

# METABOLISMO DO SORBITOL E DIABETES

JOÃO SANTOS, ANA PONCES FREIRE, LOURDES BARREIRA MIRA, MARIA AZEVEDO, CARLOS MANSO

Centro de Metabolismo e Endocrinologia. Faculdade de Medicina de Lisboa. Instituto de Química Fisiológica.

## RESUMO

Faz-se uma breve revisão do metabolismo do sorbitol nas células humanas. Discutem-se as consequências da sua produção excessiva na diabetes e as possíveis implicações terapêuticas resultantes do emprego de inibidores da aldose redutase.

## SUMMARY

### Sorbitol metabolism and diabetes

The Authors review the metabolism of sorbitol in human cells. They discuss the consequences of its excessive production in diabetes, and the possible therapeutic implications, resulting from the use of aldose reductase inhibitors.

## METABOLISMO DO SORBITOL

### I. Metabolismo da glucose: vias maiores e menores

Nos mamíferos a glucose intracelular é fosforilada pela hexoquinase (Hk), formando glucose-6-fosfato (G-6-P) o principal metabolito do organismo.<sup>1, 2</sup>

Esta tem quatro destinos principais (Fig. 1):

- As vias glicolíticas são fundamentalmente usadas na formação de energia. Podemos distinguir a glicólise aeróbia, cujos produtos finais são CO<sub>2</sub> e água, de alto rendimento energético, e a glicólise anaeróbia, cujo produto final é o lactato, de reduzido valor energético.
- A via das fosfopentoses é uma via de biossíntese, a partir da qual o organismo obtém pentoses para a formação de ácidos nucleicos e coenzima II reduzido (NADPH) importante na síntese de lípidos e outros compostos.
- A hidrólise da G-6-P, de grande importância na manutenção da glicémia, processo a cargo exclusivamente do fígado e do rim.
- A síntese de glicogénio, glúcido de reserva, metabolizável rapidamente em caso de carência energética.

Estas quatro vias diferem de actividade de órgão para órgão, porém no fígado a G-6-P é distribuída em parcelas aproximadamente iguais pelas quatro, o que não sucede noutros órgãos.<sup>3</sup>

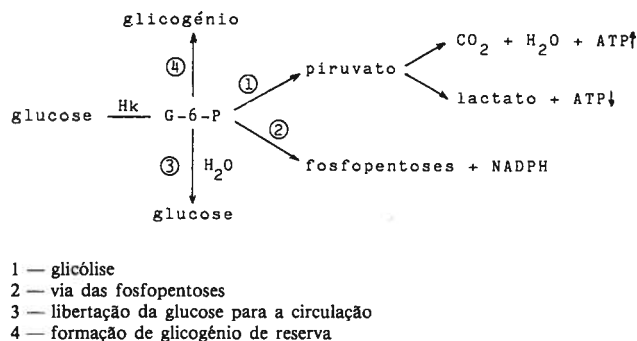


Figura 1: Principais vias metabólicas da glucose

Ao lado destas quatro vias, que podemos considerar vias maiores, temos outras que utilizam uma percentagem restri-

ta de moléculas de glucose. Neste grupo incluímos entre outras duas vias intimamente relacionadas: a via do ácido glucurónico e a do mioinositol. O ácido glucurónico pode ser formado a partir da G-6-P ou então provir da digestão de proteoglicans. Trata-se de uma via que noutros mamíferos tem por objectivo a formação de ácido ascórbico, o que não sucede nos primatas, que perderam essa capacidade. Através de uma série de transformações o glucuronato é finalmente transformado em metabolitos intermediários da via das fosfopentoses. A via do ácido glucurónico não é indispensável ao Homem, como o prova o facto de o seu bloqueio na pentosúria não se traduzir em doença (Fig. 2).

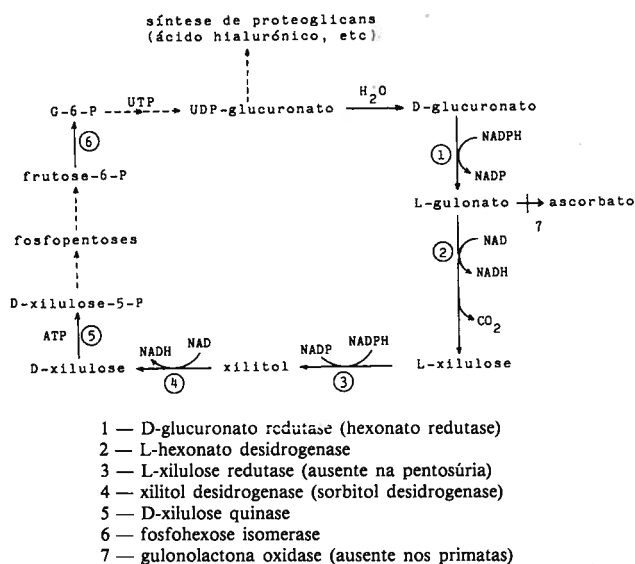
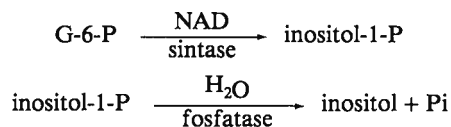
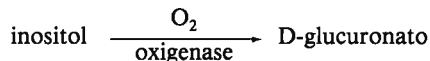


Figura 2: Via do ácido glucurónico.

Uma outra via menor permite a formação de mioinositol a partir da G-6-P. Na presença de coenzima I (NAD) forma-se mioinositol-1-fosfato, sendo o fosfato hidrolisado de seguida por uma fosfatase:<sup>4</sup>



O inositol pode ser transformado em D-glucuronato por um enzima renal cuja actividade aumenta na diabetes:



Porém o destino mais importante do inositol é a sua incorporação em fosfolípidos (Fig. 3). O fosfatidil inositol desempenha uma função importante na membrana celular, estando relacionado com a acção dos receptores alfa, com a fusão de membranas e a entrada de cálcio.

A via dos polióis representa uma hipótese de alternativa para a glucose livre, isto é, não transformada pela acção da hexoquinase em G-6-P. A glucose livre é reduzida em sorbitol pela aldose redutase (AR) e o sorbitol é transformado em frutose pela sorbitol desidrogenase (SD). É de notar que estes dois enzimas estão relacionados com enzimas da via do ácido glucurónico. A AR é semelhante à D-glucuronato redutase, da qual parece derivar filogeneticamente (ambas são isoenzimas da AR), ao passo que a SD é provavelmente igual à xilitol desidrogenase<sup>5</sup> (Fig. 4).

Outra alternativa para a glucose livre é a glucose desidrogenase, de que resulta a formação de ácido gulónico na presença de NAD.

