

Expresión y función de los glucotransportadores en el endometrio humano: efecto del síndrome de ovario poliquístico y el tratamiento con metformina

Glucotransporters expression and function in the human endometrium from normal and polycystic ovary syndrome women: Effect of metformin treatment

^{1,2}Dra. María Carolina Pustovrh, ²Dr. Claudio Villarroel, ²Bioq. Claudia Arriagada, ²T. Med. Alex Muñoz, ²T. Med. Paulina Koben, ²Dr. Luigi Devoto

¹Laboratorio de Biología del Desarrollo, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE-CONICET-UBA), Buenos Aires, Argentina.

²Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Hospital San Borja Arriarán, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Contacto: Dra. María Carolina Pustovrh, Investigadora Asistente CONICET

Laboratorio de Biología del Desarrollo, Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires

Ciudad Universitaria, Pabellón II, 4° piso, (C1428EHA) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

E-mail: carolinapustovrh@yahoo.com.ar

Resumen

Con el objetivo de evaluar la expresión y función de GLUT1 y GLUT4 en el endometrio de: mujeres control (C) en diferentes fases del ciclo menstrual, SOP con insulinoresistencia (IR) o sin ella y SOP-IR tratadas con metformina (M), se obtuvo endometrio de mujeres con fertilidad comprobada que se sometieron a salpingogadadura (C), mujeres SOP anovulatorias con IR o sin ella y SOP-IR que recibieron 1700 mg/día de M durante 2 años. Se evaluó la expresión de GLUT por qRT-PCR e inmunohistoquímica. Se estudió el transporte de glucosa por incorporación de 2-desoxi-[³H]-glucosa (2-DG) en condiciones basales y bajo estímulo de insulina (100 ng/ml). En endometrio secretor C, la expresión de GLUT1 aumentó y la de GLUT4 disminuyó comparado con el grupo proliferativo ($p < 0,01$ y $p < 0,05$). Los niveles de GLUT4 y el transporte basal de 2-DG se encontró reducido en SOP-IR ($p < 0,05$). La insulina aumentó la captación basal de 2-DG en los endometrios proliferativos C ($p < 0,02$), SOP-nIR ($p < 0,05$) y SOP-IRM ($p < 0,001$), y fue incapaz de estimular la incorporación de glucosa en el endometrio SOP-IR y secretor C. Estos resultados indican que existe una dinámica fisiológica en la expresión de los GLUT en el endometrio control. El GLUT1 fue preponderante en la fase secretora. El endometrio de mujeres SOP-IR es resistente a la acción de la insulina. Esta resistencia estaría asociada a la disminución en la expresión de GLUT4. La metformina es capaz de incrementar la expresión de este transportador, recuperando la capacidad moduladora de insulina sobre la captación de glucosa en el endometrio de pacientes SOP-IR.

Palabras clave: síndrome de ovario poliquístico, resistencia a la insulina, GLUT1, GLUT4, metformina, endometrio.

Abstract

In order to evaluate the expression and function of GLUT1 and GLUT4 in the endometrium: women in different phases of the menstrual cycle, PCOS with or without insulin resistance (IR) and PCOS-IR treated with metformin (IRM). Endometrium was obtained from fertile women underwent tubal sterilization (C), anovulatory PCOS women with or without IR and PCOS-IR who received 1700 mg daily of M for two years. GLUTs expression was evaluated by qRT-PCR and immunohistochemistry. Glucose uptake was assessed by incorporation of 2-desoxy-[³H]-glucose (2-DG) in both basal condition and under insulin stimulation (100 ng/ml). In C secretory endometrium GLUT1 expression was increased and GLUT4 was decreased compared with proliferative group ($p < 0.01$ and $p < 0.05$). GLUT4 level and basal 2-DG uptake were reduced in PCO-IR ($p < 0.05$). Insulin increased basal 2-DG uptake in C proliferative endometrium ($p < 0.02$), PCOS nIR ($p < 0.05$) and PCOS-IRM ($p < 0.001$), being unable to stimulate glucose incorporation in both PCOS-IR and C secretory endometrium. These results suggest a physiological dynamics of GLUTs expression in normal endometrium. GLUT1 is the predominant form in secretory phase. Endometrium of women with PCOS-IR displayed insulin resistance. The decreased expression of GLUT4 is a feature of IR at the endometrial level. Metformin increases the expres-

sion of this transporter, recovering the function of insulin on glucose uptake in PCOS-IR endometrium.

Keywords: *polycystic ovary syndrome, insulin resistance, GLUT1, GLUT4, metformin, endometrium.*

Introducción

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es uno de los desórdenes metabólicos más comunes en la edad reproductiva. El 5-12% de las mujeres que presentan hiperandrogenismo, anovulación crónica e infertilidad, están afectadas por SOP¹⁻³. Este síndrome se caracteriza por presentar una variedad de fenotipos clínicos y bioquímicos como hipersecreción de LH, hiperandrogenismo, producción acíclica de estrógeno, disminución de la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG), y entre el 40-50% de los casos asociados con hiperinsulinemia, resistencia a la insulina y obesidad⁴⁻⁶. El SOP impacta fuertemente sobre la fertilidad, no sólo afectando la ovulación, sino también por estar asociado a un alto índice de abortos espontáneos⁷.

