



АНТИМЮЛЛЕРОВ ГОРМОН КАК ПРЕДИКТОР МЕНСТРУАЛЬНОГО ОТВЕТА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЖЕНЩИН С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ С ПОМОЩЬЮ ИЗМЕНЕНИЯ ОБРАЗА ЖИЗНИ И ТЕРАПИИ МЕТФОРМИНОМ

П.В. Попова¹, Е.М. Рязанцева¹, О.Е. Рулёва¹, И.Е. Зазерская¹, Е.Н. Гринёва^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова (ректор - проф. М.Д. Дидур), г. Санкт-Петербург

² Федеральный Центр Сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова (дир. - проф., член-корр. РАМН Е.В. Шляхто), г. Санкт-Петербург

Введение

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) является частой формой эндокринопатии, встречается у 5-10% женщин репродуктивного возраста и представляет собой гетерогенную патологию, характеризующуюся нарушением менструального цикла, хронической ановуляцией, гиперандрогемией и специфическими изменениями в яичниках. В целом ряде исследований показано, что для этих женщин характерно более частое, чем в популяции, наличие инсулинорезистентности [1]. Гиперинсулинемия, развивающаяся в результате инсулинорезистентности, приводит к одному из основных признаков СПКЯ: гиперандрогемии. Последняя возникает в результате стимуляции инсулином продукции андрогенов в яичниках и снижения синтеза белка, связывающего половые гормоны [1]. Инсулинорезистентность также играет существенную роль в развитии гиперпластических процессов эндометрия. Инсулин и ИФР-1 участвуют непосредственно в пролиферативных процессах эндометрия, обусловленных эстрогенами, а в условиях гиперэстрогемии - и в процессах формирования гиперплазии эндометрия вплоть до ее атипических форм [2]. В репродуктивном возрасте важной целью лечения является восстановление менструальной и одновременно репродуктивной функций, проявляющееся увеличением количества менструальных циклов, появлением овуляции и наступлением беременности, что в свою очередь способствует профилактике гиперплазии и рака эндометрия.

Признание роли инсулинорезистентности в патогенезе СПКЯ привело к появлению большого количества работ, посвященных изучению роли уменьшения массы тела и применения инсулинсенситайзеров (метформин, в частности) в восстановлении репродуктивной функции у женщин с СПКЯ. Однако, гораздо меньше исследований посвящено поиску возможных предикторов появления репродуктивного ответа на фоне различных видов лечения. В качестве таких предикторов выдвигались: показатель инсулинорезистентности [3], высокий уровень инсулина, низкий уровень андростендиона и менее выраженные нарушения менструального цикла [4]. Недавно было высказано предположение, что показателем, предсказывающим наступление менструального ответа, может быть антимюллеров гормон (АМГ) [5]. У женщин АМГ синтезируется гранулезными клетками первичных и преантральных фолликулов и ингибирует дальнейший рост фолликулов в ответ на фолликулос-

стимулирующий гормон (ФСГ). Уровень АМГ прямо пропорционален количеству антральных фолликулов, в связи с чем он предлагался в качестве маркера овариального резерва [6]. У женщин с СПКЯ по сравнению с нормально менструирующими женщинами увеличено как количество антральных фолликулов, так и значительно повышен уровень АМГ. Именно поэтому уровень АМГ был предложен для диагностики СПКЯ [7]. Более того, возможно, что уровень АМГ у женщин с СПКЯ является одним из предикторов менструального ответа на лечение. Так, L. Moran и соавт. [5] показали, что женщины с СПКЯ и ожирением, ответившие улучшением менструального цикла на уменьшение массы тела, имели значительно более низкий уровень АМГ до лечения, чем те, которые не ответили. В результате авторы предложили использовать АМГ в качестве предиктора менструального ответа на уменьшение массы тела у женщин с СПКЯ. В других исследованиях было обнаружено снижение уровня АМГ на фоне лечения метформинном у женщин с СПКЯ, имеющих как избыточную, так и нормальную массу тела [8,9]. Требуются дальнейшие исследования для уточнения этих данных.