## II. Enzimas da via dos Polióis

**ALDEÍDO REDUTASES** — Por este nome designam-se uma série de enzimas dependentes de NADPH, com propriedades químicas e físicas semelhantes, que catalisam a redução de aldeídos e cetonas em álcoois. O seu nome mais apropriado seria de aldo-cetoreductases. A reacção é favorável à formação de álcool, sendo a reacção em sentido inverso limitada. Alguns enzimas têm nomes especiais. A aldose redutase é aldeído redutase da via dos polióis, a L-hexonato redutase actua na via do ácido glucurónico. Têm preferên-

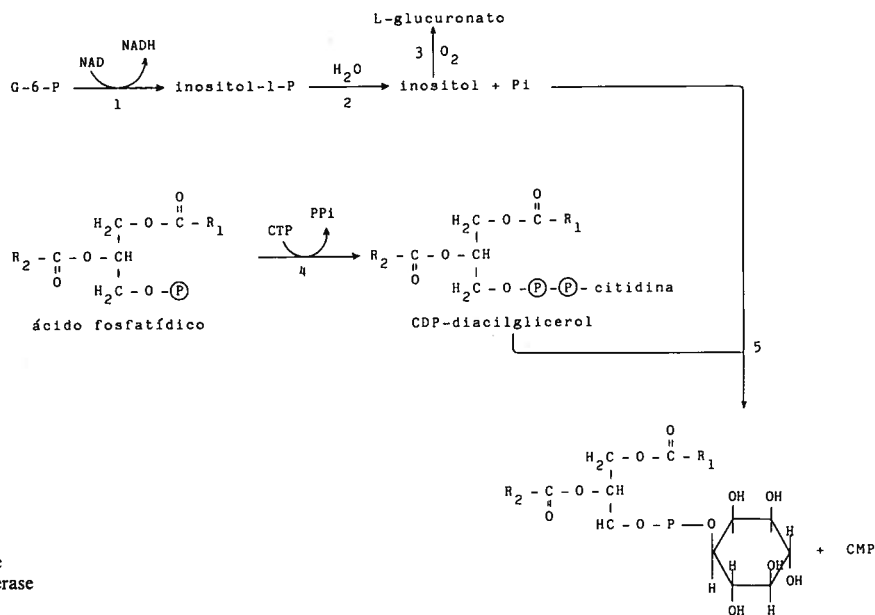


Figura 3: Metabolismo do inositol.

3-fosfatidil-inositol

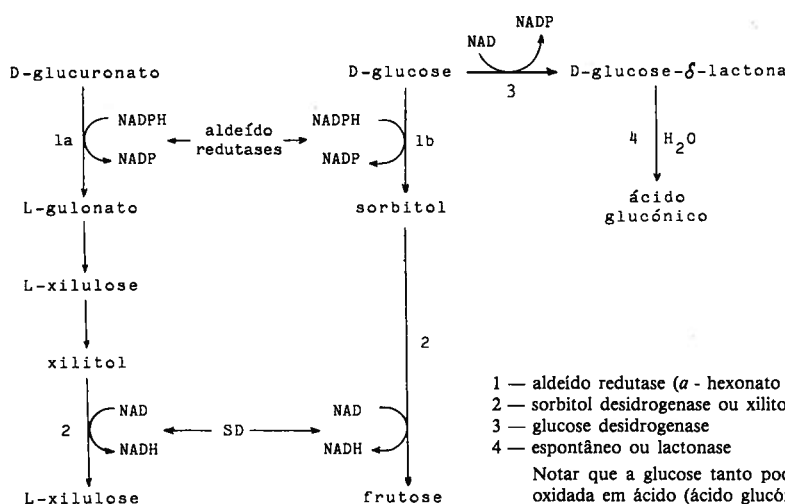


Figura 4: Metabolismo do sorbitol e a sua relação com o metabolismo do ácido glucurônico.

cia por aldeídos aromáticos e a sua especificidade para substratos é por vezes sobreponível. Não há a certeza quanto ao número de isoenzimas distintos. Estão implicadas no metabolismo de aldeídos biogénicos, semialdeído succínico, aldeídos alifáticos de longa cadeia, de aldoaçúcares. Ignora-se se tem um papel metabólico específico ou se a sua principal função é a destoxificação de aldeídos xenobióticos. São sensíveis à inibição por anticonvulsivantes.

Têm sido especialmente investigados em 3 órgãos: cérebro, rim e fígado. No cérebro a sua investigação está centrada no metabolismo dos aldeídos derivados das aminas biogénicas (noradrenalina, serotonina). Conhecem-se 4 isoenzimas: A aldeído redutase 1 é uma cetona ou carbonil redutase. A aldeído redutase 2 parece ser idêntica à aldose redutase de outros órgãos. A aldeído redutase 3 é a hexonato redutase e a 4.<sup>a</sup> foi identificada como redutase do semialdeído succínico em  $\gamma$ -hidroxibutirato. Pensa-se que o enzima ancestral é a aldeído redutase 3, da qual evoluíram por duplicação genética as restantes. A aldeído redutase 3 actua sobre substratos com grupo carboxilo livre, desempenha um papel na destoxificação de drogas. É inibida por anticonvulsivantes (barbitúricos, hidantoína, succinimidas, oxazolidinediona) e também por benzodiazepinas, valproato, carbamazepina, fenacamida e flavonóides, como a quercetina.

**CARACTERÍSTICAS DA ALDOSE E DA HEXONATO REDUTASES** — Apenas mencionaremos duas. Em primeiro lugar o facto de ambas poderem transformar diversas oses: glucose em sorbitol, galactose em galactitol, xilulose em xilitol. Em segundo lugar, a diferença de afinidades para os açúcares. A aldose redutase tem elevada afinidade quer para a glucose quer para a galactose, ao passo que esta é muito menor no caso da hexonato redutase. Daqui resulta que a síntese de sorbitol só seja de esperar se houver aldose redutase presente, ou então se a concentração da glucose for de tal maneira elevada que permita à hexonato redutase poder actuar com alguma eficiência. Finalmente, convém saber que a sorbitol desidrogenase tem muito pouca afinidade para o galactitol, pelo que este se acumula rapidamente na presença de excesso de galactose:



### III. Entrada de glucose nas células

Este problema tem sido estudado há várias décadas, mas dificuldades de ordem vária impediram o seu esclarecimento. Sendo a D-glucose o principal substrato metabólico do organismo, caracterizado por uma concentração mais ou menos constante no sangue humano a sua entrada para as células pode fazer-se lentamente por difusão. Com efeito, a glucose é uma molécula polar que atravessa com dificuldade uma dupla camada hidrofóbica de lípidos. O sistema de transporte facilita a sua entrada, sem dispêndio de energia.<sup>7</sup> O seu estudo mais completo foi realizado no glóbulo vermelho. Trata-se de uma glicoproteína de PM = 55 000. A parte glucídica é formada por um polímero do dissacárido galactose  $\beta_1$  — N-acetilglucosamina. Este oligossacárido pode ser removido por endo- $\beta$ -galactosidase e então o transportador apresenta um PM = 46 000. Porém, esta proteína faz parte de um complexo maior de PM = 200 000, ainda mal conhecido.<sup>7</sup>

O transportador é inibido por citocatalasina B e por maleimida. Em liposomas reconstituídos com o transportador, puderam determinar-se constantes cinéticas de captação da glucose:  $K_m = 0,7 - 1,2 \text{ nM}$  e  $V_m = 1,6 \mu\text{M}/\text{mg proteína}/\text{minuto}$ .<sup>8</sup>

O mecanismo de transporte baseia-se numa mudança de conformação da proteína. Cada transportador tem um único ponto de união para a glucose. Esta une-se pelo seu carbono 1 à face externa do transportador 1 e pelo seu carbono 6 à face interna deste (Fig. 5).

