

### RESUMO

A glicose, principal fonte de energia celular, é transportada na maioria das células por difusão facilitada, através de proteínas transportadoras presentes na membrana plasmática. Está caracterizada a existência de uma família de transportadores (GLUT1-GLUT7), com características funcionais e distribuição tecidual distintas. Por outro lado, em epitélios intestinal e tubular renal, o transporte é contra gradiente e acoplado ao Na<sup>+</sup> na membrana apical das células através de cotransportadores (SGLT1-SGLT2), com posterior difusão para o interstício através de GLUTs presentes na membrana basolateral. As alterações fisiopatológicas do transporte de glicose passaram a ser investigadas através da análise dos transportadores, objetivando futuras abordagens preventivas ou terapêuticas. Uma mutação em um aminoácido do SGLT1 já foi descrita na malabsorção de glicose/galactose. Na glicosúria renal familiar, a participação do SGLT2 e do SGLT1 parece ser fundamental, seja por perda da capacidade de transporte, seja por diminuição na afinidade do transportador. A síndrome de De Vivo, descrita em recém-nascidos com quadro convulsivo, e hipoglicorraquia na vigência de normoglicemia, foi atribuída a uma redução no conteúdo de GLUT1, nas células endoteliais da barreira hematoencefálica. Extensas investigações têm sido conduzidas para avaliar o papel do GLUT4 em alterações de sensibilidade insulínica, tais como diabetes melito tipo 2 (DM2). Os estudos revelam que no DM2, o GLUT4 reduz-se dramaticamente o que desempenha um importante papel na resistência insulínica. Na obesidade, o conteúdo de GLUT4 não está diminuído enquanto a sensibilidade à insulina estiver preservada. É plausível propor-se que a modulação do GLUT4 seja acionada por uma conjunção de fatores que expressam a sensibilidade celular à insulina. Além disso, o DM altera o conteúdo de GLUT 1 e GLUT2 no túbulo renal, mas o papel dessa modulação no processo de reabsorção da glicose ainda é desconhecido. (*Arq Bras Endocrinol Metab* 1998;42/6:413-421).

**Unitermos:** Transporte de glicose; Transportadores de glicose; GLUT; SGLT; diabetes melito

### ABSTRACT

Glucose, the main source of energy in the cell, is transported in most cells through facilitated diffusion, by the transporter proteins present in the plasma membrane. These proteins constitute a family of transporters (GLUT1-GLUT7), with distinct functional features and tissue distribution. In epithelial tissues, such as intestine and renal tubule; however, glucose transport is against its gradient, and coupled to Na<sup>+</sup>, in the apical membrane of these cells through cotransporters (SGLT1-SGLT2), with posterior diffusion into the interstice through the GLUTs present in the basolateral membrane. Physiopathological changes in glucose transport started to be analysed through transporters with a view to future preventive or therapeutic approaches. Mutation in one amino acid of the SGLT1 has been described in glucose/galactose malabsorption. In familial renal glycosuria, the participation of SGLT2 and SGLT1 seems to

*Ubiratan Fabres Machado*

*Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo, Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, SP.*

*Recebido em 06/07/98  
Revisado em 30/09/98  
Aceito em 17/10/98*

be fundamental, either by loss of transport capacity or by decrease in the transporter affinity. De Vivo's syndrome, described in convulsive infants with hypoglycorrhachia during normoglycaemia, has been attributed to a reduction in the GLUT1 content in endothelial cells at the blood-brain barrier. Extensive studies have been conducted to assess the role of GLUT4 in changes related to insulin sensitivity, such as diabetes mellitus type 2 (DM2). These studies have revealed that, in DM2, the GLUT4 content is drastically reduced, playing an important role in insulin resistance. In obesity, the GLUT4 content is not diminished providing that insulin sensitivity is preserved. It is plausible to propose that the modulation of GLUT4 is triggered by a combination of factors indicating cellular sensitivity to insulin. In addition to that, DM changes the GLUT1 and GLUT2 contents in the renal tubule, but the role of this modulation during the process of glucose reabsorption is still unknown. (**Arq Bras Endocrinol Metab** 1998;42/6:413-421).

**Keywords:** Glucose transport; Glucose transporters; GLUT; SGLT; Diabetes mellitus

**A** GLICOSE É A PRINCIPAL FONTE de energia para todos os tipos celulares de mamíferos, nos quais é responsável pelo provimento de ATP tanto em condições aeróbicas como anaeróbicas. A glicose é uma molécula polar, insolúvel na membrana plasmática, e o seu transporte é realizado através de difusão facilitada, portanto a favor de seu gradiente de concentração, e dependente da presença de proteínas transportadoras (GLUTs) na superfície de todas as células. Além disso, em células epiteliais como as do intestino delgado e do túbulo renal, os processos de absorção e reabsorção respectivamente, ocorrem através de um processo de transporte acoplado ao íon sódio, o qual promove um transporte contra gradiente de concentração de glicose e a favor do gradiente de concentração de Na<sup>+</sup>, através de proteínas transportadoras (SGLTs) presentes no bordo em escova da célula epitelial. Nestas células, a glicose concentrada no intracelular difunde-se para o extracelular por difusão facilitada através de GLUTs presentes na membrana basolateral.

