

Trabajos Distinguidos

Tratamiento con Metformina en pacientes con Síndrome de Ovario Poliquístico, no obesas, no insulinoresistentes y durante el embarazo

Metformin in first-line treatment in steril polycystic ovary syndrome patients with neither obesity non insulin resistance

Dr. Eduardo Pedro Lombardi, Dr. Alberto Kenny, Dr. Martín Attie, Dra. Laura Sícara

Instituto de Ginecología y Fertilidad, IFER. Buenos Aires. Argentina.

Resumen

Introducción: el síndrome de ovario poliquístico (SOP) se caracteriza por anovulación crónica e hiperandrogenismo y en nuestro medio afecta al 12% de las mujeres. No existen dudas de la función que cumple la metformina en pacientes con SOP, obesidad e insulinoresistencia (IR), sin embargo, al no conocer íntegramente su mecanismo de acción, no estamos en condiciones de predecir cuál es su rol en el grupo de no obesas, no IR. Se trata del 80% de nuestras pacientes con diagnóstico de PCO que solo presentan oligomenorrea-anovulación y ovarios ecográficamente poliquísticos.

Objetivo: investigar la efectividad de la metformina en la restauración de los ciclos menstruales y la ovulación, así como también en el logro del embarazo en mujeres con SOPQ no obesas, no IR, y reportar la evolución de los embarazos con metformina.

Materiales y métodos: se realizó un trabajo prospectivo, desde julio de 2005 a marzo de 2007, en 59 pacientes con diagnóstico de SOP, según los criterios del Consenso de Rotterdam, todas con deseo de fertilidad, oligomenorreicas-anovuladoras, no obesas, no IR (mediana del peso: 60kg, mediana de talla:165 cm; BMI 22,8 de mediana. Índice HOMA:1,43 de mediana). El estudio se dividió en 3 etapas. En la primera etapa se utilizó metformina en dosis crecientes hasta la dosis de 1700 mg/día, durante 6 meses. En la segunda, se sumó citrato de clomifeno, 50 mg/día entre el 5° y 9° días. La tercera etapa la constituyó el seguimiento de embarazos con el uso de metformina.

Resultados: se observó un franco cambio en el ritmo menstrual y en la ovulación, con eumenorrea en un 72% de los casos post-metformina y dosaje de progesterona dentro de rango ovulatorio en el día 21 del ciclo. La tasa de embarazo global fue del 52,5% (31/59), de los que

el 74% fue solo con metformina, más un 25,8% con el agregado de citrato de clomifeno. El 58% de embarazos (18/31) ocurrió en los 2 primeros meses. De los 31 embarazos, se logró seguimiento completo de 24, quedando 2 excluidos por seguimiento en el país natal. No ocurrieron embarazos múltiples. En la actualidad existen 5 que se encuentran cursando semana 27 a 34. De los 24, 4 fueron abortos completos y 20 embarazos evolutivos a término, sin patología asociada.

Conclusión: la metformina parece mostrar una concreta utilidad en el manejo de las pacientes con SOP, no obesas, no insulinoresistentes, en cuanto a la alta tasa de recuperación del ciclo menstrual, tasa de ovulación y tasa de embarazo, con buena tolerancia durante el mismo, e inclusive sin asociación con otras patologías obstétricas. Esta experiencia da lugar al desafío de interpretar los mecanismos de acción de la metformina aun no descriptos, inspirando una nueva línea de investigación.

Abstract

Introduction: Polycystic ovarian syndrome (PCOS) is characterized by chronic oligoovulation and hyperandrogenism, affecting 12% of our population. It is quite clear the rol of metformin in obese, insulin resistant patients with PCOS; but as its mechanism of action is still not totally clear, we cannot still predict what it's effect could be in non-obese, noninsulinresistant patients. Eighty percent of our patients with diagnosis of PCO, show only oligomenhorrea-anovulation and sonographically appearing polycystic ovaries.

Objective: To investigate de efficacy of metformin in the restoration of menstrual cyclicality and ovulation, as well as pregnancy achievement of non-obese, non-insulinresistant PCOS patients; and to report pregnancy outcome with the use of this drug.