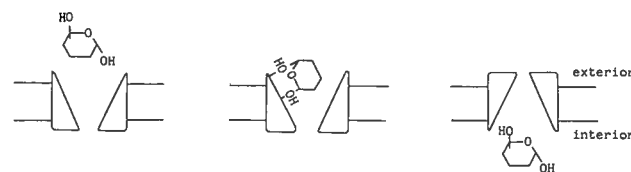


Figura 5: Esquema do transportador de glucose da membrana do eritrocito.

O sistema de transporte é análogo em todas as células. Contudo existe uma diferença entre células insulino-independentes (cérebro, nervo, cristalino, glóbulo vermelho, intestino, rim, vasos sanguíneos) e células insulino-dependentes. Nas primeiras o número de transportadores na membrana plasmática é elevado, pelo que a entrada de glucose

depende fundamentalmente da glicémia.<sup>6</sup> Nas segundas o número de transportadores na membrana citoplásmica é diminuto. A insulina aumenta a velocidade de entrada da glucose, mas não a afinidade para o transportador. Daqui concluir-se que, em resultado da sua acção, aumenta o número de transportadores. Dado que este aumento é muito rápido, sem haver tempo para síntese proteica, conclui-se que a insulina mobiliza transportadores pré-formados no interior da célula. Mais tarde, verificou-se no adipocito que, na presença de insulina, diminui o número de transportadores nos microsomas à medida que aumentam na membrana citoplásmica (Fig. 6). O mecanismo pelo qual a insulina activa esta translocação é desconhecido.<sup>7</sup>

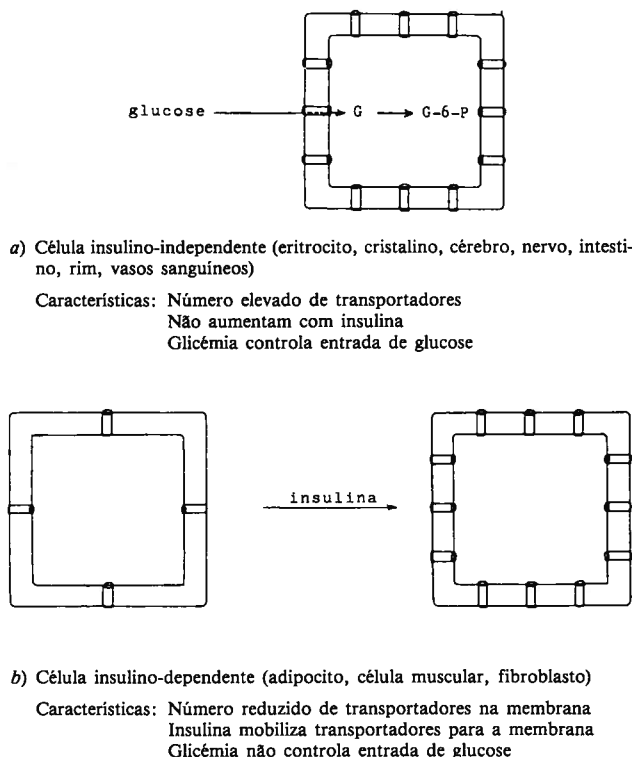


Figura 6: Transportadores de glucose em células insulino-independentes e em células insulino-dependentes.

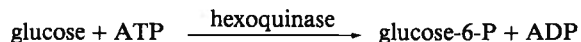
Dir-se-ia que o sistema de transporte de glucose nas células insulino-dependentes é mantido num estado de inibição, removido pela insulina.

Em certos tumores também existe um aumento de número de transportadores na membrana. Porém, deve-se a aumento de síntese proteica, por estímulo de origem desconhecida.<sup>7</sup>

Vemos assim que as células insulino-dependentes e insulino-independentes estão sob situações metabólicas distintas.

Na célula insulino-dependente (adipocito, músculo) a insulina controla a entrada de glucose, graças ao aumento do número de transportadores na membrana plasmática, e ao mesmo tempo estimula o seu consumo, graças à activação das vias principais para o seu metabolismo (quinases da glicólise, enzimas do ciclo do citrato, enzimas iniciadores da via das fosfopentoses, enzimas da síntese do glicogénio são sintetizados de novo ou activados). Deste modo a uma maior entrada de glucose corresponde uma maior utilização.

Na célula insulino-independente a situação é diferente: o número de transportadores é elevado. É pois a concentração de glucose no sangue que determina a quantidade que entra. A hexoquinase transforma-a em glucose-6-P:



Contudo, tanto a glucose-6-P como o ADP são inibidores da hexoquinase. Acumulam-se e a transformação pára. A partir deste ponto a principal transformação da glucose livre dá-se pela via dos polióis. Se a formação de sorbitol exceder a sua oxidação em frutose, este acumula-se. A consequência é o aumento de pressão osmótica intracelular, de que resulta entrada de água e inchaço da célula, que interfere com a sua normal função (Fig. 7). A acumulação de sorbitol tem consequências várias consoante os órgãos.

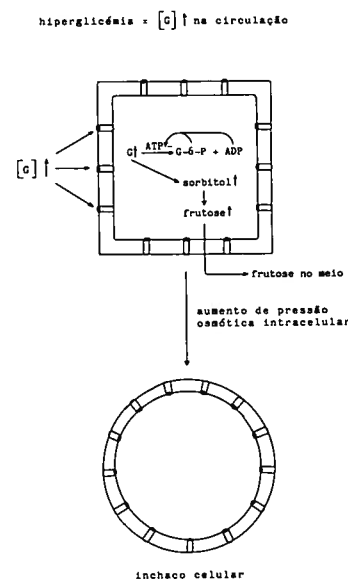


Figura 7: Consequências da hiperglicémia nas células insulino-independentes.

#### IV. Absorção e metabolismo do sorbitol

Antes de as analisarmos, discutiremos brevemente o problema da absorção e metabolismo do sorbitol. Quando o sorbitol é injectado na circulação, 64 % é excretado inalterado na urina. Por via oral, uma dose de 35 g é metabolizada na maior parte em CO<sub>2</sub>, tanto no indivíduo normal como no diabético, somente 2 % aparece na urina e 10 % nas fezes.<sup>9</sup>

Porém, o grave problema da sua ingestão por via oral é a intolerância do tubo digestivo, podendo ocasionar diarreia osmótica, se ingerido em grande quantidade.<sup>10</sup> O sorbitol é utilizado como adocicante em numerosos produtos alimentares sem açúcar. A administração de 10 g a voluntários causa ligeiro desconforto (gases, eructações devidas à fermentação pelas bactérias intestinais) 20 g causam sintomas graves (cólicas, diarreias). A sua absorção pelo tubo digestivo é deficiente. Algumas frutas contêm quantidades elevadas (pêras, ameixas, pêssegos, maçãs).<sup>10</sup>

Em doentes diabéticos utilizaram-se infusões de sorbitol com o objectivo de fornecer um alimento calórico que não afectasse a glicémia. Este facto foi confirmado, verificando-se que o sorbitol é oxidado a maior velocidade que a glucose, e diminui a oxidação de ácidos gordos. Contudo, aumenta para o dobro a produção de lactato.<sup>11</sup>

As transformações metabólicas sofridas no organismo pelo sorbitol estão ainda mal esclarecidas. Em microorganismos ele pode ser transformado por duas vias: a primeira origina sucessivamente sorbitol-6-fosfato e frutose-6-fosfato; na segunda o sorbitol é desidrogenado em frutose e esta é transformada também em frutose-6-fosfato.<sup>12</sup> Nos mamíferos o problema é mais complexo.