Os GLUTs têm capacidade de realizar fluxo bi-direcional de glicose e, de fato, é o gradiente do substrato que determinará a direção intra ou extracelular da glicose (1). Considerando-se que a glicose, como substrato energético, está constantemente sendo consumida nas células, as forças de gradiente garantem um influxo do substrato na maioria dos

tipos celulares, através das diferentes isoformas de transportadores. Entretanto, basta a concentração intracelular de glicose ser maior que a extracelular para que as forças de gradiente promovam um efluxo do substrato através da isoforma presente. Isto acontece, por exemplo, através do GLUT2 em hepatócitos, nos quais a glicogenólise e/ou a gliconeogênese elevam a concentração intracelular de glicose, ou ainda, através de GLUT 1 ou GLUT 2 em células epiteliais de intestino e túbulo renal, nas quais a glicose é transportada acoplada ao Na<sup>+</sup> pelos SGLTs, elevando a concentração intracelular do substrato, para então ocorrer um efluxo a favor de gradiente na membrana basolateral dessas células.

### CARACTERIZAÇÃO DOS TRANSPORTADORES DE GLICOSE

Na década de 80 foi caracterizada pela primeira vez uma proteína transportadora de glicose. A seqüência de aminoácidos da proteína transportadora de glicose presente em eritrócitos foi deduzida baseada em um cDNA clonado a partir de células de hepatoma humano HepG2 (2). Desde então, a ocorrência dessa proteína foi intensamente investigada nos diferentes tipos celulares, o que conduziu a demonstração da existência de uma família de gens responsáveis pela expressão de diferentes isoformas de proteínas transportadoras de glicose. Já na década de 90 estava bem caracterizada a existência de 7 tipos de proteínas transportadoras de glicose (Tabela 1), designadas como GLUT e numeradas de acordo com a ordem cronológica de clonagem (1,3-4).

Na mesma época, Hediger e cols (5) descreveram a seqüência primária da proteína transportadora de glicose acoplada ao Na<sup>+</sup> a qual foi designada como SGLT1 (Tabela 1). É importante ressaltar que essa proteína transportadora não apresenta alta homologia com os GLUTs, sendo portanto membro de uma família diferente de proteínas transportadoras. Mais recentemente foi caracterizada uma segunda isoforma de transportador de glicose acoplada ao Na<sup>+</sup> designada como SGLT2 (6-7). Está demonstrado que os SGLTs pertencem a uma família de proteínas transportadoras de solutos acoplados ao Na<sup>+</sup>, da qual fazem parte além dos transportadores de glicose, o transportador de aminoácidos neutros (SAAT1) (8) correspondente ao bem caracterizado sistema A de transporte de aminoácidos; o transportador de myo-inositol (SMIT) (9), o transportador de prolina (*putP*) (10) e do ácido pantotênico (*panF*) (11), esses dois últimos descritos em *Escherichia coli*.

**Tabela 1** - Transportadores de glicose responsáveis pela difusão facilitada (GLUTs) e pelo transporte de glicose acoplado ao Na<sup>+</sup> (SGLTs)

Designação	Principais sítios de expressão e função
GLUT1	Tecidos fetais e células em cultura; em adultos, altas concentrações em células sanguíneas, barreira hema-toencefálica e rim; responsável pelo transporte basal de glicose na maioria das células
GLUT2	Hepatócitos, célula β pancreática, membrana basolateral de células epiteliais de intestino delgado e túbu-lo renal, astrócitos de núcleos cerebrais tais como em hipotálamo paraventricular, e lateral entre outros; trans-portador de alta capacidade confere uma capacidade glico-sensora às células em que se expressa
GLUT3	Principal transportador em neurônios, também presente em placenta e testículos
GLUT4	Músculo esquelético e cardíaco, tecido adiposo branco e marrom; medeia o transporte de glicose estimu-lado pela insulina
GLUT5	Transportador de frutose; altas concentrações em intestino delgado e testículo
GLUT6	Identificado em humanos; pseudo-gen que não se expressa funcionalmente
GLUT7	Fração microsomal de células hepáticas; está associado ao complexo enzimático da glicose-6-fosfatase e medeia a liberação de glicose do retículo endoplasmático
SGLT1	Bordo em escova das células epiteliais do duodeno, jejuno e segmento S3 do túbulo proximal do néfron
SGLT2	Bordo em escova das células epiteliais do segmento S1 do túbulo proximal do néfron

Os dados foram obtidos nas referências 1, 4, 12, 13.

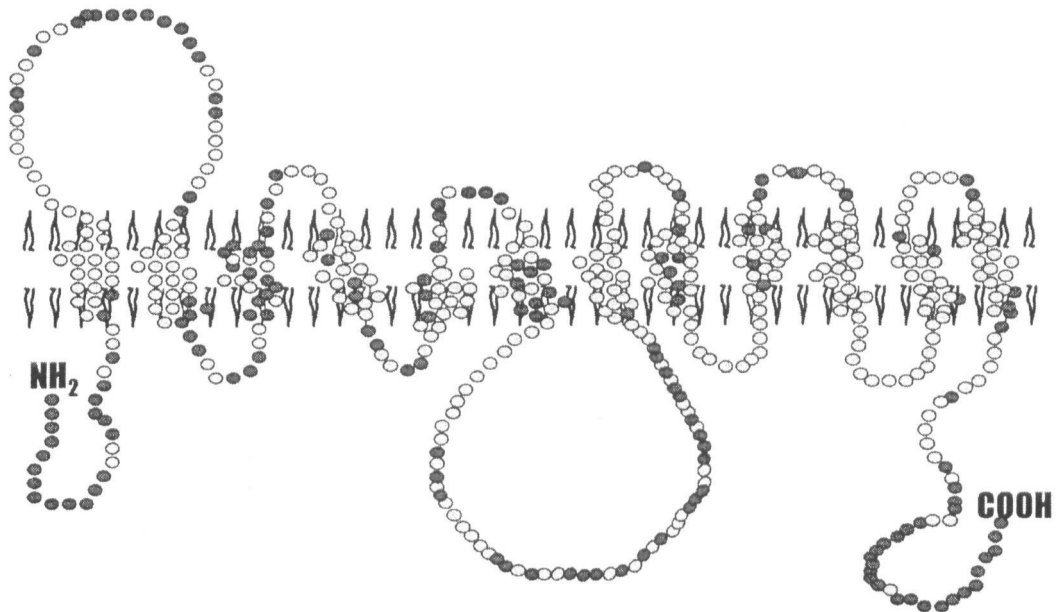
### Características bioquímico-moleculares dos transportadores