Los insulinosensibilizadores, particularmente la metformina, han sido introducidos como una opción terapéutica en el tratamiento de este síndrome^{8,9}. Distintos estudios han demostrado que la metformina no solo mejora la resistencia insulínica, sino que además actuaría sobre los parámetros endocrinos, la ovulación y la receptividad endometrial^{10,11}.

La insulina puede causar alteraciones en el endometrio de manera indirecta afectando la producción de estradiol, progesterona y andrógenos a nivel ovárico^{12,13}, pero a su vez esta hormona puede regular directamente la función endometrial modificando la expresión génica, la síntesis de proteínas, la división celular y el transporte de glucosa^{14,15}.

El correcto metabolismo de la glucosa es un paso importante en el establecimiento de un endometrio receptivo y nutricionalmente propicio para la implantación. Su importancia se ve reflejada en el almacenamiento de glucógeno en las células endometriales, tanto durante la fase proliferativa como a mediados de la fase secretora. Se ha descrito también la asociación de un intenso metabolismo de la glucosa a los procesos de proliferación y diferenciación de las células endometriales, decidualización de las células estromales y la implantación temprana¹⁶. Las proteínas transportadoras de glucosa (GLUT) son las encargadas de regular el movimiento de este azúcar entre el compartimiento extracelular e intracelular, manteniendo una fuente constante de glucosa disponible para el metabolismo^{17,18}. Actualmente, se encuentran descritos 14 miembros que conforman la familia de los transportadores de glucosa, de los cuales GLUT-1, GLUT-3 y GLUT-4 se expresan en el endometrio humano^{16,19}. Estos transportadores varían en su

grado de afinidad por la glucosa, y el GLUT-1 es responsable del pasaje y almacenamiento basal de este azúcar en todas las células²⁰. El GLUT-3 es un transportador de alta afinidad abundante en aquellos tejidos que presentan un alto requerimiento de glucosa, como son cerebro, testículo y placenta²¹⁻²³. El GLUT-4 es el más importante de los transportadores insulino-dependientes, regula el pasaje rápido de glucosa desde el plasma sanguíneo hacia las células del músculo esquelético y cardíaco, los adipocitos y las células placentarias^{20,24,25}.

Hasta el momento, la información sobre los GLUT en endometrio humano muestra que en fase secretora se produce un aumento del ARNm de GLUT-1, y que la inhibición de la actividad de los GLUT afecta la decidualización de las células estromales^{16,26}. Estos antecedentes apuntan a la existencia de una relación directa entre la expresión de los GLUT y la funcionalidad del endometrio.

En pacientes SOP insulino-resistentes, se ha determinado una menor expresión de GLUT-4 a nivel endometrial^{19,27,28}, coincidente con los estudios realizados en músculo esquelético y tejido adiposo, blancos clásicos de la resistencia a insulina^{29,30}.

El presente estudio tiene por objetivo evaluar la expresión y función de GLUT-1 y GLUT-4 en el endometrio de mujeres control en diferentes fases del ciclo menstrual, en mujeres SOP con insulino-resistencia o sin ella y en mujeres SOP insulino-resistentes tratadas con metformina.

Materiales y métodos

Población

En este estudio participaron 34 mujeres en edad reproductiva: 14 mujeres con fertilidad probada, ovulatorias sin hiperandrogenismo ni resistencia insulínica (control) y 20 mujeres portadoras de SOP según los Criterios de Rotterdam. Las mujeres SOP fueron divididas en 3 grupos: SOP no insulino-resistente (SOP-nIR; n=6), SOP insulino-resistente (SOP-IR; n=8) y SOP insulino-resistente en tratamiento con 1700 mg/día de metformina por un período de 24 meses (metformina; n=6). El protocolo fue aprobado por el comité de ética del Hospital Clínico San Borja Arriarán, de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki.

Metodología

Las voluntarias fueron sometidas a una evaluación clínica que incluyó: medidas antropométricas, Score de Ferriman Gallway, presencia de acné, seborrea y acantosis *nigricans*. Se realizó además: evaluación ecográfica, determinaciones de testosterona total, SHBG, insulina y glucemia en ayunas en fase folicular temprana.

na en mujeres ovulatorias y en cualquier momento de la consulta en mujeres anovulatorias. En todos los casos, se calculó el índice de andrógenos libre y QUICKI.

Con el fin de analizar la expresión y función de los GLUT en el ciclo menstrual normal: el tejido endometrial del grupo control fue obtenido en fase proliferativa (días 10-15 del ciclo menstrual, n=8) y en fase secretora (16-22 días, n=6).

Para estudiar la expresión y función de los GLUT en endometrio de mujeres afectadas por SOP, se procedió a tomar la muestra del tejido siempre en fase proliferativa en el caso de pacientes SOP ovulatorias (grupo SOP-IR metformina), dado que las muestras obtenidas de endometrio de las pacientes SOP anovulatorias (SOP-nIR y SOP-IR) presentaron de manera constante características histológicas comparables con la fase proliferativa del ciclo menstrual.

En todos los casos, el endometrio fue obtenido por biopsia y rápidamente lavado dos veces en PBS frío, pesado, fraccionado y congelado a -80 °C para las posteriores determinaciones.

