

Polikistik Over Sendromunda Metformin Kullanımı

Zeliha KARADENİZ¹

Öz

Polikistik over sendromu (PCOS), kompleks ve heterojen özellik gösteren ve üreme çağındaki kadınları en yaygın olarak etkileyen bir endokrinopatidir. Etyopatogenezi tam olarak açıklanamamıştır. İnsülin rezistansı, hiperandrojenemi ve dislipidemi gibi multipl faktörler ileri sürülmüştür. PCOS'lu kadınlarda insülin rezistansı, kompensatuar hiperinsülinemi, hiperandrojenemi, ovulatuvar bozukluklar, dislipidemi ve obesite gibi pekçok klinik ve biyokimyasal bozukluk görülebilmektedir. Sebebe yönelik kesin bir tedavi olmayıp, semptomlara, hastanın şikâyet ve isteklerine göre tedavi planı değişiklik göstermektedir. Hangi klinik etkiyi hedeflediğimize göre ve bireyden bireye değişiklik gösteren geniş bir tedavi seçeneği vardır. Günümüzde kullanılmakta olan ve yeni geliştirilen hiçbir farmakolojik ajan tüm semptomları giderememekte ve her hastada aynı sonucu vermemektedir. Metformin PCOS'a eşlik eden hemen tüm semptom ve bulguları iyileştirebilme potansiyeli ve oldukça geniş etki spektrumuyla PCOS da güçlü bir terapötik ajan gibi durmaktadır. Ancak Metformin ile yapılan bazı çalışmalarda sonuçlar birbiri ile uyumlu olmayıp, kafa karıştırıcıdır. PCOS'un heterojen yapısı, metformin doz ve sürelerinin çok farklı olması ve metformin taşıyıcı proteinlerdeki (OCT 1) genetik varyasyonlar metformine farklı klinik cevaplar oluşmasına yol açabilir. PCOS'lu kadınları klinik ve biyokimyasal parametrelere göre subgruplara ayırarak fenotipler detaylı olarak tanımlanmalıdır. Metforminin etkinliğinin tam olarak gösterilebilmesi için iyi dizayn edilmiş, çok merkezli, prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. Güncel literatür taraması ile PCOS ve metformin ilişkisini özetlemek ve PCOS da metformin kullanımına yeniden dikkat çekmek bu derlemenin hedefini oluşturmaktadır.

Anahtar kelimeler: PCOS, metformin, heterojen, PCOS subgrupları, PCOS fenotipleri, OCT

Metformin Usage in Polycystic Over Syndrome

Abstract

Polycystic ovary syndrome (PCOS), a heterogeneous and complex syndrome, is the most common endocrinopathy that affects women during their reproductive years. Its etiopathogenesis is not completely elucidated and it has been proposed that there are multiple causative factors such as increased insulin resistance, dyslipidemia, and hyperandrogenemia. There have been often presented clinical and biochemical disorders such as insulin resistance, compensatory hyperinsulinemia, hyperandrogenemia, obesity, ovulation disorders, infertility, dyslipidemia in women with PCOS. There is no definitive treatment for the cause, and the treatment plan changes according to symptoms and wishes of the patient. There is a wide range of treatment options which varies depending on the individual and desired clinical effect we target. No pharmacologic agent that is currently used and/or newly developed do relieve all symptoms and give the same result in every patient. Metformin appears to be a potent therapeutic agent in PCOS, with a potentially broad spectrum of effects that can cure almost all symptoms and signs associated with PCOS. However, the results of some studies in which metformin is used,

¹ Dr. Zeliha KARADENİZ İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Cerrahi Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, Yazışma Adresi: İstanbul Aydın Üniversitesi, Beşyol Mahallesi İnönü Cad. No:38 34295 Küçükçekmece/İstanbul. Tel: 444 1 428 e-posta: zelihakaradeniz@aydin.edu.tr

are not compatible and confusing. Different clinical responses to metformin in women with PCOS may result from heterogeneous nature of the PCOS phenotype, different dosage and duration of metformin and genetic variation of OCT1 which is a metformin transporter protein. Dividing into subgroups according to clinical and biochemical parameters, phenotypes in women with PCOS needs to be described in detail. There is a need for multicenter, well-designed, prospective studies to accurately demonstrate the efficacy of metformin. To summarize the relationship between PCOS and metformin by looking over current literature and to draw attention to the use of metformin in PCOS is the target of this review.

Keywords: PCOS, metformin, heterogeneous, PCOS subgroups, PCOS phenotypes, OCT

Giriş

Polikistik over sendromu (PCOS), üreme çağındaki kadınları en yaygın olarak etkileyen ve hiperandrojenemi, ovulasyon bozuklukları ve overlerde polikistik görünüm ile karakterize olan bir endokrinopatidir (1). Ayrıca PCOS'lu kadınlarda sıklıkla insülin rezistansı, kompensatuar hiperinsülinemi, obesite, dislipidemi gibi bozukluklar da gözlenmektedir (2,3).

Tanı kriteri olarak günümüzde en sık kullanılan Rotterdam kriterleri baz alındığında hiperandrojenemi ve ovulasyon bozukluklarının over dışı sebepleri ekarte edildikten sonra aşağıdaki kriterlerin en az ikisinin bir arada olması ile PCOS tanısı konur (1,4).

- 1-Oligo ve/veya anovulasyon
- 2-Klinik ve /veya biyokimyasal hiperandrojenemi bulguları
- 3-En az bir overde ultrasonografide polikistik görünüm

(Overde subkapsuler olarak 10 milimetreden küçük, en az 10-12 folikül bulunması, over volümünün 10 milimetre küpten büyük olması polikistik görünüm olarak tanımlanır.)

Kullanılan tanı kriterlerine göre PCOS sıklığı %5-18 arasında değişiklik göstermektedir. Rotterdam kriterlerine göre tanı konulduğunda PCOS'dan etkilenen kadınların oranı %20'leri bulabilir. PCOS'a sıklıkla eşlik eden obesite ve insülin rezistansı tanı kriterleri arasında yer almamaktadır (4,5).

PCOS tek bir hastalık veya patolojik süreç olmayıp oldukça heterojen ve kompleks özellik gösteren bir endokrin bozukluktur. Etiopatogenezi tam olarak anlaşılamamıştır ve multipl faktörler ileri sürülmektedir. Sebebe yönelik kesin bir tedavi olmayıp, tedavi planlamasında çeşitlilik

ve zorluklar mevcuttur. PCOS bu özellikleriyle bilimsel araştırmaların konusu olmaya devam etmektedir (3,6).

PCOS'da hem intraovarian hem de ekstraovarian çok sayıda faktörün foliküler recruitment ve ovulasyonu bozduğu tahmin edilmektedir. Growth Differentiation Factor-9 (GDF9), Anti-Müllerian Hormone (AMH) ve androjen üretimindeki intraovarian bozuklukların etkili olduğu bildirilmiştir (7).

PCOS'lu kadınlar normal overli kadınlara kıyasla 2-3 kat daha fazla AMH düzeylerine sahiptir. Çalışmalar serum AMH konsantrasyonlarının semptomların ciddiyeti ve androjen seviyeleri ile korele olduğunu göstermiştir. AMH preantral ve küçük antral foliküllerden eksprese edilir. PCOS da bu tip foliküllerin artmış olmasından dolayı AMH düzeyi artmıştır. Hiperandrojenizm AMH sekresyonunu etkileyebilir. İnsülin rezistansı ve serum AMH seviyeleri arasındaki pozitif korelasyon, insülinin AMH sentezi üzerindeki etkisini göstermektedir (8,9).

Hipotalamus-hipofiz-over aksı bozuklukları

Hipotalamus - hipofiz – over aksındaki bozukluklar sonucunda gonadotropin releasing hormon (GnRH) pulse frekansında artış ve buna bağlı olarak gonadotropin sekresyonundaki anormallikler de PCOS oluşumuna katkı sağlayabilir. PCOS da özellikle nonobes olanlarda belirgin olmak üzere luteinizan hormon (LH) hipersekresyonu over teka hücrelerinde androjen üretimini stimule eder. Sendromun orijinal tanımlamasını yapan Stein ve Leventhal GnRH pulse üretimi, luteinizan hormon/ folikül stimulan hormon (LH/FSH) oranı ve buna bağlı olarak androjen üretimindeki artışın temel bozukluk olduğunu vurgulamışlardır (3,4,7).

PCOS patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte, altta yatan temel faktör olarak özellikle obes kadınlarda insülin rezistansı ve kompensatuar hiperinsülinemi sorumlu tutulmaktadır (2,10,11).