A análise hidropática das seqüências primárias dos GLUTs sugere a existência de 12 segmentos transmem-brânicos hidrofóbicos (S), alguns formando verdadeiras a-hélices perpendiculares ao plano da membrana plas-mática, que representam verdadeiros poros ou canais através dos quais a molécula de glicose pode cruzar a membrana. Esses domínios são conectados por segmen-tos hidrofílicos extra e intracelulares. As terminações NH<sub>2</sub> e COOH são citoplasmáticas, uma grande alça de conexão é encontrada entre os segmentos S6-S7, e um potencial sítio de N-glicosilação é encontrado na alça extracelular de conexão entre S1-S2 (4). Comparando as diferentes isoformas, as seqüências de aminoácidos são altamente conservadas nos segmentos transmem-brânicos, sugerindo que esses domínios são responsáveis pela característica comum a todas, que é a capacidade de transportar glicose, e a homologia diminui nas termi-nações NH<sub>2</sub> e COOH, assim como nas alças de conexão entre os segmentos S1-S2 e S6-S7, sugerindo que esses domínios são responsáveis pelas especificidades de cada isoforma tais como características cinéticas, regulação hormonal, localização celular e imunogenicidade (3). A topologia dos transportadores de glicose GLUTs ini-cialmente proposta por Mueckler e cols (2) para o GLUT 1, e posteriormente confirmada para as outras isoformas (12), e pode ser vista na Figura 1.

Similarmente, os SGLTs também apresentam 12 segmentos transmembrânicos, a alça extracelular de ligação entre S5 e S6 é potencial sítio de glicosilação, e as terminações NH<sub>2</sub> e COOH também estão localizadas no citosol, no entanto, o domínio COOH alta-mente hidrofóbico, deve encontrar-se em contato direto com a superfície interna da membrana plasmáti-ca. Altamente homólogos entre si, apresentam, entre-tanto, baixa homologia com os GLUTs (13).

Uma importante diferença entre as várias isoformas de GLUTs é a capacidade de transportar glicose de cada uma. Estudos cinéticos tem mostrado vários resultados, muitos controversos, dependendo do tipo de análogo ou do modelo experimental utilizado para monitorizar a função de transporte, ou ainda, dependendo do tipo celular investigado. Uma análise conclusiva pode ser obtida a partir da investigação da cinética de transporte da D-glicose em estudos nos quais cada isoforma é expressa isoladamente em *Xenopus Oocytes*, os quais não possuem transportadores de glicose nativos. A Tabela 2 mostra os principais parâmetros cinéticos dos trans-transportadores, assim como outras características bioquími-co-moleculares de cada isoforma.

Em relação ao SGLT1 e SGLT2, funcionalmente diferem principalmente pelas características cinéticas e eletrogênicas: o primeiro, de baixa capacidade para transportar glicose, acopla 2 íons Na<sup>+</sup> para cada molé-cula de glicose, enquanto o segundo, de alta capacidade



**Figura 1** - Topologia proposta para os transportadores de glicose (2). A figura mostra a homologia entre o GLUT1 e o GLUT4. Os aminoácidos conservados entre as duas isoformas são mostrados em círculos claros, enquanto os aminoácidos específicos da isoforma GLUT4 são mostrados em círculos escuros. A dupla camada lipídica da membrana plasmática está representada, e as terminações NH<sub>2</sub> e COOH localizadas no intracelular.

**Tabela 2** - Características cinéticas e moleculares dos transportadores de glicose

Isoforma	K <sub>m</sub> D-Glicose (mM)	IC <sub>50</sub> Cytochalasin B (μM)	Tamanho (n aminoácidos)	Localização Cromossômica
GLUT1	1-5	0.1	492	1p35
GLUT2	6-12	7	524	3q26
GLUT3	1-2	0.1-2	496	12p13
GLUT4	5-10	0.1	509	17p13
GLUT5	Não Transporta	Não inibe	501	1
GLUT7	?	?	528	?
SGLT1	0.8	Não inibe	664	22q13.1
SGLT2	1.6	Não inibe	672	16p11.2-p12

Os dados foram obtidos nas referências 2, 13-22.

para transportar o substrato, acopla 1 íon Na<sup>+</sup> para cada molécula de glicose. Outras características bioquímico-moleculares dos SGLTs podem ser vistas na Tabela 2.

