi a digiuno, hanno evidenziato che le concentrazioni terapeutiche di metformina potenziano l'effetto antigluconeogenico dell'insulina, inducendo la soppressione della gluconeogenesi ed inibendo la gluconeogenesi stimolata dal glucagone. La metformina induce la riduzione della gluconeogenesi anche aumentando l'utilizzo intestinale di glucosio e riducendo l'ossidazione degli FFA<sup>32</sup>. Un'accelerata ossidazione degli FFA promuove la gluconeogenesi epatica stimolando l'acetil-CoA e riduce il consumo di glucosio nei tessuti periferici secondariamente all'inibizione dell'attività della piruvato deidrogenasi<sup>32</sup>. D'altronde, la riduzione dell'ossidazione degli FFA secondaria alla somministrazione di metformina<sup>32</sup> inibisce la gluconeogenesi epatica ed aumenta la captazione di glucosio e l'ossidazione nel muscolo scheletrico<sup>32</sup> migliorando la sensibilità all'insulina nei tessuti periferici.

La natura del meccanismo d'azione della metformina sulla produzione di glucosio epatico rimane poco chiara. Dati derivanti da studi *in-vitro* hanno suggerito diverse azioni della metformina sulla riduzione della gluconeogenesi epatica con effetti a breve (metabolici) ed a lungo (espressione genica) termine. In particolare, studi *in-vitro* hanno dimostrato l'inibizione da parte della metformina della captazione di alanina, dovuta all'inibizione del sistema di trasporto del Na<sup>+</sup>/L-alanina<sup>33</sup>, e della captazione di lattato epatico<sup>34</sup> negli epatociti isolati da fegato di topi. Altri dati hanno mostrato che la metformina riduce la produzione di glucosio nel fegato di topi diabetici con la riduzione della piruvato carbossilasi-fosfoenolpiruvato carbossichinasi (*phosphoenolpyruvate carboxykinase*, PEPCK) e, probabilmente, anche attraverso un incremento della conversione di piruvato epatico in alanina<sup>35</sup>.

Studi *in-vitro* hanno dimostrato come la metformina riduca le concentrazioni intracellulari del fattore di trascrizione KLF15 mediante la degradazione e la *down-regulation* del suo mRNA. Tale fattore regola l'espressione dei geni codificanti enzimi implicati nella gluconeogenesi e ad azione degradante gli aminoacidi, azione sviluppata in coordinazione/cooperazione con il *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- $\gamma$ )<sup>36</sup>.

Dati sperimentali hanno dimostrato che uno dei meccanismi d'azione della metformina implica l'attivazione della via della protein-chinasi dell'adenosina-5'-monofosfato (AMPK)<sup>37-39</sup>. L'AMPK è una serina/treonina chinasi pleiotropica che agisce come un indicatore di consumo nella regolazione del metabolismo energetico, soprattutto in condizioni di stress quando le vie biosintetiche sono bloccate dalla fosforilazione dei substrati a valle dell'AMPK stesso. In particolare, l'attivazione dell'AMPK ristabilisce il livello cellulare di adenosina-5'-trifosfato (ATP) regolando l'attivazione e l'inibizione della via catabolica<sup>40</sup>. L'AMPK media gli effetti metabolici di ormoni come leptina, grelina, adiponectina, glucocorticoidi e insulina. Stimola il *pathway catabolico* (glicolisi, ossidazione degli acidi

grassi, biogenesi mitocondriale) ed inibisce le vie anaboliche (gluconeogenesi, sintesi di glicogeno, proteine e acidi grassi), ha inoltre un'azione diretta sulla regolazione dell'appetito a livello ipotalamico <sup>41</sup>.

A tal proposito, la metformina facilita il flusso di substrati attraverso la piruvato chinasi <sup>42</sup> mediante l'attivazione della via dell'AMPK <sup>40</sup> ed inibisce la gluconeogenesi epatica mediante la regolazione AMPK-dipendente del recettore nucleare orfano SHP <sup>43</sup>. Sebbene il meccanismo mediante cui la metformina attiva la via dell'AMPK non sia chiaro, la fosforilazione della treonina in AMPK è certamente necessaria per la sua azione come mostrato da studi *in-vitro* (44). Nel fegato di topi adulti, l'attivazione dell'AMPK è mediata dall'azione su una chinasi-serina-treonina protein chinasi prossimale precedentemente chiamata LKB1 <sup>45</sup>.

Questi meccanismi molecolari probabilmente spiegano l'azione pleiotropica della metformina che risulta nella riduzione della produzione di glucosio e nell'aumento dell'ossidazione degli FFA non solo negli epatociti ma anche nelle cellule del tessuto muscolare scheletrico <sup>44</sup> ed ovarico <sup>46</sup>.

L'attivazione dell'AMPK è considerata con buona certezza il mezzo attraverso cui la metformina agisce nei soggetti con DM di tipo 2. La metformina, infatti, aumenta il 5'-*Adenosine Monophosphate* (5'-AMP), che attiva allostericamente l'AMPK e promuove la fosforilazione sulla Thr172 della subunità catalitica alfa dell'AMPK <sup>47</sup>. La presenza di un polimorfismo per singoli nucleotidi (SNPs) a carico del gene di una subunità dell'AMPK, PRKAG2, aumenta l'incidenza di DM di tipo 2 in popolazioni ad alto rischio <sup>48</sup>. Un altro meccanismo che media l'azione della metformina è rappresentato dall'inibizione del segnale mediato dal *mammalian target of rapamycin* (m-TOR), una via di controllo, proliferazione, metabolismo e crescita cellulare <sup>49</sup>. Gli agenti che aumentano il rapporto intracellulare AMP/ATP come la metformina inibiscono mTORC1 attraverso l'attivazione da parte dell'AMPK di meccanismi TSC1/2-dipendenti o indipendenti <sup>49</sup>. È stato osservato, tuttavia, come la metformina inibisca mTORC1 anche in assenza di TSC1/2 e AMPK, giustificando, dunque, la presenza di una sua azione AMPK-indipendente <sup>49</sup>.

D'altra parte, a supporto dell'ipotesi sugli effetti clinici a lungo termine della metformina, studi *in-vitro* su epatociti di topi a digiuno in coltura hanno indicato che la metformina può regolare l'espressione di geni epatici specifici in maniera insulino-indipendente <sup>50</sup>. Quest'ultimo studio <sup>50</sup> ha mostrato, come già accennato precedentemente, che la metformina influenza l'espressione di geni che codificano proteine regolatorie del ciclo fosfoenolpiruvato/piruvato; infatti, la metformina aumenta l'espressione di L-piruvato chinasi e riduce l'espressione genica del PEPCK.

L'azione epatica della metformina, mediata da meccanismi AMPK-dipendenti, può essere attivata dalla ossido nitrico sintasi (NOs) epatica e dalla produzione secondaria di perossinitriti <sup>51</sup>. Ancora una volta, tuttavia, studi sperimentali su modello animale hanno dimostrato come la metformina svolga la sua azione anche nelle cellule epatiche che non esprimono AMPK <sup>52</sup>. È stato osservato, infatti, che la metformina svolge in modo dose-dipendente un'attività di inibizione della produzione del glucosio LKB1-e AMPK-indipendente <sup>52</sup>. Tale azione sembrerebbe mediata dalla riduzione delle concentrazioni di ATP intra-epatiche, espressione di un ridotto stato energetico cellulare <sup>52</sup>.

Per quanto riguarda la possibile variabilità di risposta, la metformina viene trasportata all'interno degli epatociti attraverso il trasportatore per i cationi organici (*organic cation transporters*, OCT)-1 e fuoriesce mediante il trasportatore di estrusione multifarmaco e tossine (*human multidrug and toxin extrusion*, MATE)-1. Polimorfismi a carico dei geni codi-

ficanti per OCT-1 e MATE-1 sono associati ad una minore capacità della metformina di ridurre i livelli di glucosio<sup>53</sup>. Negli adipociti la metformina stimola l'*uptake* di glucosio indipendentemente dall'origine dei pre-adipociti (sottocutanei o viscerali) e dallo stato di obesità<sup>54</sup>. Studi condotti su adipociti di roditori hanno dimostrato che la metformina attiva l'AMPK inibendo la lipolisi del 30-40%<sup>55</sup>. È stato, inoltre, dimostrato come il biguanide sopprima la lipolisi indotta da catecolamine, riducendo i livelli di FFA nel plasma<sup>56</sup>, ed impedisca l'accumulo di lipidi negli adipociti<sup>57</sup>. Anche a livello del tessuto adiposo l'attivazione di AMPK da parte della metformina appare un evento cruciale per ottenere l'incremento del contenuto del trasportatore di glucosio (*glucose transporter*, GLUT) di tipo 4 e dell'*uptake* glucidico all'interno degli adipociti<sup>58</sup>. L'obesità potrebbe avere un effetto su assorbimento o distribuzione della metformina attraverso un aumento dell'espressione epatica dell'OCT-1. Tale trasportatore, infatti, è aumentato non solo nei topi sottoposti ad una dieta ad alta percentuale di grassi<sup>59</sup>, ma anche nel tessuto adiposo dei soggetti obesi<sup>60</sup>, con conseguente maggiore *uptake* epatico di metformina. Di recente, a livello del tessuto adiposo di donne affette da PCOS è stata valutata la concentrazione di trombospondina-1 (TSP-1), un'adipochina antiangiogenetica altamente espressa nei soggetti obesi insulino-resistenti. I livelli di TSP-1 sono risultati più bassi nelle donne PCOS rispetto ai controlli sani, con incrementi rilevati dopo trattamento con metformina, supportando la correlazione tra obesità, insulino-resistenza ed angiogenesi<sup>61</sup>.

Allo stesso modo, nel tessuto adiposo omentale di donne con PCOS è stato osservato un incremento dell'espressione di *phosphoprotein enriched in diabetes gene product* (Ped/pea-15), che regola il metabolismo del glucosio. In particolare, è stato osservato come il glucosio sia predittore dell'espressione omentale di Ped/pea-15 mRNA, mentre la metformina ne riduca le concentrazioni<sup>62</sup>.