İnsülin rezistansı

İnsülin rezistansına eşlik eden hiperinsülinemi de androjen artışına katkıda bulunur. Hiperinsülinemi birçok yolla androjen artışına sebep olmaktadır. Hiperinsülinemi cytochrome P450c17a (CYP17) enzimini aktive ederek teka hücrelerinin LH'a duyarlılığını artırarak androjen üretimini artırır. Ayrıca insülin, insülin -like growth factor binding protein-1(IGFBP1) ve sex hormone binding globülini (SHBG) azaltır, böylelikle hem insülin – like growth faktör 1 (IGF1), hem de androjenin bioaktivitesini artırır. Artan IGF1 insülin gibi etki ederek androjen üretimini daha da artırır. Hiperandrojeneminin fizyolojik feedback mekanizmalarını etkileyerek ovuluar siklusları bozduğu ve kronik anovulasyona yol açtığı ileri sürülmektedir. İnsülin rezistansı PCOS'lu kadınların %50-70'inde mevcuttur ve bu sendromun patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (2,7,10,12,13). İnsülin, IGF ve androjenler hep birlikte overdeki küçük foliküllerin büyümesini engelleyerek, 10 mm altında küçük foliküllerin birikmesine yol açar ve ovulasyon engellenmiş olur (13). PCOS'lu kadınlar obesiteden bağımsız olarak insülin rezistansına ve hiperinsülinemiye daha eğilimlidirler. Ancak obesite düzeyi arttıkça insülin rezistansı düzeyi de artmaktadır (7,9). PCOS da insülin rezistansının postreseptör bir defekten kaynaklandığı ileri sürülmektedir (3,4,14).

İnsülin rezistansı, aterosklerozis, hipertansiyon, endotel disfonksiyonu, dislipidemi, karaciğer yağlanması, glukoz tolerans bozukluğu, tip 2 diabetes, koagülasyon bozuklukları, santral obesite ve kardiyovasküler hastalık oluşumu da dâhil olmak üzere birçok patolojiye sebep olabilmektedir (3,10,11).

Obesite

Obesite menstruel düzeni bozar ve hiperandrojenemiye artırır tedaviye yanıtı azaltır. Kilo verme ile klinik bulgularda düzelme olur (3). Lim ve arkadaşları 35 çalışmalık bir metaanalizde obesite ve santral obesitenin PCOS'lu kadınlarda daha yüksek olduğunu saptamışlardır (15). PCOS lu hastaların yaklaşık %50'si obesdir. PCOS da obesite

çeşitli mekanizmalarla üremeyi etkilemektedir. Adipose dokudan üretilen adiponektin, leptin gibi maddelerin PCOS patofizyolojisinde rolü olabileceği bildirilmiştir. Adiponektinin azalması ve leptinin artması insülin rezistansı gelişimine yol açabilir (16,17).

PCOS' lu hastaların %50-70'inde insülin rezistansı ve santral obesite saptanmıştır. İnsülin rezistansı ve santral obesite varlığı ile tip 2 diabetes, hiperlipidemi ve kardiyovasküler hastalıkların gelişebileceği öngörülebilir (17). Kilo kaybı ile PCOS semptomlarında iyileşme saptanması da obesite ve insülin rezistansı arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir (15). Kilo kaybı ile insülin hassasiyeti artar, hiperandrojenemi, metabolik ve ovuluar bozukluklarda iyileşme sağlanır (10).

Genetik faktörler

Genetik faktörlerin de PCOS etyopatogenezinde rolü olabileceği belirtilmiştir. PCOS sıklıkla genetik predispozisyonu olan kadınlarda ortaya çıkmaktadır (10). Davies ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PCOS'lu kadınların annelerinin bir kardiyovasküler hastalığa sahip olma riski, PCOS'u olmayan kadınların annelerine göre daha yüksek bulunmuş, hipertansiyon riski ise yaklaşık 2 kat daha yüksek saptanmıştır. PCOSlu kadınların babalarında kalp hastalığı riski 2 kat, serebral stroke ihtimali 4 kat daha yüksek saptanmıştır. Anne ve babanın her ikisinin de kardiyovasküler hastalığa sahip olması ile onların kızlarında PCOS oluşması arasında bağlantı saptanmıştır (18). Tan ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada PCOS'lu kadınlarda artmış insülin rezistansı ve kilo alımının bazı genlerle (TCF7L2, INSIG2 ve MC4R) ilişkisi olabileceğini bildirmişlerdir. PCOS da Tip 2 gelişimi ve obesite oluşmasında genetik faktörlerin etkili olabileceği belirtilmiştir (19).

İnflamasyon

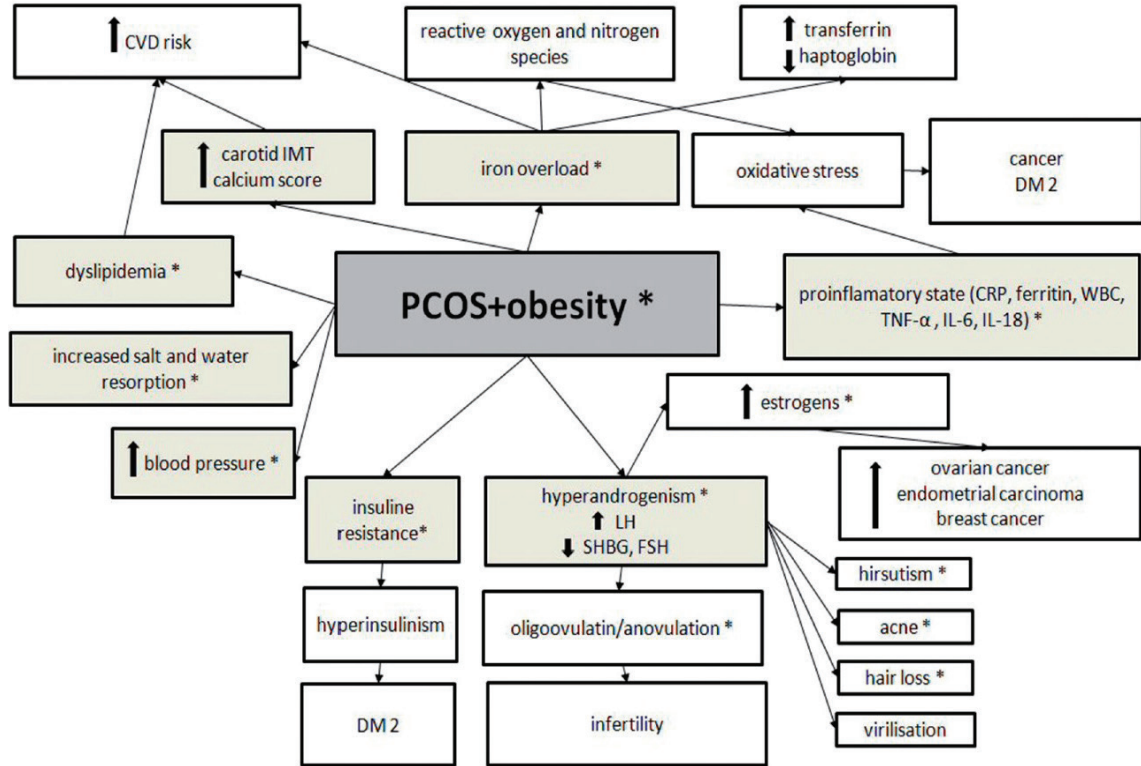
İnflamasyon markerlarının (CRP, ferritin, lökosit, TNF- α , IL-6, IL-18) artmış seviyeleri ile PCOS gelişimi arasında özel bir korelasyon bulunmuştur. Ayrıca Plasminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI1) ve serbest yağ asitlerinin artmış seviyelerinin insülin rezistansına yol açtığı belirtilmiştir (3). PCOS'lu kadınlarda vücut depo demir düzeylerinin artmış olması ile insülin rezistansı, obesite ve tip 2 diabetes arasında bağlantı olabileceği, ayrıca artan depo demirin potansiyel oksidatif hasarla düşük over

rezervine yol açabileceği bildirilmiştir. PCOS' lu kadınlarda saptanan yüksek ferritin düzeyleri ve obezite ile over volümü ve AMH düzeyleri arasında negatif bir ilişki olduğu saptanmıştır (9,20,21). Tamamen aksi yönde görüşler de bildirilmiştir. Obezite veya kilo fazlalığının eşlik ettiği PCOS vakalarında demir eksikliği anemisi olabileceği ileri sürülmüştür. Proinflamatuvar sitokinlerin ve oksidatif stresin artması ile hepsidin düzeyinin arttığı ve enterositlerden demir emiliminin inhibe olduğu belirtilmiştir (3).