### REPERCUSSÕES FISIOPATOLÓGICAS DE DEFEITOS NA EXPRESSÃO GÊNICA DOS TRANSPORTADORES DE GLICOSE

#### Defeitos Genéticos na Expressão dos Transportadores de Glicose

##### GLUT1

Uma redução no conteúdo de GLUT1 presente em eritrócitos, a qual se reflete em diminuição da capaci-

dade dessas células transportarem glicose foi descrita pela primeira vez por De Vivo e colaboradores (23) em duas crianças de ~2 meses de idade. Atribuindo-se que essa deficiência seja ubíqua a todos os territórios que expressam a isoforma GLUT1, este defeito seria responsável por uma redução no fluxo de glicose através da barreira hematoencefálica, na qual o transporte de glicose para o SNC só pode ocorrer por fluxo transendotelial através do GLUT1. Essas crianças apresentavam quadro convulsivo intenso, que não respondia a terapêutica anticonvulsivante convencional, com hipoglicorraquia na vigência de normoglicemia e sem aumento do lactato líquido, o que indica não estar

ocorrendo aumentado consumo da glicose líquórica. Este quadro ficou registrado como *Síndrome de De Vivo*, e recentemente tivemos a oportunidade de relatar mais dois casos diagnosticados em recém-nascidos (24).

Propõe-se que o quadro convulsivo seja decorrente da falta de substrato energético proveniente da metabolização da glicose no SNC, sendo interessante observar que todos os pacientes diagnosticados interromperam o quadro convulsivo com a introdução de uma dieta cetogênica. Considerando-se que o SNC, especialmente em recém-nascidos, tem grande capacidade de oxidar corpos cetônicos utilizando-os como fonte de energia, o diagnóstico de deficiência de GLUT1 subsidia a utilização terapêutica dessa dieta. Entretanto, uma redução no conteúdo de GLUT1 não tem sido detectada em todas as crianças portadoras de quadro convulsivo resistente a terapia convencional, e que se beneficiam com a dieta cetogênica.

A caracterização do defeito genético ainda não está clara. De Vivo e cols (23) avaliaram o conteúdo de GLUT 1 nos pais de seus pacientes e nenhuma alteração foi detectada, sugerindo que o defeito tenha surgido de uma mutação espontânea. Finalmente, considerando-se que a deficiência de GLUT 1 na síndrome não é total, a evolução desses pacientes pode ser benigna, seja por que eles adquiram a capacidade de expressar a proteína em quantidades satisfatórias, seja por que a necessidade de GLUT1 diminua com o desenvolvimento. De qualquer maneira, os danos decorrentes do período que antecede o tratamento com a dieta podem ser irreparáveis, e atraso de desenvolvimento com hipotonia leve está presente em todos os casos descritos (23,24). Dessa forma, ressalta-se a importância do diagnóstico precoce, com introdução imediata da dieta cetogênica para melhorar o prognóstico desses pacientes.

### SGLTs

Duas doenças genéticas envolvendo distúrbios na absorção de glicose já foram correlacionadas com alterações no conteúdo tecidual de SGLTs. A doença de malabsorção de glicose-galactose é uma herança autossômica recessiva rara, caracterizada por diarreia severa com desidratação devido a retenção de água no trato intestinal por perda osmótica, devido a permanência de glicose/galactose e Na<sup>+</sup> não absorvidos no intestino (25). Uma mutação em apenas um aminoácido (Asp-28 para Asn-28) do SGLT1 foi detectada em uma família síria portadora da deficiência. Este aminoácido está localizado na superfície citoplasmática do primeiro segmento transmembrânico e

parece ser fundamental para a função transporte. De fato, a inserção de um cRNA mutante em oócitos confirmou que esta mutação resulta em perda da capacidade de transportar substratos. Além disso, a ASP-28 do SGLT1 está conservada em rato, coelho e porco, assim como em outros transportadores correlatos tais como SAAT1, SMIT1 e SNST1 (26). Por outro lado, esta mutação não foi detectada em outras famílias portadoras de malabsorção, indicando que outras mutações podem estar envolvidas em perda da capacidade de transportar glicose (27).

Glicosúria renal familiar é uma síndrome relativamente benigna, restrita aos rins e herdada de forma autossômica dominante (25). Os indivíduos afetados apresentam vários graus de poliúria e polidipsia, e o diagnóstico pode ser confirmado quando detecta-se glicosúria na ausência de hiperglicemia ou qualquer outro defeito renal. De acordo com Desjeux (25), no tipo A a reabsorção tubular máxima da glicose (T<sub>m</sub>G) está reduzida, enquanto no tipo B, o limiar de aparecimento de glicose na urina está reduzido, sem alteração no T<sub>m</sub>G. Tem sido proposto que mutações causem perda de função principalmente do SGLT2 no tipo A, enquanto afetem a afinidade ao substrato principalmente do SGLT1 no tipo B (13). O caráter autossômico dominante da glicosúria renal familiar sugere que ambos os alelos do SGLT2 precisam estar intactos para garantir a expressão gênica necessária para o clearance da glicose. Embora uma mutação no gen do SGLT2 no cromossoma 16 ainda não tenha sido claramente demonstrada, um defeito no cromossoma 6, associando glicosúria renal com determinados genótipos de HLA, foi relatado em 5 famílias portadoras da doença (28). A glicosúria renal familiar do tipo B também tem sido detectada em pacientes portadores de malabsorção da glicose/galactose, ressaltando a alteração do SGLT1 como fator etiopatológico comum.