No rato o sorbitol da dieta é metabolizado em frutose no fígado. Um pico de sorbitol aparece no cristalino, não se sabendo, porém, se é o sorbitol da dieta que se acumula neste órgão ou se é a frutose que penetra no cristalino e é depois transformada em sorbitol.<sup>13</sup>

Utilizando <sup>14</sup>C-sorbitol verificou-se neste animal que ele aparece no colesterol e nos ácidos gordos, o que se explica através da sua prévia degradação no intestino por bactérias.<sup>14</sup> No cristalino humano e bovino foi descrita a formação de sorbitol-6-fosfato por acção da sorbitol quinase na presença de ATP,<sup>15</sup> ou por prévia transformação em frutose-6-fosfato ou em glucose-6-fosfato.<sup>15</sup> Demonstrou-se também um estímulo das oxidases de função mista do fígado pelo sorbitol.<sup>16</sup>

Na diabetes a excreção diária de sorbitol e de inositol na urina está elevada, havendo uma correlação directa entre a excreção de glucose e a de polióis (sorbitol, inositol e pentitóis).<sup>34</sup>

#### V. Formação de sorbitol no pâncreas

O pâncreas de rato contém tanto hexonato como aldose redutase, ambos inibidos por TMG (ácido tetrametileno glutárico) e por colchicina. Estes dois compostos inibem a libertação de insulina induzida pela glucose em pâncreas de ratos perfundidos. A potência na depressão da libertação de insulina é paralela ao grau de inibição da aldose redutase.

A adição de sorbitol reestabelece a capacidade de responder à glucose e à tolbutamida. Estes factos fazem pensar que a conversão de glucose em sorbitol é essencial para a libertação de insulina.<sup>17</sup>

Estes dados são, porém, postos em dúvida mais recentemente, quando se verifica que a potência insulinogénica do sorbitol é apenas 7% da glucose, donde se conclui que o metabolismo por esta via não tem significado na libertação de insulina pelo pâncreas.<sup>18</sup>

#### VI. Testículo e placenta

No testículo a via dos polióis é essencial para a formação de frutose, açúcar necessário para a alimentação dos espermatozóides. Esta via é especialmente activa nas vesículas seminiais.

Na placenta de alguns animais existe aldose redutase que forma sorbitol. O fígado fetal transforma-o depois em frutose.<sup>19</sup> Contudo, a perfusão da placenta com glucose produz não só sorbitol como frutose, pelo que se demonstra a presença de sorbitol desidrogenase neste órgão.<sup>20</sup> É, porém, possível que a sorbitol desidrogenase seja necessária para completar a acção do enzima existente na placenta.

#### VII. Fígado

No fígado foram isoladas duas aldeído redutases que actuam com NADPH como coenzima. Reduzem vários aldeídos (piridina-3-aldeído, butiraldeído, gliceraldeído) e são inibidas pelos inibidores da aldose redutase. Porém não actuam sobre a glucose, pelo que não se forma sorbitol no fígado.<sup>21</sup>

#### VIII. Glóbulo vermelho

A compreensão do metabolismo do sorbitol no eritrócito foi dificultada por várias razões, a primeira das quais é a dificuldade no seu doseamento e a segunda a natureza do enzima (enzimas?) que o produz. O sorbitol pode ser determinado por métodos enzimáticos,<sup>22</sup> por métodos radioisotópicos<sup>23</sup> e por métodos cromatográficos,<sup>24</sup> que são hoje os mais utilizados e exactos. No que respeita à natureza do enzima, surgem fortes dúvidas sobre se existe aldose ou hexonato redutase. Beutler e col<sup>25</sup> baseado na afinidade preferencial do enzima para substratos e inibidores sugere que apenas existe hexonato redutase no glóbulo vermelho.

Menciona ainda o facto de os deficientes em desidrogenase da glucose-6-fosfato terem menor produção de sorbitol, o que é compreensível, visto que a formação de NADPH é escassa e este é coenzima de ambas as redutases.

Opinião diferente é apresentada por Halder e col<sup>26</sup> que demonstram a semelhança entre a aldose redutase do cristalino e do glóbulo vermelho.

A actividade da aldose redutase no eritrócito está aumentada em diabéticos com cataratas.<sup>27</sup>

No que respeita à concentração de sorbitol no eritrócito, ela tem uma relação linear com a concentração de glucose no plasma, ou, em caso de eritrócitos incubados, no meio de incubação. O sorbitol é lentamente transformado em frutose que sai da célula.<sup>28</sup>

Em glóbulos incubados num meio contendo glucose 50 mM a formação de sorbitol e frutose é muito mais elevada que num meio com glucose 5 mM. Aumenta a relação lactato/piruvato em virtude das alterações das relações NAD/NADH e NADP/NADPH. Na concentração de glucose 5 mM 3% da glucose segue a via dos polióis, ao passo que na concentração 50 mM, segue esta via 11% da glucose.

A formação de sorbitol diminui se ao meio de incubação se juntar barbital, que inibe a AR e a HR.<sup>29</sup>

Em estudos de doentes diabéticos o sorbitol do eritrócito é considerado um bom indicador do controle da diabetes.<sup>22</sup> Doseando o sorbitol do eritrócito com cromatografia gasosa capilar verifica-se que o sorbitol em indivíduos normais tem um valor médio de 5,9 nmol/ml ao passo que em diabéticos insulino dependentes este valor é de 17,8 nmol/ml.<sup>31</sup>

Num trabalho recente<sup>32</sup> comparou-se a actividade da aldose redutase do cristalino e do eritrócito. No cristalino a glucose (e os aldeídos em geral) podem ser metabolizados em álcool pela aldose redutase ou em ácido pela aldeído desidrogenase, que diminuem ambas de actividade nos diabéticos (2,5 e 3,3 vezes). Verifica-se que a actividade da desidrogenase diminui após administração de antidiabéticos orais, admitindo-se que haja uma alteração na destoxificação dos aldeídos no cristalino nestas condições.

Em relação ao eritrócito verificou-se uma correlação directa entre a hemoglobina glicosilada e a capacidade de oxidar NADPH. Não há relação entre a actividade redutora de gliceraldeído no eritrócito e no cristalino. A utilidade do estudo do eritrócito como guia da situação dos tecidos é posta em dúvida.