PCOSda metabolik anormalliklerin saptanmadığı ve kilo problemi olmayan kadınlarda bile proinflamatuvar ve proaterojenik moleküller olarak bilinen ileri glikasyon son ürünleri (AGEs) seviyeleri artmıştır. Metabolik ve reproduktif etkileri ile bu ürünlerin PCOS patogenezinde önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir. Hiperglisemi ya direkt olarak veya AGEs aracılığı ile indirekt olarak

oksidatif stresi artırır ve endotelial disfonksiyonu tetikler (22,23).

PCOS da anormal steroidogenezden dolayı androjen ve östrojen düzeyi artar. Hipotalamus – hipofiz - over aksının disfonksiyonu sonucu LH, AMH sekresyonu ve GnRH atım frekansı artar, FSH konsantrasyonu azalır, LH / FSH oranı artar. Lipid profili bozulur, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve trigliseridler (TG) artar ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) azalır. PCOS' lu kadınlarda vücut ağırlığından bağımsız olarak lipoprotein profilinde değişiklik olur ve kardiovasküler risk artar. Dislipidemi, PAI 1 düzeyinin artması, koagülasyon bozuklukları ve diğer metabolik sonuçlar nedeni ile koroner arter kalsium skoru ve karotis intima media kalınlığı (CIMT) artar ve sonuçta kardiovasküler hastalık riski yükselmiş olur (Şekil-1) (3).



Şekil-1: Obes PCOS'lu hastalarda meydana gelebilecek semptom ve bulgular (3).

PCOS semptomları

PCOS da klinik tablo değişkenlik göstermektedir. Oligomenore veya amenore gibi menstruel düzensizlikler, infertilite, obezite, akne, alopesi, hirsutizm gibi hiperandrojenemiye bağlı semptomlar sıklıkla gözlenir. Yaşam kalitesinin düşmesi nedeni ile psikolojik problemler de genellikle klinik tabloya eşlik eder (3,7).

PCOS da erken dönem semptomların yanı sıra gebelik komplikasyonları ve uzun dönemde ortaya çıkabilecek olan sağlık problemleri büyük önem taşımaktadır (Şekil 2).

PCOS da kısa dönem semptomlar	<ul style="list-style-type: none"> • Akne • Hirsutizm • Alopesi • Menstruel düzensizlik • infertilite • obezite • psikolojik problemler
PCOS da gebelik komplikasyonları	<ul style="list-style-type: none"> • Erken gebelik kaybı • Gestasyonel diyabet • PIH • Preeklampsi • Preterm doğum
PCOS da uzun dönem komplikasyonlar	<ul style="list-style-type: none"> • Tip2 diyabet • Dislipidemi • Hipertansiyon • Obezite • Kardiyovasküler hastalıklar • Endometrial karsinoma • Meme kanseri ?

Şekil-2: PCOS’da kısa dönem ve uzun dönem sağlık problemleri ve gebelik komplikasyonları.

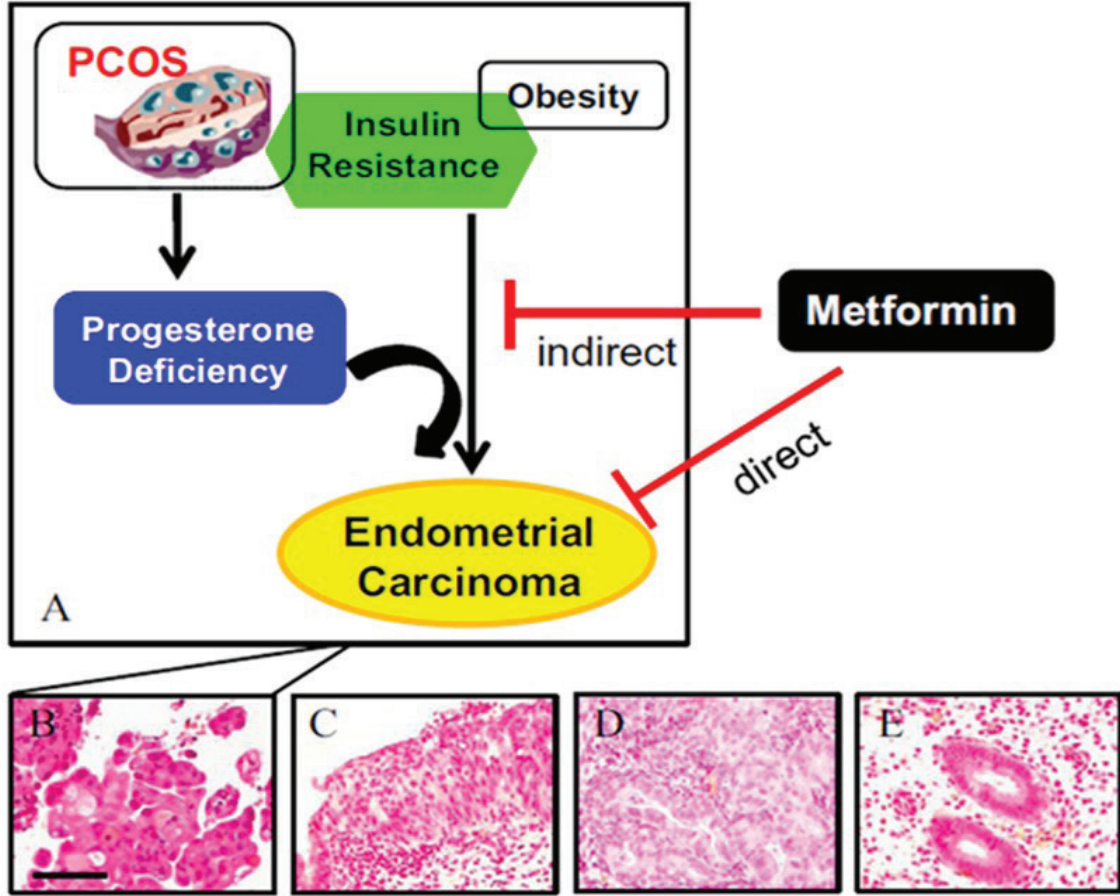
PCOS’lu kadınlarda hiperinsülinemi ve hiperandrojenemi varlığında gebelik oluştuğunda gestasyonel diyabet, erken gebelik kaybı, gebeliğin indüklediği hipertansiyon, preeklampsi, preterm

doğum ve perinatal morbiditenin arttığı bildirilmiştir. Hiperinsülinemi ve insülin rezistansına bağlı olarak endometrial reseptivite ve implantasyonun olumsuz etkilendiği ileri sürülmüştür (24).

PCOS da kronik hiperandrojenemi varlığında androjenin yağ dokuda aromatisasyonla östrojene dönüşmesi artar ve oluşan hiperöstrojenemi meme, endometrium, over kanseri gibi östrojene bağımlı tümörlerin gelişimine katkıda bulunur (25).

Kronik anovulasyon sonucunda progesteronla dengelenmemiş östrojen artışı endometrial hiperplazi ve endometrial kanserin oluşmasına zemin hazırlamaktadır (6). Endometrium steroid hormonlara duyarlıdır. Epitelyal ve stromal hücrelerin proliferasyon farklılaşma, sekresyon ve apoptozisinin kontrollü bir şekilde devam etmesi için östrojen ve progesteron arasında dengeli bir karşılıklı ilişki gereklidir. Östrojen endometrial epitelyal hücrelerin hipertrofi ve hiperplazisine yol açar. Progesteron ise östrojenin oluşturduğu bu proliferasyonu inhibe eder. PCOS’lu kadınların endometriumu, normal endometriumun aksine sürekli olarak östrojen stimülasyonuna maruz kalır, progesteron stimülasyonu minimaldir veya tamamen yoktur (26).

IGF-1 da endometrial hücrelerin proliferasyon ve differansiyasyonunun düzenlenmesine etki etmektedir. İn-vitro çalışmalar proliferatif östrojenin endometrial IGF-1 sentezini artırdığını göstermektedir. Antiproliferatif progesteron ise direkt olarak endometrial IGF-1 ekspresyonunu ve aktivitesini etkilemez. Progesteron stromal IGF-1 ekspresyonunu stimüle eder ve IGF-1 aktivitesini artırır. IGF-1, endometriumun epitelyal ve stromal hücrelerinde ekspresyon edilen IGF-1 reseptörlerine (IGF-1R) bağlanarak direkt olarak hücre proliferasyonunu stimüle edebilir ve apoptozisi inhibe edebilir. Dengesiz olarak ekspresyon edilen IGF-1R ve IGF-1R endometrial patolojilere sebep olabilir. Bu nedenle IGF-1, PCOS’lu kadınlarda endometrial hiperplazinin oluşmasında ve endometrial karsinomaya progresyonunda önemli bir rol oynayabilir. Sonuçta progesteronla dengelenmemiş östrojen fazlalığı ve insülin rezistansı endometrial karsinoma oluşumunda önemli risk faktörleridir (Şekil-3) (27).