RT-PCR en tiempo real

Se extrajo ARNm de los endometrios para el estudio de expresión de los glucotransportadores por medio de la técnica de PCR en tiempo real, utilizando partidores específicos para GLUT1: 5'ACT GCT CAA GAA GAC ATG GAC AC 3' / 5' TTT AGG TAA GTA ACA GGA GTA AGG 3'. GLUT 4: 5' TGC AGT TTG GGT ACA ACA TTG 3' / 5' ATG AGG AAGGAG GAA ATC ATG 3' y GAPDH como transcripto de referencia. Los cálculos en cuantificación relativa de expresión genética se determinaron empleando el método de 2 delta-delta Ct.

Inmunohistoquímica

La expresión de la proteína GLUT-4 fue evaluada por medio de la técnica de inmunohistoquímica, para lo cual el tejido fue fijado en formol 10% y posteriormente incluido en parafina. Los controles negativos se realizaron por omisión del anticuerpo primario. La intensidad de la marca fue evaluada por medio del programa IMAGE PRO-PLUS. Estos tejidos, además, fueron analizados por un anatomopatólogo para la determinación del fechaje endometrial.

Incorporación de 2-desoxi-glucosa tritiada

El análisis del transporte de glucosa endometrial fue realizado en explantes de 10 mg de tejido. Los explantes fueron cultivados a 37 °C y 5% de CO₂ por dos horas en un medio libre de insulina. A continuación, fueron lavados 2 veces con KRH (50 mM HEPES, 136 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1,25 mM MgSO₄, 1,25 mM CaCl₂ a pH 7,4) + 0,1% BSA para eliminar los restos de me-

dio de cultivo y se les adicionó 5 µl de 2-desoxi-glucosa tritiada (2-DG) por 1 h, bajo tres condiciones diferentes: basal (medio sin estímulos), insulina (medio adicionado con insulina 100 ng/ml) y citocalasina (citoK 10 µM; inhibidor específico de los GLUT). La actividad específica de 2-DG incorporada por el tejido fue medida en contador de centelleo líquido por duplicado y expresada en nmol por mg de proteínas.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados empleando los métodos estadísticos t-test y análisis de la varianza de una vía (ANOVA), según correspondiera. Se consideró resultado con diferencia estadística significativa cuando los valores presentaron un p≤0,05.

Resultados

Las características clínicas y endocrinológicas de las mujeres control, y de las pacientes SOP-nIR, IR e IR tratadas con metformina se describen en la Tabla 1. Al comparar los grupos de estudio, se puede observar una menor edad de las pacientes SOP-IR en comparación con el grupo de las mujeres control (p<0,05). El índice de masa corporal (IMC) fue mayor en los grupos SOP-IR y SOP-IR metformina (p<0,05, respectivamente) comparados con los grupos proliferativo control y SOP-nIR. Los resultados de los parámetros de hiperandrogenismo bioquímico mostraron que las pacientes de los grupos SOP presentan mayores niveles de testosterona comparadas con las del grupo proliferativo control (p<0,05). Los niveles de SHBG aumentaron en el grupos SOP-IR en comparación con el grupo control (p<0,05), mientras que el índice de andrógenos libres (IAL) se presentó elevado en todos los grupos SOP (SOP-nIR: p<0,05, SOP-IR: p<0,001 y SOP-IR metformina: p<0,01, respectivamente vs. control). Los niveles de glucosa basal no mostraron diferencias entre los grupos. Sin embargo, las concentraciones de insulina basal fueron significativamente mayores en el grupo de pacientes SOP-IR comparado con SOP-nIR y proliferativo control (p<0,05). Por último, el índice cuantitativo de sensibilidad a la insulina (QUICKI) se encontró disminuido en las pacientes SOP-IR (p<0,05 vs. control; p<0,01 vs. SOP-nIR y SOP-IR metformina).

Expresión de GLUT-1 y GLUT-4 en el endometrio

La expresión de los mensajeros de GLUT-1 y GLUT-4 fue evaluada por medio de PCR en tiempo real. En el endometrio de mujeres control en fase secretora, los niveles de ARNm del transportador GLUT-1 se encontraron significativamente elevados respecto a la fase proliferativa (p<0,01) (Figura 1A). Por el contrario, los niveles de expresión del mensajero de

	Proliferativo Control	Secretor Control	SOP nIR	SOP IR	SOP Metformina
Edad (años)	38,0 ± 2,6 ^a	35,0 ± 1,2	28,8 ± 2,3	27,2 ± 2,6 ^{a*}	30,6 ± 2,1
IMC (Kg/m ²)	24,3 ± 1,1 ^a	24,7 ± 0,6	24,2 ± 0,5 ^b	29,6 ± 2,3 ^{ab*}	30,3 ± 1,2 ^{ab*}
Testosterona (nmol/L)	1,28 ± 0,15 ^a	1,84 ± 0,28	2,14 ± 0,29 ^{a*}	2,50 ± 0,24 ^{a**}	2,20 ± 0,46 ^{a*}
SHBG (nmol/L)	52,69 ± 7,47 ^a	58,95 ± 4,04	36,7 ± 5,97	30,15 ± 2,40 ^{a*}	33,56 ± 3,55
IAL (%)	2,43 ± 0,68 ^a	2,82 ± 0,12	5,95 ± 0,79 ^{a*}	8,3 ± 0,76 ^{a***}	6,92 ± 1,46 ^{a**}
Glucosa basal (nmol/l)	3,9 ± 0,3	4,7 ± 0,2	4,9 ± 0,3	4,7 ± 0,1	4,8 ± 0,4
Insulina basal (pmol/L)	54,0 ± 14,8 ^a	60,8 ± 4,4	48,7 ± 8,0 ^b	126,1 ± 24,5 ^{ab*}	98,9 ± 14,5
QUICKI	0,39 ± 0,02 ^{a*}	0,39 ± 0,01	0,38 ± 0,01 ^{b**}	0,32 ± 0,01 ^{abc}	0,37 ± 0,01 ^{c**}
N	8	6	6	8	6

TABLA 1. Características clínicas y endocrinológicas de las mujeres control y SOP.