Finalmente queremos mencionar um estudo que procura correlacionar o sorbitol eritrocitário com as propriedades reológicas do sangue.<sup>33</sup> A deformabilidade dos eritrócitos está reduzida, dificultando a passagem nos capilares. Este efeito é devido à acção osmótica do sorbitol e à baixa de ATP.

#### IX. Vasos sanguíneos

Estudos realizados em coelhos tornados diabéticos por administração de aloxana revelam que o espaço de glucose excede o de rafinose e de inulina. A hexoquinase diminui de actividade em cerca de 30%.

Dado que as células da aorta são insulino-independentes, a penetração de glucose depende de hiperglicémia. A diminuição da hexoquinase limita a sua fosforilação. Esta menor fosforilação é ainda reduzida pela acumulação de glucose-6-fosfato, que chega a inibir a hexoquinase em 80%.<sup>35</sup> Nestas condições, a acumulação de sorbitol é acentuada e estimulada por hormonas como adrenalina e angiotensina II.<sup>36</sup>

Colocando segmentos tubulares de aorta de coelho em meios ricos em glucose (20 a 50 mM) aumenta a concentração de sorbitol e de frutose que sai para o meio (o sorbitol não passa para o meio). Há um aumento significativo no conteúdo de água. A captação de oxigénio é reduzida, de que resulta um aumento compensatório de glicólise com produção de ácido láctico.<sup>37</sup>

Em preparação de capilares de bexiga de enguia incubados em Ringer com 5 mM de glucose, formam-se 29 nmoles de sorbitol/g e passam para o meio 725 nmoles de frutose/g. Se a concentração de glucose for elevada para 30 mM o sorbitol dos capilares e a frutose do meio passam para o dobro. Baixa a respiração e aumenta a produção de lactato. Este estimula a prolina hidroxilase, de que resulta um aumento de formação de colagéneo na membrana basal, cujas propriedades se alteram, com aumento de permeabilidade.<sup>38</sup>

Em culturas de fibroblastos de pele humana e de células de músculo liso arterial, adicionando ao meio glucose para obter a concentração existente em diabéticos (10 - 30 mM) verifica-se uma proliferação celular com resposta óptima a 10 mM (325 mg/dl). Concentrações equimolares de sorbitol dão resultados análogos.<sup>30</sup>

Drasnin sugere que as doenças associadas com a idade (aterosclerose, neuropatia, catarata) sejam devidas a efeitos osmóticos, por acumulação excessiva de sorbitol nos tecidos ao longo do tempo. O mesmo se passaria numa escala de tempo mais curta nos diabéticos.<sup>39</sup>

## X. Rim

A aldose redutase está localizada na papila renal. No córtex há um enzima semelhante mas com pouca capacidade para formar polióis. Na diabetes o sorbitol existe na papila em muito maior concentração. Num estudo de ratos alimentados durante 3 semanas com dieta contendo 50% de galactose notou-se uma acentuada diferença. Ao passo que a concentração de galactose nas papilas de ratos controles era em média 2  $\mu$ moles/g, nos animais alimentados com galactose este valor subia para 29  $\mu$ moles/g ao mesmo tempo que se notava uma acentuada redução na actividade de aldose redutase.<sup>40</sup>

Por outro lado, é de notar que a sorbitol desidrogenase tem a mais baixa actividade na papila e máxima nos glomérulos e tubos contornados distais.<sup>41</sup> Este facto agrava a situação na papila renal, pois o sorbitol formado não pode ser degradado.

Em cultura de células renais, na presença de alta concentração de glucose, o sorbitol acumula, assim como a frutose. A adição do inibidor da aldose redutase, TMG, impede esta acumulação.<sup>42</sup> O mesmo sucede com outros inibidores.<sup>43</sup>

Na diabetes experimental também a via do ácido glucurónico está activada. Dela provém a UDP-galactose necessária para a formação da membrana basal que se encontra espessada nesta situação.<sup>44</sup>

## XI. Retina

A retinopatia é responsável por 7% dos casos de cegueira. Entre os diabéticos 1,9% são cegos por esta causa.<sup>45</sup> Podemos considerar dois tipos de retinopatia diabética:

- Não proliferativa, caracterizada por anomalias venosas (dilatação, constrição irregular, tortuosidade) microaneurismas, hemorragias retinianas, edema e exsudados.
- Proliferativa, caracterizada por neovascularização, proliferação glial, tracção vitreoretiniana devida ao colapso das estruturas colagêneas.

Foi descrito um factor libertado pelo tecido retiniano hipóxico, responsável pelo estímulo de neovascularização.<sup>46</sup> É produzido no humor vítreo. Trata-se de um polipéptido de PM = 50 000.<sup>49</sup>

Os principais factores de risco são: a duração da diabetes, o nível da glicémia, a necessidade de insulina, a presença de cetonúria, a idade mais jovem do início da doença e uma tensão arterial máxima superior a 180 mmHg.<sup>47</sup>

Parece haver uma acentuada melhoria com um controlo metabólico rigoroso.<sup>48</sup>

As alterações microvasculares da retina são acompanhadas da perda selectiva de células murais (pericitos capilares retinianos) ao mesmo tempo que as células endoteliais proliferam. Rompe-se a barreira sangue-retina. Aparecem microaneurismas, ao mesmo tempo que fecham áreas de capilares e perdem celularidade.

Como no rim, o endotélio vascular da retina está directamente exposto à circulação e à hiperglicémia, pois não requer insulina para transporte de glucose. A acumulação de sorbitol nas células endoteliais da retina causa inchaço e interfere com a função. Não há porém evidência da presença da via dos polióis nas células endoteliais da retina. Apenas os pericitos têm aldose redutase.

Em meios de cultura, variando a concentração de glucose, há variação simultânea da concentração de sorbitol e de actividade proliferativa das células. Se a concentração de glucose é fisiológica, as células proliferam em monocamada. Porém se a concentração de glucose é elevada, há uma hiperproliferação celular, acompanhada de acumulação de restos celulares.<sup>49</sup>

A ingestão de dietas ricas em sacarose causa retinopatia no rato; a causa foi atribuída à frutose resultante da sua hidrólise.<sup>50</sup>

É de notar que em ratos alimentados com dieta contendo 50% de galactose, as membranas basais dos capilares da retina aparecem espessadas para o dobro, ao fim de 28 a 44 semanas. Porém se for administrado simultaneamente um inibidor da aldose redutase (sorbinitil) esta alteração é totalmente evitada.<sup>51</sup>

## XII. Cristalino

Num trabalho anterior tivemos ocasião de analisar o problema da catarata do diabético e sua prevenção.<sup>52</sup>

Resumidamente podemos dizer que a acumulação do sorbitol no cristalino leva ao inchaço celular, interferência com bomba de sódio-potássio e com a captação de aminoácidos.