La *phosphatase and tensin homolog* (PTEN) influisce negativamente sul segnale insulinico, perciò la sua inibizione migliora la sensibilità insulinica. È stato dimostrato che la metformina inibisce l'espressione di PTEN mediante attivazione dell'AMPK nelle linee cellulari di pre-adipociti. Il *knock-down* di PTEN potenzia la fosforilazione insulino-mediata di Akt/ERK. La metformina, inoltre, aumenta la fosforilazione di *c-Jun N-terminal kinase* (JNK)-c-Jun e di mTOR anch'esso implicato nell'inibizione di PTEN. L'inibizione di PTEN rappresenta un possibile meccanismo attraverso cui la metformina svolge un'azione positiva sul segnale insulinico<sup>63</sup>.

A livello del tessuto muscolare scheletrico, la metformina migliora la sensibilità insulinica attivando, in modo dose- e tempo-dipendente, la via dell'AMPK<sup>1</sup>, con conseguente incremento dell'*uptake* del glucosio e l'espressione del GLUT-4 sulla membrana plasmatica riducendo nel contempo l'*uptake* del palmitato e l'ossidazione degli acidi grassi. È stato dimostrato che gli effetti inibitori della metformina sul metabolismo degli acidi grassi si svolgono attraverso la via dell'AMPK<sup>1,64</sup>. A livello muscolare, oltre che sulla via dell'AMPK, sono stati individuati anche degli effetti della metformina sull'inibitore della kappa B chinasi beta (IKKbeta) nei confronti della quale svolge un'influenza inibitoria, come mostrato dagli elevati livelli di IkappaBalpha e la ridotta fosforilazione di IRS1-Ser<sup>65</sup>. La perdita dell'attività a livello muscolare dell'AMPK aumenta lo sviluppo di intolleranza glucidica e di insulino-resistenza causata dall'introito di grassi, e supporta la tesi che l'AMPK sia un bersaglio importante per la prevenzione-miglioramento dell'insulino-resistenza a livello muscolare mediante trattamento farmacologico e non<sup>66</sup>.

Studi sperimentali su miociti umani in coltura<sup>67</sup> e su adipociti murini<sup>68</sup> hanno dimostrato che la metformina agisce incrementando la captazione di glucosio attraverso il



sistema di trasporto del glucosio stesso. Essa, infatti, facilita la traslocazione dei GLUT da siti intracellulari alla membrana plasmatica ed aumenta la captazione dello zucchero 3-O-metilglucosio non metabolizzabile e quella del 2-deossiglucosio, suggerendo una stimolazione del trasporto dell'esoso<sup>67</sup>. La condizione di insulino-resistenza correlata alla PCOS è associata sia alla ridotta capacità dell'insulina a stimolare l'accumulo di glucosio nelle cellule bersaglio sia alla ridotta risposta del glucosio all'insulina. È stata dimostrata, infatti, una riduzione dell'espressione del trasportatore GLUT-4 nei tessuti bersaglio dell'insulina<sup>67</sup>. Uno studio sperimentale<sup>69</sup> ha dimostrato che un ciclo di trattamento della durata di sei mesi con metformina induce un significativo miglioramento dell'espressione dell'mRNA del GLUT-4 nel tessuto adiposo delle pazienti affette da PCOS dimostrando che l'azione della metformina migliora la traduzione periferica del segnale dell'insulina. Oltre a questi effetti sul metabolismo del glucosio, la metformina può anche agire sui livelli di insulina e in particolare sul recettore insulinico<sup>28,32,70</sup>. A tal proposito, è stata osservata una significativa riduzione dei livelli di insulina e di pro-insulina nelle pazienti con DM di tipo 2.

Dati controversi sono disponibili circa gli effetti della metformina sull'entità del legame recettore-insulina<sup>71-75</sup>: alcuni Autori<sup>71,73</sup> non ne hanno osservato alcuno, altri<sup>74,75</sup>, invece, hanno riportato un'aumentata attività del recettore tirosin chinasi dopo somministrazione di metformina. In pazienti con DM di tipo 2, la metformina ha dimostrato di non aver alcun effetto sul legame al recettore insulinico degli eritrociti ma di aumentare l'attività tirosin chinasi del recettore insulinico al basale e stimolato dall'insulina in un modello sperimentale costituito da recettori insulinici di eritrociti solubilizzati dopo 10 settimane di trattamento<sup>76</sup>. L'incremento del legame recettoriale dell'insulina nei vari tipi di cellule dopo la metformina non è direttamente correlato con gli effetti clinici e metabolici<sup>76</sup>; infatti, Stith *et al.*<sup>75</sup>, in un modello sperimentale di ovociti di *Xenopus*, hanno ottenuto interessanti risultati riguardo i meccanismi d'azione intracellulari della metformina. In particolare, l'azione della metformina sembra potersi esplicare solo dopo sua internalizzazione con stimolazione sia dei recettori insulinici sia di quelli dell'IGF-1, come evidenziato negli ovociti<sup>77</sup> e nel tessuto mammario<sup>78</sup>.

La metformina può anche agire indipendentemente dall'insulina stimolando l'attività del recettore tirosin chinasi e dell'isoforma della fosfolipasi C e la produzione dell'inositolo 1,4,5 trifosfato (IP3). È stato dimostrato che l'aggiunta della metformina mima l'azione dell'insulina nel muscolo scheletrico umano in coltura<sup>79</sup>, negli eritrociti umani<sup>80</sup>, nei cardiomiociti<sup>81</sup>, negli adipociti<sup>82</sup> e nel muscolo soleo di topo<sup>83</sup>. La capacità della metformina di stimolare l'azione dell'insulina può dipendere dall'aumento dell'IP3 e del Ca<sup>++</sup><sup>78</sup>.

Parte dell'efficacia della metformina nella PCOS potrebbe essere correlata anche ad una sua azione diretta sulla steroidogenesi e ai suoi effetti insulino-sensibilizzanti, benché esistano dati controversi a riguardo<sup>84,85</sup>.

L'ovulazione potrebbe essere il risultato di un'azione diretta della metformina sull'ovaio mediante regolazione della produzione di steroidi ovarici con conseguente effetto, attraverso meccanismi di *feedback*, sui livelli di LH e di androgeni LH-dipendenti.

Nelle pazienti PCOS sovrappeso iperinsulinemiche, la metformina ripristina le normali concentrazioni di allopregnanolone modulando la sintesi steroidea a livello ovarico e surrenalico<sup>86</sup>. La metformina potrebbe, quindi, avere un'azione diretta sulla steroidogenesi (sistemica e/o locale/ovarica) e, di conseguenza, sulla funzione follicolare.

Diversi dati suggeriscono che la metformina potrebbe agire sull'iperandrogenismo interferendo sia con meccanismi diretti e specifici sugli organi periferici androgeno-secer-

menti sia con i sistemi che regolano la frazione libera di androgeni. Infatti, una ridotta secrezione di androgeni ovarici e surrenalici, una ridotta secrezione ipofisaria di LH ed un aumento della produzione epatica di SHBG sembrano essere i meccanismi mediante cui la metformina potrebbe agire <sup>32</sup>.

È possibile ipotizzare un effetto diretto della metformina sulla produzione di androgeni da parte delle cellule teicali. Studi *in-vitro* hanno dimostrato che la metformina inibisce significativamente la produzione di androstenedione e testosterone da parte delle cellule della teca attraverso l'inibizione dell'espressione della proteina regolatoria steroidogenica acuta (StAR) e della 17 $\alpha$ -idrossilasi <sup>87</sup>. Nelle pazienti obese affette da PCOS, Nestler e Jakubowicz <sup>88</sup> hanno dimostrato che la somministrazione di metformina riduce allo stesso tempo sia i livelli di insulina a digiuno e dopo carico di glucosio sia l'attività ovarica del citocromo P450c-17, favorendo la riduzione dei livelli sierici di testosterone libero. Questi risultati sono stati confermati anche in pazienti magre affette da PCOS <sup>89</sup>. La riduzione dei livelli di insulina che segue al trattamento con metformina nelle pazienti con PCOS è associato a un incremento dell'IGFBP-I e ad un decremento del rapporto IGF-I/IGFBP-I. L'IGF-I fa parte dei meccanismi di controllo autocrini e paracrini della stimolazione della produzione di estrogeni da parte delle cellule della granulosa <sup>90</sup> e agisce sinergicamente all'ormone follicolo-stimolante (*follicle-stimulating hormone*, FSH) e all'LH nel controllo dei livelli di aromatasi nelle cellule della granulosa. Pertanto la metformina, riducendo i livelli plasmatici di insulina e la disponibilità di IGF-I a livello ovarico, può modificare l'ambiente iperandrogenico intrafollicolare tipico della PCOS. Studi recenti *in-vitro* hanno confermato un effetto significativo della metformina sull'insulina e sulla via dell'IGF-I nelle cellule della granulosa <sup>91</sup>. Nella PCOS la metformina agisce, dunque, direttamente sulla steroidogenesi ovarica insulino-stimolata. Un recente studio sperimentale ha valutato l'effetto dell'esposizione di cellule della granulosa umane a metformina e/o insulina <sup>92</sup>. In tutte le colture è stato osservato un aumento del IRS-1 mRNA che risulta *up-regolato* della metformina <sup>92</sup>. In particolare, la metformina, in presenza di insulina, attiva l'Akt in modo dipendente dalla fosfoinositide-3 chinasi. In monosomministrazione, il biguanide è in grado di aumentare la traslocazione di GLUT-4 sulla membrana aumentando l'*uptake* del glucosio ed il metabolismo delle cellule della granulosa in presenza di PCOS ed insulino-resistenza, facilitando la crescita follicolare <sup>92</sup>.