Цель работы: оценить роль АМГ в качестве предиктора менструального ответа на фоне лечения женщин с СПКЯ с помощью изменения образа жизни и терапии метформинном.

Материал и методы

В исследование включили пациенток с СПКЯ в возрасте 18 - 40 лет, у которых присутствовали два из трех нижеперечисленных критериев, принятых Роттердамским консенсусом в 2003г. [10]: 1) признаки гиперандрогемии – клинические (гирсутизм число 12 баллов и более по шкале Ferriman - Gallwey) и/или биохимические (повышение индекса свободных андрогенов или общего тестостерона); 2) признаки хронической ановуляции (олиго- или аменорея); в случае более 8 менструальных циклов в год - отсутствие доминантного фолликула при ультразвуковом исследовании (УЗИ) малого таза на 10-14-й день менструального цикла и уровень прогестерона на 21-24-й день менструального цикла ниже 10 нмоль/л; 3) ультразвуковые признаки поликистозных яичников.

В исследование не включали пациенток с гиперпролактинемией, синдромом Кушинга, врожденной гиперплазией коры надпочечников, гипотиреозом, андрогенпродуцирующей опухолью, сахарным диабетом, карди-

оваскулярными заболеваниями, нарушениями функции печени и почек, а также использовавших препараты, влияющие на функцию яичников, надпочечников, метаболизм углеводов, липидов в течение 2 мес, предшествующих исследованию, и беременных женщин.

При включении в исследование все пациентки подписали информированное согласие. Исследование было одобрено этическим комитетом Санкт-Петербургского государственного университета им. акад. И.П. Павлова.

Дизайн исследования

В период скрининга проводили определение уровня лютеинизирующего гормона, фолликулостимулирующего гормона, 17ОН - прогестерона на 3-5-й день менструального цикла, тиреотропного гормона (ТТГ), пролактина в крови.

Дополнительно выполняли тест с синактеном - депо для женщин с базальным уровнем 17ОН-прогестерона более 1,5 нг/мл для исключения врожденной гиперплазии коры надпочечников и пробу с 1 мг дексаметазона для женщин с ожирением для исключения синдрома Кушинга.

Исходно и спустя 6 мес терапии выполняли:

- сбор анамнеза, уточнение календаря менструаций за год, предшествующий включению в исследование и 6 мес на фоне лечения;
- измерение массы тела, роста, объема талии и бедер, артериального давления и гирсутного числа (по шкале Ferriman-Gallwey);
- УЗИ органов малого таза для оценки овуляции на фоне терапии в каждом менструальном цикле;
- определение уровня эстрадиола, общего тестостерона и белка, связывающего половые гормоны, с подсчетом индекса свободных андрогенов (ИСА);
- определение уровня прогестерона на 20 - 24-й день менструального цикла;
- проведение перорального глюкозотолерантного теста;

- определение инсулинорезистентности при помощи метода НОМА (НОМА = глюкоза натощак, (ммоль/л) инсулин натощак, (мкМе/мл)/22,5).

Уровень АМГ в крови оценивали на 3 - 5-й день менструального цикла путем иммуноферментного анализа (DSL, США) с аналитической чувствительностью 0,017 нг/мл.