Şekil-3: Progesteron eksikliği ve insülin rezistansı endometrial karsinom oluşumuna katkı sağlar. Metforminin direkt ve indirekt etkilerle endometrial karsinom gelişimini inhibe edebildiği bildirilmektedir.

PCOS' lu kadınlarda diet ve / veya egzersiz yoluyla kilo kaybı hiperandrojenemi, insülin rezistansı, ovulatuvar ve menstruel düzensizlikler gibi problemlerde iyileşme sağlayabildiği gibi aynı zamanda sirkülasyondaki östrojen ve IGF-1 konsantrasyonlarını da azaltabilmektedir (26).

Çalışmalar PCOS ve endometrium kanseri arasında yakın ilişki olduğunu göstermiştir. PCOS' lu kadınlarda tip1 endometrium kanser riski, PCOS' u olmayan kadınlara göre 3 kez daha yüksek saptanmıştır. Endometrial hiperplazi ve PCOS bir arada olduğunda ise tip1 endometrium kanseri riski 4 kez daha yüksek bulunmuştur (7,27). Atipili endometrial hiperplazinin karsinomaya progresyon oranı %40' ları bulabilmektedir (28,29).

Ayrıca uzun dönemde PCOS' lu kadınlarda tip2 diabet, hiperlipidemi, obesite, endotel disfonksiyonu, aterosklerozis, hipertansiyon, kardiovaskuler hastalıklar, cerebrovaskuler hastalıklar gibi komplikasyonlar gelişebilir (3,7,30).

Metformin

Metformin keçi sedefi (*Galega officinalis*) bitkisinden elde edilen bir biguanid türevidir. Elli yılı aşkın süredir, tip 2 diabetes mellitus (DM) tedavisinde birinci basamak oral anti-diabetik ajan olarak kullanılmaktadır. Metfomin ayrıca PCOS tedavisinde de uzun dönemdir off-label olarak yer almaktadır (7,31).

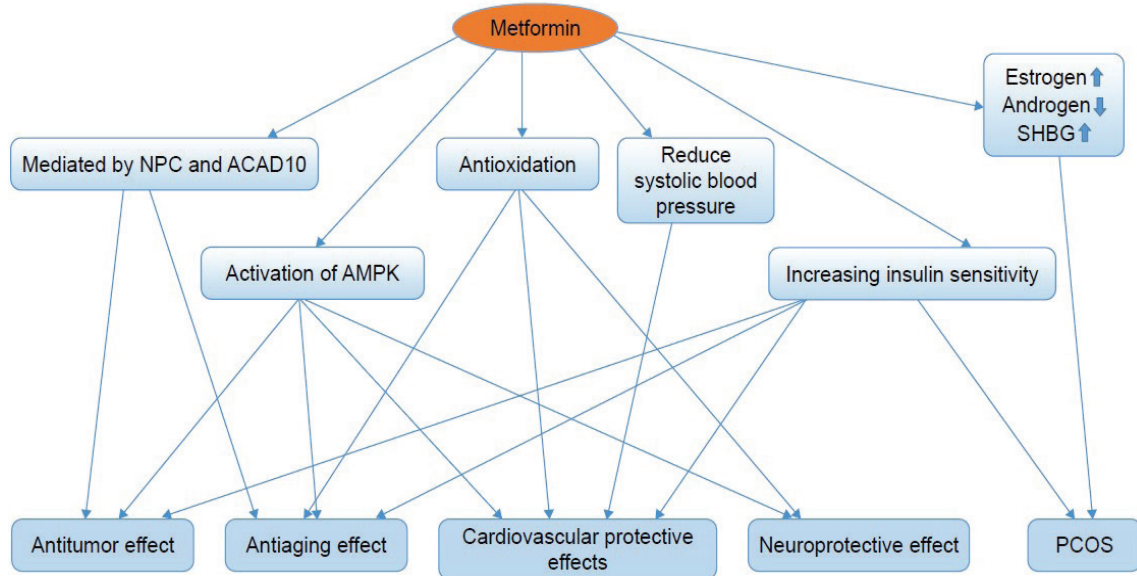
Genellikle iyi tolere edilir. Yaklaşık %10 vakada bulantı, kusma, diare, şişkinlik hissi gibi hafif ve genellikle geçici gastrointestinal sistem belirtileri görülebilir. En ciddi yan etki laktik asidozdur, fakat oldukça nadirdir (100 000 hastada 3), genellikle karaciğer, böbrek yetmezliği olanlarda ve 80 yaş üzeri hastalarda görülür. Ayrıca metforminin kronik kullanımında ve sigara içenlerde B12 vitamini eksikliği bildirilmiştir. Metforminin vücutta metabolize olmadan değişmemiş olarak böbrekler yoluyla atılır (4,7,23,24,31-35).

Metformin plasentadan geçer ve gebelikte kullanımı Amerika da Food and Drug Administration (FDA) tarafından B kategorisinde sınıflandırılmıştır (7,9,24).

Teratojen etki kaydedilmemiştir. Fetal büyümede ve erken neonatal dönemde olumsuzluk görülmediği gibi erken gebelik kaybı, preeklampsi ve gestasyonel diabetes gibi gebelik komplikasyonlarını azalttığı bildirilmiştir. Sağlıklı kadında ve erken gebelikte iyi bir emniyet profiline sahiptir (2,9,24,32). Oral alımı takiben Metforminin hücrelere alınabilmesi organik katyon taşıyıcıları (OCT) aracılığı ile olmaktadır (6,7,14,23,35).

Metformin glukoz üretimini azaltır, perifer dokularda glukoz alımını artırır ve sonuçta hipoglisemi ve kilo alımına sebep olmadan plazma glukoz seviyelerini düşürür. Metformin bir insülin duyarlaştırıcı farmakolojik ajandır, yani insülin üretiminde artış olmadan dokunun insüline cevabını artırır. 500, 850, 1000 mg'lık tabletler halinde jenerik formları mevcuttur. Klinik etkilerin ortaya çıkması için geçen süre konusunda tam bir görüş birliği olmayıp, bu süreyi 2-9 ay olarak bildirenler olduğu gibi, daha uzun sürelerde kullanılması gerektiğini ileri sürenler de vardır. Bir çalışmada kardiovasküler koruyucu etkinin ortaya çıkabilmesi için en az 3 yıllık bir süre gerektiği bildirilmiştir (30).

Uzun yıllardır tip2 DM tedavisinde emniyetle kullanılmakta olan metforminin, son dönemlerde antikanser, antiaging, antiinflamatuvar, antiangiogenik, antioksidan, kardioprotektif, nöroprotective etkileri de gündeme gelmiş ve yeni indikasyon alanlarına ilişkin çalışmalar hız kazanmıştır (Şekil-4) (30,31,33,35,36).