La metformina può, inoltre, inibire la gluconeogenesi ovarica attraverso un effetto diretto, riducendo così la steroidogenesi ovarica e, in modo più specifico, la produzione di androgeni <sup>88</sup>. Nelle cellule della granulosa bovine la metformina riduce la steroidogenesi e la fosforilazione della protein chinasi (MAPK)3/MAPK1 attivata dal mitogeno attraverso l'attivazione dell'AMPK <sup>38</sup>. Dati sperimentali <sup>39</sup> hanno indicato che l'AMPK potrebbe essere anche implicato nelle funzioni riproduttive come la funzione di steroidogenesi delle cellule della granulosa e la maturazione nucleare degli ovociti in diverse specie animali. A livello ovarico, la metformina riduce direttamente la produzione di estradiolo (E2) e progesterone da parte delle cellule della granulosa, correlato all'aumento nell'AMPK fosforilato <sup>93</sup>.

Uno studio *in-vitro* su cellule della granulosa ha dimostrato la capacità della metformina di ridurre in modo significativo l'espressione dell'RNA dell'aromatasi, con conseguente riduzione della sua attività. È stata, inoltre, evidenziata l'attivazione della via MEK/ERK, che regola negativamente la produzione della stessa aromatasi <sup>94</sup>.

Uno studio ha esaminato l'azione della metformina sulla produzione di lattato, importante per lo sviluppo follicolare ed ovocitario, dimostrando come la metformina induca un rapido incremento della produzione di lattato secondario all'attivazione dell'AMPK <sup>95</sup>.

Un ulteriore meccanismo attraverso cui la metformina potrebbe influenzare lo sviluppo follicolare è rappresentato dalla modulazione dei livelli dell'ormone anti-mulleriano (*anti-mullerian hormone*, AMH). L'AMH viene prodotto a livello delle cellule della granulosa dei follicoli pre-antrali e dei piccoli follicoli antrali, regolando negativamente la follicologenesi. Nella PCOS è stata individuata una sovrapproduzione di AMH, che sembra implicata nella disfunzione ovulatoria<sup>96</sup>. Per la prima volta in letteratura, Falbo *et al.*<sup>97</sup> hanno valutato l'azione della metformina sui livelli di AMH a livello del fluido follicolare nelle donne con PCOS e le possibili ripercussioni sulla risposta ovarica dimostrando come, solo nelle pazienti PCOS responsive (ovulatorie) alla somministrazione di metformina vi sia una correlazione significativa tra concentrazioni follicolari di AMH, variazioni sieriche di androgeni e indici di insulino-resistenza<sup>97</sup>.

Considerando che le vie steroidogeniche surrenaliche sono regolate in modo simile a quelle dell'ovaio, è intuitivo ipotizzare un effetto della metformina anche sulla produzione di androgeni surrenalici. Nelle pazienti con PCOS un mese di trattamento con metformina ha regolato le attività degli enzimi surrenalici con la riduzione del rapporto  $17\alpha$ -OHP/P che indica l'attività della  $17\alpha$ -idrossilasi, ed il rapporto androstenedione/ $17\alpha$ -idrosiprogesterone, che indica l'attività della  $17,20$  liasi<sup>98</sup>.

D'altronde, l'effetto della metformina sull'iperandrogenismo potrebbe anche essere dovuto ad un effetto diretto della metformina sulla secrezione di LH. In particolare, la somministrazione di metformina modula la secrezione di LH riducendone l'ampiezza dell'impulso ma non la frequenza<sup>99</sup>.

A tal proposito, è stato suggerito che la metformina possa agire anche a livello centrale (asse ipotalamo-ipofisario) con azione diretta sull'AMPK ipotalamico. L'AMPK ipotalamico è un regolatore chiave dell'introito di cibo nei mammiferi anche se il suo ruolo sul controllo centrale della funzione riproduttiva non è chiaro<sup>39</sup>. Nel modello animale la metformina aumenta in modo dose- e tempo-dipendente l'attivazione dell'AMPK ipotalamico, la fosforilazione a Thr172 in GnRH nei neuroni e, di conseguenza, modula il rilascio di GnRH<sup>39</sup>.

Uno studio condotto su modello animale ha dimostrato che l'attivazione dell'AMPK può agire direttamente a livello ipotalamico sulla fertilità modulando il rilascio di GnRH e la ciclicità degli estrogeni<sup>39</sup>.

Nelle cellule ipofisarie murine, la metformina riduce la secrezione di LH e FSH indotta dal GnRH, la secrezione di FSH e l'espressione del mRNA per la sub-unità beta dell'FSH indotta dalla stimolazione con attivina<sup>100</sup>. Dallo studio delle variazioni dei livelli di gonadotropine prima e dopo trattamento con metformina è emerso come nelle pazienti con PCOS si verifici una riduzione dell'LH, mentre le concentrazioni sieriche di FSH non vengono influenzate<sup>101</sup>. Al contrario, la metformina ha mostrato un'azione di potenziamento sull'attività della sub-unità beta dell'FSH, senza modificare l'attività dell'LH beta promossa dal GnRH<sup>101</sup>.

Uno studio prospettico ha valutato le dinamiche di FSH, LH, prolattina (PRL), ormone tiro-stimolante (*thyroid-stimulating hormone*, TSH) e della secrezione insulinica nelle donne con PCOS in trattamento con metformina<sup>102</sup>. È stato osservato che la metformina riduce l'attività dell'LH in tutte le donne con PCOS. Dal confronto con le donne PCOS anovulatorie, le pazienti ovulatorie presentano livelli basali di LH e PRL più bassi durante il trattamento con metformina suggerendo un effetto diretto della metformina sulla funzione ipofisaria<sup>102</sup>. Nelle donne con PCOS sono stati rilevati livelli maggiori di adiponechine come leptina, visfatina e resistina<sup>103-107</sup>. È stato ampiamente dimostrato come l'insulina influenzi i livelli plasmatici di leptina e la funzione del recettore leptinico<sup>103</sup>. Nelle pazienti sovrappeso-obese

insulino-resistenti, come quelle affette da PCOS, sono stati rilevati livelli superiori di leptina rispetto alla popolazione sana<sup>104</sup>. Per quanto riguarda l'influenza della metformina sui livelli circolanti di leptina, è stato dimostrato che nelle donne PCOS non obese, normoandrogeniche e normoinsulinemiche la metformina determina una riduzione delle concentrazioni di leptina<sup>104</sup>, al contrario non è stato individuato alcun effetto del farmaco sui livelli di leptina nelle donne PCOS obese e iperinsulinemiche<sup>104</sup>. Nella PCOS la somministrazione di metformina non modifica i livelli di adiponectina<sup>105,106</sup> e del rapporto adiponectina/leptina<sup>107</sup> mentre induce una riduzione delle concentrazioni di resistina<sup>106</sup> e di visfatina<sup>106</sup>. Inoltre, se somministrata a pazienti con DM di tipo 2, essa induce una riduzione delle concentrazioni plasmatiche di vaspina, indicando che un buon controllo glicemico è correlato a livelli di tale adipochina più bassi (108) e uno studio condotto su pazienti con PCOS ha rilevato, nel plasma e nel tessuto adiposo omentale, valori di vaspina più alti, correlati ai livelli di glicemia, che si riducono dopo impiego di metformina<sup>109</sup>. Infine, nelle donne con PCOS sono stati rilevati livelli maggiori di amilina al basale e dopo carico di glucosio, con una correlazione diretta tra secrezione di amilina ed insulina a digiuno, ed un decremento dell'amilina dopo impiego di metformina<sup>110</sup>.

Le incretine [glucagon-like peptide-1 (GLP-1), polipeptide glucosio-dipendente (GIP)] sono responsabili del 70% della risposta insulinica durante i pasti. In soggetti diabetici, così come in donne con PCOS, sono stati osservati livelli più bassi di GIP ed un incremento della secrezione di GIP e GLP-1; a tal proposito la metformina potrebbe agire sul metabolismo glucidico aumentando la sintesi di GLP-1 e la sua secrezione e, di conseguenza, aumentando l'effetto delle incretine<sup>111</sup>.

Le adipochine (leptina, resistina, adiponectina) e la grelina, coinvolti nel controllo delle funzioni riproduttive a livello dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio<sup>112</sup> e di svariati processi di carcinogenesi<sup>113</sup>, possono agire attraverso l'AMPK<sup>114</sup>.

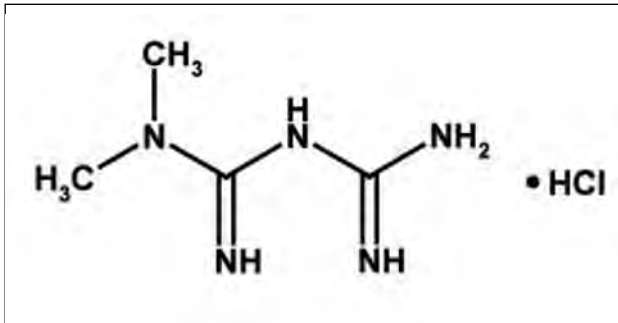
L'AMPK potrebbe essere, quindi, solo una delle vie di segnalazione che controllano le interazioni tra bilancio energetico e riproduzione e/o carcinogenesi, come dettagliato nelle sezioni successive, ma anche il *link* che media l'effetto della metformina a livello centrale. La metformina potrebbe, infatti, anche agire sull'AMPK ipotalamico esercitando sia un effetto diretto sia un effetto indiretto attraverso l'azione paracrina/endocrina delle adipochine e della grelina.

In conclusione, anche se nessuno studio ha dimostrato una relazione causa-effetto tra l'efficacia della metformina e un particolare meccanismo d'azione o ha escluso altre sue eventuali azioni, gli effetti benefici di questo farmaco sui parametri riproduttivi e non sono stati osservati solo in associazione con una riduzione dei livelli di insulina circolante, coerentemente con l'ipotesi che questo rappresenti il meccanismo principale attraverso cui la metformina agisce nelle pazienti affette da PCOS. È possibile, tuttavia, che la metformina possa agire anche con altri meccanismi paralleli non necessariamente implicati con l'insulino-resistenza. Infatti, diversi dati sperimentali hanno suggerito un effetto indiretto della metformina attraverso la soppressione della steroidogenesi ovarica (e surrenalica) e/o una azione diretta cellulare attraverso la regolazione dell'AMPK.