Índice de masa corporal (IMC): peso/altura². Índice de andrógeno libre (IAL): (testosterona x 3,467/SHBG) x 100. QUICKI: Índice cuantitativo de sensibilidad insulínica= 1/(log insulina en ayunas + log glucosa en ayunas). Los datos se representan como la mediana ± EEM. Análisis estadístico: ANOVA de una vía seguido por Tukey. Superíndices: las letras denotan los grupos comparados, y los asteriscos, el grado de significancia. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

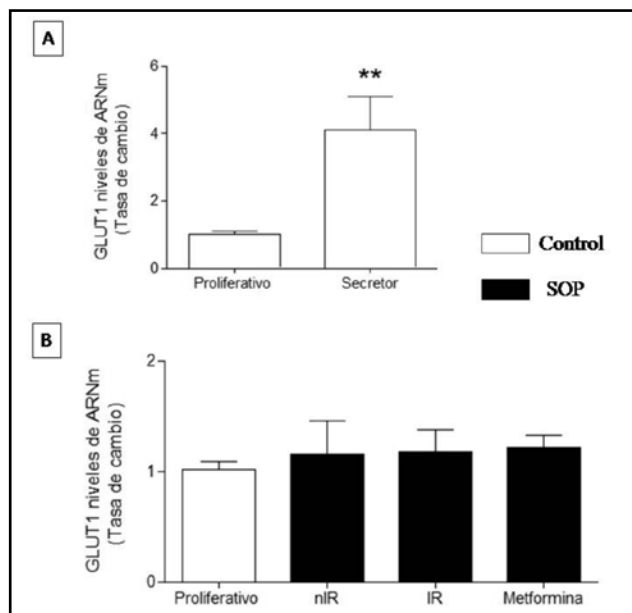


FIGURA 1. Expresión de GLUT-1 en el endometrio.

Evaluación de los niveles de GLUT-1 por RT-PCR en tiempo real. A) Expresión de GLUT-1 en endometrio control. Endometrio proliferativo (n=8) y endometrio secretor (n=6). B) Expresión de GLUT-1 en endometrio de pacientes SOP. Endometrio de mujeres SOP sin insulinoresistencia (nIR; n=6), endometrio de mujeres SOP insulinoresistentes (IR; n=8) y endometrio de mujeres SOP insulinoresistentes tratadas con metformina (metformina; n=6). Los datos representan la mediana ± EEM. **p<0,01 vs. proliferativo control.

GLUT-4 se presentaron disminuidos en esta fase en comparación con el endometrio en fase proliferativa (p<0,05) (Figura 2A).

Así resultó que en los endometrios de pacientes SOP, ninguno de los grupos evaluados mostró cambios en la expresión del mensajero de GLUT-1 comparado con el endometrio del grupo control en fase proliferativa (Figura 1B).

Por otra parte, los niveles de expresión del transportador GLUT-4 no presentaron diferencias significativas entre los grupos SOP-nIR y proliferativo control. Sin embargo, el mensajero de GLUT-4 mostró una fuerte disminución en los niveles de expresión en el endometrio de mujeres SOP-IR comparado con el endometrio proliferativo control (p<0,02) y el endometrio SOP-nIR (p<0,001). De manera interesante, el endometrio de mujeres SOP-IR bajo tratamiento con metformina presentó un incremento significativo de la expresión del mensajero de GLUT-4 comparado con el endometrio del grupo SOP-IR (p<0,05) (Figura 2B).

Para determinar el significado funcional de estos cambios en la expresión de GLUT-4 (transportador modulado por insulina), se procedió a analizar la localización de la proteína y su funcionalidad por medio del estudio de captación de glucosa tritiada.