Materials and Methods: Fifty-nine non-obese, non-insulinresistant patients with diagnosis of PCOS according to Rotterdam's Consensus Criteria, were prospectively treated and evaluated between 7/2005 and 3/2007. The median weight was 60 kg, median height 1,65 mts, median BMI 22,8, and median HOMA level 1,43. The study was conducted in three steps. The first therapeutic line was based on increasing doses of metformin until a maximum of 1700 mg/day. On the second step clomiphene citrate was added: 50 mg/day from days 5 to 9 of the menstrual cycle. The third step consisted in pregnancy follow up under metformin treatment.

Results: A significant change in menstrual rhythm and ovulation was noted: 72% of metformin-only cases achieving eumenohrea, with adequate postovulatory serum progesterone levels on cycle day 21. Overall pregnancy rate was 52,5% (31/59); 74% of pregnancies achieved in the metformin-only phase; plus an additional 25,8% with the addition of clomiphene citrate. Fifty eight percent of pregnancies occurred in the first 2 months (18/31). Complete follow-up was achieved in 24 of the 31 pregnancies; 2 being excluded as they were followed in other countries. No multiple pregnancies occurred. Five are still ongoing between 27 and 34 weeks at the time of this report. Of the 24 pregnancies, 4 were spontaneous abortions, and the rest healthy term pregnancies.

Conclusions: Metformin treatment of non obese, non-insulinresistant patients with PCOS shows usefulness in terms of restoring menstrual cyclicality, ovulation, and pregnancy rate, with adequate tolerance during pregnancy, with no concurrent obstetrical pathology. This experience opens the field to investigate more on the mechanism of action of metformin

Introducción

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es probablemente la endocrinopatía más frecuente. Se caracteriza por anovulación crónica e hiperandrogenismo y afecta aproximadamente entre al 5% y 10% de las mujeres en edad reproductiva^{1,2}, que en nuestro medio representa el 12%. La etiología primaria del SOP es desconocida¹⁻³. Las mujeres con SOP, que no ovulan, con deseos de lograr un embarazo, tradicionalmente han sido tratadas con un antiestrógeno, el citrato de clomifeno (CC), como tratamiento médico de primera línea para inducir la ovulación^{4,5}. Sin embargo, la resistencia a la insulina, factor asociado que contribuye a la anovulación, ha llevado a una nueva y promisoriosa terapia consistente en la administración de una droga sensibilizante a la insulina llamada metformina^{6,7}. De tal manera,

se restablecería su ovulación y se lograría un embarazo. Mediante el incremento de la sensibilidad a la insulina, la metformina reduce la resistencia a la insulina y por lo tanto disminuye la secreción de insulina y la hiperinsulinemia. Se realizaron numerosos estudios sobre la utilización de metformina desde la primera comunicación sobre su uso en pacientes con SOP, en 1994; no todos esos estudios demostraron un efecto beneficioso de la metformina sobre los trastornos endocrinos y metabólicos asociados con este síndrome⁷⁻¹⁰. Dentro de su espectro terapéutico, el rol de la metformina no ha sido delimitado por completo. En la actualidad no existen dudas de la función que cumple en pacientes en las que el síndrome de ovario poliquístico incluye la obesidad y la insulinoresistencia¹¹⁻¹⁵. Sin embargo, al no conocer íntegramente el mecanismo íntimo de acción de la misma, no estamos en condiciones de predecir cuál es su rol en el grupo de no obesas, no insulinoresistentes. Este grupo representa el 80% de nuestra población de pacientes con SOP, que solo presentan oligomenorrea-anovulación y ovarios con características ecográficas de poliquísticos, a diferencia de lo encontrado en las características epidemiológicas de las poblaciones analizadas en las grandes publicaciones científicas del mundo. Esta disparidad desnuda una gran problemática al momento de interpretar la información que nos llega sobre este tema, ya que no es posible trasladar sus resultados tratándose de poblaciones tan distintas, no representativas.

Es justamente la alta incidencia de SOP en nuestro medio y la carencia de reportes que analicen poblaciones representativas para nuestro país lo que motiva este estudio.

Objetivo

En este trabajo nuestro objetivo ha sido investigar la efectividad de la metformina, utilizada sola o en combinación con citrato de clomifeno para la restauración de los ciclos menstruales normales y la ovulación, así como para el logro del embarazo en mujeres con SOP no obesas, no insulinoresistentes y reportar la evaluación de los embarazos con administración de metformina durante el mismo.

