

ABSORCIÓ D'HEXOSES A TRAVÉS DE L'EPITELI INTESTINAL

JUANA M. PLANAS, CONCEPCIÓ AMAT, RUTH FERRER I MIQUEL MORETÓ

Grup de Transport Intestinal, Unitat de Fisiologia, Facultat de Farmàcia, Departament de Ciències Fisiològiques Humanes i de la Nutrició, Universitat de Barcelona.

Adreça per a la correspondència: Juana M. Planas. Unitat de Fisiologia, Facultat de Farmàcia. Av. Joan XXIII s/n, 08028 Barcelona.

RESUM

En aquesta revisió es fa una recopilació dels coneixements actuals sobre els mecanismes implicats en l'absorció intestinal de monosacàrids. A més dels mecanismes inespecífics, caracteritzats pel moviment passiu a favor de gradient per les vies transcel·lular i paracel·lular, els monosacàrids són transportats per proteïnes específiques de la membrana de l'enteròcit. Aquests transportadors són proteïnes que presenten dotze segments transmembrana, i s'agrupen en dues grans famílies: els SGLT, caracteritzats per cotransportar Na^+ i hexosa i ésser capaços d'acumular el substrat en contra de gradient, i els GLUT, que són transportadors facilitats que només funcionen a favor de gradient. Durant el procés d'absorció, l'SGLT1 apical transporta D-glucosa i D-galactosa amb gran afinitat mentre que la D-fructosa penetra a través del GLUT5. A la membrana basolateral hi ha un sistema de baixa afinitat, anomenat GLUT2 que transporta tots tres monosacàrids cap al medi intern. La regulació del transport de monosacàrids depèn de factors genètics i del control que exerceixen els mateixos substrats transportats. En tractar-se de nutrients no essencials amb una funció merament energètica, el patró adaptatiu consisteix en la inducció de transport pel mateix substrat present a la llum intestinal. L'augment de la capacitat de transport es correlaciona amb l'expressió o la densitat de SGLT1, GLUT5 i GLUT2. A elevades concentracions luminals de monosacàrids, la regulació de la permeabilitat de la via paracel·lular pot representar una fracció considerable del flux transepitelial d'aquest tipus de nutrients.

Paraules clau: transport, difusió, regulació, SGLT, GLUT.

SUMMARY

The present review compiles present knowledge on the processes involved in the intestinal absorption of monosaccharides. In addition to non-specific mechanisms such as the passive movement through paracellular and transcellular pathways, monosaccharides are transported by specific proteins of the cellular membrane. These transporters have a similar structure, with 12 membrane-spanning regions, and are grouped into two families: the one called SGLT includes carrier proteins that can co-transport Na^+ and hexose, and are able to accumulate substrates against a concentration gradient; the other is the GLUT family, which carry hexoses by facilitative diffusion, always downhill. During absorption, the apical SGLT1 transports D-glucose and D-galactose with high affinity, while D-fructose is taken up by GLUT5. At the basolateral membrane there is a low affinity system called GLUT2, which transports all three monosaccharides to the internal environment. The regulation of hexose transport depends on genetic factors and on the control that the transported substrates exert on the carrier systems. As sugars are nonessential, energy yielding nutrients, the adaptive pattern shows an induction of transport by the substrate present in the lumen. The increase in transport capacity is correlated with the expression or density of SGLT1, GLUT5 and GLUT2. At high luminal hexose concentrations, the regulation of permeability of the paracellular pathway may be a significant fraction of the transepithelial flux of such nutrients.

Key words: transport, diffusion, regulation, SGLT, GLUT.

INTRODUCCIÓ

Els carbohidrats constitueixen aproximadament la meitat de la ingesta calòrica de les persones adultes als països occidentals (Alpers, 1994). En aquesta dieta els carbohidrats s'ingereixen en forma de polisacàrids com el midó, en forma d'oligosacàrids com la sacarosa, la lactosa o la maltosa i en petita quantitat com a monosacàrids. Els oligosacàrids i polisacàrids han d'ésser prèviament digerits per a poder absorbir-se a través de l'epiteli intestinal essent els principals productes de la digestió les aldohexoses D-glucosa i D-galactosa i la cetoheptosa D-fructosa.