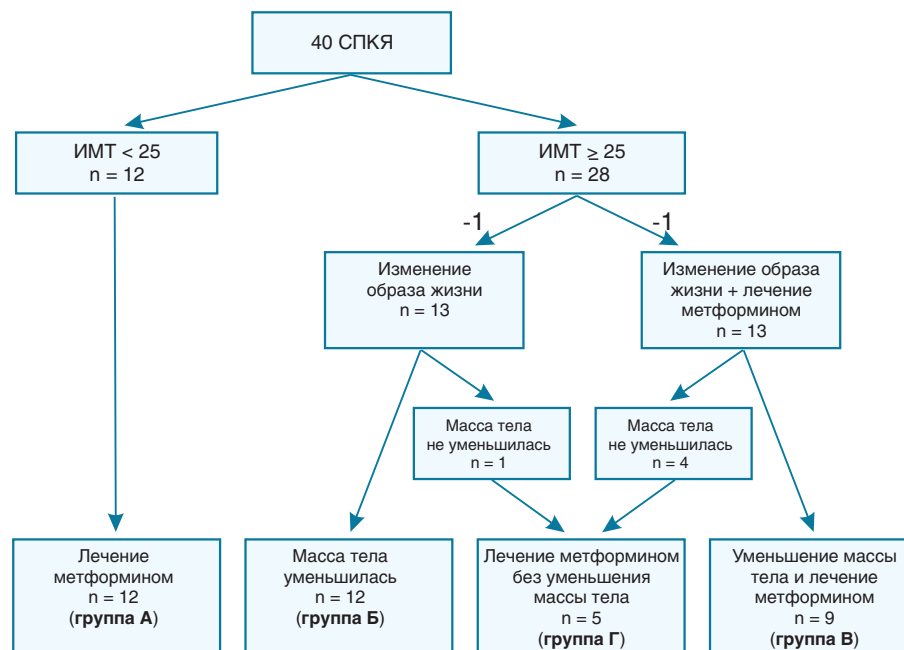
Женщины с СПКЯ и нормальной массой тела (n = 12) получали лечение Метформином в дозе 850 мг 2 раза в день. Пациентки с индексом массы тела (ИМТ) > 25 кг/м² (n = 28) были рандомизированы на 2 группы терапии: 1-я - изменение образа жизни (гипокалорийная диета и регулярные физические нагрузки); 2-я - изменение образа жизни + Метформин 850 мг 2 раза в день. Эффективность лечения оценивали через 6 мес.

Статистический анализ проводили с помощью программы SPSS версии 14,0 для Windows. Данные представлены в виде -M±SD, где M - среднее значение, SD - стандартное отклонение. Оценку достоверности различий между группами проводили при помощи t-теста Стьюдента и критерия Манна - Уитни. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Для прогнозирования менструального ответа по уровню АМГ использовали дискриминационный анализ и ROC - кривые. Оценку корреляции проводили с помощью коэффициента Спирмана.

Результаты

В исследование включили 40 женщин с СПКЯ. Завершили лечение 38 женщин (2 пациентки с избыточной массой тела отказались от продолжения терапии метформином, из них 1 - из-за побочных эффектов). Средний возраст в группе составил 25±0,8 года, ИМТ - 27,0±1,2 кг/м² (18-39 кг/ м²). Из женщин, завершивших лечение, 12 имели нормальную массу тела (ИМТ 18 - 24,2 кг/м², средний ИМТ -20,6±2,2 кг/м²) и получали лечение метформином, группа А (рис. 1). Имели избы-

Рисунок. 1. Группы лечения





точную массу тела или ожирение 26 женщин (ИМТ 25 - 39, средний $30,9 \pm 4,9$ кг/м²) и были рандомизированы на изменение образа жизни - 13, группа Б, и изменение образа жизни + метформин - 13, группа В. Из пациенток группы Б у 1, и из группы В у 4 не удалось уменьшить массу тела. Пациентке из группы Б был назначен метформин. В результате была сформирована группа из 5 женщин с избыточной массой тела, получавших терапию метформином без изменения массы тела (группа Г).

Изменения метаболических показателей в группах на фоне лечения

У пациенток, которым удалось уменьшить массу тела (группа Б и В), она уменьшилась в среднем на $9,8 \pm 6,5$ кг, ($p < 0,001$), уровень инсулина уменьшился на $12,1 \pm 16,2$ мкМЕ/мл, ($p = 0,012$), индекс НОМА - на $3,1 \pm 3,9$, $p = 0,009$. При этом степень снижения этих показателей достоверно не отличалась между группами Б и В. В группах А и Г, хотя и произошло снижение уровня инсулина (соответственно на $2 \pm 3,7$ нмоль/л, $p = 0,12$ и $2,08 \pm 4,1$ нмоль/л, $p = 0,3$) и индекса НОМА (на $0,49 \pm 0,85$, $p = 0,1$ и $0,39 \pm 0,65$, $p = 0,25$ соответственно), но эти изменения были статистически не достоверны.