## FARMACOCINETICA

---

Dal punto di vista puramente chimico, la metformina è una base idrofila che esiste a pH fisiologico come specie cationica, di conseguenza la sua diffusione passiva attraverso la membrana cellulare è fortemente limitata<sup>115</sup> (Figura 1.5).



**Fig. 1.5.** – Composizione chimica della metformina.

Le proprietà farmacocinetiche della metformina sono state valutate nelle pazienti con DM di tipo 2 e in volontari sani con l'impiego di preparati orali ed endovenosi sebbene nella pratica clinica la metformina sia sempre somministrata per via orale, in tabella 1.I. sono riassunte le proprietà farmacogenetiche del composto. La farmacocinetica del farmaco è stata descritta come un modello aperto a due compartimenti con un assorbimento di primo ordine <sup>116</sup>. Essa ha un assorbimento gastrointestinale incompleto che varia dal 20% al 30% <sup>116</sup>. L'assorbimento è completo entro sei ore dalla somministrazione ed è più lento rispetto alla sua eliminazione, rappresentando la fase determinante la percentuale di farmaco a disposizione <sup>116</sup>. Nell'uomo la metformina ha un assorbimento dose dipendente <sup>116</sup>, con un grado massimo per dosi di 0.5 gr rispetto a 1.5 gr <sup>116</sup>, infatti, si verifica un trasporto quasi esclusivamente per via paracellulare (90%) e questo trasporto è saturabile <sup>117</sup>.

La biodisponibilità della metformina è limitata al 50-60% <sup>116</sup> poiché la quantità disponibile può risultare dalla clearance pre-sistemica o dal legame con la parete intestinale. L'assorbimento avviene in modo predominante a livello del piccolo intestino <sup>115</sup>. Dopo l'assorbimento di 1.5 gr di metformina, è stata riportata una farmacocinetica lineare sia nei soggetti diabetici che in quelli non diabetici <sup>116</sup>. Non appena assorbita, la metformina è rapidamente accumulata in esofago, stomaco, duodeno, ghiandole salivari e reni <sup>116</sup>. Non è stato riportato alcun legame con le proteine plasmatiche mentre è stato ipotizzato un debole legame con le cellule del sangue <sup>116</sup>.

La metformina non è metabolizzata, ma è escreta imm modificata attraverso il rene con un tempo medio di 4-8 ore in volontari sani <sup>116</sup>. I range di valori per la clearance renale e

**Tabella 1.I.** – Proprietà farmacocinetiche della metformina.

Variabile	Proprietà specifiche
Biodisponibilità	Biodisponibilità 50-60% Assorbimento intestinale Tempo di assorbimento 0,9-2,6 h
Concentrazione plasmatica	Cmax 2µg/ml (10-5 M) a 1-2 h dopo somministrazione orale di 500-1000 mg Legame farmaco-proteico trascurabile
Emivita (t <sub>1/2</sub> )	1.5-4.9 h
Metabolismo	Escrezione renale in forma invariata Non sono stati individuati metaboliti negli esseri umani
Volume di distribuzione	Vd 63-276L Distribuzione rapida nei tessuti dell'organismo; si accumula nella parete intestinale; nelle ghiandole salivari, fegato e reni; muscolo cardiaco e scheletrico Nessuna indicazione sulla permeabilità placentare e/o escrezione nel latte materno
Eliminazione	Clearance renale >400 ml/min Eliminata per filtrazione glomerulare e secrezione tubulare t <sub>1/2</sub> di eliminazione terminale pari 6.5 h

totale sono rispettivamente di 20.1-36.9 L/h e 26.5-42.4 L/h, che indicano la secrezione tubulare attiva del farmaco<sup>116</sup>. La clearance renale media nella popolazione sana e in quella diabetica è stimata essere rispettivamente  $510 \pm 130$  mL/min e  $1140 \pm 330$  mL/min<sup>115</sup>. L'emivita di eliminazione in corso di trattamento con dosaggi multipli di metformina nei pazienti con buona funzione renale è di circa 5 h<sup>115</sup>.

Nel corso della gravidanza la farmacocinetica della metformina viene influenzata dalle fisiologiche modifiche a carico della filtrazione renale e del trasporto tubulare<sup>118</sup>. La metformina attraversa liberamente la placenta attraverso *carrier* che trasportano cationi composti bidirezionalmente con una percentuale più alta di trasferimento dal compartimento fetale a quello materno<sup>119</sup>. Al momento, non è stato dimostrato alcun effetto sulla captazione o sul trasporto di glucosio della placenta umana<sup>120</sup>.

Al momento del parto, il feto viene esposto a concentrazioni di metformina alte come quelle rilevate nel sangue materno, al contrario durante l'allattamento l'esposizione fetale è bassa<sup>118</sup>. Di recente, è stato valutato il coinvolgimento degli OCTs nel trasferimento della metformina attraverso la placenta umana a termine. È stato osservato un maggiore passaggio del farmaco nella direzione feto-materna piuttosto che materno-fetale. Inoltre, è stato dimostrato come l'inibizione degli OCTs non abbia effetti significativi sul trasferimento placentare di metformina<sup>121</sup>.

L'esposizione significativa del bambino alla metformina è stata riportata nel range di 0.28-1.08% della dose materna normalizzata per il peso, al di sotto del livello di allarme per l'allattamento al seno<sup>122</sup>.

La farmacocinetica della metformina può essere influenzata da diversi fattori. Nel modello di topo, la farmacocinetica della metformina cambia in accordo all'insulino-resistenza, alla presenza/assenza di DM farmacologicamente indotto ed alla clearance epatica e renale<sup>116</sup>. Al contrario, nessuna differenza in termini di farmacocinetica sembra essere presente in pazienti con DM di tipo 2<sup>116</sup> o con l'uso di diversi preparati orali<sup>116</sup>. La co-somministrazione di cibo comporta una lieve riduzione della percentuale di assorbimento della metformina<sup>116</sup>. Sono state anche riportate interazioni del farmaco: la co-somministrazione di legumi interferisce significativamente con l'assorbimento della metformina, l' $\alpha$ -glucosidasi, inibitore dell'acarbosio, riduce significativamente la biodisponibilità di metformina<sup>123</sup> e la cimetidina, antagonista del recettore H2 istaminico, ha un'azione competitiva sulla sua secrezione a livello dei tubuli renali<sup>124</sup>. L'escrezione è prolungata in pazienti con danno renale ed è correlata con la clearance della creatinina<sup>116</sup>.

L'assorbimento orale, l'*uptake* epatico e l'escrezione renale sono mediati dagli OCTs<sup>115</sup>.

La metformina è trasportata da almeno due OCTs, OCT-1 e OCT-2<sup>125</sup>. Il trasportatore OCT-1 è codificato dal gene SLC22A1, mentre il gene SLC22A2 codifica per la proteina organica OCT-2. Questi OCTs sono saturabili nel modello di topo<sup>126</sup> ed in questi trasportatori è stato trovato un polimorfismo genetico che è associato a modifiche nella farmacocinetica e nella farmacodinamica<sup>127</sup>.

Variazioni interindividuali nei livelli di espressione epatica di OCT-1 ed OCT-2 sono comuni e possono contribuire al diverso *uptake* epatico e alla differente risposta alla metformina nella popolazione<sup>115</sup>. Una variante a carico di un introne di OCT-1 (SNP rs622342) è associata in caso di eterozigosi ad un ridotto effetto ipoglicemizzante della metformina, mentre negli omozigoti si assiste alla perdita totale dell'azione del farmaco<sup>115</sup>. Varianti genetiche del gene SLC22A2 portano ad una riduzione della clearance renale e, di conseguenza, ad un incremento delle concentrazioni plasmatiche di metformina<sup>127</sup>. Nei sog-

getti sani, le mutazioni a carico di OCT-2 modificano la clearance renale e l'escrezione di metformina <sup>128</sup>.

Per quanto riguarda l'OCT-1, nelle pazienti con normali livelli di glicemia il polimorfismo di SLC22A1 è correlato ad una riduzione dell'effetto ipoglicemizzante della metformina <sup>129</sup>. Al contrario, nei soggetti con DM di tipo 2 la presenza di mutazioni a carico di SLC22A1 non inficia il controllo glicemico svolto dal trattamento con metformina <sup>129</sup>.

Per quanto riguarda la PCOS, è stato dimostrato come 7 differenti polimorfismi di OCT-1 si associano ad una riduzione dell'*uptake* epatico di metformina, confermando come tali mutazioni possano contribuire all'ampia variabilità di risposta al farmaco riscontrata nelle pazienti con PCOS <sup>130</sup>.

Anche le mutazioni a carico del MATE-1, implicato nell'escrezione biliare ed urinaria della metformina, sono correlate a modifiche della farmacocinetica del biguanide. È stato osservato come alcuni polimorfismi a carico dei geni codificanti per MATE-1 e MATE-2K alterino l'escrezione di farmaci cationici come la metformina <sup>131</sup>. Al contrario, la variante intronica del MATE-1 (G>A, SNP rs2289669) è associata ad un modesto incremento dell'effetto ipoglicemizzante della metformina <sup>115</sup>. Allo stesso modo, uno studio preliminare ha dimostrato che, in pazienti diabetici in trattamento con metformina, mutazioni a carico del gene SLC47A1 codificante per la MATE-1 sono associate ad una maggiore azione ipoglicemizzante, che si traduce in una riduzione dei livelli di emoglobina glicosilata (HbA1C) <sup>132</sup>.

## FORMULAZIONI E REGIMI TERAPEUTICI

La Tabella 1.II riassume le forme di farmaco in commercio in Italia.

La metformina è disponibile in due formulazioni: a rilascio immediato ed a lento rilascio. La metformina a rilascio immediato è commercializzata in compresse da 500, 850 e 1000 mg, mentre il farmaco a lento rilascio è disponibile in compresse da 1000 e 2000 mg.

La metformina a rilascio immediato è indicata nei pazienti al di sopra dei 10 anni ed il preparato a lento rilascio è indicato in quelli al di sopra dei 17 anni.