Materiales y métodos;

Se realizó un trabajo prospectivo, desde julio de 2005 a marzo 2007, a partir de 59 pacientes con diagnóstico de SOP según los criterios del Consenso de Rotterdam¹⁶, con deseo de fertilidad, todas ellas oligomenorreicas-anovuladoras, no obesas (BMI<35), no IR. Las variables analizadas fueron: restablecimiento de menstruaciones normales, ovulación, embarazo, tasa de recién nacidos vivos y evolución de embarazo.

Se consideró como oligomenorrea la presencia de un ritmo menstrual mayor a 35 días, y la ovulación fue evaluada tras dosajes de progesterona plasmática en el día 21 del ciclo o equivalente, menor a 10mUI/dl. La presencia de otro factor para la infertilidad, como factor masculino, endometriosis, factor tuboperitoneal, inmunológico, fue considerado como criterio de exclusión.

El estudio se dividió en tres etapas. La primera etapa correspondió a la utilización de metformina en dosis crecientes, iniciando con 500 mg y progresando hasta la dosis de 1700 mg/día, según la tolerancia de la paciente a la medicación o según el logro de la restitución del ritmo menstrual. A pesar de la alta asociación de la metformina con cuadros gastrointestinales, dentro del grupo de pacientes analizadas en esta oportunidad, encontramos una buena tolerancia a la utilización de dosis crecientes. Esta etapa se extendió por un período de hasta 6 meses. De no lograr embarazo hasta este punto, se iniciaba la segunda etapa con la adición durante 5 días de 50 mg/día de citrato de clomifeno desde el 5° día del ciclo.

La tercera etapa la constituyó el seguimiento de los embarazos logrados con el uso de metformina, siendo excluidas aquellas pacientes que realizaron seguimiento con otro especialista, por no poder asegurar una fuente completa y constatable de información.

La edad promedio fue de 29 años. Todas las pacientes recibieron metformina como primera línea terapéutica; siendo la indicación de dietoterapia y ejercicio, desplazada por tratarse de pacientes no obesas con un peso de 60 kg de mediana, mediana de talla de 165 cm y un índice

de masa corporal de 22,8 de mediana. En los tres parámetros descriptos, la media y la mediana fueron similares.

No se presentaron casos de insulinorresistencia en este grupo, con un índice HOMA normal (mediana: 1,43) en todos los casos. El 87% de la totalidad de las pacientes presentaba patrón ecográfico de ovarios poliquísticos. El 25,6% presentaba hiperandrogenismo bioquímico. La manifestación de oligomenorrea estuvo presente en todos los casos analizados. El 64% de los casos presentaba una relación FSH:LH de 1:2.

Resultados

Se observó un franco cambio en el ritmo menstrual y la ovulación, registrándose eumenorrea en un 72% de casos (43/59) post-metformina, así como dosaje de progesterona plasmática dentro del rango ovulatorio en día 21 del ciclo. El gráfico 1 compara el ritmo menstrual antes y durante el tratamiento con metformina, representado en dos columnas, donde se destaca la gran proporción de recuperación de la eumenorrea luego de la administración de metformina.

En cuanto a la ovulación, este grupo de pacientes fue sometido sistemáticamente al dosaje de progesterona plasmática en mitad de fase lutea, permitiéndonos documentar de esta manera la evolución de las pacientes en forma fidedigna. El resultado de esta variable nos mostró un tasa de ovulación del 64% (38/59) postmetformina (Gráfico 2).

La tasa de embarazo global fue del 52,5% (31/59, gráfico 3), donde el 74% (23 casos) se logró solo con metformina y un 25,8% (8 casos), con el agregado de citrato de clomifeno. Esto se encuentra representado en el gráfico 4.

Del análisis del grupo de pacientes con embarazo, debemos destacar que dentro del período de 1 a 10