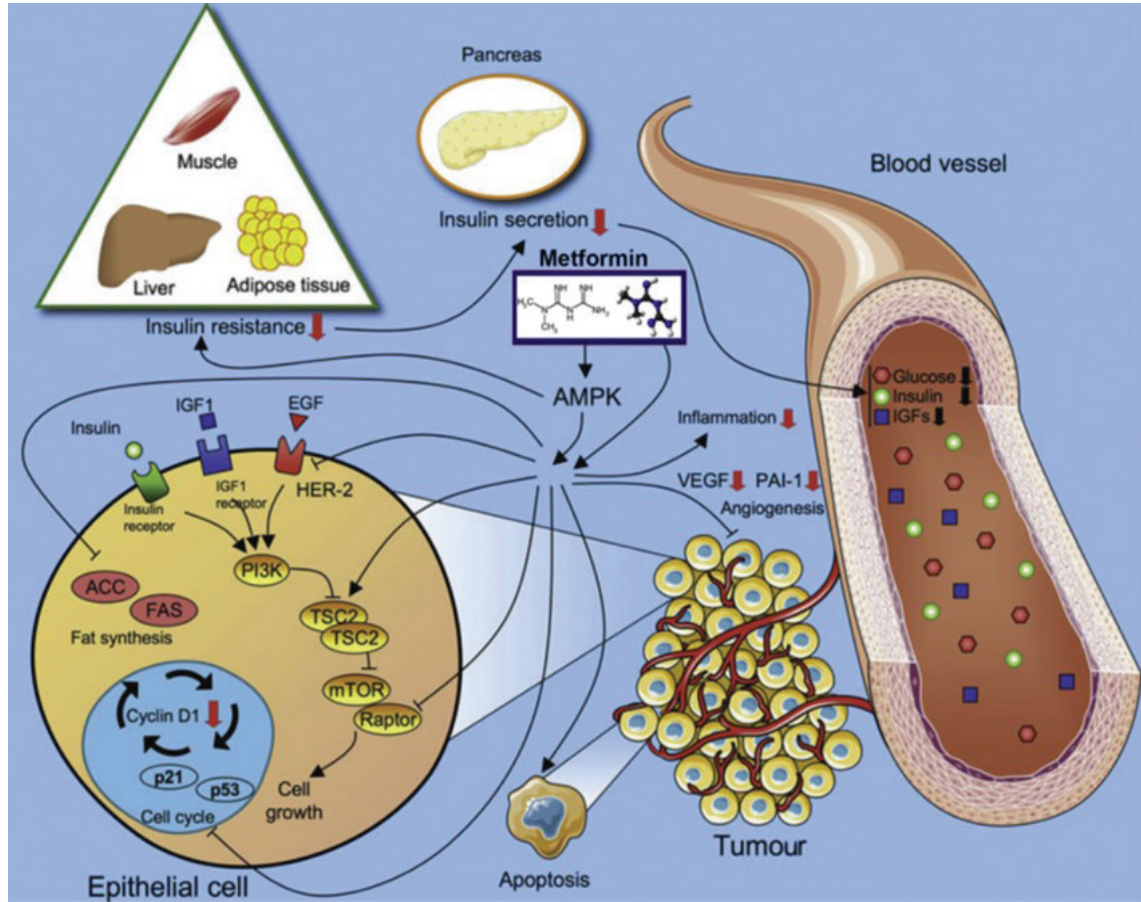


Şekil-4: Metforminin potansiyel indikasyonları (30).

Romero ve arkadaşları yayınladıkları bir makalede geniş etki spektrumunu vurgulamak amacıyla metformini 21. yüzyılın aspirini olarak tanımlamışlardır (36).

Tam olarak açıklanamamış olmasına rağmen, metforminin genellikle adozin mono fosfatın aktive ettiği protein kinaz (AMPK) aktivasyonu aracılığı ile etki gösterdiği kabul edilir. Metformin öncelikle mitokondride solunum zinciri kompleks 1'i inhibe ederek, ATP üretimini azaltır. AMP / ATP oranının artması ile hücrenin enerji sensörü olarak kabul edilen AMPK aktive olur. AMPK aktivasyonu çok sayıda hücre içi sinyalizasyon yollarını harekete geçirerek etkisini gösterir (Şekil-5). Karaciğerde glukoneogenezi inhibe ederek glukoz üretimini azaltır, glukoz transporter (GLUT4) mRNA ekspresyonunu artırarak, glikozun

hedef periferik dokulara (karaciğer, adipose doku ve iskelet kası) alımını ve kullanımını artırır. Hedef dokularda insülin hassasiyeti artar. Sonuçta plazma glukoz ve insülin düzeyi azalmış olur (6,7,14,23,31). Metformin ayrıca barsaktan glukoz emilimini azaltır (14,36). Aktive olan AMPK asetil koenzim-A karboksilaz (ACC) inhibisyonuyla lipid sentezini azaltır, yağ asit oksidasyonunu artırır (7,14,23). Ayrıca AMPK aktivasyonu fosfotidil inositol 3 kinaz - protein kinaz B - mammalian target of rapamycin (PI3K-AKT-mTOR) yolağını inhibe ederek protein sentezini azaltır, hücre büyümesini engeller, hücre siklusunu durdurur, apoptozis ve otofajiyi artırır. Metforminin antikanserojen mekanizması genellikle bu şekilde açıklanmaktadır. mTOR inhibisyonu ile ayrıca aterosklerotik plakların engellendiği ve kardiovasküler koruyucu etkinin ortaya çıktığı da bildirilmiştir (6,7,23,31,36).



Şekil-5: Metformin çeşitli sinyalizasyon yolları ile tümoral gelişmeyi inhibe etmektedir (36).

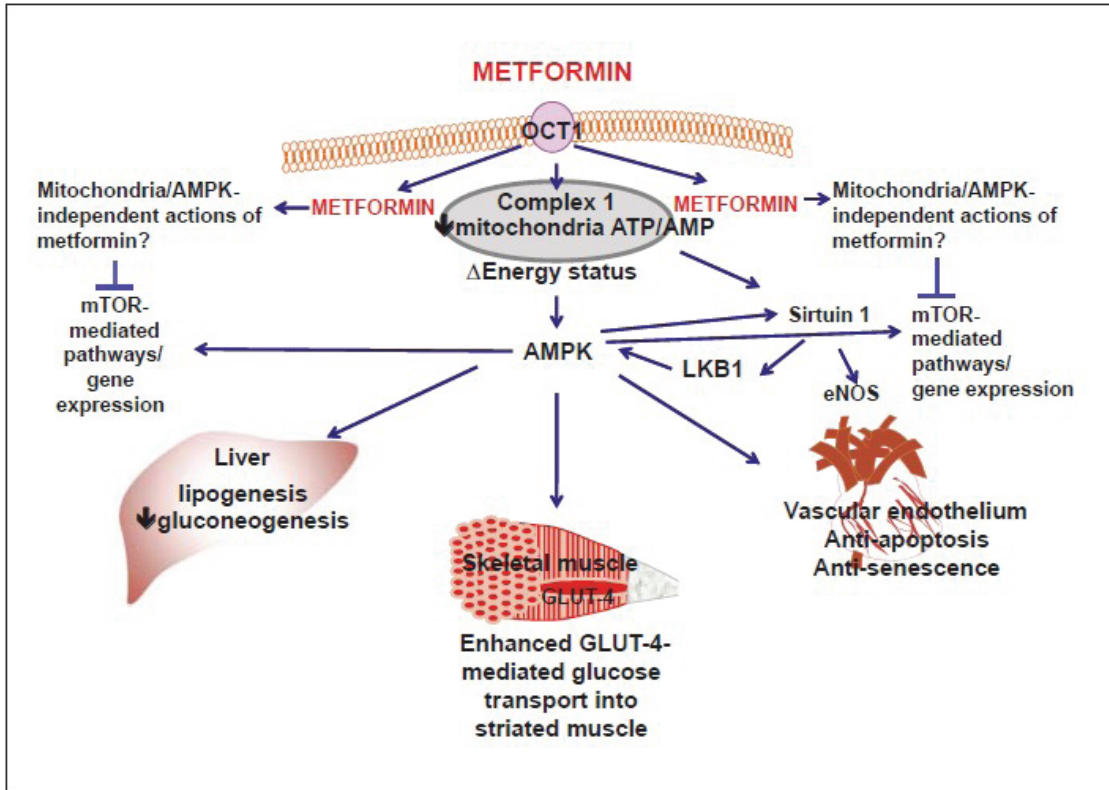
Metforminin AMPK aktivasyonundan bağımsız olarak da mTOR inhibisyonu yapabileceği, ayrıca insülin azaltıcı etkisiyle hiperinsülineminin mitotik etkisini engelleyebileceği ileri sürülmektedir (6,28,31,37). mTOR protein sentezi, apoptozis ve otofaji gibi değişik hücresel fonksiyonları regüle eder. Tümörögenезis ve hücre büyümesinde önemli rol oynar. mTOR aktivasyonu kanser progresyonu, kötü prognoz ve kemoterapi rezistansı ile korelasyon göstermektedir (Şekil-6) (37).

PCOS'un etyopatogenezi tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen, özellikle obes hastalarda insülin rezistansı ve eşlik eden kompensatuar hiperinsülineminin önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (6,10,11).

Metformin hepatik glukoz üretimini inhibe eder, lipid sentezini azaltır, yağ asid oksidasyonunu artırır ve glukoneogenezisi inhibe eder, sonuçta sirkülasyondaki insülin ve glukoz seviyesi azalır. Hücresele seviyede glukoz duyarlılığını artırır.

Bundan dolayı metforminin PCOS'lu kadınların semptomlarını ve reproduktive sonuçlarını iyileştirmesi mantıklı görünmektedir (4,7).