### Defeitos adquiridos na expressão dos transportadores de glicose

#### GLUT 4

São chamados de tecidos sensíveis à insulina aqueles que são capazes, sob estímulo hormonal, de aumentar aguda e intensamente a sua capacidade de transportar glicose. Esses tecidos, tecido adiposo branco e marrom, musculatura esquelética e cardíaca, expressam além da proteína GLUT1 uma isoforma específica o GLUT4, cuja distribuição celular em condições basais, isto é, na ausência de estímulo insulínico, é cerca de apenas 10% presente em membrana plasmática e 90% presentes em membranas microssomais que cons-

tituem pequenas vesículas intracelulares. A ligação da insulina a seu receptor aciona o mecanismo de sinalização intracelular e sabe-se que a ligação/ativação do IRS1 com a enzima PI3-quinase é um passo essencial para ativar um sistema ainda pouco conhecido, que promove um rápido deslocamento das vesículas intracelulares para a superfície celular, onde fundem-se com a membrana plasmática, aumentando a densidade de proteínas transportadoras GLUT4 (29).

Esse mecanismo, chamado de translocação é o responsável pelo aumento de captação de glicose, por exemplo no estado pós-prandial, quando o gradiente de glicose está favorecido e a presença de maiores concentrações de insulina garante a translocação do transportador. À queda dos níveis insulinêmicos segue-se um processo de internalização do GLUT 4, o que deve envolver a atividade da proteína clatrina que polimerizando-se promove a endocitose de pequenas vesículas formadas a partir da membrana plasmática, semelhantemente a outros processos de internalização, reduzindo novamente o índice de transporte de glicose nesses tecidos (30).

É sempre importante lembrar que a insulina pode ainda favorecer o transporte de glicose em tecidos não sensíveis à insulina simplesmente por favorecer o gradiente de concentração da glicose à medida que aumenta o consumo intracelular do substrato, por exemplo, ativando a via glicolítica em eritrócitos ou ainda a via glicogeniônica em hepatócitos, o que não deve ser considerado transporte hormônio sensível pois não envolve uma modulação no sistema transportador da glicose.

Assim que os transportadores de glicose foram caracterizados, inúmeras investigações foram conduzidas com o objetivo de determinar o papel do GLUT4 nas alterações de sensibilidade à insulina. A resistência à insulina caracteriza-se, entre outros fatores, por uma reduzida capacidade dos tecidos sensíveis à insulina captarem glicose, e tem sido apontada como elemento etiopatogênico importante para o aparecimento de alterações mórbidas tais como hipertensão, dislipidemia, doença cardiovascular aterosclerótica, obesidade e diabetes melito (DM) entre outras (31).

Em humanos portadores de DM tipo 2, foi inicialmente descrito que o GLUT4 diminui no tecido adiposo branco (32), sem entretanto ter sido demonstrada uma modulação ubíqua a todos os tecidos sensíveis à insulina. Em modelos animais, os estudos iniciais foram contraditórios e embora alguns resultados tenham mostrado uma redução no GLUT4, outros evidenciaram ausência de modulação ou até mesmo aumento no conteúdo do transportador, especialmente em tecido

adiposo branco, sugerindo a existência de uma regulação tecido-específica (33-36). Dessa forma, a verdadeira regulação do GLUT4 no DM e/ou obesidade não era um fato claramente determinado.

Mais recentemente, uma série de novos estudos cuidadosamente conduzidos, nos quais tivemos uma participação importante, contribuíram para o esclarecimento dessa regulação. Inicialmente, é importante ressaltar que a análise do conteúdo de GLUT4 no tecido adiposo branco, precisa ser cuidadosamente avaliada devido às alterações morfológicas e estruturais que ocorrem na célula adiposa, especialmente quando a obesidade está presente, o que é freqüente nos modelos experimentais de DM tipo 2. Estudando camundongos portadores de DM tipo 2 com obesidade por tratamento com glutamato monossódico (MSG) ou com aurothioglicose (AuTG), o primeiro hipofágico e o segundo hiperfágico, observamos que o volume da célula adiposa aumenta 11 a 14 vezes, enquanto o conteúdo de GLUT4, se expresso por célula, mostra-se 2 a 3 vezes aumentado em relação a controles, semelhantemente a muitos relatos da literatura (37). Entretanto, é óbvio que nesta situação ocorreu uma redução na expressão gênica do GLUT4, a qual pode ser claramente observada quando analisados o conteúdo de transportador expresso por unidade de superfície celular, por grama de tecido, ou ainda o conteúdo total de GLUT4 presente no tecido. Ainda é importante ressaltar que o resultado inicialmente obtido através de análise de Western blotting, expresso por micrograma de proteína submetida à eletroforese, não deve ser diretamente analisado quando a obesidade está presente pois a massa adiposa aumenta na obesidade principalmente às custas de maior deposição lipídica e, portanto, a recuperação de proteína tecidual, seja por grama de tecido ou por célula, está sempre reduzida (37). Tomadas as devidas precauções na análise do conteúdo tecidual de GLUT 4, demonstramos tanto em camundongos MSG como AuTG que ocorre uma redução importante no GLUT4, não apenas em músculo esquelético e cardíaco, como também em tecido adiposo branco e marrom (38).