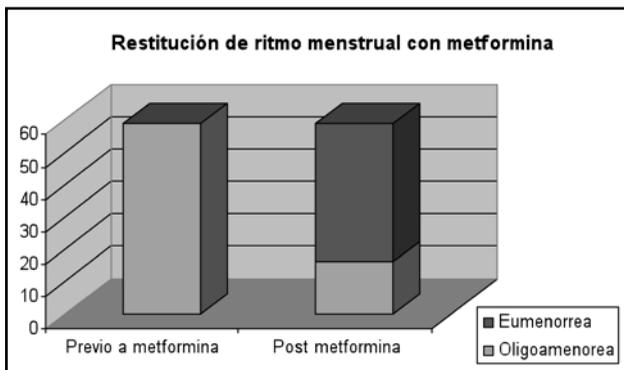


Gráfico 1

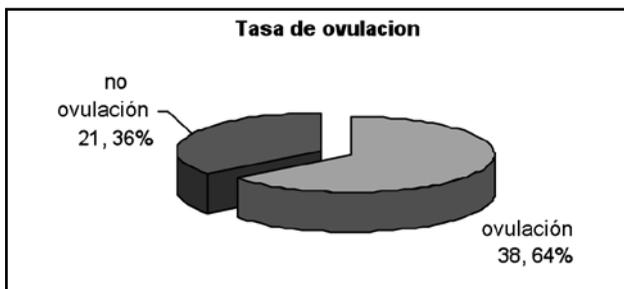


Gráfico 2



Gráfico 3

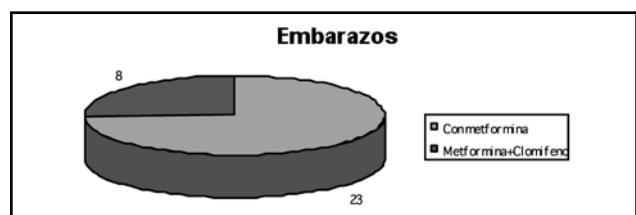


Gráfico 4

meses de tratamiento con metformina, 32,2% de los casos (10/31) lograron embarazarse en el primer mes y un 58% de los casos (18/31), dentro de los 2 primeros meses.

El gráfico número 5 representa en barras el número de embarazos logrado en cada mes de tratamiento. En este grupo también se constató una restitución del ritmo menstrual en 25 de los 31 casos (80,6%), mientras que en el grupo de pacientes sin logro de embarazo fue del 64% (18/28).

Se compararon las características de las pacientes que lograron embarazarse y las que no lo lograron, en búsqueda de algún elemento que pudiera influir en el pronóstico, explicando la diferente respuesta con independencia de la utilización de metformina. Sin embargo, nos encontramos con poblaciones altamente comparables y homogéneas. La mediana de edad fue similar en ambos grupos, en los que se observó un 25% de hiperandrogenismo bioquímico, así como un patrón ecográfico de poliquistosis similares, y medianas de FSH, LH, insulínemia y HOMA homologables (Tabla 1).

De los 31 embarazos, se logró el seguimiento completo de 24, quedando 2 excluidos por seguimiento en el país natal. No ocurrieron embarazos múltiples. Actualmente 5 se encuentran cursando la gestación entre las semana 27 a 34. De los 24, 4 fueron abortos completos entre las semanas 6 a 11 del desarrollo, y 20 embarazos fueron evolutivos a término, con un control prenatal periódico completo, sin patología obstétrica registrada. La tolerancia a la metformina en las pacientes embarazadas fue buena. No registramos eventos adversos asociados a la metformina.

Discusión

Este trabajo que incluye 59 mujeres no obesas con SOP, no insulinoresistentes, en seguimiento por un período mínimo de 6 meses, muestra que la monoterapia

con metformina normaliza sus ciclos menstruales, aumentando el índice de ovulación e incrementando la tasa de embarazos y recién nacidos vivos. Esta respuesta parece mejorar con el agregado de citrato de clomifeno, una vez superado los primeros meses de la utilización de metformina sola. En nuestra experiencia a esta etapa se le otorgó seis meses de duración, aunque podríamos plantear que la mayor respuesta a la metformina la observamos en los dos a cuatro primeros meses, como lo muestra el gráfico 5 y por lo tanto, podría ser en el cuarto mes el momento oportuno para suplementar con citrato de clomifeno¹⁷.

Consideramos como elemento destacable de esta presentación el describir el perfil epidemiológico de SOP de nuestra población, dato por demás interesante teniendo en cuenta que la bibliografía mundial publica mayoritariamente datos epidemiológicos no representativos para nuestro medio. La mayoría de los trabajos extranjeros nos muestran poblaciones predominantemente obesas, con resultados no extrapolables a la nuestra¹⁸⁻²¹.

En momentos donde los especialistas en fertilidad están centrando sus esfuerzos en disminuir la tasa de embarazo múltiple, la cual fue afectada críticamente con la introducción de las técnicas de fertilización asistida, en primera instancia lograr una terapia que no reporta embarazo múltiple podría convertirse en una línea terapéutica prometedora. Tengamos en cuenta que la población de mujeres con SOP es la que intrínsecamente posee mayor predisposición a desarrollar embarazos múltiples, y mucho más peligroso aun, el síndrome de hiperestimulo ovárico o reacción inusitada²².