Связь между уровнем АМГ и менструальным ответом

Многие исследователи используют частоту менструаций для оценки репродуктивной функции у женщин с СПКЯ, и улучшение регулярности менструаций считается хорошим суррогатным маркером овариальной функции и частоты овуляций [11,12]. Более того, Н. Kolstad и соавт. продемонстрировали связь между характером

менструального цикла и фертильностью [13]. Поэтому мы также использовали увеличение числа менструальных циклов в качестве критерия ответа на терапию.

После завершения лечения пациентки с СПКЯ были разделены на 2 группы: женщины, у которых на фоне терапии был получен менструальный ответ в виде увеличения количества менструальных циклов, появления овуляции, наступления беременности, и женщин, не получивших данный ответ. Менструальный ответ был получен у 21 пациентки, которые составили 55 % от всей группы СПКЯ. У 4 женщин с регулярным циклом и хронической ановуляцией восстановилась овуляция (у 3 из них зафиксирована беременность). У 16 женщин с олигоменореей, имевших в среднем $2 \pm 1,17$ менструальных цикла за 6 мес, предшествующих лечению, увеличилось количество менструальных циклов до $4,36 \pm 1,1$ за 6 мес лечения, $p < 0,001$. И у 1 женщины с исходной аменореей было зафиксировано 5 менструальных циклов за 6 мес лечения. У 8 из женщин с исходной олигоменореей появилась овуляция и у 3 из них - беременность. Всего овуляция наблюдалась у 11 пациенток (29%) и у 6 из них наблюдалась беременность (15,8% от всех пролеченных женщин).

Пациентки, ответившие и не ответившие на лечение, достоверно не отличались по исходным характеристикам (табл. 1). В группе ответивших и не ответивших на лечение женщин с СПКЯ соответственно средний возраст (25,8 против 26,7 год), средний ИМТ (27,8 против 28,7 кг/м²), средняя окружность талии (88,4 против 90,8 см.), среднее гирсутное число (9,9 против 10,2 балла) и среднее количество менструальных циклов за 6 мес, предшествующих лечению, (2,9 против 2,5) были аналогичными. Группы исходно не отличались и по основным гормональным показателям см. (табл. 1).

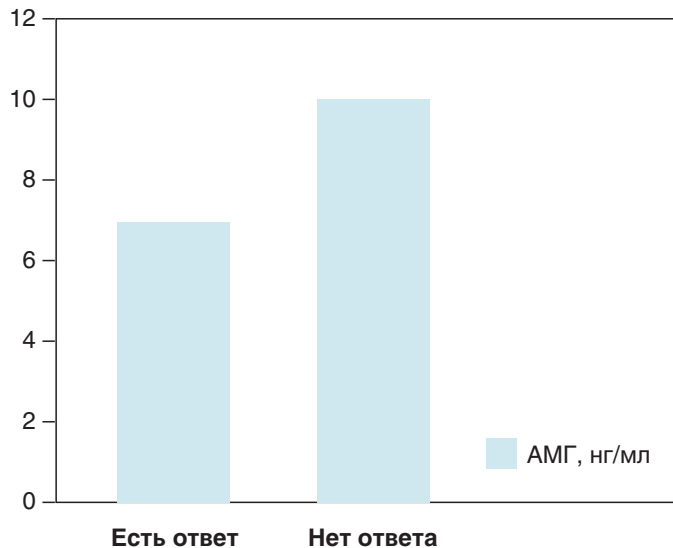
Таблица 1. Сравнительная характеристика женщин с СПКЯ, ответивших и не ответивших на лечение