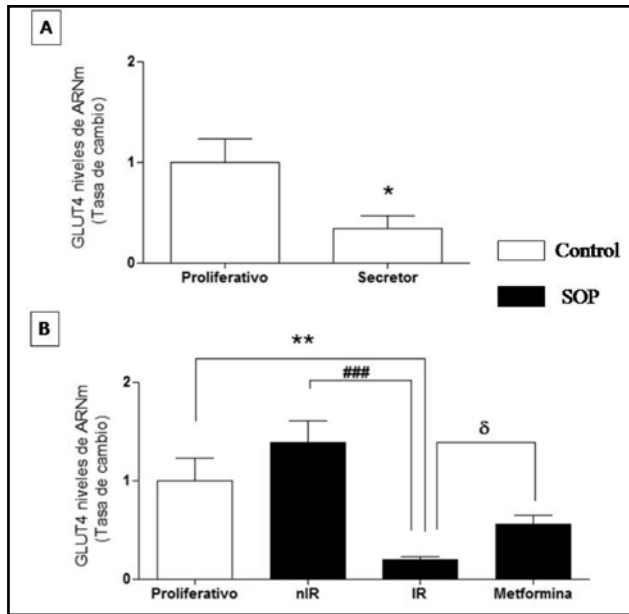


FIGURA 2. Expresión de GLUT-4 en el endometrio. Evaluación de los niveles de GLUT-4 por RT-PCR en tiempo real. A) Expresión de GLUT-4 en endometrio control. Endometrio proliferativo (n=8) y endometrio secretor (n=6). B) Expresión de GLUT-4 en endometrio de pacientes SOP. Endometrio de mujeres SOP sin insulinoresistencia (nIR; n=6), endometrio de mujeres SOP insulinoresistentes (IR; n=8) y endometrio de mujeres SOP insulinoresistentes tratadas con metformina (metformina; n=6). Los datos representan la mediana \pm EEM. * $p < 0,05$ y ** $p < 0,02$ vs. proliferativo control. ### $p < 0,001$ vs. SOP-nIR y $\delta p < 0,05$ vs. SOP-IR.

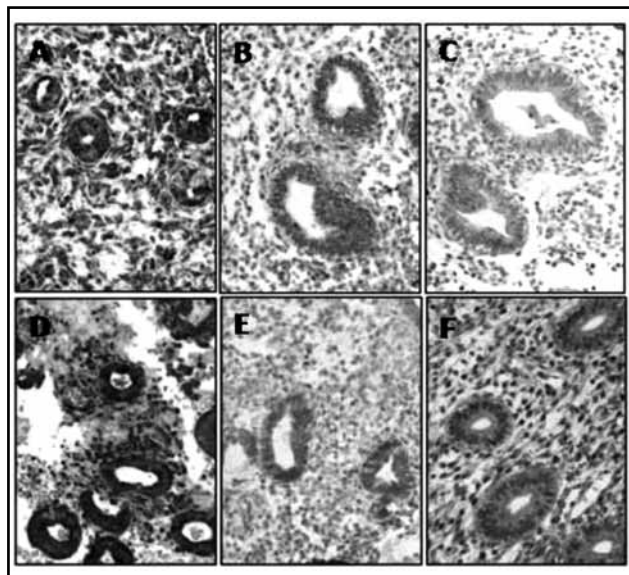


FIGURA 3. Inmunomarcación de GLUT-4 en el endometrio. A) Endometrio control fase proliferativa. B) Endometrio control fase secretora. C) Control negativo por omisión de anticuerpo primario. D) Endometrio de mujeres SOP no insulinoresistentes. E) Endometrio de mujeres SOP insulinoresistentes. F) Endometrio de mujeres SOP insulinoresistentes que recibieron una dosis diaria de 1700 mg de metformina durante dos años. A: 20X.

Localización de GLUT-4 en el endometrio

La localización de la proteína GLUT-4 fue estudiada mediante la técnica de inmunomarcación. El GLUT-4 se encontró presente tanto en la glándula como en el estroma endometrial y mostró una mayor inmunoreactividad en endometrio de fase proliferativa comparado con el endometrio secretor del grupo de mujeres control (Figuras 3A y B). El endometrio de pacientes SOP-IR presentó una importante disminución de la inmunoreactividad de GLUT-4 comparado con el endometrio proliferativo de mujeres control (Figura 3E); estos cambios no fueron observados en el endometrio de pacientes SOP-nIR (Figura 3D). De manera interesante, el endometrio de mujeres SOP-IR que recibieron tratamiento con metformina durante dos años presentó un aumento en la expresión proteica de GLUT-4 comparado con los endometrios de mujeres SOP-IR (Figura 3F).

Efecto de la insulina sobre la captación de glucosa en el endometrio

Para analizar la funcionalidad de los glucotransportadores en el endometrio de mujeres control y SOP, se evaluó la captación de 2-DG en condiciones basales y bajo el estímulo de insulina, señal activadora de GLUT-4.

Los niveles de captación basal de 2-DG en los endometrios control en fase proliferativa y secretora no presentaron diferencias significativas. Sin embargo, mientras que la insulina fue capaz de estimular significativamente la incorporación celular de 2-DG en el endometrio proliferativo ($p < 0,02$), no provocó cambios en el endometrio secretor (Figura 4). El transporte basal de 2-DG en los endometrios de pacientes SOP se presentó disminuido solo en el grupo SOP-IR en comparación con el endometrio proliferativo control ($p < 0,05$).

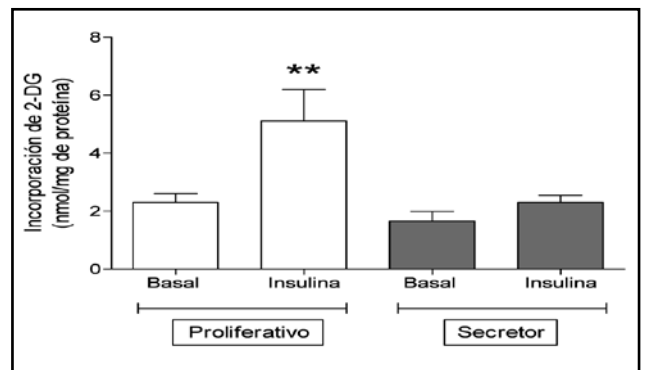


FIGURA 4. Captación de glucosa tritiada en endometrio de mujeres control.