PCOS da ilk basamak tedavi yaşam şekli değişiklikleridir. Öncelikle kilo verme, uygun beslenme tarzı ve egzersiz önerilmelidir (2,3,15,16). Kilo verme tek başına bazı semptomları giderebildiği gibi, tedavinin etkinliğini önemli ölçüde artırabilmekte ve gebelik oluşursa gebelik komplikasyonlarını azaltabilmektedir. PCOS'da etyopatogenezi tam bilinemediğinden sebebe yönelik kesin bir tedavi olmayıp, semptomlara hastanın şikâyet ve isteklerine göre tedavi planı değişiklik göstermektedir. Hangi klinik etkiyi hedeflediğimize göre ve bireyden bireye değişiklik gösteren geniş bir tedavi seçeneği vardır (3,4,7). Günümüzde kullanılmakta olan ve yeni geliştirilen hiçbir farmakolojik ajan tüm semptomları giderememekte ve her hastada aynı sonucu vermemektedir (2,3,4,7,15,16).



Şekil-6: Metformin etkilerini AMPK'ya bağımlı olarak veya AMPK dan bağımsız olarak gösterebilmektedir (23).

Hasta gebelik arzuluyorsa ovulasyon indüksiyonu uygulanır. Ovulasyon indüksiyonu için genel kabul görmüş bir algoritma vardır. İlk seçenek klomifen sitrattır. Klomifen sitrata rezistans varsa gonadotropinler veya klomifen sitrat + metformin kullanılır ya da laparoskopik bilateral ovarian drilling (LOD) uygulanır. Hastanın yaşı ve infertilite süreside dikkate alınarak en son çare olarak yardımcı üreme teknikleri (IVF/ICSI) uygulanır (7,14,16). Metforminin, insülin rezistansını ve hiperandrojenemiye azaltıp ovulatuvar siklusları oluşturarak fertilitede etkili olabileceği ileri sürülmektedir (2,3). Metforminin plazma insülin seviyesi gibi metabolik parametrelere ve ovulasyona olumlu etkileri vücut kitle indeksine bağlı olarak değişmektedir (2). Aksini iddia eden çalışmaların varlığına rağmen, son dönemdeki çalışmalar metforminin PCOS'lu kadınlarda özellikle klomifen sitrat ile kombine edildiğinde ovulatuvar fonksiyonları düzeltmede, insülin rezistansı ve lipid profilini iyileştirmede etkili olduğunu göstermektedir. Metforminin ovulasyon üzerine stimülatör etkisi obes olmayan kadınlarda daha belirgindir (2). Ovulatuvar fonksiyonlar üzerine etkileri konusunda farklı görüşler bildiren çalışmalar mevcuttur (2,6,38). Metforminin reproduktif fonksiyonlar üzerine özellikle spesifik hasta gruplarında (obesite, glukoz intoleransı, klomifen sitrat rezistansı, vs varlığında) yararlı olabileceği bildirilmektedir (4).

Tang ve arkadaşları 2012 yılında yayınladıkları (38) çalışma ve toplam 3495 PCOS'lu kadın katılımcı içeren) derleme ve metaanalizde metformin grubunda plaseboya göre ve metformin + klomifen sitrat grubunda yalnızca klomifen sitrat kullanımına göre ovulasyon ve gebelik oranının arttığını, ancak bu artışın canlı doğum oranlarına yansımadığını bildirdiler. Bu çalışmada metforminin ortalama dozu 1500mg/gün, metformin kullanım süresi 4-48 hafta olarak kaydedilmiştir (39).

Morin Papunen ve arkadaşları 2012 de yayınladıkları çalışmada metformin grubunda plasebo grubuna göre özellikle obes olanlarda belirgin olmak üzere hem gebelik oranının arttığını hem de canlı doğum oranlarının artmış olduğunu bildirdiler. Bu çalışmada metformine fertilitate tedavisinden 3 ay önce başlandı, fertilitate tedavisi süresince 9 ay ve gebelik oluştuğunda gebeliğin ilk 12 haftası boyunca 1500-2000 mg/gün olarak devam edildiği belirtilmiştir (40).

In vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi esnasında metforminin gonadotropinlere ilave edilmesi ile overlerin gonadotropinlere cevabının olumlu yönde değişebileceği bildirildi. Metforminin intraovarian hiperandrojenemi ve intraovarian insülin rezistansı engelleyerek ovarian steroid üretimini etkileyebileceği ileri sürüldü. Ayrıca IVF sikluslarında metformin kullanımı ile PCOS hastalarının daha düşük östrojen seviyelerine sahip olduğu, böylelikle endometrial reseptivitede ve oosit kalitesinde olumlu değişiklikler oluşturarak implantasyon başarısızlığı ve erken gebelik riskinin azalttığı saptandı. Sonuçta IVF sikluslarında gonadotropinlere metformin eklenmesi ile gebelik ve canlı doğum oranlarının arttığı, siklus iptalinin azaldığı gösterildi (41).

PCOS'lu hastalarda IVF sikluslarında ovarian hiper stimüstasyon sendromu (OHSS) riski yüksektir. OHSS hafif seyredebileceği gibi, intravasküler volüm azalması, tromboz ve yetişkin solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) ile ölümcül sonuçları da olabilen bir sendromdur. OHSS patofizyolojisinde temel faktör olan vazoendotelial growth faktör (VEGF), metformin tedavisi ile azalmaktadır. IVF sikluslarında PCOS'lu hastalarda metformin kullanımı ile OHSS'nin azaldığı saptanmıştır (4,7). Serum VEGF-B, PCOS'lu kadınlarda belirgin olarak daha yüksektir ve insülin rezistansı ile yakın ve pozitif bir ilişkisi vardır. Metformin tedavisi VEGF-B seviyelerini azaltır ve insülin rezistansını iyileştirir (42).

Metforminin 6 aylık kullanımdan sonra PCOS'lu kadınlarda proinflatuar durumu hafiflettiği ve AGEs seviyelerini azalttığı saptanmıştır. Böylece metabolik olumlu etkilerle PCOS' lu hastalarda kardiovasküler riski önlediği bildirilmiştir (22).

Metformin sistemik insülin seviyesini azaltarak indirekt olarak, CYP17 aktivitesini azaltarak direkt olarak androjen üretiminin azalmasına yol açar. Ayrıca SHBG ve IGFBG1'i artırarak da androjen seviyesinin azalmasına katkı sağlar (6,7,24,30). Metformin kullanımının glukoz, insülin ve serbest testosteron seviyesini azaltarak hiperandrojeneminin klinik semptomlarında düzelme sağlayabileceği bildirilmiştir (2,31). Metformin tedavisi ile androjen profili ve insülin rezistansında iyileşme saptanmıştır (2,3,6,9,31). Bazı çalışmalar androjen düzeyine olumlu katkılar ileri sürmekte iken bazıları da bu olumlu etkilerin

kliniğe yansımadığını bildirmişlerdir (4). Metformin insülin ve androjen düzeylerini azaltarak menstruel siklusların düzene girmesine yardımcı olur. Gebelik arzusu olmayanlarda hiperandrojenemik semptomları giderebilmek ve menstruel düzeni sağlamak amacı ile metformin oral doğum kontrol hapları ile kombine edilebilir (3).

Metforminin kilo üzerine azaltıcı en azından stabilize edici etkisi gösterilmiştir. Metforminin beyinde hipotalamusta AMPK aktivasyonu ile iştah merkezini suprese ettiği varsayılmaktadır (14,30). Bazı çalışmalar kilo azalmasına katkı sağladığını bildirirken bir kısmı bunu doğrulayamamıştır (3,4). Metforminin adiponektin seviyesini artırdığı ve leptin seviyesini azalttığı böylelikle insülin rezistansı ve diabetin gelişmesini önlediği veya geciktirdiği ileri sürülmüştür. Bu etkinin uzun dönem komplikasyonları önlemede oldukça önemli olduğu görülmektedir (17).

Ayrıca metforminin gebelik süresince alınan kiloyu azalttığı saptanmıştır (7,30,36). Tang ve arkadaşları gebelikte metformin kullanımının plaseboya kıyasla daha az kilo alımına sebep olduğunu ve sağlıklı gebe kadında kullanımının iyi bir güvenlik profiline sahip olduğunu bildirmişlerdir (39).