As células do cristalino são destruídas, tendo como resultado a opacificação. A utilização de inibidores de aldose redutase impede no animal de experiência estas alterações. Os inibidores mais utilizados são por um lado os flavonoides penta hidroxilados, por outro o sorbinil (espiro-oxazolidinediona).

### XIII. Músculo

O músculo é um órgão insulino dependente, pelo que não é afectado pelo aumento de formação de sorbitol. Com efeito na ausência da insulina pouca glucose penetra na célula muscular. Tivemos porém ocasião de ver na literatura uma referência à distrofia muscular de Duchenne. Os Autores referem um aumento de concentração de frutose nos músculos dos doentes. A aldose redutase está aumentada de actividade cerca de 13 vezes em comparação com músculos normais. Também a sorbitol desidrogenase está elevada, mas não na mesma proporção (4 vezes em comparação com os músculos normais). Parece pois haver um intenso estímulo da via dos polióis no músculo de doentes com este tipo de distrofia muscular. Curiosamente nas mulheres transmissoras (a doença é hereditária, ligada ao sexo) nota-se também a hiperactividade da via dos polióis.<sup>53</sup>

### XIV. Cérebro e nervos periféricos

O problema das alterações metabólicas cerebrais na diabetes não está suficientemente esclarecido. Sabe-se que a cetoacidose diabética pode ser acompanhada de convulsões e de alterações neurológicas focais. Por outro lado o tratamento do coma diabético com insulina pode causar edema cerebral. Contudo não parece haver acumulação de sorbitol ou de frutose e a glucose do cérebro é apenas 25 % maior que a do plasma. É possível que o edema cerebral resulte da acção directa da insulina no cérebro quando a glicémia baixa para valores normais.<sup>54</sup>

Contudo no líquido cefalorraquidiano (LCR) o sorbitol e outros polióis estão elevados (arabitol, manitol) ao passo que se nota uma diminuição da concentração de mioinositol (apenas nos diabéticos insulino-dependentes).<sup>55-57</sup>

Num estudo mais recente em que se compara a concentração no soro e no LCR de diversos polióis (manose, frutose, l-desoxiglucose, manitol sorbitol e inositol) nota-se em primeiro lugar uma variação com a idade. O mioinositol do LCR é muito mais elevado que no plasma, e também a frutose e o sorbitol. Em relação ao mioinositol há que considerar um sistema activo de transporte pois a sua concentração nos nervos é de cerca de 100 vezes maior que no plasma. Por outro lado a l-desoxiglucose (1,5-anidroglicitol) apresenta uma concentração subnormal no soro de diabéticos não tratados e eleva-se após tratamento com insulina. Parece ser utilizada com mais eficiência na diabetes. Serve pois de marcador metabólico. A manose sofre uma alteração oposta, sendo mais concentrada no soro de diabéticos, podendo também servir de marcador metabólico.<sup>58</sup>

É porém em relação à polineuropatia diabética que tem incidido maior atenção. A polineuropatia distal simétrica é uma grande causa de morbilidade e desempenha um papel primário no aparecimento de úlceras do pé. Estão excluídas a doença oclusiva arterial e a microangiopatia como suas causas, admitindo-se antes uma alteração metabólica crónica.<sup>59</sup>

Há alterações patológicas nas partes distais dos nervos periféricos com perda de fibras com e sem mielina, desmielinização segmentar, proliferação das células de Schwann que perderam a relação com axónios mielinizados e aumento dos elementos do tecido conjuntivo dos nervos periféricos.<sup>59</sup> A velocidade de condução diminui, tanto nos nervos motores como nos sensitivos. A insulina só melhora a condução nervosa se os animais de experiência forem mantidos em normoglicémia durante longo tempo. Também no doente diabético se notam melhorias com um bom controle da glicémia.<sup>64-65</sup>

O mioinositol é excretado em concentrações elevadas na urina por má reabsorção ao nível dos tubulos renais na presença de excesso de glucose no filtrado.<sup>59</sup>

A disfunção afecta tanto os nervos somáticos como autónomos e tem um início precoce.<sup>60-62</sup>

A célula de Schwann tem aldose redutase, contudo o seu volume diminui 30 % no animal diabético. Como explicação aventou-se que a frutose saíria e aumentaria a pressão osmótica no líquido extracelular.<sup>63</sup>

Contudo também há alterações axonais, que podem preceder a desmielinização segmentar. Na diabetes experimental, após 4 semanas há redução de calibre dos axónios devida a hiperosmolaridade do tecido intersticial, por acumulação de sorbitol que não sai na presença de uma barreira intacta sangue-nervo.

Ao mesmo tempo que se acumulam açúcares livres nos nervos do animal diabético, há uma baixa de conteúdo em mioinositol que afecta a condução nervosa. A CDP-diglicérido-inositol transferase e a fosfatidil colina-4-P quinase diminuem de actividade após 2 semanas, e são normalizadas pela insulina.

A glucose inibe a captação de inositol assim como a sua síntese a partir da glucose-6-fosfato.<sup>66</sup>

Embora haja razões para admitir que uma alteração na síntese de sorbitol esteja implicada na neuropatia diabética o seu tratamento com inibidores de aldose redutase não tem sido acompanhado de relatos optimistas.<sup>67</sup> É provável que a situação seja diferente do que se passa noutros tecidos, em especial no cristalino. Talvez eles tenham dificuldade em alcançar as células de Schwann ou os nervos periféricos. Ou ainda é possível que a situação seja mais complexa, incluindo alterações na síntese proteica pelo neurónio, alterações complexas no metabolismo do mioinositol e talvez muitas outras.

## DISCUSSÃO

No nosso organismo a entrada e utilização de glucose nas células é controlada de dois modos diferentes.

Nas células insulino-independentes a insulina aumenta o número de transportadores e simultaneamente activa as vias fundamentais da sua utilização. Daqui resulta que nestas células a maior entrada de glucose é acompanhada de maior utilização. Na ausência de insulina, o bloqueio da entrada de glucose e a menor actividade de enzimas chaves, como a hexoquinase, resulta numa repressão coordenada da utilização deste metabolito, que não se acumula no seu interior.

As células insulino-independentes vivem numa situação completamente distinta. Não há controle dos transportadores da membrana celular. Apenas a glicémia regula a quantidade de glucose que penetra na célula. Em situações de hiperglicémica, um aumento da quantidade da glucose no citoplasma, juntamente com uma menor actividade de hexoquinase, quer por diminuição de síntese quer por bloqueio enzimático pelos seus produtos, tem como consequência o desvio de quantidades elevadas de glucose para vias acessórias, em especial a dos polióis. O aumento excessivo de transformação em sorbitol, acompanhado por reduzida metabolização deste poliálcool, que dificilmente sai da célula, tem como resultado o inchaço celular, devido à elevação da pressão osmótica e subsequente chamada de água.

As consequências são funcionamento alterado de diversos órgãos, precisamente aqueles que a literatura sempre apontou como mais susceptíveis de disfunção na diabetes. São as alterações dos vasos sanguíneos, artérias e capilares, as alterações renais, as alterações oculares, quer da retina quer do cristalino, e as alterações neurológicas.