El tejido endometrial proliferativo (n=8) y secretor (n=6) fue incubado con 2-desoxi-glucosa tritiada (2-DG) durante 1 h en condiciones: basal (sin adición) e insulina (insulina 100 ng/ml). Los datos representan la mediana \pm EEM. ** $p < 0,02$ vs. basal proliferativo.

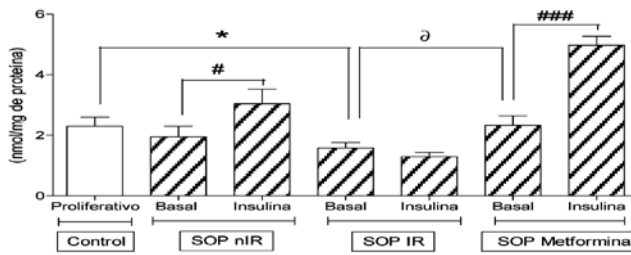


FIGURA 5. Captación de glucosa tritiada en endometrio de mujeres SOP.

El tejido endometrial de mujeres SOP no insulinoresistentes (SOP-nIR; n=6), SOP insulinoresistentes (IR; n=8) y SOP insulinoresistentes bajo tratamiento con metformina durante dos años (metformina; n=6) fue incubado con 2-desoxi-glucosa tritiada (2-DG) durante 1 h en condiciones: basal (sin adición) e insulina (insulina 100 ng/ml). Los datos representan la mediana \pm EEM. * $p < 0,05$ vs. proliferativo. # $p < 0,05$ vs. basal SOP nIR. dp $< 0,05$ vs. basal SOP IR. ### $p < 0,001$ vs. basal metformina.

El endometrio de las pacientes SOP-nIR mostró un aumento en la captación de 2-DG estimulada por insulina ($p < 0,05$), este efecto de la hormona no se observó en los endometrios SOP-IR. Sin embargo, el endometrio de pacientes SOP-IR que fueron tratadas por un período de dos años con metformina mostró un aumento significativo en el transporte basal de 2-DG comparado con el grupo SOP-IR ($p < 0,05$). Además, en este grupo, la insulina fue capaz de estimular de manera positiva la captación de glucosa ($p < 0,001$ comparado con su respectivo basal) (Figura 5).

En todos los grupos, la adición al medio de transporte de citocalasina 10 μ M produjo una inhibición significativa del transporte de 2-DG (datos no mostrados).

Discusión

El correcto metabolismo de la glucosa es un paso importante en el establecimiento de un endometrio receptivo y nutricionalmente propicio para la implantación. Este trabajo muestra que los niveles del mensajero de GLUT-1 aumentan en el endometrio secretor del grupo control, concordando con los estudios realizados en endometrio humano por Strowitzki y von Wolff^{16, 26}. Estudios desarrollados en ratas muestran que los niveles de ARNm de GLUT-1 aumentan en el sitio de implantación y alcanzan su máxima expresión en las células estromales durante la decidualización³¹. En humanos, la disminución de la expresión de GLUT-1 en el endometrio se asocia con infertilidad idiopática. Así también, se ha observado que la inhibición de los transportadores de glucosa conduce a la detención del proceso de decidualización de células endometriales en cultivo¹⁶. Estos resultados sugieren que la correcta expresión y función

de las proteínas transportadoras de glucosa se encontrarían fuertemente relacionadas con el establecimiento de un endometrio receptivo. Los niveles de ARNm y de la proteína de GLUT-4, transportador insulino dependiente, disminuyeron en el endometrio secretor control. Este hecho se ve acompañado con la pérdida de modulación de la insulina sobre el transporte de glucosa del endometrio en esta fase, lo que realza el papel de GLUT-1, transportador no insulino dependiente, como pieza clave para mantener un aporte de glucosa constante en la fase secretora del ciclo menstrual.

Amplios estudios demuestran que el músculo esquelético y el tejido adiposo, blancos clásicos de la resistencia a insulina en pacientes SOP y diabéticas tipo 2, presentan una menor incorporación de glucosa bajo estímulo de insulina, coincidente con una menor expresión de los glucotransportadores, en especial GLUT4^{30, 32}. Sin embargo, existe menor evidencia sobre la expresión y función de los glucotransportadores en tejidos menos clásicos, como lo es el endometrio de pacientes SOP. En el presente trabajo describimos que los niveles de GLUT-1 permanecen constantes en los diferentes grupos de pacientes SOP y no muestran diferencias con el endometrio proliferativo control, hallazgo que se repite en la expresión del transportador GLUT-4 en tejido endometrial de pacientes SOP-nIR. Por el contrario, en el endometrio de mujeres SOP-IR tanto la expresión del ARNm como de la proteína GLUT-4 sufren una marcada disminución. Esto sugiere que la sola condición de hiperandrogenismo no afectaría los niveles de los GLUT endometriales. En correspondencia con estos resultados, trabajos previos indican que la asociación del síndrome con obesidad y/o hiperinsulinemia conduce a diferentes grados de disminución de la expresión de GLUT-4 en el endometrio de mujeres SOP^{19, 27, 28}. Complementando estos estudios, evaluamos a través de la incorporación de 2-DG la funcionalidad de los transportadores en el endometrio. Nuestros resultados indican que las pacientes SOP-nIR, cuyos niveles de GLUT-4 se encuentran similares a los del endometrio proliferativo de las mujeres control, no presentan alteraciones en la captación de glucosa ni en su modulación por la insulina. Por el contrario, el transporte de glucosa basal en el endometrio de pacientes SOP-IR se encuentra disminuido y pierde la regulación por insulina, mostrando una característica clara de insulinoresistencia a nivel endometrial. Recientemente se ha demostrado que las vías de señalización de insulina en endometrio de pacientes SOP hiperinsulinémicas se encuentran alteradas. Los niveles de IRS-1, IRS-1 fosforilado y AS160 proteínas efectoras de la activación del receptor de insulina que culmina en la translocación de GLUT-4 a la membrana celular se encuentran disminuidas²⁸. De este modo, la combinación