Considerando que o conteúdo de GLUT4 está reduzido no DM tipo 2, um importante estudo investigou o mecanismo de translocação do GLUT4, estocado em um "pool" intracelular, frente a estímulo com insulina, no qual verificamos que a translocação estimulada "in vivo" estava porcentualmente preservada nos animais diabéticos, indicando que o aparelho celular responsável pela migração das vesículas que contém GLUT4 está preservado (39). Em relação ao GLUT1, nenhuma alteração no conteúdo tecidual foi observada tanto em camundongos MSG como AuTG (38-39).

Adicionalmente, medidas sabidamente capazes de melhorar o DM, recuperando a sensibilidade à insulina já foram investigadas. Neste sentido, tanto o emagrecimento de camundongos MSG (40), como o tratamento com metformina (41), mostraram-se capazes de diminuir a resistência à insulina, restaurando o conteúdo de GLUT 4 em todos os tecidos sensíveis à insulina.

Lembrando que esses modelos de DM tipo 2 são também portadores de obesidade severa, procurou-se investigar o papel da obesidade nessa regulação. Para isto investigou-se o conteúdo de GLUT4 em ratos pinealectomizados, os quais desenvolvem resistência à insulina na ausência de obesidade, verificando-se uma redução no conteúdo de transportador em todos os tecidos sensíveis à insulina (42). Além disso, avaliando-se o conteúdo de GLUT4 durante o desenvolvimento de camundongos tratados com MSG, verificou-se que aos 2 e 4 meses de idade, na vigência de sinais evidentes de obesidade, mas sem sinais de resistência à insulina, o conteúdo tecidual de GLUT4 estava preservado, com tendência a aumento no tecido adiposo branco. Somente quando a resistência à insulina estava instalada, o que ocorreu aos 7 meses de idade, a redução no conteúdo tecidual de transportador foi detectada (43).

Esses estudos demonstram que no DM, a resistência à insulina acompanha-se de diminuição no conteúdo de GLUT4. Quando a obesidade está instalando-se, e a sensibilidade ao hormônio está preservada ou até aumentada, o conteúdo de GLUT4 paralelamente pode ser encontrado preservado ou aumentado, especialmente no tecido adiposo branco. Esta análise é fundamental para se compreender os conflitantes resultados encontrados na literatura, os quais referem-se a modelos diversos e em diferentes momentos do processo de evolução da resistência à insulina.

Uma questão que tem sido extensivamente pesquisada busca determinar qual o verdadeiro fator modulador da expressão gênica do GLUT4, especialmente em relação à insulina e à glicose. Nesse sentido, Klip e colaboradores (44) publicaram uma extensa revisão na qual delinea-se, apesar de grandes dificuldades na compreensão dessa regulação, que nem a insulinemia, nem a glicemia parecem regular diretamente e de maneira inequívoca, a expressão do GLUT4. Entretanto, fica plausível admitir-se que o principal regulador seja o grau de sensibilidade tecidual à insulina. Além disso, parece evidente que alterações traducionais estão presentes, justificando a ausência de correlação entre o conteúdo de mRNA e o da proteína GLUT4 em alguns modelos (44).

### *GLUT 2 e GLUT1*

No rim, a maior parte da glicose é reabsorvida no segmento S1 da porção inicial do túbulo renal através do SGLT2, e então difunde-se para o extracelular através do GLUT2. Uma pequena quantidade residual de glicose é reabsorvida no segmento S3, mais medular, através do SGLT1, e então difunde-se para o extracelular através do GLUT1. Inicialmente, foi demonstrado que o conteúdo de GLUT2 aumenta e o de GLUT1 diminui em rim de ratos portadores de DM tipo 1 por tratamento com streptozotocina (45). Mais recentemente, confirmamos esses achados em ratos tratados com aloxana, entretanto, em ratos de 15 meses de idade, resistentes à insulina, e modelos de DM tipo 2, demonstramos que o GLUT1 diminui na medula enquanto o conteúdo de GLUT2 não se altera em cortex (46). Ambos os modelos assemelham-se quanto a alteração de homeostase glicêmica, o que pode ser responsável pela alteração do conteúdo tubular de GLUT1. Por outro lado, o tipo 1 é hipoinsulinêmico com glicosúria positiva, enquanto o tipo 2 é hiperinsulinêmico com glicosúria negativa, e dessa forma pode-se supor que a insulinemia e/ou o conteúdo tubular de glicose sejam os moduladores da expressão gênica do GLUT2 (46). O papel dessas alterações de conteúdo de transportadores de glicose no fluxo transepitelial de glicose, assim como na própria nefropatia diabética ainda não está estabelecido.

Na célula B pancreática, o influxo de glicose ocorre através do GLUT2, e isto representa um importante passo no mecanismo de secreção da insulina induzida pela glicose. Recentemente, uma diminuição no conteúdo de GLUT 2 de células B pancreáticas de roedores portadores de DM tipo 2 foi relatada. Adicionalmente, a geração de camundongos GLUT2-/- mostrou que os animais desenvolvem hiperglicemia com hipoinsulinemia e hiper glucagonemia, sugerindo que o GLUT 2 seja fundamental para o desenvolvimento e funcionamento normais do pâncreas endócrino (47).