L'absorció transcel·lular de monosacàrids pot tenir lloc per difusió simple i per transport, amb interacció del substrat amb proteïnes específiques de la membrana de l'enteròcit. En el cas de la via paracel·lular, el pas de soluts es realitza per difusió i per

arrossegament per solvent a través de les unions intercel·lulars de l'epiteli.

Els enteròcits són cèl·lules polaritzades en què la membrana apical presenta microvil·lis que són absents a la membrana basolateral. D'altra banda, la diferent proporció de proteïnes i fosfolípids que formen ambdues membranes dona lloc a diferències en la seva activitat enzimàtica i en la distribució dels mecanismes específics per al pas de substàncies (Murer i Hopfer, 1977). Aquesta distribució asimètrica dels diferents sistemes de transport a través de les membranes apical i basolateral permet el moviment d'hexoses des de la llum intestinal fins al líquid intersticial, des d'on poden accedir al torrent circulatori. La majoria dels monosacàrids que penetren al citosol de l'enteròcit es transporten cap al medi intern, ja que aquestes cèl·lules utilitzen preferentment al-

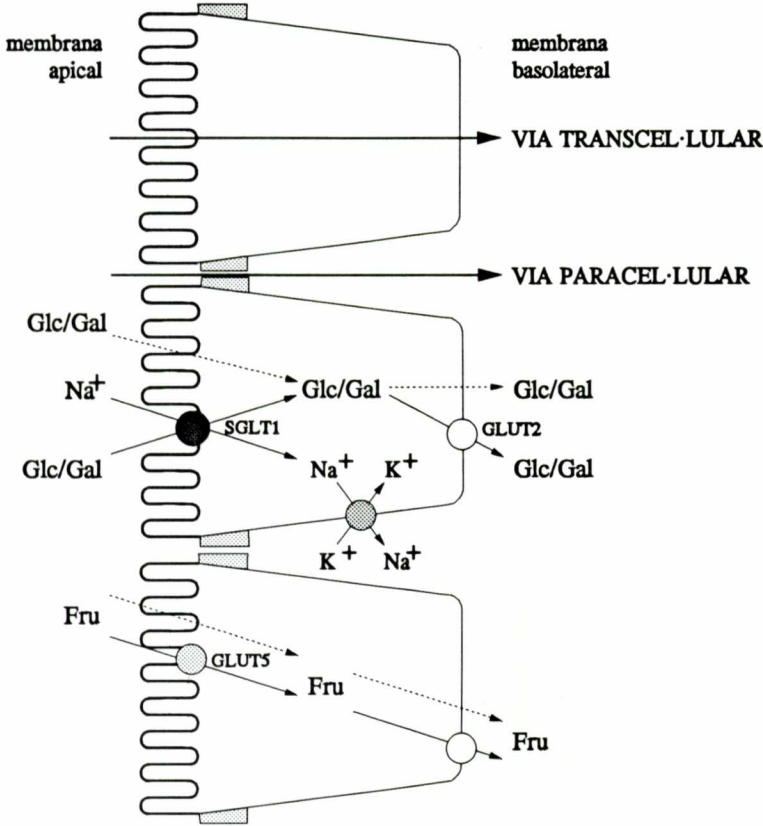


FIGURA 1. Representació esquemàtica dels mecanismes epitelials implicats en l'absorció intestinal d'hexoses. L'esquema mostra el co-transport de Na⁺ i D-glucosa (SGLT1) i el transport mitjançat equilibratiu de la membrana apical (GLUT5) i el de la membrana basolateral (GLUT2). També s'hi mostren les vies no mitjançades transcel·lular i paracel·lular.

tres substrats com a font d'energia per a les seves necessitats metabòliques (Souba *et al.*, 1991).

A la membrana apical hi ha un mecanisme de transport mitjançat concentratiu o transport actiu, capaç d'acumular aldohexoses dins de la cèl·lula en contra del seu gradient de concentració. Es tracta d'un mecanisme de cotransport en què l'entrada de l'hexosa està acoblada al gradient electroquímic de l'ió sodi (Na⁺). A la membrana apical, així com també a la membrana basolateral, s'hi han descrit mecanismes de transport mitjançat equilibratiu o de difusió facilitada. Són sistemes independents de Na⁺ que afavoreixen el moviment d'hexoses a través de la membrana a favor del seu gra-

dient de concentració. Per últim, les hexoses poden travessar també les membranes apical i basolateral per mecanismes passius.