A verificação deste facto teve implicações terapêuticas. Com efeito os bons resultados obtidos com a utilização de inibidores da aldose redutase em animais de experiência, fazem pensar que resultados idênticos possam vir a ser obtidos nos doentes humanos. O óbice é porém o facto de se tratar de uma situação que requer tratamento durante toda a vida. Há que pensar nas consequências da administração prolongada de fármacos que em regra actuam sobre mais que um sistema enzimático, provocando com o tempo alterações imprevisíveis. Até que ponto se justifica a sua utilização profilática nestas condições é difícil de avaliar. Contudo não há dúvida que se abriu uma nova porta para o estudo do mecanismo fisiopatológico das complicações da diabetes.

## BIBLIOGRAFIA

- SMITH, E.; HILL, R.; LEHMAN, I.; LEFKOWITZ, R.; HANDLER, P.; WHITE, A.: Principles of biochemistry, 7.<sup>a</sup> ed. Mac-Graw-Hill 1983.
- MARTIN, D.; MAYES, P.; RODWELL, V.: Harpers review of biochemistry, 19.<sup>a</sup> ed. Lange 1983.
- BANKS, P.; BARTLEY, W.; BIRT, L.: The biochemistry of the tissues, 2.<sup>a</sup> ed. J. Wiley 1976, p. 453.
- WHITING, P.; PALMANO, K.; HAWTHORNE, J.: Enzymes of myo-inositol lipid metabolism in rats with streptozotocin induced diabetes. *Biochem J.* 1979; 179: 549.
- TULSIANI, R.; TOUSTER, O.: Studies on dehydrogenases of the glucuronate cycle in the livers of diabetic mice and rats. *Diabetes* 1979; 28: 793.
- RIESER, P.; RUSER, C.: Reversal of insulin resistance in red cell sugar transport. *Arch Biochem Biophys* 1964; 105: 20.
- BALDWIN S.; LIENHARD G.: Glucose transport across plasma membranes: facilitated diffusion systems. *TIBS* 1981; 5: 208.
- WHEELER, T.; HINKLE, P.: Kinetic properties of the reconstituted glucose transporter from human erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 1981; 256: 8907.
- ADCOCK, L.; GRAY, C.: The metabolism of sorbitol in the human subject. *Biochem J.* 1957; 65: 554.
- HYAMS, J.: Sorbitol intolerance: an unappreciated cause of functional gastrointestinal complaints. *Gastroenterology* 1983; 84: 30.
- HYAMS, J.: Sorbitol intolerance: an unappreciated cause of functional gastrointestinal complaints. *Gastroenterology* 1983; 84: 30.
- KALBERMATTEN N.; RAVUSSIN E.; MAEDER E.; GESSER G.; GEQUIER E.; FELBER J.: Comparison of glucose, fructose, sorbitol and xylitol utilization in humans during insulin suppression. *Metabolism* 1980; 29: 62.
- DELOBLE A.; CHALUMEAN H.; GAY P.: Existence of two alternative pathways for fructose and sorbitol metabolism in *Bacillus subtilis* Marburg. *Eur J. Biochem* 1975; 51: 503.
- ERTEL N.; AKGUN S.; KEMP F.; MITTLER J.: The metabolic fate of exogenous sorbitol in the rat. *J. Nutr* 1983; 113: 566.
- SCHNELL E.; SIEBERT G.: Pathways of sorbitol and related sugars for lipid biosynthesis in the rat. *Nutr Metabol* 1977; 21: 180.
- SRIVASTARA S.; AUSARI N.; BROWN J.; PETRASH M.: Formation of sorbitol-6-phosphate by bovine and human lens aldose reductase, sorbitol dehydrogenase and sorbitol Kinase. *Biochim Biophys Acta* 1982; 717: 210.
- REINKE L.; BELINSKY S.; KAUFFMAN F.; EVANS R.; THURMAN R.: Regulation of NADPH-dependent mixed function oxidation in perfused livers. *Biochem Pharmacol* 1982; 31: 1621.
- GABBAY K.; TZE W.: Inhibition of glucose-induced release of insulin by aldose reductase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci* 1972; 69: 1435.
- MALAISSIE W.; SENER A.; MAHY M.: The stimulus secretion coupling of glucose induced insulin release. *Eur J. Biochem* 1974; 47: 365.
- HERS G.: Le mécanisme de la formation du fructose sérial et du fructose fetal. *Biochim Biophys Acta* 1960; 37: 127.
- BRITTON H.; HUGGETT A.; NIXON D.: Carbohydrate metabolism in the sheep placenta, *Bioch. Biophys Acta* 1967; 136: 426.
- PETRASH M.; SRIVASTAVA S.: Purification and properties of human liver aldehyde reductases. *Biochim Biophys Acta* 1982; 707: 105.
- MALONE J.; KNOX G.; BENFORD S.; TEDESCO T.: Red cell sorbitol. *Diabetes* 1980; 29: 861.
- MADDOX, I.: A radiolabeled assay for aldose reductase. *Can J. Biochem* 1974; 52: 807.
- PAFFENBERGER, C.; SZAFRANEK, J.; HORNING, M.; HORNING, E.: Gas chromatographic determination of polyols and aldoses in human urine as polyacetates and aldonitrile polyacetates. *Analytical Biochem* 1975; 63: 501.
- BEUTLER, E.; GUINTO, E.: The reduction of glyceraldehyde by human erythrocytes. *J. Clin. Inv.* 1974; 53: 1258.
- HALDER, A.; WOLFF, S.; TING, H.; CRABBE, J.: An aldose reductase from the human erythrocyte. *Biochem Soc. Trans.* 1980; 8: 645.
- CRABBE, J.; HALDER, A.: Affinity chromatography of bovine lens aldose reductase, and a comparison of some kinetic properties of the enzyme from lens and human erythrocyte. *Biochem Soc. Trans.* 1980; 8: 194.
- MORRISON, A.; CLEMENTS, R.; TRAVIS, S.; OSKI, F.; WINEGRAD, A.: Glucose utilization by the polyol pathway in human erythrocytes. *Biochem Biophys Res. Comm.* 1970; 40: 199.
- TRAVIS, S.; MORRISON, A.; CLEMENTS, S.; WINEGRAD, A.; OSKI, F.: Metabolic alterations in the human erythrocyte produced by increases in glucose concentration. *J. Clin. Inv.* 1971; 50: 2104.
- TURNER, J.; BIERMAN, E.: Effects of glucose and sorbitol on proliferation of cultured human skin fibroblasts and arterial smooth cells. *Diabetes* 1978; 27: 583.
- SNIDJERS, C.; LOMECKY, M.; JONG, A.: Determination of sorbitol in erythrocytes of diabetic and healthy subjects by capillary gas chromatography. *Clin. Chim. Acta* 1983; 132: 83.
- CRABBE, J.; BRON, A.; PECKAR, C.; PETCHEY, M.; TING, H.; WILLIAMS, J. *Brit. J. Ophthalmol* 1983; 67: 696.
- CARANDENTE, O.; COLOMOBO, R.; GIRARDI, A.; MARGONATO, A.; POZZA, G.: Role of red cell sorbitol as determinant of reduced erythrocyte filtrability in insulin dependent diabetics. *Acta Diabetol Latina* 1982; 29: 359.
- HEAF, D.; GALTON, D.: Sorbitol and other polyols in lens, adipose tissue and urine in diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 1975; 63: 41.
- XALCIN, S.; WINEGRAD, A.: Defect in glucose metabolism in aortic tissue from alloxan diabetic rabbits. *Am J. Physiol* 1963; 205: 1253.
- CLEMENTA, R.; MORRISON, A.; WINEGRAD, A.: Polyol pathway in aorta: regulation by hormones. *Science* 1969; 166: 1007.