Em conclusão, evidencia-se que a caracterização molecular das proteínas transportadoras de glicose abriu um imenso universo na investigação dos fluxos de glicose, o que representa um fenômeno celular vital para o equilíbrio das funções do organismo. Na resistência à insulina, a qual desempenha um papel chave na ocorrência de alterações mórbidas, a análise das proteínas transportadoras de glicose, especialmente do GLUT 4, abre perspectivas que poderão gerar abordagens preventivas ou terapêuticas importantes. Em outras patologias, a detecção de alterações nos transportadores de glicose tem sido importante

para firmar diagnóstico, subsidiar medidas terapêuticas, e principalmente para esclarecer mecanismos fisiopatológicos subjacentes.

## REFERÊNCIAS

1. Bell GI, Kayano T, Buse JB, Burant CF, Takeda J, Lin D, et al. Molecular biology of mammalian glucose transporters. **Diabetes Care** 1990;13:198-200.
2. Mueckler M, Caruso C, Baldwin AS, Panico M, Blench I, Morris HR, et al. Sequence and structure of a human glucose transporter. **Science** 1985;229:941-45.
3. Kasanick MA, Pilch PF. Regulation of glucose-transporter function. **Diabetes Care** 1990;13:219-227.
4. Thorens B, Charron MJ, Lodish HF. Molecular physiology of glucose transporters. **Diabetes Care** 1990;13:209-218.
5. Hediger MA, Coady MJ, Ikeda TS, Wright EM. Expression cloning and cDNA sequencing of the Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter. **Nature Lond** 1987;330:379-381.
6. Wells RG, Pajor AM, Kanai Y, Turk E, Wright EM, Hediger MA. Cloning of a human cDNA with similarity to the sodium-glucose cotransporter. **Am J Physiol** 1992;263:F459-F465.
7. Kanai Y, Lee WS, You G, Brown D, Hediger MA. The human kidney low affinity Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter SGLT2: delineation of the major renal reabsorptive mechanism for D-glucose. **J Clin Invest** 1994;93:397-404.
8. Kong CT, Yet SF, Lever JE. Cloning and expression of a mammalian Na<sup>+</sup>/amino acid cotransporter with sequence similarity to Na<sup>+</sup>/glucose cotransporters. **J Biol Chem** 1993;68:1509-1512.
9. Kwon HM, Yamauchi A, Uchida S, Preston AS, Garcia-Perez A, Burg M, et al. Cloning of the cDNA for a Na/myo-inositol cotransporter, a hypertonicity stress protein. **J Biol Chem** 1992;267:6297-6301.
10. Nakao T, Yamato I, Anraku Y. Nucleotide sequence of putP, the proline carrier of Escherichia coli K-12. **Mol Genet** 1987;208:70-75.
11. Jackowski S, Alix JH. Cloning sequence, and expression of the pantothenate permease (panF) gene of Escherichia coli. **J Bacteriol** 1990;172:3842-3848.
12. Bell GI, Burant CF, Takeda J, Gould GW. Structure and function of mammalian facilitative sugar transporters. **J Biol Chem** 1993;268:19161-19164.
13. Hediger MA, Rhoads DB. Molecular physiology of sodium-glucose cotransporters. **Physiol Rev** 1994;74:993-1026.
14. Burant CF, Bell GI. Mammalian facilitative glucose transporters: evidence for similar substrate recognition sites in functionally monomeric proteins. **Biochemistry** 1992;31:10414-10420.
15. Burant CF, Takeda J, Brof-Laroche E, Bell GI, Davidson NO. Fructose transporter in human spermatozoa and small intestine is GLUT5. **J Biol Chem** 1992;267:14523-14526.
16. Colville CA, Seatter MJ, Jess TJ, Gould GW, Thomas HM. Kinetic analysis of the liver-type (GLUT2) and brain-type (GLUT3) glucose transporters in Xenopus oocytes: substrate specificities and effects of transport inhibitors. **Biochem J** 1993;290:701-706.
17. Fukumoto H, Kayano T, Buse JB, Edwards Y, Pilch P, Bell GI, et al. Cloning and characterization of the major insulin-responsive glucose transporter expressed in human skeletal muscle and other insulin-responsive tissues. **J Biol Chem** 1989;264:7776-7779.
18. Kayano T, Fukumoto H, Eddy RL, Fan YS, Byers MG, Shows TB, et al. Evidence for a family of human glucose transporter-like proteins. **J Biol Chem** 1988;263:15245-15248.
19. Keller K, Strube M, Mueckler M. Functional expression of the human HepG2 and rat adipocyte glucose transporters in xenopus oocytes. Comparison of kinetic parameters. **J Biol Chem** 1989;264:18884-18889.
20. Nishimura H, Pallardo FV, Seidner GA, Vannucci S, Simpson IA, Birnbaum MJ. Kinetics of GLUT1 and GLUT4 glucose transporters expressed in Xenopus oocytes. **J Biol Chem** 1993;268:8514-8520.
21. Silverman M. Structure and function of hexose transporters. **Annu Rev Biochem** 1991;60:757-794.
22. Thorens B, Sarkar HK, Kaback HR, Lodish HF. Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney, and B-pancreatic islet cells. **Cell** 1988;55:281-290.
23. De Vivo DC, Trifiletti RR, Jacobson RI, Ronen GM, Beharand RA, Harik SI. Defective glucose transport across the blood-brain barrier as a cause of persistent hypoglycemia, seizures, and developmental delay. **N Engl J Med** 1991;325:703-709.
24. Okamoto MM, Casella EB, Alves RC, Paz JÁ, Marques-Dias MJ, Machado UF. De Vivo's syndrome: reduction in glucose transporter GLUT 1 content. **Abstracts of IV European Congress of Endocrinology**, Spain, 1998, P2-69.
25. Desjeux JF. Congenital selective Na<sup>+</sup>, D-glucose cotransport defects leading to renal glycosuria and congenital selective intestinal malabsorption of glucose and galactose. In: C.R.Scriver, ed. **The Metabolic Basis of Inherited Diseases**. New York: McGraw-Hill, 1989:2463-2478.
26. Turk E, Zabel B, Mundlos S, Dyer J, Wright EM. Glucose/galactose malabsorption caused by a defect in the Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter. **Nature Lond** 1991;350:354-356.
27. Wright EM. The intestinal Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter. **Annu Rev Physiol** 1993;55:575-589.
28. De Marchi S, Cecchin E, Basile A, Proto G, Donadon W, Jengo A, et al. Close genetic linkage between HLA and renal glycosuria. **Am J Nephrol** 1984;4:280-286.
29. Tsakiridis T, Mc Dowell HE, Walker T, Downes CP, Hundal HS, Vranic M, et al. Multiple roles of phosphatidylinositol 3-kinase in regulation of glucose transport, amino acid transport, and glucose transporters in L6 skeletal muscle cells. **Endocrinology** 1995;136:4325-4322.
30. Slot JW, Geuze HJ, Gigengack S, Lienhard GE, James DE. Immunolocalization of the insulin regulatable glucose transporter in brown adipose tissue of the rat. **J Cell Biol** 1991;113:123-135.
31. De Fronzo RA; Ferranini, E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. **Diabetes Care** 1991;14:173-194.
32. Garvey WT, Maiano L, Huecksteadt TP, Birnbaum MJ, Molina JM. Pretranslational suppression of a glucose