**VIII CURSO SUPERIOR BIANUAL
DE ESPECIALIZACIÓN EN
ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA
Y REPRODUCTIVA 2011-2012**

Dirigido

a médicos con orientación gineco-endocrina.

Fecha de inicio

abril 2011.

Modalidad

clases mensuales teórico-prácticas. Talleres clínicos. Concurrencia hospitalaria. Evaluaciones parciales y finales. Presentación de monografías.

Duración

2 años, 204 horas presenciales.

Lugar

a definir en CABA. Horario: 8:30 a 17. Terceros viernes de cada mes.

Requisitos

selección previa (currículum y entrevista personal).

INFORMES

secretaria@saegre.com.ar - www.saegre.org.ar - 4961-0290/3859

de una menor expresión de GLUT-4 y las alteraciones en la señalización de movilización a la membrana serían los responsables de la disminución en la captación de glucosa basal e insulino dependiente observada en este tejido, lo que coloca al endometrio de estas pacientes en una clara deficiencia metabólica.

La metformina ha demostrado mejorar la fertilidad en pacientes SOP anovulatorias, no solo por recuperar la función ovulatoria, sino además por incrementar las tasas de embarazo y reducir la incidencia de abortos tempranos^{9, 33, 34}. En este estudio, demostramos que el tratamiento prolongado con metformina en pacientes SOP-IR determinó un aumento tanto en la expresión del mensajero como de la proteína GLUT-4, restableciendo la función reguladora de la insulina sobre la captación de glucosa en el endometrio. Estudios previos realizados en cultivos primarios de células epiteliales endometriales bajo efecto de altas concentraciones de testosterona muestran una disminución en la expresión del mensajero y la proteína tanto de IRS-1 como de GLUT-4. En estas células la administración de metformina *in vitro* produce una recuperación de ambas proteínas³⁵. Otros estudios en cultivo de células musculares humanas y adipocitos de rata sugieren que la metformina tiene una acción directa sobre el transporte de glucosa ya que puede inducir la translocación de GLUT-4 de las vesículas de reserva intracelular a la membrana plasmática^{36, 37}. En humanos, se demostró que la administración por un período de 6 meses de metformina en pacientes SOP mejora la expresión del ARNm de GLUT-4 en tejido adiposo³⁸.

En conclusión, existe una dinámica fisiológica en la expresión de GLUT-1 y GLUT-4 en el endometrio normal a lo largo del ciclo menstrual y el GLUT-1, transportador no insulino dependiente, adquiere un papel preponderante en la fase secretora del ciclo menstrual.

Por otra parte, el endometrio de las pacientes SOP-IR presenta una clara alteración en la expresión del GLUT-4 que conduce a deficiencias en la señalización de insulina. Entonces, la insulino resistencia se convierte en una característica que no se encuentra limitada solamente a los tejidos insulino resistentes convencionales, sino que afecta también a los tejidos reproductivos. Así, en el endometrio SOP-IR la presencia de una menor calidad metabólica podría comprometer el establecimiento y mantenimiento de la gestación conduciendo a un incremento en las pérdidas embrionarias precoces. Por último, la administración de metformina en mujeres con SOP asociado a IR sería capaz de restablecer la expresión y función de GLUT-4 en el endometrio de estas pacientes, lo que demuestra que esta droga tiene la capacidad de mejorar la resistencia local a la señal de insulina y producir un mejor estatus metabólico endometrial.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por Fogarty RFA-TW-05-002 y FONDAF 15010006.