	Ответ	Нет ответа	p
Число больных	21	17	
Возраст, лет	$25,8 \pm 5,5$	$26,7 \pm 5,4$	0,59
Масса тела, кг	$76,4 \pm 21,1$	$79,7 \pm 16,3$	0,59
ИМТ, кг/м	$27,8 \pm 7,6$	$28,7 \pm 5,6$	0,68
Окружность талии, см	$88,4 \pm 18,9$	$90,8 \pm 12,9$	0,59
Гирсутное число	$9,9 \pm 3,9$	$10,2 \pm 5$	0,85
КМЦ	$2,9 \pm 1,9$	$2,47 \pm 1,4$	0,61
АМГ, нг/мл	$6,3 \pm 3,4$	$9,8 \pm 4,5$	0,043
Инсулин, мкМЕ/мл	$15,6 \pm 16,7$	$14,1 \pm 10,4$	0,62
НОМА	$4,45 \pm 3,8$	$3,5 \pm 3,1$	0,41
ЛГ, мЕ/мл	$10,2 \pm 6,7$	$9,6 \pm 6,1$	0,8
ФСГ, мЕ/л	$5,7 \pm 2$	$5,8 \pm 1,9$	0,87
ЛГ/ФСГ	$1,9 \pm 1,5$	$1,8 \pm 1,1$	0,74
Андростендион, нмоль/л	$11,9 \pm 4,6$	$12,3 \pm 3,3$	0,6
Тестостерон, нг/мл	$3,0 \pm 0,9$	$3,1 \pm 1$	0,3
ИСА	$13,7 \pm 10$	$11,9 \pm 8,7$	0,66
СССГ нмоль/л	$45,4 \pm 40$	$40,8 \pm 26,5$	0,83
Глюкоза натощак, ммоль/л	$5,4 \pm 0,5$	$5,5 \pm 0,7$	0,89

Примечание. Здесь и в табл. 2: КМЦ - количество менструальных циклов за 6 мес до лечения
НОМА - Homeostasis Model Assessment;

Единственным исходным показателем, по которому группы достоверно отличались, был АМГ, который оказался достоверно ниже в группе ответивших ($6,3 \pm 3,4$ нг/мл), чем не ответивших на лечение ($9,8 \pm 4,5$ нг/мл), $p=0,043$ (рис. 2).

Рисунок 2. Уровень АМГ до лечения в группах, женщин получивших ответ на лечение и женщин, не ответивших улучшением менструальной функции



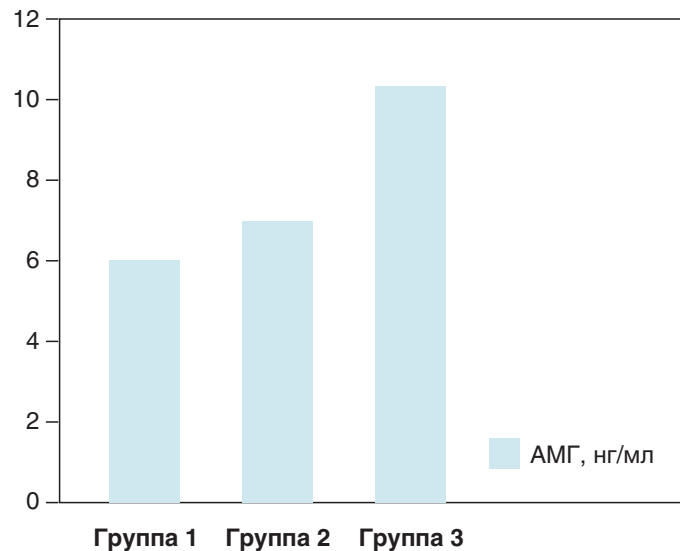
Корреляция

После исследования взаимосвязи АМГ и других характеристик СПКЯ была получена обратная корреляция между уровнем АМГ и инсулина натощак ($r=-0,3$, $p=0,02$), что может свидетельствовать в пользу гипотезы о различиях в патогенезе заболевания у пациенток с нормальной и избыточной массой тела. Кроме того, выявлена обратная корреляция между уровнем АМГ и количеством менструальных циклов ($r=-0,4$, $p=0,004$).