TRANSPORT MITJANÇAT CONCENTRATIU

Propietats bàsiques

Riklis i Quastel (1958) varen ésser els primers investigadors en observar que el transport actiu d'hexoses era dependent de Na⁺. Posteriorment, Crane (1962) va proposar un model general de funcionament per al transport de substrats basat en l'anomenada *hipòtesi del gradient iònic* (Figura 1).

TAULA I. Escala d'afinitat dels monosacàrids per al sistema de cotransport de Na⁺ i D-glucosa de la membrana apical. Els monosacàrids estan llistats en ordre decreixent d'afinitat (Alvarado, 1966).

D-glucosa
6-deoxi-D-glucosa
β-metil-D-glucosa
D-galactosa
α-metil-D-glucopiranosid
1,5-anhidro-D-glucitol
3-oxi-metil-D-glucosa
D-fructosa
d-manosa, α-metil-D-mannopiranosid
L-glucosa
2-deoxi-D-glucosa
D-mannitol, D-sorbitol

Aquesta hipòtesi postula que l'energia necessària per a l'acumulació de monosacàrids, deriva del flux de Na⁺ a través de la membrana luminal a favor del seu gradient electroquímic i aquest es manté gràcies a l'activitat de la bomba de Na⁺ i K⁺, localitzada exclusivament a la membrana basolateral de l'enteròcit (Murer i Hopfer, 1977). El transport en contra de gradient de D-glucosa i D-galactosa és un procés que presenta una cinètica de Michaelis-Menten (Fisher i Parsons, 1949) i és inhibible competitiu per anàlegs estructurals i pel glucòsid florricina (Alvarado i Crane, 1962).

El transport mitjançat concentratiu de sucres presenta una elevada especificitat. Els substrats que poden utilitzar aquest sistema de transport han de complir uns determinats requeriments estructurals per a unir-se al transportador. Alvarado (1966) va proposar una escala d'afinitat dels monosacàrids per al transportador on els sucres queden llistats en ordre decreixent d'afinitat (Taula I).

Estructura del cotransportador Na⁺-glucosa

La caracterització bioquímica del cotransportador de Na⁺ i D-glucosa ha estat una tasca tècnicament complexa ja que es tracta d'una proteïna minoritària de la membrana de la vora en raspall (0,05-0,7 % del total; Schmidt *et al.*, 1983) que, a més, es desnatura amb molta facilitat durant el procés de purificació. Malgrat aquests inconvenients es va aconseguir purificar proteïnes de la membrana apical de l'enteròcit d'un pes molecular aparent de 72 kD (Schmidt *et al.*, 1983) i de 75 kD (Peerce i Clarke, 1990), que per les seves característiques podien tenir funcions de transport. La naturalesa hidrofòbica d'aquestes proteïnes no va permetre, però, determinar-ne la composició aminoacídica. La seqüenciació d'aquesta proteïna es va aconseguir a partir de la seva expressió en oòcits de *Xenopus laevis*, injectant-hi diferents fraccions de poli(A)⁺ mRNA de la mucosa intestinal de conill. D'aquesta manera es va identificar primer la fracció capaç d'expressar la proteïna responsable del cotransport de Na⁺-glucosa (Hediger *et*