Per quanto riguarda la dose giornaliera ottimale, è stato proposto un range estremamente variabile da 1500 a 2550 mg al giorno. Uno studio di valutazione di efficacia in base a diverse dosi di metformina <sup>133</sup> ha mostrato che il farmaco, somministrato in dosi di 2000 mg al giorno, riduce i livelli sierici di glucosio e di HbA1C nei pazienti diabetici. Al contrario, ad oggi, nessuno studio ha stabilito il dosaggio ottimale di metformina per la popolazione affetta da PCOS, probabilmente a causa della mancanza di studi adeguati. I regimi terapeutici della somministrazione di metformina nella PCOS non sono ben standardizzati nella pratica clinica e, nei vari studi disponibili in letteratura, sono stati spesso impiegati protocolli eterogenei.

Per minimizzare gli effetti collaterali del farmaco, come di seguito riportato, è consigliabile assumere la metformina a stomaco vuoto, iniziando con un basso dosaggio da aumentare gradualmente in quattro-sei settimane. Nestler *et al.* <sup>134,135</sup> hanno suggerito di somministrare la metformina a rilascio immediato ad un basso dosaggio iniziale durante i pasti. Solitamente si inizia con una dose di 500 mg a cena per tre-quattro giorni; la dose, poi, si incrementa successivamente di 500 mg ogni tre-quattro giorni fino ad arrivare ad un dosaggio massimo di 1000 mg due volte al giorno.

La metformina a lento rilascio è solitamente assunta durante il pasto serale. Dati precedenti su pazienti con DM di tipo 2 sembrano aver dimostrato che il preparato a lento rilascio potrebbe essere meno efficace rispetto alla metformina a rilascio immediato <sup>136</sup>.

**Tabella 1.II.** – Formulazioni di metformina in commercio in Italia.

Nome commerciale	Casa farmaceutica	Dosaggio (mg)
GLUCOPHAGE®	Merck-Serono S.p.A.	-500
		-850
		-1000
METBAY®	Bayer S.p.A.	-500
METFONORM®	Abiogen Pharma S.p.A.	-500
		-850
		-1000
METFORAL®	Laboratori Guidotti S.p.A.	-500
		-850
METFORALMILLE®	Laboratori Guidotti S.p.A.	-1000
METFORMINA AWP®	A.W.P. S.r.l.	-1000
METFORMINA BLUEFISH®	METFORMINA BLUEFISH®	-500
		-850
		-1000
METFORMINA DOC®	DOC Generici S.r.l.	-500
		-850
		-1000
METFORMINA EG®	EG S.p.A.	-1000
METFORMINA HEXAL®	HEXAL S.p.A.	-500
		-850
		-1000
METFORMINA MYLAN®	MYLAN S.p.A.	-500
		-850
		-1000
METFORMINA RATIOPHARM®	Ratiopharm Italia S.r.l.	-850
		-1000
METFORMINA TEVA®	TEVA Italia S.r.l.	-500
		-850
		-1000
METIGUANIDE®	Pfizer Italia S.p.A.	-500

Tuttavia, quest'ipotesi non è stata confermata da un recente studio<sup>137</sup> che ha mostrato un'efficacia, in termini di controllo glicemico, simile tra la formulazione a lento rilascio e quella a rilascio immediato. Un RCT multicentrico<sup>138</sup>, effettuato su 150 pazienti Cinesi con DM di tipo 2, ha confermato l'assenza di differenze significative tra la formulazione di metformina a lento rilascio e quella a rilascio immediato. In particolare, la metformina a lento rilascio somministrata al dosaggio giornaliero di 1500 mg è risultata efficace allo stesso modo della metformina a rilascio immediato somministrata ad un dosaggio di 500 mg tre volte al giorno<sup>138</sup>. Differenze significative tra le due formulazioni sono state osservate esclusivamente per quanto riguarda la glicemia dopo 120 minuti dal pasto, con un'efficacia maggiore per la formulazione a rilascio immediato<sup>138</sup>.

In gran parte degli studi condotti su pazienti affette da PCOS è stata impiegata metformina a rilascio immediato, sebbene in un recente RCT<sup>139</sup> è stata somministrata met-



formina a lento rilascio (1 g due volte al giorno). Dopo sei mesi di trattamento, le pazienti affette da PCOS e trattate con formulazione a lento rilascio hanno mostrato una significativa riduzione del BMI e dei livelli di testosterone totale ed un significativo incremento nei livelli di SHBG mentre non sono stati osservati cambiamenti significativi nei *marker* di insulino-resistenza a digiuno<sup>139</sup>.

In pazienti obese affette da PCOS è stato suggerito un rapporto dose-effetto in risposta alla somministrazione di metformina a rilascio immediato<sup>140</sup>; infatti, mentre alla dose di 500 mg tre volte al giorno i *marker* di insulino-resistenza a digiuno sono rimasti stabili nel tempo, alla dose di 850 mg tre volte al giorno si è osservato un miglioramento di questi stessi parametri.

Per quanto riguarda la dose di metformina, in gran parte dei RCTs sono state impiegate dosi di 1500-1700 mg al giorno al fine di indurre l'ovulazione nelle pazienti con PCOS; questo potrebbe essere considerato un dosaggio sub-ottimale piuttosto che una dose massimale<sup>26,141</sup>.

La durata del trattamento con metformina nelle pazienti con PCOS non è ben standardizzata. Benché diverse evidenze<sup>142</sup> supportino l'efficacia di tale farmaco per brevi periodi di tempo in donne con PCOS insulino-resistenti sui parametri metabolici, non è tutt'oggi ben definito se la metformina possa essere considerata una terapia sintomatica o un trattamento curativo e definitivo. Pertanto, non è chiaro il periodo ottimale di somministrazione del farmaco ed i suoi effetti metabolici alla sospensione dopo un trattamento a breve o a lungo termine.

Uno studio recente<sup>143</sup> effettuato su pazienti infertili affette da PCOS e sottoposte a fecondazione *in-vitro* (*in-vitro fertilization*, IVF) ha dimostrato che il pre-trattamento con metformina riduce i livelli di androgeni; tuttavia, dopo 36 ore dalla sua sospensione è stato osservato un incremento dei livelli plasmatici di androstenedione e testosterone libero.

Nostri precedenti dati<sup>144</sup> su una popolazione di donne non insulino-resistenti con PCOS hanno evidenziato che, dopo un trattamento a lungo termine con metformina, la sospensione del farmaco è correlata a una perdita del suo effetto benefico sull'insulino-sensibilità periferica. È stato, infatti, osservato un lieve ma significativo peggioramento dell'insulino-resistenza e dello stato iperandrogenico rispetto alla valutazione basale e rispetto alle pazienti che hanno ricevuto il placebo, anche se nessuna paziente ha sviluppato IGT o DM dopo 12 mesi dalla sospensione della metformina. Nello stesso studio<sup>144</sup>, la rapida riduzione degli effetti benefici della metformina sull'insulino-resistenza e sull'iperandrogenismo dopo la sua sospensione sembra essere correlata ad alterazioni del ciclo mestruale. In accordo con questi dati, un precedente studio<sup>145</sup>, eseguito su 10 adolescenti non obese con irsutismo, oligomenorrea, dislipidemia ed anamnesi positiva per pubertà precoce, ha mostrato che la sospensione del trattamento con metformina sembra essere seguita entro tre mesi da un reinstaurarsi della precedente condizione di iperandrogenismo ed iperinsulinemia. Tuttavia, poiché il tempo può essere considerato un fattore confondente sull'evoluzione clinica della PCOS, per trarre conclusioni definitive sono necessari ulteriori studi su un ampio campione con *follow-up* a lungo termine che abbiano come obiettivo primario la valutazione dell'effetto del tempo sulla funzione ovarica e sulle caratteristiche cliniche nelle pazienti con PCOS.

Infine, poiché dati recenti indicano che la metformina è più efficace nelle pazienti insulino-resistenti con un basso BMI (vedi sotto), la dose di metformina dovrebbe essere probabilmente modulata in base al BMI e all'insulino-resistenza<sup>146</sup>. Purtroppo ad oggi non esiste un modello validato per calcolare la giusta dose in accordo a queste caratteristiche.

Da un punto di vista clinico e basandoci sulla nostra esperienza, noi riteniamo sia appropriato e utile somministrare la metformina in modo graduale fino al dosaggio massimo tollerato <sup>146</sup>.

## EFFETTI COLLATERALI

---

La metformina è generalmente un farmaco ben tollerato.

È stato riportato un aumento significativo dell'incidenza di nausea, vomito e dolore gastrointestinale durante il trattamento con metformina <sup>26,139</sup>. In particolare, i sintomi gastrointestinali sono i più frequenti effetti collaterali farmaco-correlati e si verificano in circa il 30% delle pazienti che assumono il farmaco, limitandone la compliance. Secondo recenti ipotesi, tali eventi avversi gastroenterici appaiono riconducibili alla stimolazione intestinale di serotonina, alle variazioni nel metabolismo di incretina e glucosio, ed al malassorbimento dei sali biliari <sup>147</sup>.

Il tasso di eventi avversi gastroenterici sembra essere tuttavia ridotto dall'impiego di formulazioni a lento rilascio <sup>148</sup>, ma i dati a riguardo non sono chiari poiché sono stati effettuati pochi studi su questo tipo di formulazione.

Nella metanalisi di Lord *et al.* <sup>26</sup> sono stati analizzati quattro studi <sup>149-152</sup> che hanno riportato risultati sugli effetti collaterali della metformina. In tutti gli studi è stata utilizzata la formulazione di metformina a rilascio immediato e la durata di trattamento variava da sei <sup>152</sup> a dodici o più settimane <sup>149-151</sup>. La metformina è risultata essere correlata ad un tasso significativamente più elevato di nausea e vomito (OR=3.84, 95%CI 1.07 a 13.81,  $P=0.05$ ) ed altri disturbi gastroenterici (OR=4.40, 95%CI 1.82 a 10.66,  $P=0.003$ ). Successivamente, altri RCTs hanno riportato una percentuale di eventi avversi in pazienti trattate con metformina a rilascio immediato che variavano dal 7.9% <sup>153</sup> al 22.2% <sup>154</sup>. D'altra parte, un recente studio <sup>139</sup> ha mostrato un buon profilo di sicurezza della formulazione a rilascio prolungato con un'incidenza di eventi avversi gravi dell'1% ed altri eventi avversi compresi in un *range* tra 3.3% (*spotting* anovulatorio) e 66% (nausea).