Сравнение уровня АМГ у женщин с различной степенью нарушения менструального цикла

После выявления такой закономерности мы решили сравнить уровень АМГ у женщин с различной степенью нарушения менструального цикла. Всех женщин, включенных в исследование, мы разделили на группы в зависимости от исходного количества менструальных циклов за 6 мес. Группа 1 ($n = 12$) - женщины, имевшие 5-6 циклов за 6 мес, группа 2 ($n = 9$) - женщины, имевшие 3-4 цикла, группа 3 ($n = 19$) - женщины, имевшие 1-2 цикла или аменорею (женщин с аменореей было всего 2). У всех женщин исходно отсутствовала овуляция. Уровень АМГ последовательно увеличивался по мере уменьшения количества менструальных циклов (рис. 3) и в группе 1 составил $5,89 \pm 3,42$ нг/мл, в группе 2 - $7,03 \pm 2,45$ нг/мл, в группе 3 - $10,35 \pm 4,34$ нг/мл. Достоверно он отличался между группами 1 и 3 ($F = 5,517$, $p = 0,008$). Т. е., более высокий уровень АМГ отражает более глубокие нарушения репродуктивной функции.

Рисунок 3. Уровень АМГ у женщин с различной степенью нарушения менструального цикла



Изменения метаболических и гормональных показателей у женщин, ответивших и не ответивших на лечение

Мы также проанализировали динамику основных антропометрических и биохимических показателей на фоне лечения (табл.2). В обеих группах (отвечающих и не отвечающих на лечение) произошло достоверное снижение средней массы тела, окружность талии, ИМТ, уровня инсулина натощак и индекса НОМА. С помощью дискриминационного анализа для повторных измерений было установлено, что ответившие и не ответившие на лечение женщины исходно и на фоне терапии не отличались по индексу НОМА ($F = 0,002$, $p = 0,968$), и этот показатель одинаково достоверно снижался на фоне лечения ($F = 8,667$, $p = 0,007$). В группе ответивших он снизился на $2,3 \pm 3,8$, не ответивших - на $1,3 \pm 2,1$, $p = 0,18$.

Неожиданным явилось достоверное увеличение уровня андростендиона в обеих группах. Возможно, это связано с тем, что комбинированные оральные контрацептивы, в том числе с антиандрогенным действием, были отменены у части пациенток лишь за 2 мес до включения в программу и в начале лечения частично сохранялся их супрессирующий эффект на синтез андрогенов.

Анализируя изменение уровня АМГ на фоне лечения, мы ожидали выявить его снижение, учитывая данные литературы о снижении уровня АМГ на фоне лечения метформином женщин с СПКЯ [12, 13]. Однако в нашем исследовании достоверного изменения его уровня не произошло. Возможно, требуется более длительный срок наблюдения.

У ответивших на лечение женщин, кроме того, наблюдали достоверное увеличение среднего количества менструальных циклов за 6 мес, небольшое уменьшение гирсутного числа и уменьшение ИСА, несмотря на отсутствие достоверных изменений в уровне общего



Таблица 2. Динамика антропометрических и биохимических показателей у женщин, отвечающих и не отвечающих на лечение