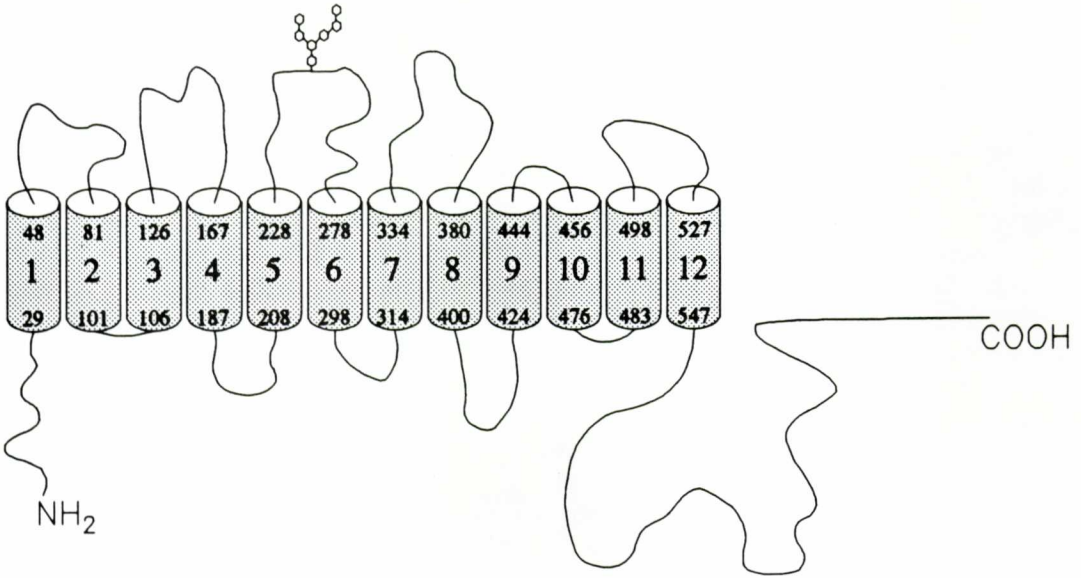


FIGURA 2. Representació esquemàtica de l'estructura secundària prevista per al cotransportador de Na⁺ i D-glucosa a partir de la seva seqüència d'aminòacids. La proteïna presenta una N-glicosilació a ASN-248, indicada pels hexàgons (Hediger i Rhoads, 1994).

al., 1987b) i després es va seqüenciar el cDNA que codifica una proteïna de 662 aminoàcids que en ésser expressada en oòcits transporta monosacàrids en contra de gradient i és sensible a la florricina (Hediger *et al.*, 1987a). La nova família de proteïnes va rebre el nom de SGLT (*acrònim de Sodium GLucose Transport*) i el seu primer membre va rebre la denominació de SGLT1. Posteriorment, l'anàlisi mitjançant *Western blot* de vesícules de membrana apical d'intestí humà i de conill va permetre identificar una banda situada a 74 kD que coincideix amb les anteriors prediccions del pes molecular del cotransportador Na⁺-glucosa (Hirayama *et al.*, 1991; Hirayama i Wright, 1992). En disposar de clons de cDNA humà per SGLT1 s'ha pogut localitzar el gen al cromosoma 22, en el locus 22q13.1 (Turk *et al.*, 1994).

Un cop coneguda la seqüència del cotransportador calia establir el model estructural. El grup de Wright va proposar un model topològic per a l'SGLT1 (Hediger *et*

al., 1989) on es presenta una proteïna integral amb dotze dominis que creuen la membrana (M₁ a M₁₂) i els extrems carboxílic i amino en el cantó citoplasmàtic. Uns anys més tard, Hediger i Rhoads (1994) proposaren un nou model basat en l'anterior i que es presenta a la figura 2.

Utilitzant l'anàlisi per *Northern*, s'ha comprovat que aquesta proteïna es troba expressada bàsicament a l'intestí prim i en menor proporció al ronyó, al pulmó i al fetge (Lee *et al.*, 1994). Pel que fa a l'intestí, el seu mRNA es troba present en gran proporció a les cèl·lules localitzades als dos terços inferiors de les vellositats i disminueix en direcció a la punta d'aquestes; en canvi, l'activitat del cotransportador és màxima a l'extrem apical de la vellositat (Smith *et al.*, 1992). Així doncs, a mesura que les cèl·lules epitelials migren, es va produint la transcripció de l'mRNA i s'assoleix la màxima expressió de la proteïna a l'àpex de la vellositat (Hediger i Rhoads, 1994).

Característiques funcionals de l'SGLT1

Ikeda *et al.* (1989) varen clonar i caracteritzar el cotransportador de Na⁺ i D-glucosa de l'intestí prim de conill. Les característiques de l'SGLT1 expressat en oòcits (afinitat i especificitat) varen ésser molt similars a les prèviament descrites per a l'intestí. Estudis recents indiquen que hi ha entre aquestes petites diferències estructurals i també funcionals com, per exemple, una diferent dependència de voltatge i de l'afinitat per als monosacàrids entre els SGLT1 de rata, de conill i de l'home. Igualment s'han descrit diferències en les constants d'inhibició de la florricina entre espècies (Wright *et al.*, 1994b).