Ad ogni modo, per ridurre al minimo gli effetti collaterali, la dose di metformina può essere ridotta fino alla scomparsa dei sintomi. Pazienti con intolleranza al farmaco inoltre potrebbero trarre benefici dalla formulazione a lento rilascio somministrata in dosi frazionate.

Gli effetti collaterali gravi dovuti alla somministrazione di metformina sono rari. Il farmaco diventa tossico ad una concentrazione superiore a 100 g/ml anche se, a un dosaggio massimale, le concentrazioni di metformina che si raggiungono *in-vivo* non superano mai i 5 µg/ml. In letteratura sono stati riportati anche episodi di overdose di metformina <sup>155</sup>; in questi casi, un aggressivo trattamento di supporto è stato in grado di risolvere senza conseguenze l'alterazione metabolica potenzialmente letale anche in pazienti con livelli di metformina sierica 100 volte più alti del *range* terapeutico <sup>155</sup>.

Una recente *review* sistematica ha dimostrato come i pazienti che muoiono dopo overdose da metformina hanno un pH più basso e livelli di lattato superiori rispetto ai soggetti che sopravvivono all'evento <sup>156</sup>. In caso di intossicazione si rende necessaria l'eliminazione massima del farmaco tramite emodialisi ed il trattamento dell'acidosi metabolica con bicarbonato <sup>157</sup>.

L'acidosi lattica è una rara complicanza della somministrazione di metformina con una prevalenza di 5.1 casi per 100,000 pazienti per anno <sup>158</sup>; tuttavia, quando essa si verifica, è associata ad una mortalità superiore al 50%. Un recente studio retrospettivo ha dimo-

strato come l'acidosi lattica secondaria all'assunzione di metformina abbia, comunque, una prognosi migliore rispetto all'acidosi di altra origine<sup>159</sup>. Tale rischio aumenta nelle pazienti con insufficienza epatica, renale, cardiaca o respiratoria e con infezioni gravi o alcolismo, condizioni che sono di per sé associate ad ipossia ed acidosi lattica<sup>160,161</sup>.

Quasi tutti i dati sull'acidosi lattica secondaria ad assunzione di metformina riguardano pazienti con DM di tipo 2. Ciononostante, anche se ad oggi non sono stati riportati casi di acidosi lattica in pazienti con PCOS trattate con metformina, è presumibile che questa complicanza rappresenti un evento molto raro in tale popolazione, poiché i soggetti affetti da PCOS sono generalmente giovani e non presentano altre condizioni mediche maggiori. Una recente sub-analisi del *Fremantle Diabetes Study* (FDS), uno studio sperimentale longitudinale effettuato su un ampio campione, ha confermato che l'incidenza di acidosi lattica in pazienti con DM di tipo 2 è molto bassa, ma significativamente più alta nei soggetti più anziani, con periodo più lungo di malattia ed in quelli che presentano co-morbidità cardiovascolari e renali<sup>162</sup>. Non si conoscono, al momento, i fattori che determinano il rischio di acidosi lattica associata all'assunzione di metformina nella popolazione con DM di tipo 2<sup>163</sup>; è fondamentale, quindi, adottare sempre appropriate precauzioni nella selezione del paziente per evitare questo raro ma potenzialmente fatale effetto collaterale.

Una metanalisi di RCTs sull'impiego della metformina in pazienti con DM di tipo 2 ha confermato che l'acidosi lattica metformino-correlata non si verifica se sono seguite precise precauzioni e se il farmaco non è somministrato ad individui con funzione renale o epatica compromessa<sup>158</sup>. Rilevante è sapere che tale evento avverso possa realizzarsi anche in pazienti con controindicazioni non note per dosaggi di metformina superiori ai 3 g al giorno<sup>164</sup>.

Al fine di minimizzare il rischio di acidosi lattica, è stato suggerito che le concentrazioni plasmatiche medie di metformina vengano mantenute al di sotto di 2.5 mg/L<sup>115</sup>. In funzione dell'associazione tra metformina ed acidosi lattica, il biguanide è controindicato negli stati ipossiemicici cronici, come patologia cardiaca, polmonare e renale ed in età avanzata. Una recente *review* sistematica di *trial* prospettici e studi osservazionali ha dimostrato, però, che non sono presenti in letteratura casi di acidosi lattica, sia fatale sia non fatale, dopo impiego di metformina nei soggetti con DM di tipo 2 in trattamento per almeno un mese con metformina, sola o in combinazione, *vs.* placebo o altri trattamenti<sup>165</sup>.

Di recente è stato comunque sottolineato come il DM, e non la terapia con metformina, rappresenta il maggior fattore di rischio per lo sviluppo dell'acidosi lattica, che si verifica in associazione a malattie acute, come malattie cardio-respiratorie, malattia renale acuta e sepsi, riconosciuti come fattori precipitanti la condizione clinica del paziente diabetico<sup>166</sup>.

Poiché il quadro clinico dell'acidosi lattica è estremamente aspecifico, il medico dovrebbe tenere sempre in considerazione tale evento soprattutto in pazienti con insufficienza renale<sup>167</sup>. I sintomi e i segni clinici di acidosi lattica sono dolore addominale ed agitazione psicomotoria; inoltre, l'esame fisico rivela sempre segni di scarsa perfusione periferica. I test di laboratorio mostrano ipercalcemia, aumento sierico della creatinina e dell'azoto ureico e una lieve leucocitosi, mentre l'emogasanalisi mostra una grave acidosi lattica. Più raramente, l'insufficienza renale potrebbe presentarsi quale unico segno di acidosi lattica indotta dalla metformina<sup>167</sup>. Il trattamento di questa grave complicanza consiste nella terapia intensiva di supporto ventilatorio e vasopressorio e nella dialisi.

Dati disponibili che riguardano gli eventi avversi correlati alla somministrazione di metformina in pazienti con insufficienza renale sono estremamente limitati. È tuttavia possibile somministrare con sicurezza il farmaco a pieno dosaggio in pazienti con una percen-

tuale di filtrazione glomerulare (*glomerular fraction ratio*, GFR) di 60-90 ml/min. Al contrario, il dosaggio dovrebbe essere ridotto in base alla GFR, con particolare riguardo per le pazienti con una GFR da 30-60 mg/min<sup>168</sup>. In un recente studio è stato consigliato di non somministrare metformina in donne con valori di creatinina sierica inferiore ad 1.4 mg/dl<sup>168</sup>.

L'uso a lungo termine della metformina è associato a malassorbimento di vitamina B12 e cobalamina, associati ad elevati livelli sierici di omocisteina (Hcy) e acido metilmalonico (MMA), che hanno effetti deleteri sui nervi periferici<sup>169,170</sup>. Pertanto, i pazienti che assumono tale farmaco dovrebbero essere monitorati per i segni e i sintomi correlati al deficit di vitamina B12 che includono sonnolenza, parestesie, macroglossia, perdita di memoria e cambiamenti comportamentali. Il deficit di vitamina B12 può portare anche allo sviluppo di anemia pernicioso<sup>135</sup>. Nei soggetti diabetici è stato dimostrato che la metformina può essere una causa iatrogena di esacerbazione di grave neuropatia periferica<sup>169</sup>.

Meno frequentemente è osservata una sensazione gustativa di metallo.

Estrema cautela dovrebbe essere posta nel trattare soggetti che assumono altri farmaci<sup>171</sup> o esposti a mezzo di contrasto<sup>172</sup> a causa del rischio in acuto di insufficienza renale ed acidosi lattica. A tal proposito, sono stati descritti casi di insufficienza renale acuta da mezzo di contrasto in soggetti trattati con metformina<sup>173</sup>.

È stato descritto anche un caso di epatite acuta da somministrazione di metformina, come possibile e rara reazione avversa con incremento delle transaminasi sieriche e della colestasi intraepatica<sup>174</sup>. In letteratura sono, inoltre, riportati eventi ancor più rari, come un caso di neutropenia autoimmune in una paziente affetta da linfoma<sup>175</sup> ed un caso di emolisi fatale rapida autoimmune dopo inizio del trattamento con metformina in soggetti con DM<sup>176</sup>.

L'osteoporosi può essere un altro evento avverso a lungo termine della somministrazione di ISD in pazienti con DM di tipo 2, soprattutto in popolazioni con scarsa densità ossea e/o con un'alterata qualità della componente minerale ossea<sup>177</sup>. Una subanalisi dal *Diabetes Outcome Progression Trial* (ADOPT)<sup>178</sup> ha mostrato un incremento nel tasso di fratture a cinque anni dopo trattamento con rosiglitazone. La metformina sembra, al contrario, essere più sicura del rosiglitazone con un rischio di fratture dimezzato (7.3% *vs.* 15.1%). Probabilmente, tale fenomeno è da attribuire all'effetto osteogenico esercitato dalla metformina sugli osteoblasti in coltura che può essere mediato da un'attivazione/ridistribuzione della chinasi extracellulare regolata dal segnale (P-ERK) e dall'induzione del NOs<sup>179</sup> endoteliale, della regolazione dei *marker* osteoblastici<sup>180</sup> e della differenziazione delle cellule osteoblastiche mediante inibizione del PPAR gamma<sup>181</sup>.

Studi condotti su modelli animali hanno evidenziato, al contrario, come la somministrazione di metformina *in-vivo* ed *in-vitro* induca un incremento dell'attività della fosfatasi alcalina, della sintesi del collagene di tipo I, dell'espressione dell'osteocalcina e della deposizione di calcio extracellulare a livello delle cellule progenitrici del midollo osseo<sup>182</sup>. *In vivo* la metformina aumenta l'espressione dei fattori di trascrizione osteoblastici specifici con stimolazione della rigenerazione delle lesioni ossee mediata da una possibile azione di differenziazione delle cellule progenitrici ossee in osteoblasti<sup>181</sup>. La metformina, inoltre, riduce le concentrazioni intracellulari delle specie reattive dell'ossigeno (*reactive oxygen species*, ROS) e l'apoptosi<sup>177</sup>. È stato suggerito, inoltre, come l'azione osteogenica sia potenzialmente mediata dall'attivazione della via dell'AMPK nelle cellule indifferenziate<sup>182</sup>, attraverso cui la metformina può indurre la differenziazione e la mineralizzazione degli osteoblasti ed esplicare benefici non solo sul DM ma anche nell'osteoporosi<sup>181</sup>. La metformina, infine, previene la formazione delle alterazioni ossee indotte dagli *advanced glycation endproducts* (AGEs), implicati nelle complicanze del DM<sup>184</sup>.