Показатель	Ответ, M±SD			Нет ответа, M±SD			p
	до (a)	после (b)	разница (b-a)	до (a)	после (b)	разница (b-a)	
Масса тела, кг	76,4 ±21,1	69,3 ±15,9*	-7,1 ±8,7	79,7 ±16,3	76,3 ±16,3 **	-3,5 ±2,9	0,112
ИМТ кг/м ²	27,8 ±7,6	25,3 ±5,7*	-2,5 ±3,2	28,7 ±5,6	27,4 ±5,5**	-1,3 ±1,1	0,134
Окружность талии, см	88,4 ±18,9	83,3 ±14,1*	-5,1 ±5,9	90,8 ±12,9	87,9 ±12,6*	-2,8 ±3,5	0,149
Гирсутное число	9,9 ±3,9	9,6 ±3,5*	-0,3 ±0,6	10,2 ±5,0	9,8 ±4,8	-0,4 ±0,9	0,945
КМЦ	2,9 ±1,9	4,7 ±1,1**	1,8 ±1,2	2,47 ±1,4	2,4 ±1,7	-0,07 ±0,8	<0,001
АМГ, нг/мл	6,3 ±3,4	5,8 ±3,3	-0,5 ±1,5	9,8 ±4,5	9,1 ±4,7	-0,7 ±2,2	0,804
Инсулин, мкМе/мл	15,6 ±16,7	7,3 ±4,9*	-9,2 ±16,2	14,1 ±10,4	9,2 ±5,7	-4,9 ±7,8	0,364
НОМА	4,45 ±3,8	1,7 ±1,1*	-2,3 ±3,8	3,5 ±3,1	2,3 ±1,5*	-1,3 ±2,1	0,391
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,4 ±0,5	5,3 ±0,4	-0,1 ±0,5	5,5 ±0,7	5,4 ±0,5	-0,1 ±0,7	0,9
A4, нмоль/л	11,9 ±4,6	14,5 ±6,4*	2,6 ±4,1	12,3 ±3,3	16,2 ±5,6*	3,9 ±5,3	0,468
Тестостерон, нг/мл	3,0 ±0,9	2,7 ±1,1	-0,3 ±0,7	3,1 ±1	3,0 ±1,0	-0,1 ±0,7	0,466
ИСА	13,7 ±10	7,7 ±4,8*	-5,0 ±7,1	11,9 ±8,7	9,9 ±6,6	-2,0 ±4,3	0,178
СССГ, нмоль/л	45,4 ±40	49,2 ±35,9	3,8 ±20,1	40,8 ±26,5	41,8 ±26,6	1,0 ±22,1	0,726

Примечание. A4 - андростендион, p - достоверность различий между изменениями показателей у ответивших и не ответивших на лечение, * - p < 0.05, ** - p < 0,001

тестостерона и сексстероидсвязывающего глобулина (СССГ). Однако, при сравнении динамики показателей между ответившими и не ответившими на лечение, достоверно группы отличались лишь по изменению количества менструальных циклов за 6 мес. Отсутствие достоверных различий между группами в динамике других показателей в ряде случаев, вероятно, связано с большим разбросом данных.

Так, мы обратили внимание на то, что у женщин, ответивших на лечение, в большей степени уменьшилась масса тела, чем не у ответивших (в среднем на 7,1 и 3,5 кг соответственно), хотя различие статистически было недостоверно (p = 0,1). Учитывая это, мы решили проанализировать отдельно группу женщин, у которых уменьшилась масса тела (группы Б и В, n = 21). И при сравнении ответивших (n = 12) и не ответивших (n = 9) на лечение, мы выявили достоверную разницу в степени уменьшения массы тела (12,8 ± 7,3 против 5,8 ± 1,4 кг, p = 0,01) и отсутствие разницы в исходном уровне АМГ (6,8 ± 3,5 против 7,8 ± 3,6 нг/мл, p = 0,56). При этом группы достоверно не отличались по изменению уровня инсулина натощак и индекса НОМА. Т.е., по-видимому, у женщин с ожирением само по себе уменьшение массы тела, а не снижение инсулинорезистентности и инсулина влияет на появление менструального ответа, что согласуется с данными T. Tang и соавт. [14]. При анализе исходного уровня АМГ мы не выявили различий у женщин, ответивших и не ответивших на уменьшение массы тела (6,8 ± 3,5 против 7,8 ± 3,6 нг/мл, p = 0,56). Таким образом, нам не удалось подтвердить данные L. Moran и соавт. [5], которые показали, что женщины с СПКЯ и ожирением, отвечающие улучшением менструального цикла на уменьшение массы тела, имели значительно более низкий уровень АМГ до лечения, чем те, кто не отвечает. Возможно, требуется более крупная выборка и одинаковая степень уменьшения массы тела,

чтобы выявить различия между группами в исходном уровне АМГ.