Dos revisiones sistemáticas previamente publicadas sobre los efectos de la metformina en combinación con citrato de clomifeno o sin este en pacientes con SOP, evaluaron 17 estudios observacionales y 10 estudios controlados aleatorizados (ECA)²³ y 12 ECA, respectivamente^{23,24}. La revisión sistemática realizada por Costello y col.²³ no realizó un metaanálisis formal

Característica Comparada	Grupo sin logro de embarazo (n=28)	Grupo con logro de embarazo (n=31)
Edad (media-media)	29,5-29,8	29-29,6
Esterilidad primaria (porcentaje)	22/28 78,5%	26/31- 83,8%
BMI (mediana-media) Kg/m2	22,8-23,1	23,0 - 23,4
LH (media) ul/ml	6	12
FSH (media) ul/ml	9	6
Insulinemia (media) mU/l	6,7	8
HOMA (media)	1,4	1,5
Patrón ecográfico de PCO (rel-%)	24/28-85,7%	27/31 - 87,1%
Hiperandrogenismo (%)	7/28-25%	8/31- 25,8%

Tabla 1: Comparación de las principales características de las pacientes según el logro o no de embarazo.

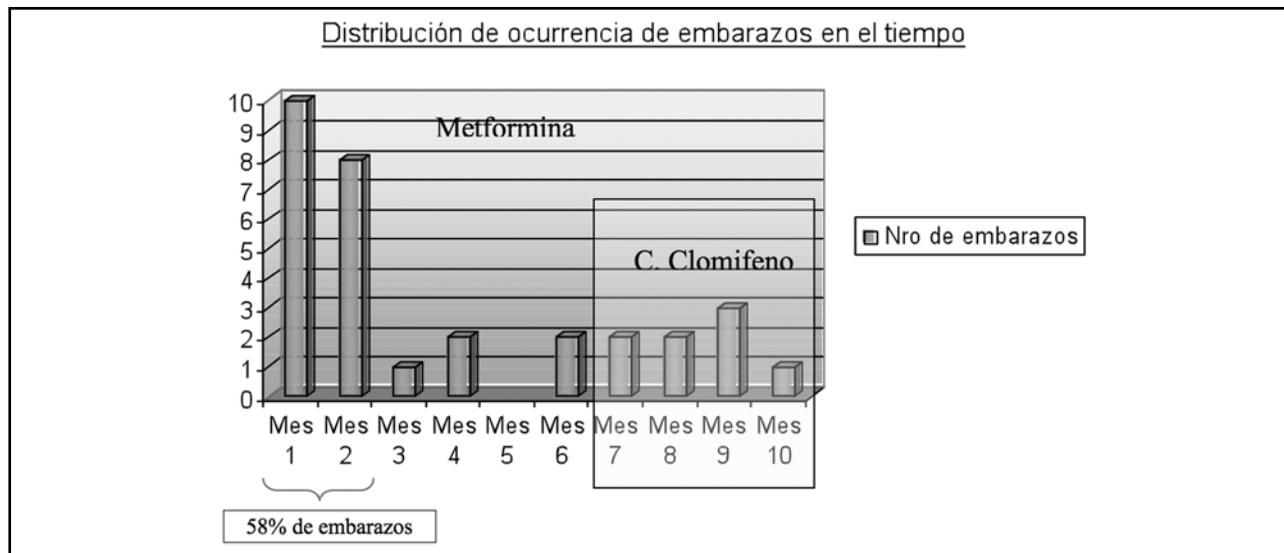


Gráfico 5

pero analizó separadamente tanto información controlada como no controlada; en tanto que la de Lord y col²⁴ realizó un metaanálisis de los ECA. La revisión Cochrane de Lord y col⁹ fue también publicada como versión editada²⁵. Estas dos revisiones previas incluyeron los estudios publicados hasta junio de 2002²³ y diciembre de 2002²⁴, en tanto que la presente revisión actualizada incluyó estudios publicados hasta junio de 2004; de este modo incorpora respectivamente 8 y 6 nuevos ECA.