Durant molts anys, es va creure que el principal determinant del transport actiu de monosacàrids era el gradient electroquímic del Na⁺ a través de la membrana i es va subestimar l'efecte que el potencial de membrana podia exercir directament sobre el transportador. Aquest efecte seria degut al fet que el transportador, en alguna de les seves formes, ja fos lliure, unit al Na⁺ o a ambdós cosubstrats, estigués carregat elèctricament. Es va poder establir que el potencial de membrana exerceix un paper cabdal en crear un gradient elèctric favorable per al transport (Kimmich, 1981). Termodinàmicament, la relació entre el gradient electroquímic del Na⁺, el potencial de membrana i el gradient de concentració de solut que una cèl·lula pot arribar a establir, queda reflectit en la següent equació:

$$n(RT \ln \frac{a_{Na^+}^m}{a_{Na^+}^c} + FV_{mc}) = RT \ln \frac{a_s^c}{a_s^m}$$

en què

n: el coeficient d'acoblament, és a dir, els mols de Na⁺ que són transportats per cada mol de monosacàrid

R: la constant dels gasos perfectes

T: la temperatura absoluta

a_{Na^+} : l'activitat del Na⁺ en els compartiments luminal (m) i cel·lular (c)

F: la constant de Faraday

V_{mc} : el potencial de membrana existent a través de la membrana luminal

a_s : l'activitat del monosacàrid en els compartiments cel·lular (c) i luminal (m).

De l'equació, se'n deriva que l'energia requerida per a establir un flux de solut en contra del seu gradient químic, depèn de l'energia alliberada pel flux de Na⁺ a favor del seu gradient electroquímic.

L'anàlisi electrofisiològica realitzada en oòcits que han expressat SGLT1 ha confirmat que el cotransport de Na⁺ i D-glucosa és electrogènic (Umbach *et al.*, 1990). A més, comparant la relació de l'entrada de Na⁺ respecte a la captació de monosacàrid, s'obté un coeficient d'acoblament de 2:1 per a l'SGLT1 (Hediger i Rhoads, 1994).

Fisiologia molecular de l'SGLT1

Els estudis de Béliveau *et al.* (1988) i Stevens *et al.* (1990) varen establir que la unitat funcional del cotransportador té un pes molecular de 290 kD. Aquest valor suggereix que el cotransportador podria ésser un homotetràmer, atès que el pes molecular aparent de l'SGLT1 és de 74 kD. Calia, doncs, establir si la capacitat de translocar Na⁺ i D-glucosa és una propietat de cada monòmer o si la unitat funcional és el tetràmer. A la figura 3 es mostra un model tridimensional per a il·lustrar el funcionament del cotransportador proposat per Stevens *et al.* (1990). Segons aquest model, el Na⁺ seria el primer a unir-se a la proteïna transportadora provocant un canvi conformacional que augmenta l'afinitat per al monosacàrid, que s'hi uneix seguidament (Peerce i Wright, 1987). La unió del monosacàrid al transportador provoca un segon canvi conformacional que