Мы также проанализировали отдельно тех женщин с СПКЯ, которые получали терапию метформином без уменьшения массы тела (группы А и Г, n = 17). Среди них различия в исходном уровне АМГ сохранялись и стали более отчетливыми между женщинами, отвечающими и не отвечающими на терапию (7,1 ± 3,4 против 13,1 ± 2,7 нг/мл, p = 0,001). Но стали значимыми и различия в исходной массе тела (56,6 ± 11 против 77,6 ± 20 кг, p = 0,024), так как в группу неответивших попали 4 из 5 женщин с избыточной массой тела, которые получали терапию метформином и не смогли уменьшить массу тела (группа Г).

После уравнивания в массе тела ответивших (n = 8) и не ответивших (n = 4) на лечение метформином женщин с СПКЯ, т.е. при анализе отдельно группы А, различие в исходном уровне АМГ оставалось заметным (7,5 ± 3,5 против 12,6 ± 3,8 нг/мл), но не достигало статистической достоверности (p = 0,07), вероятно, из-за малочисленности выборки.

Выводы

1. Женщины, ответившие улучшением менструальной функции на фоне лечения (уменьшение массы тела и/или терапии метформином), имели изначально более низкий уровень АМГ (6,3±3,4 нг/мл) в сравнении с женщинами, не получившими ответ на лечение (9,8±4,5 нг/мл), p=0,043.
2. У женщин с избыточной массой тела и ожирением предиктором менструального ответа на уменьшение массы тела являлась ее уменьшения, но не исходный уровень АМГ.
3. Уровень АМГ может быть предиктором менструального ответа на лечение метформином женщин с СПКЯ.

Литература

1. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997; 18:774–800/.
2. Session DR, Kalli KR, Tummon IS, et al. Treatment of atypical endometrial hyperplasia with an insulin-sensitizing agent. *Gyn Endocrinol* 2003; 17. P. 405-407/.
3. Eisenhardt S. Early Effects of Metformin in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Prospective Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91, (3): 946-52/.
4. Moghetti P, Castello R, Negri C et al. Metformin Effects on Clinical Features, Endocrine and Metabolic Profiles, and Insulin Sensitivity in Polycystic Ovary Syndrome: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled 6-Month Trial, followed by Open, Long-Term Clinical Evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85, (1): 139-46/.
5. Moran LJ, Noakes M, Clifton PM et al. The Use of Anti-Mullerian Hormone in Predicting Menstrual Response after Weight Loss in Overweight Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92, (10): 3796-802/.
6. van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER et al. Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2002; 17, 3065–71/.
7. Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:941–45/.
8. Fleming R, Harborne L, MacLaughlin DT et al. Metformin reduces serum mullerian-inhibiting substance levels in women with polycystic ovary syndrome after protracted treatment. *Fertil Steril* 2005; 83:130–6/.
9. Piltonen T, Morin-Papunen L, Koivunen R et al. Serum anti-Mullerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2005; 20:1820–6/.
10. The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004; 19, (1): 41-7/.
11. Fleming R, Hopkinson ZE, Wallace AM et al. Ovarian function and metabolic factors in women with oligomenorrhoea treated with metformin in a randomized double blind placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 569–74/.
12. Haas DA, Carr BR, Attia GR. Effects of metformin on body mass index, menstrual cyclicity and ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003; 79: 469–81/.
13. Kolstad HA, Bonde JP, Hjellund NH et al. Menstrual cycle pattern and fertility: a prospective follow-up study of pregnancy and early embryonal loss in 295 couples who were planning their first pregnancy. *Fertil Steril* 1999; 71: 490–7/.
14. Tang T, Glanville J, Hayden CJ et al. Combined lifestyle modification and metformin in obese patients with polycystic ovary syndrome. A randomized, placebo-controlled, double-blind multicentre study. *Hum Reprod* 2006; 21 a: 80–9/.