Per quanto riguarda l'azione osteogenica svolta dalla metformina sugli esseri umani, uno studio caso-controllo<sup>184</sup> ha valutato l'effetto degli ipoglicemizzanti orali sulle fratture ossee in pazienti diabetici dimostrando un'associazione non significativa tra le fratture e la somministrazione di metformina. In letteratura è stato anche riportato un caso di alopecia acuta dovuta alla somministrazione di metformina in una paziente affetta da PCOS<sup>186</sup>.

Diversi autori hanno studiato gli *outcome* gravidici in pazienti affette da PCOS e trattate con metformina per indurre l'ovulazione<sup>187</sup>. Ad oggi, tale farmaco viene classificato secondo i criteri dell'*FDA* come trattamento di classe B, cioè non teratogeno nel modello animale con studi di sicurezza disponibili non adeguati sull'uomo. Infatti, la metformina è stata sperimentata in modelli di topo e di coniglio a dosi fino a 600 mg/kg/die, circa 2-3 volte la dose massima raccomandata nell'uomo in base alla superficie corporea. D'altronde un ampio studio clinico recente ha confermato che la metformina, da sola o con l'integrazione di insulina, è sicura quanto l'insulina da sola nelle pazienti con DM gestazionale<sup>188</sup>.

Nel 2006 una metanalisi sulla sicurezza della metformina non ha dimostrato alcun effetto negativo del farmaco sulla gravidanza<sup>189</sup>. Più recentemente un'altra metanalisi su otto studi che hanno riportato gli *outcome* di gravidanza in donne con PCOS trattate con metformina ha confermato l'assenza di aumentato rischio per malformazioni maggiori (OR=0.70; 95%CI 0.11 a 4.39)<sup>190</sup>. Nonostante questi dati di sicurezza, la metformina nella pratica clinica è solitamente interrotta durante la gestazione.

Ad oggi, dati preliminari sull'impiego di metformina durante la gravidanza nelle pazienti affette da PCOS<sup>191</sup> sembrano rassicuranti, nonché suggeriscono un effetto benefico sulla riduzione del tasso di aborti e sugli *outcome* gravidici, senza interferire sulla salute del neonato (vedi sezione Outcome gravidici avversi). Inoltre, uno studio recente semi-randomizzato<sup>192</sup> ha confermato la sicurezza della somministrazione di metformina in pazienti con PCOS durante il primo trimestre di gravidanza per quanto riguarda sia la crescita fetale sia gli *outcome* perinatali: non sono state osservate differenze nelle malformazioni maggiori congenite e nella percentuale di bambini ricoverati in terapia intensiva neonatale<sup>192</sup>.

## POTENZIALI FATTORI PREDITTIVI

---

L'effetto benefico della metformina potrebbe variare in accordo alle caratteristiche cliniche del paziente che deve essere trattato.

In pazienti diabetici la metformina è indicata come trattamento di scelta con una provata efficacia. Non è stata dimostrata alcuna significativa influenza dell'obesità sull'effetto anti-iperglicemico della metformina, mentre un modesto effetto sull'azione ipoglicemizzante del farmaco è stato osservato in seguito alla riduzione del BMI. Uno studio retrospettivo ha valutato gli effetti della metformina sul controllo glicemico in pazienti con DM di tipo 2 mostrando una riduzione dei valori di HbA1C rispetto al basale, indipendentemente dal BMI<sup>193</sup>. Tuttavia, a lungo termine sembra che l'effetto benefico della metformina sia ottimizzato in pazienti normopeso<sup>193</sup>. L'entità della riduzione dell'HbA1C sotto trattamento è ridotta, infatti, dello 0.08% per ogni riduzione di 5 punti di BMI<sup>193</sup>. Un'analisi *post-hoc* ha mostrato, infine, che l'effetto ipoglicemizzante della metformina, somministrata in monoterapia o in combinazione con una sulfanilurea, è indipendente dal BMI<sup>194</sup>.

Risultati simili sono stati dimostrati per quanto riguarda l'età. Infatti, l'età non sembra modificare il profilo terapeutico della metformina in adulti con DM di tipo 2, anche se il

profilo di sicurezza viene modificato in seguito al declino della funzionalità renale in pazienti anziani come descritto precedentemente. RCTs effettuati su bambini ed adolescenti (età 10-16 anni) con DM di tipo 2 hanno mostrato che l'efficacia e la tollerabilità della metformina in età pediatrica sono simili a quelle osservate negli adulti.

Non sono presenti in letteratura studi sui predittori di successo alla metformina in pazienti diabetici, sebbene uno studio abbia valutato i predittori di durata della sua efficacia. In particolare, le linee guida del *National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE) suggeriscono che il termine della durata dell'efficacia terapeutica della metformina, considerata come necessità di aggiungere un nuovo trattamento o di modificare la terapia al fine di mantenere il controllo glicemico, dipende dal grado di riduzione dell'HbA1C che si riesce ad ottenere entro il primo anno di metformina in monoterapia<sup>195</sup>.

Nelle pazienti affette da PCOS, il problema dell'identificazione di fattori predittivi assume una maggiore rilevanza in considerazione dei differenti fenotipi della PCOS (vedi la sezione Introduzione). La conoscenza di fattori predittivi di risposta alla metformina è un punto cruciale, poiché la loro identificazione ci permette non solo di individuare la paziente con PCOS con il miglior rapporto rischio-beneficio ma anche di ottimizzare il profilo di sicurezza del farmaco modificandone il regime di somministrazione<sup>196</sup>.

Alcuni studi hanno mostrato che l'efficacia della metformina in pazienti affette da PCOS non dipende dal grado di insulino-resistenza<sup>197,198</sup>. Uno studio che ha incluso pazienti affette da PCOS, magre, sovrappeso e obese ha mostrato un significativo decremento dell'insulina a digiuno e dell'*homeostasis model of assessment* (HOMA) dopo sei mesi di trattamento con metformina, indipendentemente dal grado di insulino-resistenza<sup>197</sup>. Pazienti in sovrappeso e obese hanno dimostrato una significativa riduzione dell'AUC di risposta insulinica al carico orale di glucosio. Nelle pazienti normopeso affette da PCOS, inoltre, la metformina ha migliorato significativamente la sensibilità all'insulina e il rapporto AUCglucosio/AUCinsulina rispetto alla valutazione basale e in confronto al gruppo trattato con placebo<sup>145</sup>. Anche negli studi condotti con lo scopo di valutare gli effetti della metformina nelle pazienti normopeso affette da PCOS e non insulino-resistenti è stata osservata una riduzione significativa dell'insulina a digiuno, dell'AUCinsulina e dell'HOMA<sup>199</sup>. Un recente studio ha mostrato che nelle pazienti PCOS normopeso e normoinsulinemiche, la metformina sembra essere efficace in termini di ripristino della regolarità dei cicli mestruali indipendentemente dal profilo glicemico ed insulinemico con una probabile azione diretta sulla produzione ovarica di androgeni<sup>200</sup>. Nelle pazienti obese, tuttavia, la metformina mostra una maggiore efficacia solo nelle donne PCOS iperinsulinemiche, indicando l'iperinsulinemia quale predittore di efficacia nelle donne PCOS obese<sup>96</sup>.

L'insulino-resistenza può essere considerata una caratteristica comune ma non indispensabile della PCOS e potrebbe giocare, indipendentemente dal BMI, un ruolo patogenetico solo in un sottogruppo di donne insulino-resistenti<sup>19</sup>, che potrebbero, quindi, trarre un sostanziale vantaggio dal miglioramento della sensibilità insulinica indotta dalla metformina stessa. Questa intrigante ipotesi è supportata dai risultati di altri studi<sup>149,201,202</sup>, sebbene alcuni Autori<sup>151,197,203,204</sup> abbiano fallito nel dimostrare un valore predittivo degli indici di insulino-resistenza per l'ovulazione dopo trattamento con metformina. Anche in questi studi<sup>151,197,203,204</sup>, probabilmente, le pazienti presentavano un certo grado di insulino-resistenza ma i *test* impiegati non erano sufficientemente sensibili per valutarne la presenza. In tale popolazione, inoltre, poteva essere ipotizzato uno stato di insulino-resistenza periferica che non si rifletteva in indici sierici anomali di insulina e sensibilità. D'altra parte, è possibile supporre che alcune pazienti insulino-resistenti affette da PCOS abbiano

una scarsa risposta clinica nonostante il miglioramento dell'insulino-sensibilità indotta dalla metformina stessa, poiché altri meccanismi di disfunzione ovarica indipendenti dall'insulino-resistenza possono essere coinvolti.

Studi iniziali hanno mostrato l'efficacia della metformina, in termini di miglioramento della sensibilità all'insulina e di riduzione della produzione ovarica di androgeni con un ripristino della funzione ovarica, indipendentemente anche dal BMI<sup>88,89,205</sup>. Al contrario, una recente sub-analisi<sup>146</sup> di un RCT comparativo metformina *vs.* CC<sup>141</sup> ha mostrato differenze significative nel BMI e negli indici di insulino-resistenza tra le pazienti responsive o non responsive alla terapia con 1700 mg/die di metformina. In particolare, un BMI più basso è risultato associato ad una migliore risposta terapeutica in termini di tassi sia di ovulazione sia di gravidanza.