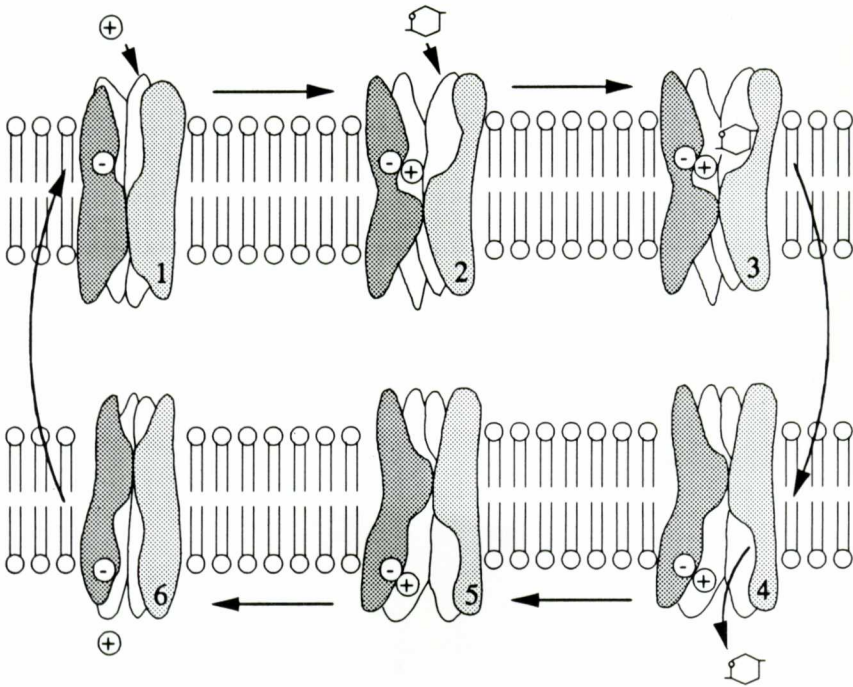


FIGURA 3. Model basat en el proposat per Stevens *et al.* (1990) per a explicar el funcionament del cotransportador de Na⁺ i D-glucosa de la membrana apical. La càrrega positiva representa el Na⁺ i només se'n mostra un per simplificar la imatge, i l'hexàgon representa el monosacàrid. Les sis figures constitueixen els quatre estats conformacionals que adopta la proteïna.

conduïx a l'alliberament dels substrats en el citoplasma. Finalment, el transportador es reorienta cap al cantó extern de la membrana. Recentment, el grup de Koepsell (Veyhl *et al.*, 1993) ha proposat l'existència d'una proteïna de 56 kD, anomenada RS1, capaç de regular el transport de monosacàrids. Segons Koepsell i Spangenberg (1994) el transport de Na⁺ i D-glucosa es realitzaria per un oligòmer de la membrana format per dues subunitats SGLT1, en lloc de quatre com proposen Stevens *et al.* (1990), amb les quals interactuarien una o dues subunitats RS1. Cal destacar que l'SGLT1 sol pot transportar Na⁺ i D-glucosa, si bé la presència de RS1 incrementa la capacitat de transport del cotransportador.

Els models cinètics que han estat proposats per explicar el funcionament del cotransportador han estat molt diversos (Crane, 1965; Crane, 1977; Hopfer i Groseclose, 1980; Kimmich i Randles, 1980; Alvarado i Lherminier, 1982; Kessler i Semenza, 1982) i en tots s'ha intentat donar una explicació funcional als resultats experimentals.

El grup de Wright proposa un model cinètic que explica els resultats experimentals observats i que es mostra a la figura 4 (Parent *et al.*, 1992b). Aquest model proposa que el transportador té una valència de -2 i dos estats conformacionals [C]' i [C]" en els quals el lloc d'unió amb els substrats es troben respectivament a la part externa i interna de la membrana cel·lular. En condi-

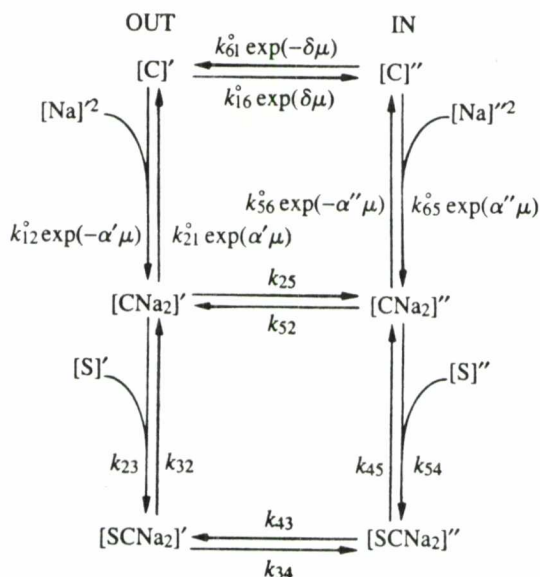


FIGURA 4. Model cinètic proposat per al funcionament de cotransportador de Na⁺ i D-glucosa de la membrana apical. L'estat conformacional [C]' equival a l'estat 1 de la figura 3, el [CNa₂]' al 2, etc. (Wright *et al.*, 1994b; reproduït amb el permís dels autors).