Referencias

- Hull MG. Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: endocrinological and demographic studies. *Gynecol Endocrinol* 1987; 1(3):235-45.
- Solomon CG. The epidemiology of polycystic ovary syndrome. Prevalence and associated disease risks. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28(2):247-63.
- March WA y cols. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod* 2010; 25(2):544-51.
- Hirschberg AL. Polycystic ovary syndrome, obesity and reproductive implications. *Womens Health (Lond Engl)* 2009; 5(5):529-40; quiz 541-2.
- Vrbikova J, Hainer V. Obesity and polycystic ovary syndrome. *Obes Facts* 2009; 2(1):26-35.
- Dunaif A y cols. Characterization of groups of hyperandrogenic women with acanthosis nigricans, impaired glucose tolerance, and/or hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65(3):499-507.
- Essah PA, Cheang KI, Nestler JE. The pathophysiology of miscarriage in women with polycystic ovary syndrome. Review and proposed hypothesis of mechanisms involved. *Hormones (Athens)* 2004; 3(4):221-7.
- Diamanti-Kandarakis E y cols. Metformin: an old medication of new fashion: evolving new molecular mechanisms and clinical implications in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2010; 162(2):193-212.
- Tang T y cols. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (1):CD003053.
- Palomba S y cols. Evidence-based and potential benefits of metformin in the polycystic ovary syndrome: a comprehensive review. *Endocr Rev* 2009; 30(1):1-50.
- Jakubowicz DJ y cols. Insulin reduction with metformin increases luteal phase serum glycodelin and insulin-like growth factor-binding protein 1 concentrations and enhances uterine vascularity and blood flow in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(3):1126-33.
- Giudice LC. Endometrium in PCOS: Implantation and predisposition to endocrine CA. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006; 20(2):235-44.
- Maliqueo M y cols. Sex hormone-binding globulin expression in the endometria of women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2007; 87(2):321-8.
- Lathi RB y cols. Dose-dependent insulin regulation of insulin-like growth factor binding protein-1 in hu-

- man endometrial stromal cells is mediated by distinct signaling pathways. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(3):1599-606.
15. Lin J, Li R, Zhou J. The influence of insulin on secretion of IGF-I and IGFBP-I in cultures of human endometrial stromal cells. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116(2):301-4.
 16. von Wolff M y cols. Glucose transporter proteins (GLUT) in human endometrium: expression, regulation, and function throughout the menstrual cycle and in early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(8):3885-92.
 17. Joost HG, Thorens B. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). *Mol Membr Biol* 2001; 18(4):247-56.
 18. Scheepers A, Joost HG, Schurmann A. The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2004; 28(5):364-71.
 19. Mioni R y cols. Evidence for the presence of glucose transporter 4 in the endometrium and its regulation in polycystic ovary syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(8):4089-96.
 20. Mueckler M. Family of glucose-transporter genes. Implications for glucose homeostasis and diabetes. *Diabetes* 1990; 39(1):6-11.
 21. Maher F y cols. Expression of mouse-GLUT3 and human-GLUT3 glucose transporter proteins in brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 182(2):703-11.
 22. Burant CF, Davidson NO. GLUT3 glucose transporter isoform in rat testis: localization, effect of diabetes mellitus, and comparison to human testis. *Am J Physiol* 1994; 267(6 Pt 2):R1488-95.
 23. Hauguel-de Mouzon S y cols. The GLUT3 glucose transporter isoform is differentially expressed within human placental cell types. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(8):2689-94.
 24. Xing AY y cols. Unexpected expression of glucose transporter 4 in villous stromal cells of human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(11):4097-101.
 25. Bell GI y cols. Molecular biology of mammalian glucose transporters. *Diabetes Care* 1990; 13(3):198-208.
 26. Strowitzki T y cols. Expression of glucose transporter 1 in human endometrial and decidual tissue. *Gynecol Endocrinol* 2001; 15(3):219-24.
 27. Mozzanega B y cols. Obesity reduces the expression of GLUT4 in the endometrium of normoinsulinemic women affected by the polycystic ovary syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1034:364-74.
 28. Fornes R y cols. Changes in the expression of insulin signaling pathway molecules in endometria from polycystic ovary syndrome women with or without hyperinsulinemia. *Mol Med* 2010; 16(3-4):129-36.
 29. Gaster M y cols. GLUT4 is reduced in slow muscle fibers of type 2 diabetic patients: is insulin resistance in type 2 diabetes a slow, type 1 fiber disease? *Diabetes* 2001; 50(6):1324-9.
 30. Rosenbaum D, Haber RS, Dunaif A. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome: decreased expression of GLUT-4 glucose transporters in adipocytes. *Am J Physiol* 1993; 264(2 Pt 1):E197-202.
 31. Frolova A y cols. Facilitative glucose transporter type 1 is differentially regulated by progesterone and estrogen in murine and human endometrial stromal cells. *Endocrinology* 2009; 150(3):1512-20.
 32. Colomiere M, Permezel M, Lappas M. Diabetes and obesity during pregnancy alter insulin signalling and glucose transporter expression in maternal skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue. *J Mol Endocrinol* 2009.
 33. Palomba S y cols. Systemic and local effects of metformin administration in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS): relationship to the ovulatory response. *Hum Reprod* 2010; 25(4):1005-13.
 34. Vandermolen DT y cols. 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(2):310-5.
 35. Zhang L, Liao Q. Effects of testosterone and metformin on glucose metabolism in endometrium. *Fertil Steril* 2010; 93(7):2295-8.
 36. Sarabia V y cols. Glucose transport in human skeletal muscle cells in culture. Stimulation by insulin and metformin. *J Clin Invest* 1992; 90(4):1386-95.
 37. Matthaehi S y cols. Evidence that metformin increases insulin-stimulated glucose transport by potentiating insulin-induced translocation of glucose transporters from an intracellular pool to the cell surface in rat adipocytes. *Horm Metab Res Suppl* 1992; 26:34-41.
 38. Jensterle M y cols. Impact of metformin and rosiglitazone treatment on glucose transporter 4 mRNA expression in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2008; 158(6):793-801.