Metformin insülin rezistansını azaltarak insülin rezistansının yol açabileceği tüm olumsuzluklara iyileştirici katkı sağlamış olur. Metformin lipid profilini olumlu etkiler, LDL ve trigliseridler azalır, HDL artar, karaciğer yağlanması azalır. Kan basıncı (sistolik, diastolik) üzerine olumlu etkileri bildirilmiştir. PAI 1'i azaltıp, trombosit agregasyonunu engelleyerek pıhtılaşma sistemi üzerine iyileştirici etkileri bilinmektedir Tüm bu olumlu etkilerin sonucunda ve vasküler endoteli üzerine çok yönlü pozitif etkileri aracılığı ile kardiovasküler sistem üzerine koruyucu etkileri vardır (3,14,18,23,30,31,33,35).

Ayrıca Metforminin antioksidan, antiinflamatuvar, antiangiogenetik etkileri bildirilmiştir. Son yıllarda antikanserijen etkileriyle gündeme gelmiş olup bu konuda yoğun çalışmalar devam etmektedir (7,23,35,36).

PCOS'lu hastalarda hiperöstrojenemi nedeniyle PCOS'u olmayan hastalara göre daha yüksek oranda görülen endometrial hiperplazi ve erken

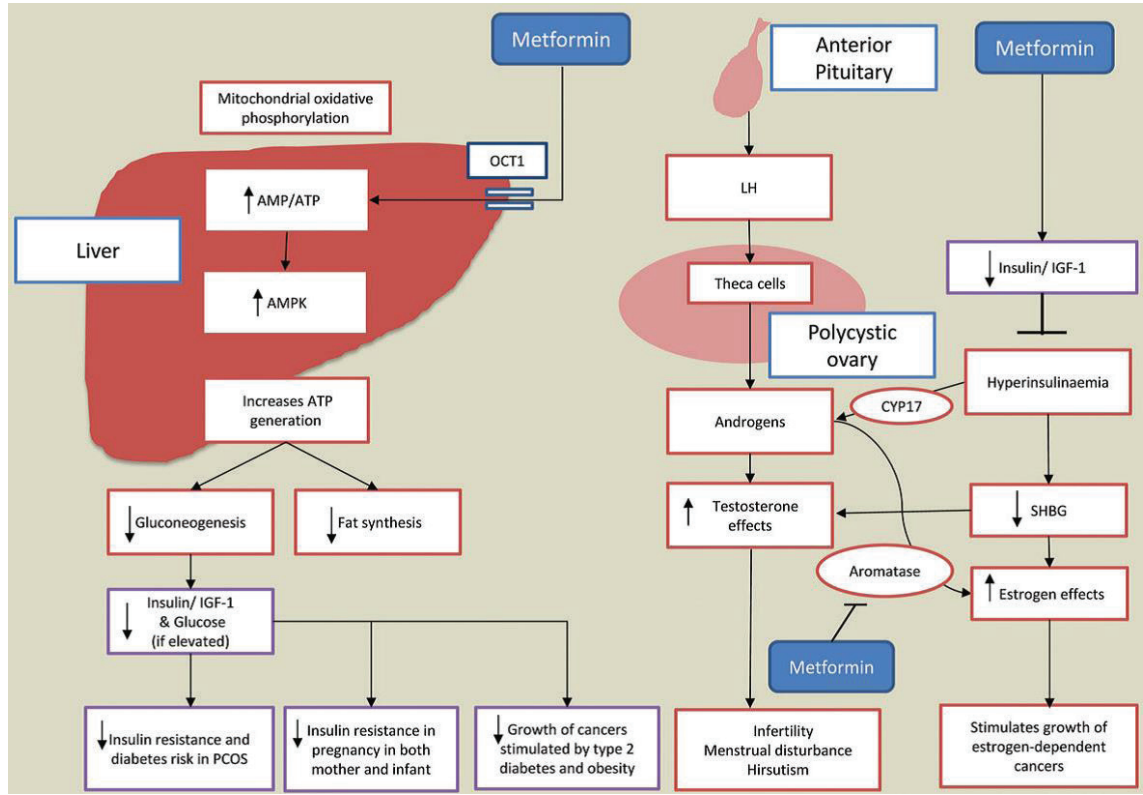
dönem tip 1 endometrial kanser vakalarında metforminin iyileştirici etkileri gösterilmiştir. Atipili endometrial hiperplazi bir prekanseröz lezyondur. Metformin tedavisi ile bu lezyonların endometrial kansere progresyonu engellenir, hiperplazik endometrium yeniden normal endometrium dönüşür. Böylelikle endometrial kanser insidensi azalmış olur. Genç ve gebelik arzusu olan PCOS'lu kadınlarda fertilitenin devamına olanak sağlanmış olur (28).

İlave olarak metforminin aromataz inhibitörü olarak da etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu etkisiyle özellikle obes kadınlarda östrojen seviyesini azaltabilir ve sonrasında östrojene bağlı kanserlerin gelişimini inhibe edebilir (Şekil-7) (6,25).

PCOS'lu kadınlarda artmış olan gestasyonel diabetes mellitus, erken gebelik kaybı, gebeliğin indüklediği hipertansiyon, preeklampsi, preterm doğum gibi gebelik komplikasyonlarının metformin kullanımı ile azaldığı bildirilmiştir (24,36). Fakat gebelikte kullanımına ilişkin mevcut kılavuz olmaması nedeni ile olumlu sonuç bildiren tüm çalışmalara rağmen gebelikte kullanımı hala tartışılabilir ve büyük dikkat ve özen gerektirir. Gebelikte rutin kullanımı için çok sayıda, geniş hasta grupları içeren, iyi dizayn edilmiş çalışmalara gereksinim vardır (18).

Mevcut çalışmalar hastalığın erken aşamasında hücresel düzeyde subklinik bir hasar oluşabileceği ve uzun dönemde klinik sonuçlara ve komplikasyonlara sebep olabileceğini desteklemektedir. Buna göre hastalığı veya en azından uzun dönem komplikasyonları önlemek adına bazı stratejilerin geliştirilmesi ve semptomların başlamasını takiben erken dönemde uygulanmaya başlanması zorunlu görünmektedir (3).

Teorik olarak metforminin insülin hassasiyetini artırıp, insülin rezistansını ve insülin düzeyini azaltıcı etkisiyle, ilave olarak PCOS'daki neredeyse tüm klinik ve biyokimyasal parametreleri normalize edebilecek potansiyele sahip olabileceği özelliği ile PCOS tedavisinde önemli bir yeri olması gerektiğini varsaymak mantıklı görünmektedir (4,7,14,23). Ancak klinik sonuçlar birbiri ile uyumlu olmayıp, kafa karışıklığına yol açmaktadır. PCOS da metformin cevabının genetik farklılıklara göre değişkenlik gösterebileceği ve bazı hastalarda metformin rezistansı görülebileceği ileri sürülmektedir (6,43).



Şekil 7: PCOS da metformin insülin ve androjen seviyesini azaltır. Antiaromataz etkiyle östrojen seviyelerini de azaltarak östrojene bağımlı kanserlerin gelişimini inhibe eder (7).

Metforminin etki gösterebilmesi için OCT lar gerekmektedir. OCT1'lerdeki genetik polimorfizm, PCOS' lu kadınlarda metformin rezistansının sebebi olarak gösterilmiştir. Metformin ile tedavi edilen PCOS lu kadınlarda metabolik cevaplardaki değişkenliğin OCT1 in genetik varyasyonlarından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (43,44). Kullanılan bazı ilaçların (proton pompa inhibitörleri gibi) OCT nin aracılık ettiği metformin transportunu inhibe ederek metforminin etkisini değiştirebileceği ileri sürülmüştür (45).

Ayrıca kullanılan metforminin doz ve süresi önemlidir. Çalışmalarda metforminin kullanım süresi ve dozunun oldukça değişkenlik gösteriyor olması da muhtemelen farklı klinik cevaplar oluşmasında etkili olabilmektedir.

Çünkü metabolitleri saptanamamış olmasına rağmen metforminin bir pro-drug olduğu ve intrasellüler olarak saptanamayacak kadar düşük düzeyde minör metabolitlere dönüştüğü ve zamanla bunların

birikimi ile etkilerinin oluştuğu da varsayılmaktadır (23). Metforminin etkisini gösterebilmesi için en az 6-12 ay kullanılması gerektiği varsayılmış olsa da bu konuda bir görüş birliği yoktur. Kardiyovasküler koruyuculuğunun ortaya çıkması için 3 yıllık bir süre gerektiği bildirilmiştir (30).