Questo risultato è concorde a precedenti dati della letteratura<sup>151,201,203,206-209</sup>. Infatti, Maciel *et al.* (206) per primi hanno mostrato che un trattamento di sei mesi con 1500 mg/die di metformina induce una risposta (riduzione dei livelli sierici di androgeni e di insulina a digiuno e regolarizzazione del ciclo mestruale) significativamente più efficace nelle pazienti con PCOS non obese rispetto a quelle obese. Studi successivi concordano nel dimostrare che la metformina induce effetti endocrini più marcati e migliora l'ovulazione in maniera significativamente più efficace in pazienti non obese con PCOS<sup>201,203,209</sup>. Legro *et al.*<sup>209</sup> hanno confermato in pazienti con PCOS che l'efficacia della metformina in termini di ovulazione è significativamente e direttamente associata con il BMI: gli OR per il rischio di ovulazione tra pazienti con un BMI più basso di 30 e quelle con un BMI in un range compreso tra 30-34 *vs.* le pazienti con un BMI pari o maggiore di 35 sono risultate rispettivamente di 2.36 (95% CI 1.65 a 3.36) e 2.05 (95% CI 1.46 a 2.88)<sup>209</sup>.

Uno studio prospettico controllato ha valutato i predittori di ovulazione e di gravidanza nelle donne infertili con PCOS trattate con clomifene citrato (CC) o metformina come terapia di prima linea per indurre l'ovulazione. Tale studio ha evidenziato come il sottogruppo di pazienti che ottiene i maggiori benefici dal trattamento con metformina è costituito da pazienti PCOS insulino-resistenti con un basso BMI<sup>146</sup>.

Ad oggi, è plausibile considerare pazienti con PCOS con un elevato BMI come soggetti che potrebbero potenzialmente avere una risposta sub-ottimale alla metformina. In tal caso, la dose di metformina somministrata potrebbe essere cruciale per una buona risposta e per il successo del trattamento<sup>140,210</sup>, sebbene tali affermazioni non siano al momento supportate da evidenze cliniche valide. Le pazienti affette da PCOS che rispondono a una specifica dose giornaliera del farmaco potrebbero ottenere, quindi, una risposta clinicamente significativa con l'impiego di dosi maggiori. A tal fine, potrebbe essere utile somministrare la metformina al massimo dosaggio tollerato tenendo in considerazione il BMI della paziente con PCOS.

Per quanto concerne l'influenza della metformina sul profilo metabolico delle donne PCOS, è stato osservato come la somministrazione di metformina per sei mesi nelle pazienti obese induca, una riduzione significativa di BMI, rapporto vita-fianchi (*waist-to-hip ratio*, WHR), concentrazioni di colesterolo totali, trigliceridi, lipoproteine a bassa densità (*low-density lipoprotein-cholesterol*, LDL-c) e lipoproteine ad elevata densità (*high-density lipoprotein-c*, HDL-c). Nelle non obese, invece, non induce alcuna modifica a carico dell'assetto lipidico<sup>211</sup>.

Due RCTs<sup>140,210</sup> che hanno affrontato il problema della dose ottimale di metformina da somministrare in pazienti con PCOS sono stati pubblicati recentemente. Il primo studio<sup>140</sup> ha mostrato che donne obese affette da PCOS, ma non quelle severamente obese, rispondono alla metformina con una riduzione della sensibilità insulinica e del peso corporeo in modo direttamente correlato alla dose e al BMI, anche senza alcuna significati-

va differenza nella risposta ovarica in base ai due fattori. Il secondo studio<sup>210</sup> ha confermato che dosi più elevate di metformina sono più efficaci nella riduzione del BMI e della circonferenza vita nella popolazione sovrappeso ed obesa affetta da PCOS.

Attualmente nessun dato ha valutato la dose ottimale di metformina in accordo al BMI della paziente avendo come *end-point* l'ovulazione e/o la gravidanza.

Per quanto riguarda la possibile influenza della durata del trattamento con metformina, dati ottenuti in donne obese con PCOS hanno confermato a breve termine minimi effetti sui *marker* metabolici, ormonali e riproduttivi dopo trattamento con metformina somministrata ad alte dosi<sup>212</sup>. A lungo termine, invece, sono state individuate delle variazioni significative a carico del pattern glicemico, dei livelli di testosterone totale e libero, del rapporto LDL-c/ HDL-c<sup>213</sup>, della pressione arteriosa diastolica e del BMI<sup>214</sup>. Tali dati sembrano mostrare che anche nelle pazienti obese la somministrazione di metformina potrebbe esplicare effetti benefici, non evidenziabili nel breve termine, solo però dopo un lungo periodo di trattamento.

In letteratura sono stati suggeriti altri fattori predittivi di risposta terapeutica alla metformina in pazienti affette da PCOS.

Alcuni Autori<sup>149,151</sup> hanno osservato una significativa differenza nel grado di iperandrogenismo tra soggetti responsivi e non responsivi alla metformina. In uno studio doppio cieco controllato, Fleming *et al.*<sup>151</sup> hanno comparato le caratteristiche basali di pazienti responsive o meno alla metformina con una regolarizzazione della funzione ovarica. I risultati dello studio hanno mostrato livelli di testosterone e di SHBG rispettivamente più bassi e più alti in pazienti responsive. Un altro studio doppio cieco randomizzato placebo-controllato<sup>149</sup> ha mostrato differenze significative tra donne responsive o meno al trattamento con metformina. Un'analisi di regressione logistica lineare ha mostrato che bassi livelli sierici di androstenedione rappresentavano un fattore predittivo per buona risposta terapeutica. L'indice di androgeni liberi (*free androgen index*, FAI) è stato riconosciuto da altri Autori quale fattore predittivo di ovulazione al trattamento con metformina (OR=1.59, 95%CI 1.17 a 2.18 per FAI  $\geq$  10)<sup>209</sup>.

Questi dati non sono stati confermati in un recente studio<sup>146</sup> probabilmente perché è stato considerato come criterio di inclusione la presenza di iperandrogenismo al fine di porre diagnosi di PCOS.

Chang *et al.*<sup>215</sup> hanno mostrato che i livelli di insulina e il grado di funzionalità delle cellule  $\beta$ , valutati mediante l'HOMA, sono più elevati in pazienti PCOS oligo-anovulatorie che presentano sia irsutismo sia iperandrogenismo rispetto a pazienti con PCOS che presentano solo irsutismo o solo iperandrogenismo. A tal proposito, una maggiore efficacia della metformina è stata osservata in donne con iperandrogenemia ed iperinsulinemia associate<sup>208</sup>.

Moll *et al.*<sup>216</sup>, in una sub-analisi di un precedente RCT<sup>217</sup>, hanno mostrato che pazienti con PCOS trattate con la combinazione metformina - CC e suddivise per età e WHR possedevano una diversa probabilità di gravidanza tra i diversi sottogruppi. In confronto alla sola somministrazione di CC, donne con età maggiore di 28 anni e con un WHR alto hanno ottenuto i maggiori benefici della somministrazione di metformina, mentre donne con età inferiore ai 28 anni, indipendentemente dal WHR, hanno avuto un effetto negativo dalla somministrazione del farmaco, infine, donne con età superiore di 28 anni e con WHR basso non hanno tratto alcun giovamento dal trattamento<sup>216</sup>.

Fattori genetici sono stati anche implicati quali predittori di l'efficacia della metformina somministrata per indurre l'ovulazione in pazienti infertili. Fattori genetici, infatti, possono essere responsabili della variabilità terapeutica della risposta alla metformina<sup>125</sup>.



Come precedentemente discusso, è stato dimostrato che i polimorfismi genetici dell'OCT-1 e -2 sono associati a modificazioni nella risposta farmacocinetica/farmacodinamica al substrato dei farmaci.

Dati ottenuti dal *Pregnancy PCOS Trial* (PPCOS) hanno indicato che un polimorfismo del gene codificante per una serina-treonina chinasi espressa nel fegato o nel sito di azione della metformina, il STK11 (precedentemente citato come LKB1), è associato ad una probabilità significativamente ridotta di risposta ovulatoria in pazienti affette PCOS trattate con metformina<sup>209</sup>. In particolare, pazienti PCOS con polimorfismo dell'allele C di un singolo nucleotide nel gene STK11 sono soggette ad una probabilità significativamente ridotta di ovulazione in seguito al trattamento con metformina<sup>209</sup>. Infatti, la percentuale di pazienti che ovulano aumenta col numero di alleli G presenti (48% *vs.* 67% *vs.* 79% rispettivamente per donne senza alleli, con uno o due alleli). Inoltre, gli OR per il rischio di ovulazione nei genotipi C/C e G/G in confronto al genotipo G/G sono risultati entrambi di 0.30 (95% CI; 0.14 a 0.66)<sup>209</sup>. Oltre a tali fattori genetici/genici modificanti la farmacodinamica/cinetica della metformina, anche altri polimorfismi genici sono stati presi in considerazione. In particolare, sono stato studiati gli effetti della lunghezza degli alleli dei geni codificanti per l'SHBG (TAAAA)(n) e per il recettore degli androgeni [AR] (CAG)(n) sulle caratteristiche endocrine-metaboliche e sulla composizione corporea prima e dopo somministrazione di metformina (850 mg/d) in 70 ragazze con PCOS e pubarca precoce. Gli alleli SHBG (TAAAA)(n) più lunghi sono associati ad un miglioramento del profilo lipidico dopo un anno di terapia, mentre gli alleli per AR (CAG)(n) più lunghi sono correlati ad una migliore normalizzazione degli androgeni e del pattern lipidico<sup>218</sup>.

Infine, a causa dell'assenza in letteratura di studi di popolazione, non è noto se l'etnia possa modificare l'efficacia della metformina. In uno studio condotto su donne Cinesi affette da PCOS<sup>150</sup> non è stato registrato alcun incremento nel tasso di ovulazione dopo trattamento con metformina nonostante la significativa riduzione nel BMI e nei livelli plasmatici di testosterone sierico e nella concentrazione di leptina a digiuno. Tuttavia, questi dati non sono stati confermati da altri Autori<sup>219</sup> che hanno dimostrato gli effetti benefici della metformina sul ciclo mestruale, sulla fertilità, sull'irsutismo e sulla morfologia ovarica su popolazioni di uguale etnia.