Estudios observacionales no controlados indican que la metformina restablece las menstruaciones normales en aproximadamente el 62% de las mujeres con SOP que presentan oligomenorrea o amenorrea por un período de entre uno y veinticuatro meses; la mayoría de los estudios tienen una duración de 6 meses²³. Sin embargo, el metaanálisis de Lord y col.⁹ no muestra que la metformina sea superior al placebo en cuanto al restablecimiento de las menstruaciones normales en las mujeres en tratamiento, aunque sí define una tendencia a favor del grupo en tratamiento con metformina, que casi alcanza significación estadística. El pequeño tamaño de las muestras en cada uno de los dos ensayos y la gran diferencia en los porcentajes de mujeres con SOP que experimentaron el restablecimiento de sus menstruaciones normales con la metformina, en comparación con el grupo placebo, sugieren que la falta de poder estadístico es la explicación más probable para estos hallazgos²⁶⁻²⁹.

En las dos revisiones sistemáticas previas^{23,24} se confirmaron nuestros hallazgos de un incremento en el índice de ovulación entre las pacientes en tratamiento con metformina durante uno a cuatro meses; se observa un índice de ovulación del 60% en las mujeres con SOP en los estudios no controlados y de 46% en los ECA. Las variaciones de los resultados entre los estudios observacionales y los ECA podrían ser explicadas por las

diferencias, tanto conocidas como desconocidas, de importantes variables de valor pronóstico en las pacientes de las respectivas poblaciones, y por la mayor duración de los tratamientos en los estudios de observación. Además, sólo pocos ECA consiguen resultados tan buenos como los obtenidos en estudios observacionales o colecciones de registros³⁰.

Se debe ser cauto al interpretar los índices de embarazo y de recién nacidos vivos en las mujeres en tratamiento aislado con metformina, dado que ningún ensayo tuvo un criterio de valoración tal como una cuantificación de los resultados primarios; sólo cuatro de los siete ensayos que evaluaban el índice de embarazos excluyeron la infertilidad tubárica (trompas de Falopio) o masculina asociadas, en tanto que cinco de los siete ensayos tuvieron una duración menor a cuatro meses.

Un tema de gran debate es el uso de la metformina durante el embarazo. Y si bien todavía hace falta recabar mucha información, consideramos de interés reportar que en nuestra población con SOP, que dieron a luz bajo tratamiento con metformina, experimentaron resultados obstétricos comparables a la población general. Dado el bajo número de casos analizados, no fue objetivo de este trabajo analizar el rol de la metformina durante el embarazo. Quedará en manos de próximas publicaciones encontrar la asociación entre la metformina y la aparente mejoría de la tasa de aborto.

Con esto no se trata de desplazar el uso de las gonadotropinas para la inducción de la ovulación, sino apuntar a una mejoría metabólica inicial, en otro momento terapéutico mucho más precoz, es decir, como primera línea³¹. De tal manera, se podría plantear un terreno de respuesta superior en quienes deban alcanzar la inducción de la ovulación con gonadotropinas³².

Conclusión

La metformina parece mostrar una concreta utilidad en el manejo de las pacientes con SOP, no obesas, no insulinoresistentes, en cuanto a la alta tasa de recuperación del ciclo menstrual, tasa de ovulación y tasa de embarazo, con buena tolerancia durante el mismo, e inclusive sin asociación con otras patologías obstétricas. Esta experiencia da lugar al desafío de interpretar los mecanismos de acción de la metformina aun no descritos, inspirando una nueva línea de investigación.