Farklı klinik cevaplar oluşmasında önemli olan bir diğer faktörün PCOS' un heterojen yapısı olduğu açıktır. Yapılacak çalışmalarda PCOS hastalarını, semptom ve biyokimyasal göstergelere göre subgruplara ayırarak, fenotipler ayrıntılı olarak tanımlanmalı, PCOS un heterojen özelliği mümkün olduğu kadar homojenize edilmeye çalışılmalıdır.

Bu kriterlere dikkat edilerek yapılacak çok merkezli, geniş hasta gruplu, iyi dizayn edilmiş, prospektif çalışmaların PCOS da metformin kullanımının etkisini optimal düzeyde gösterebileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and longterm health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004;19: 41–7.
2. Al-Ruthia YS, Al-Mandeel H, AlSanawi H, et al. Ovulation induction by metformin among obese versus non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Saudi Pharm J*. 2017;25 (5): 795-800.
3. Bednarska S, Siejka A. The pathogenesis and treatment of polycystic ovary syndrome: What's new? *Adv Clin Exp Med*. 2017;26(2): 359–367
4. 2017 Royal College of Obstetricians and Gynaecologists RCOG Scientific Impact Paper No. 13 e307 of e313 Metformin therapy for the management of infertility in women with polycystic ovary syndrome.
5. Abu Hashim H, Foda O, Ghayaty E. Combined metformin-clomiphene in clomiphene-resistant polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2015;94(9): 921-30.
6. Shao R, Li X, Feng Y, et al. Direct effects of metformin in the endometrium: a hypothetical mechanism for the treatment of women with PCOS and endometrial carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2014;11: 33: 41
7. Sivalingam VN, Myers J, Nicholas S, et al. Metformin in reproductive health, pregnancy and gynaecological cancer: established and emerging indications. *Hum Reprod Update*. 2014;20(6): 853-68.
8. Eldar-Geva T, Margalioth EJ, Gal M, et al. Serum anti-Mullerian hormone levels during
 - a. controlled ovarian hyperstimulation in women with polycystic ovaries with and without hyperandrogenism. *Hum Reprod*. 2005; 20(7): 1814-9.
9. Seow KM, Lee WL, Wang PH. A challenge in the management of women with polycystic ovary syndrome. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2016;55(2): 157-8
10. Barber TM, Dimitriadis GK, Andreou A, Franks S. Polycystic ovary syndrome: insight into pathogenesis and a common association with insulin resistance. *Clin Med (Lond)*. 2016; 16(3): 262-6.
11. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000;106(4): 473-81.
12. Bremer AA, Miller WL. The serine phosphorylation hypothesis of polycystic ovary syndrome: a unifying mechanism for hyperandrogenemia and insulin resistance. *Fertil Steril*. 2008;89(5): 1039-48.
13. Tock L, Carneiro G, Pereira AZ, et al. Adrenocortical production is associated with higher levels of luteinizing hormone in nonobese women with polycystic ovary syndrome. *Int J Endocrinol*. 2014;2014: 620605.
14. Dumitrescu R, Mehedintu C, Briceag I, et al. Metformin-clinical pharmacology in PCOs. *J Med Life*. 2015;8(2): 187-92.
15. Lim SS, Davies MJ, Norman RJ, Moran LJ. Overweight, obesity and central obesity in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2012;18(6): 618-37.
16. Messinis IE, Messini CI, Anifandis G, Dafopoulos K. Polycystic ovaries and obesity. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2015;29(4): 479-88.
17. Kong W, Niu X, Zeng T, et al. Impact of Treatment with Metformin on Adipocytokines in Patients with Polycystic Ovary Syndrome: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015;16;10(10): e0140565

18. Davies MJ, Marino JL, Willson KJ et al. Intergenerational associations of chronic disease and polycystic ovary syndrome. *PLoS One*.2011;6(10): e25947.
19. Tan S, Scherag A, Janssen OE et al. Large effects on body mass index and insulin resistance of fat mass and obesity associated gene(FTO) variants in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). *BMC Med Genet*.2010;11: 12.
20. Ko PC, Huang SY, Hsieh CH et al. Serum ferritin levels and polycystic ovary syndrome in obese and nonobese women. *Taiwan J Obstet Gynecol*.2015;54(4): 403-7.
21. Yang JH, Chou CH, Yang WS et al. Iron stores and obesity are negatively associated with ovarian volume and anti-Müllerian hormone levels in women with polycystic ovary syndrome. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2015;54(6): 686-92.
22. Christakou C, Kollias A, Piperi C et al. The benefit-to-risk ratio of common treatments in PCOS: effect of oral contraceptives versus metformin on atherogenic markers. *Hormones (Athens)*. 2014;13(4): 488-97.
23. Kinaan M, Ding H, Triggle CR. Metformin: An Old Drug for the Treatment of Diabetes but a New Drug for the Protection of the Endothelium. *Med Princ Pract*.2015;24(5): 401-15
24. Zeng XL, Zhang YF, Tian Q et al. Effects of metformin on pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016 95(36): e4526.
25. Dumesic DA, Lobo RA. Cancer risk and PCOS. *Steroids*. 2013;78(8): 782-5.
26. Li X, Guo YR, Lin JF et al. Combination of Diane-35 and Metformin to Treat Early Endometrial Carcinoma in PCOS Women with Insulin Resistance. *J Cancer*. 2014;5(3): 173-81.
27. Shao R, Li X, Billig H. Promising clinical practices of metformin in women with PCOS and early-stage endometrial cancer. *BBA Clin*. 2014;2: 7-9
28. Clement NS, Oliver TR, Shiwani H et al. Metformin for endometrial hyperplasia: a Cochrane protocol. *BMJ Open*. 2016 16;6(8): e013385.
29. Pernicova I, Korbonits M. Metformin--mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(3): 143-56.
30. Wang YW, He SJ, Feng X, et al. Metformin: a review of its potential indications. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11: 2421-2429.
31. Hajjar J, Habra MA, Naing A. Metformin: an old drug with new potential. *Expert Opin Investig Drugs*. 2013;22(12): 1511-7.
32. Lautatzis ME, Goulis DG, Vrontakis M. Efficacy and safety of metformin during pregnancy in women with gestational diabetes mellitus or polycystic ovary syndrome: a systematic review. *Metabolism*. 2013;62(11): 1522-34.
33. Triggle CR, Ding H. Metformin is not just an antihyperglycaemic drug but also has protective effects on the vascular endothelium. *Acta Physiol (Oxf)*. 2017;219(1): 138-151.
34. Khan A, Shafiq I, Hassan Shah M. Prevalence of Vitamin B12 Deficiency in Patients with Type II Diabetes Mellitus on Metformin: A Study from Khyber Pakhtunkhwa. *Cureus*. 2017 18;9(8): e1577.
35. Markowicz-Piasecka M, Huttunen KM, Mateusiak L, et al Is Metformin a Perfect Drug? Updates in Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Curr Pharm Des*. 2017;23(17): 2532-2550.

36. Romero R, Erez O, Hüttemann M, et al. Metformin, the aspirin of the 21st century: its role in a. gestational diabetes mellitus, prevention of preeclampsia and cancer, and the promotion of longevity. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(3): 282-302.
37. Del Barco S, Vazquez-Martin A, Cufi S et al. Metformin: multi-faceted protection against cancer. *Oncotarget.* 2011;2(12): 896-917.
38. Tang T, Balen AH. Use of metformin for women with polycystic ovary syndrome *Hum Reprod Update* 2013;19(1),1
39. Tang T, Lord JM, Norman RJ et al. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 16;(5): CD003053.
40. Morin-Papunen L, Rantala AS, Unkila-Kallio L et al. Metformin improves pregnancy and live-birth rates in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): a multicenter, double-blind, placebo-controlled randomized trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(5): 1492-500.
41. Palomba S, Falbo A, La Sala GB. Metformin and gonadotropins for ovulation induction in patients with polycystic ovary syndrome: a systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014 3;12: 3.
42. Cheng F, Zhao L, Wu Y et al. Serum vascular endothelial growth factor B is elevated in women with polycystic ovary syndrome and can be decreased with metformin treatment. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2016;84(3): 386-93.
43. Sam S, Ehrmann DA. Metformin therapy for the reproductive and metabolic consequences of polycystic ovary syndrome. *Diabetologia.* 2017;60(9): 1656-1661.
44. Gambineri A, Tomassoni F, Gasparini DI et al. Organic cation transporter 1 polymorphisms predict the metabolic response to metformin in women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Oct;95(10): E204-8.
45. Nies AT, Hofmann U, Resch C et al. Proton pump inhibitors inhibit metformin uptake by organic cation transporters (OCTs). *PLoS One.* 2011;6(7): e22163.