37. MORRISON, A.; CLEMENTS, R.; WINEGRAD, A.: Effects of elevated glucose concentration on the metabolism of the aortic wall. *J. Clin. Invest.* 1972; 51: 3114.
  38. RASIO, E.; MORRISON, A.: Glucose induced alterations of the metabolism of an isolated capillary preparation. *Diabetes* 1977; 27: 108.
  39. DRASNIN, N.: Sorbitol accumulation. *Lancet* 1973; II: 377.
  40. GABBAY, K.; SULLIVAN, J.: The sorbitol pathway in diabetes and galactosemia: enzyme and substrate localization and changes in kidney. *Diabetes* 1968; 17: 300.
  41. CORDER, C.; COLLINS, J.; BRANNAN, T.; SHARMA, J.: Aldose reductase and sorbitol dehydrogenase distribution in rat kidney. *J. Histochem Cytochem* 1977; 25: 1.
  42. HUTTON, J.; WILLIAMS, J.; SCHOFIELD, P.; HOLLOWES, F.: Polyol metabolism in monkey kidney epithelial cell cultures. *Eur J. Biochem* 1974; 49: 347.
  43. HANDFORD, R.; HEATH, H.: The effects of aldose reductase inhibitors on the metabolism of cultured monkey kidney epithelial cells. *Biochem Pharmacol* 1981; 30: 3065.
  44. SOCHOR, M.; BACHER, N.; MCLEAN, P.: Regulation of pathways of glucose metabolism in kidney. *Arch Biochem Biophys* 1979; 198: 632.
  45. ESPÉRANCE, F.: Diabetic rethynopathy. *Med. Clin. N. Am.* 1978; 62: 767.
  46. LIANG, J.; GOLDBERG, M.: Treatment of diabetic rethynopathy. *Diabetes* 1980; 29: 841.
  47. WEST, K.; ERDREICH, L.; STÖBER, J.: A detailed study of risk factors for retinopathy and nephropathy in diabetes. *Diabetes* 1980; 29: 501.
  48. LARSEN, K.; CHRISTIANSEN, J.; PARVING, H.: The effect of strict short term metabolic control on retinal nervous systems abnormalities in newly diagnosed type 1 diabetic patients. *Diabetologia* 1983; 24: 207.
  49. RAND, L.: Recent advances in diabetic retinopathy. *Am. J. Med.* 1981; 70: 595.
  50. HANDFORD, R.; HEATH, H.: Identification of fructose as the retinopathic agent associated with the ingestion of sucrose rich diets in the rat. *Metabolism* 1980; 29: 1247.
  51. ROBISON, W.; KADOR, P.; KINOSHITA, J.: Retinal capillaris: basement membrane thickening by galactosemia prevented with aldose reductase inhibitor. *Science* 1983; 180: 1177.
  52. SANTOS, J.; RODRIGUES, P.; SILVA, A.; FREIRE, A.; AZEVEDO, M.; MANSO, C.: A catarata diabética: fisiopatologia e terapêutica. Em publicação.
  53. ELLIS, D.; STRICKLAND, J.: Differences in the metabolism of glucose between normal and dystrophic human muscle. *Biochem J.* 1972; 130: 17P.
  54. GUISSADO, R.; ARIEFF, A.: Neurologic manifestations of diabetic comas: correlation with biochemical alterations in brain. *Metabolism* 1975; 24: 665.
  55. PITKÄNEN, E.; SERVO, C.: Cerebrospinal fluid polyols in patients with diabetes mellitus. *Clin. Chim. Acta* 1973; 44: 437.
  56. SERVO C.; PITKÄNEN E.: Variation in polyol levels in cerebrospinal fluid and serum in diabetic patients. *Diabetologia* 1975; 11: 575.
  57. SERVO, C.: Sorbitol and myoinositol levels in the cerebrospinal fluid of diabetic patients. *Acta Endocrinol* 1980; 94: 133.
  58. YOSHIOKA, S.; SAITOH, S.; SEKI, S.; SEKI, K.: Concentrations of non glucose polyols in serum and cerebrospinal fluid from apparently healthy adults and children. *Clin. Chim. Acta* 1984; 30: 188.
  59. WINEGRAD, A.; GREENE, D.: Diabetic polyneuropathy. *New Engl. J. Med.* 1976; 295: 1416.
  60. YOUNG, R.; EWING, D.; CLARKE, B.: Nerve function and metabolic control in teenage diabetics. *Diabetes* 1983; 32: 142.
  61. HOSKING, D.; BENNETT, T.; HAMPTON, J.: Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* 1978; 27: 1053.
  62. HILSTED, J.: Pathophysiology in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* 1982; 31: 730.
  63. CLEMENTS, R.: Diabetic neuropathy: new concepts of its etiology. *Diabetes* 1979; 28: 604.
  64. PORTE, D.; GRAF, R.; PFEIFER, M.; HALAR, E.: Diabetic neuropathy and plasma glucose control. *Am. J. Med.* 1981; 70: 195.
  65. SIDENIUS, P.; JACOBSEN, J.: Reversibility and preventability of the decrease in slow axonal transport velocity in experimental diabetes. *Diabetes* 1982; 31: 689.
  66. WELLS, H.; WELLS, W.: Galactose toxicity and myoinositol metabolism in the developing rat brain. *Biochemistry* 1967; 6: 1168.
  67. MAYER, J.; TOMLINSON, D.: Prevention of defects of axonal transport and nerve conduction velocity by oral administration of myoinositol or an aldose reductase inhibitor in streptozotocin diabetic rats. *Diabetologia* 1983; 25: 433.
  68. HANDELSMAN, D.: A clinical trial of an aldose reductase inhibitor in diabetic neuropathy. *Diabetes* 1981; 30: 459.
  69. YOUNG, R.; EWING, D.; CLARKE, B.: A controlled trial of sorbinil an aldose reductase inhibitor, in chronic painful diabetic neuropathy. *Diabetes* 1983; 32: 938.
  70. CULEBRAS, A.; ALIÓ, J.; HERRERA, J.; FRAILE, I.: Effect of an aldose reductase inhibitor on diabetic peripheral neuropathy. *Arch Neurol* 1981; 38: 133.
- Pedido de separatas: Carlos Manso  
 Centro de Metabolismo e Endocrinologia  
 Instituto de Química Fisiológica  
 Faculdade de Medicina  
 1600 Lisboa. Portugal