Bibliografía

1. Frank S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995;333:853-61
2. Homburg R. Polycystic ovary syndrome - from gynaecological curiosity to multisystem endocrinopathy. *Hum Reprod* 1996;11:29-39.
3. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997;18:774-800.
4. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989;38:1165-74.
5. Balen A. Endocrine methods of ovulation induction. *Bail Clin Obstet and Gynaecol* 1998;12:521-539
6. Nestler JE, Stovall D, Akhter N, Iuorno MJ, Jakubowicz MJ. Strategies for the use of insulin-sensitizing drugs to treat infertility in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;77:209-15.
7. Dunn CJ, Peters DH. Metformin: a review of its pharmacological properties and therapeutic uses in non-insulin dependent diabetes. *Drugs* 1995;49:721-49.
8. Nestler JE. Clomid versus metformin for ovulation induction - let's not have any "hanging chads". *Fert Steril* 2002;78:653-654.
9. Kocak M, Caliskan E, Simsir C, Haberal A. Metformin therapy improves ovulatory rates, cervical scores, and pregnancy rates in clomiphene citrate-resistant women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;77:101-6
10. Sahin Y, Yirmibes U, Kelestimur F, Aygen E. The effects of metformin on insulin resistance, clomiphene-induced ovulation and pregnancy rates in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol & Reprod Biol* 2004;113:214-220
11. Ramzy A-M, El-Kateb S, Al-Inany H, Badie MA, Aboulmaaty Z. The use of metformin in overweight and lean infertile patients with polycystic ovarian syndrome: A randomized controlled trial. *Middle East Fertil Society J* 2003;8:143-149
12. Malkawi HY, Qublan HS. The effect of metformin plus clomiphene citrate on ovulation and pregnancy rates in clomiphene-resistant women with polycystic ovary syndrome. *Saudi Med J* 2002; 23:663-6
13. Nestler JE, Jakubowicz DJ, Evans WS, Pasquali R. Effects of metformin on spontaneous and clomiphene-induced ovulation in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1998;338:1876-80
14. Ng EH, Wat NM, Ho PC. Effects of metformin on ovulation rate, hormonal and metabolic profiles in women with clomiphene-resistant polycystic ovaries: a randomized, double-blinded placebo-controlled trial. *Hum Reprod* 2001;16:1625-31
15. Vandermolen DT, Ratts VS, Evans WS, Stovall DW, Kauma SW, Nestler JE. Metformin increases the ovulatory rate and pregnancy rate from clomiphene citrate in patients with polycystic ovary syndrome who are resistant to clomiphene citrate alone. *Fertil Steril* 2001;75:310-5
16. 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. *Fertil Steril* 2004;81(1):19-25
17. Helliwell JP, Bonpane CM, Katz S, Khorram O. Short courses of metformin alter the endocrine profile of patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003;80 (Suppl. 3) S44
18. Hughes EG. Systematic literature review and meta-analysis. *Semin in Reprod Endocrin* 1996;14:161-169
19. Chou KH, von Eye Corleta H, Capp E, Spritzer PM. Clinical, metabolic and endocrine parameters in response to metformin in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind and placebo-controlled trial. *Horm Metab Res* 2003;35:86-91
20. El-Biely MM, Habba M. The use of metformin to augment the induction of ovulation in obese infertile patients with polycystic ovary syndrome. *Middle East Fertil Society J* 2001;6:43-49
21. Fleming R, Hopkinson ZE, Wallace AM, Greer IA, Sattar N. Ovarian function and metabolic factors in women with oligomenorrhea treated with metformin in a randomized double blind placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:569-74
22. Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, Zanolin E, Muggeo M. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:139-46

23. Costello MF, Eden JA. A systematic review of the reproductive system effects of metformin in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003;79:1-13
24. Lord JM, Flight IHK, Norman RJ. Insulin-sensitising drugs (metformin, troglitazone, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for polycystic ovary syndrome (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library, Issue 2, 2004*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
25. Lord JM, Flight IH, Norman RJ. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2003;327:951-3.
26. Guyatt GH, Sackett DL, Cook DJ. Users' Guides to the Medical Literature: II. How to Use an Article About Therapy or Prevention: A. Are the Results of the Study Valid?. *JAMA* 1993;270:2598-2601
27. Chalmers TC, Smith H Jr, Blackburn B et al. A method for assessing the quality of a randomized control trial. *Controlled Clin Trials* 1981;2:31-49.
28. Thompson SG, Pocock SJ. Can meta-analyses be trusted *Lancet* 1991;338:1127-1130
29. Dickersin K, Chan S, Chalmers TC, Sacks HS, Smith H Jr. Publication bias and clinical trials. *Controlled Clin Trials* 1987; 8: 343-353
30. Collins J. Stimulated intra-uterine insemination is not a natural choice for the treatment of unexplained subfertility: Current best evidence for the advanced treatment of unexplained subfertility. *Hum Reprod* 2003;18:907-912
31. Yarali H, Bukulmez O, Gurgan T. Urinary follicle-stimulating hormone (FSH) versus recombinant FSH in clomiphene citrate-resistant, normogonadotropic, chronic anovulation: a prospective randomized study. *Fertil Steril* 1999;72:276-81
32. Kjøtroed SB, von Düring V, Carlsen SM. Metformin treatment before IVF/ICSI in women with polycystic ovary syndrome; a prospective, randomized, double blind study. *Hum Reprod* 2003;19:1315-1322.