- transporter protein causes insulin resistance in adipocytes from patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity. **J Clin Invest** 1991;87:1072-1081.
33. Dohm GL, Elton CW, Friedman JE, Pilch PF, Pories WJ, Atkinson SM, et al. Decreased expression of glucose transporter in muscle from insulin-resistant patients. **Am J Physiol** 1991;260:E459-E463.
34. Hainault I, Guerre-Milo M, Guichard C, Lavau M. Differential regulation of adipose tissues glucose transporters in genetic obesity (fatty rat). **J Clin Invest** 1991;87:1127-1131.
35. Koranyi L, James D, Mueckler M, Permutt MA. Glucose transporter levels in spontaneously obese (db/db) insulin-resistant mice. **J Clin Invest** 1990;85:962-967.
36. Le Marchand-Brustel Y, Olichon-Berthe C, Gremeaus T, Tanti JF, Rochet N, Van Obberghen E. Glucose transporter in insulin sensitive tissues of lean and obese mice. Effect of the thermogenic agent BRL 26830A. **Endocrinology** 1990;127:2687-2695.
37. Machado UF, Saito M. The effect of adipose cell size on the measurement of GLUT 4 in white adipose tissue of obese mice. **Braz J Med Biol Res** 1995;28:369-376.
38. Machado UF, Shimizu Y, Saito M. Decreased glucose transporter (GLUT 4) content in insulin-sensitive tissues of obese aurothioglucose- and monosodium glutamate-treated mice. **Horm Metab Res** 1993;25:462-465.
39. Machado UF, Shimizu Y, Saito M. Reduced content and preserved translocation of glucose transporter (GLUT 4) in white adipose tissue of obese mice. **Physiol Behav** 1994;55:621-625.
40. Papa PC, Seraphim PM, Machado UF. Loss of weight restores GLUT 4 content in insulin-sensitive tissues of monosodium glutamate-treated obese mice. **Int J Obes** 1997;21:1065-1070.
41. Vaskevicius P. Reversão pela metformina da resistência à insulina em ratos portadores de obesidade experimental (MSG). São Paulo, 1997. (Tese - Mestrado - Escola Paulista de Medicina).
42. Seraphim PM, Bartol I, Cipolla-Neto J, Machado UF. Quantification of GLUT4 transporter in insulin-sensitive tissues from pinealectomized rats. In: Webb SM, Puig-Domingo M, Moller M, Pévet P, eds. **Pineal Update: From Molecular Mechanisms to Clinical Implications**. PJD Publications Ltd, USA, 1997:99-106.
43. Papa PC. Sensibilidade insulínica e conteúdo de GLUT 4 em camundongos obesos por tratamento com glutamato monossódico. São Paulo, 1997. (Tese - Mestrado - Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo).
44. Klip A, Tsakiridis T, Marette A, Ortiz PA. Regulation of expression of glucose transporters by glucose: a review of studies in vivo and in cell cultures. **FASEB J** 1994;8:43-53.
45. Dominguez JH, Camp K, Maianu L, Feister H, Garvey WT. Molecular adaptations of GLUT1 and GLUT2 in renal proximal tubules of diabetic rats. **Am J Physiol** 1994;266:F283-F290.
46. Vestri S, Machado UF. Efeito do diabetes sobre os transportadores de glicose de epitélio renal. **Cadernos de Resumos do III Congresso Paulista de Diabetes e Metabolismo**, São Paulo, 1998, pp46.
47. Thorens B. Glucose transporters in B-cells of NIDDM. **Abstracts of IV European Congress of Endocrinology**, Spain, 1998, S22-1.

**Endereço para correspondência:**

Ubiratan Fabres Machado  
Av. Prof. Lineu Prestes, 1524  
05508-900 São Paulo, SP