cions de repòs ($V_{mc} = -50$ mV) el transportador està orientat cap enfora i, en presència d'una elevada concentració de Na⁺ extracel·lular, s'uneixen dos Na⁺. Aquesta unió augmenta l'afinitat per la D-glucosa aproximadament un ordre de magnitud (Parent *et al.*, 1992a) i s'afavoreix la unió del monosacàrid. Aquesta unió origina un canvi conformacional que permet que els substrats siguin lliurats a la part citoplasmàtica i finalment, el transportador buit es reorienta cap a la part externa de la membrana. Un model molt semblant ha estat proposat per Bennet i Kimmich (1992), segons el qual, primer hi ha la unió d'un Na⁺, després s'hi uneix el sucre i, finalment, un segon Na⁺. Tot i que els models són diferents, les conclusions a què s'arriba són molt similars.

Altres cotransportadors

Estudis regionals realitzats per Harig *et al.* (1989) a l'intestí humà demostraren la presència de dos sistemes de transport: un d'alta afinitat (K_m per D-glucosa de 0,86 mmol/L) localitzat al jejú i a l'ili, i un altre de

baixa afinitat (K_m per D-glucosa de 8,2 mmol/L) localitzat al jejú proximal. En la rata, Freeman i Quamme (1986) varen identificar a l'ili, per mitjans cinètics, un segon transportador de baixa afinitat. Recentment, Mackenzie *et al.* (1994) han descrit en el porc un cotransportador de baixa afinitat que han anomenat pSGLT2 i que té una seqüència aminoacídica amb un 60 % de coincidència amb l'SGLT2, sistema de baixa afinitat i elevada capacitat descrit per al ronyó (Wells *et al.*, 1992; Kanai *et al.*, 1994).

TRANSPORT MITJANÇAT EQUILIBRATIU

Propietats bàsiques

A l'enteròcit s'han descrit mecanismes de transport mitjançat equilibratiu per les hexoses, també anomenats *de difusió facilitada*, independents de Na⁺. Són reversibles, és a dir, permeten tant l'entrada del substrat dins la cèl·lula com la sortida, transportant el substrat a favor de gradient de concentració per la qual cosa no requereixen cap aporta-

ció d'energia.

Característiques de la família GLUT

El transport equilibratiu d'hexoses és mitjançat per membres d'una família de proteïnes anomenada GLUT, dins la qual s'han aïllat fins al moment sis isoformes que tenen en comú ésser proteïnes penetrants amb dotze segments transmembrana. Des del punt de vista funcional els GLUT estan implicats en el transport d'hexoses i d'altres hidrats de carboni (Marger i Saier, 1993) i, probablement, també de compostos estructuralment allunyats dels monosacàrids (Fischbarg i Vera, 1995).

Els transportadors GLUT presenten una distribució tissular específica i, a més, en determinats tipus cel·lulars es poden expressar alhora diferents isoformes. Un exemple en són les cèl·lules absorbents de l'epiteli intestinal en les quals hi ha el GLUT2 a la membrana basolateral i el GLUT5 a la mem-

brana apical.

Els coneixements de què actualment es disposa sobre l'estructura i la funció d'aquests transportadors provenen bàsicament de la informació obtinguda amb el GLUT1, present en gran quantitat a la membrana dels eritròcits i primera proteïna en ésser identificada com a transportador de D-glucosa. Atesa l'elevada homologia en la seqüència d'aminoàcids existent entre les diferents isoformes, des d'un 39 % fins a un 65 % d'identitat, les prediccions fetes per al GLUT1 es consideren vàlides també per als altres transportadors de la família (Bell *et al.*, 1990).

El transport d'hexoses a través d'aquestes proteïnes sembla que es produeix per un mecanisme en el qual el transportador alterna entre dos estats conformacionals cadascun d'ells amb un lloc per a la unió del substrat, en un cas a la cara citoplasmàtica i en l'altre a la cara extracel·lular (Carruthers, 1990). La unió del substrat a qualsevol de les dues cares de la membrana induiria un can-

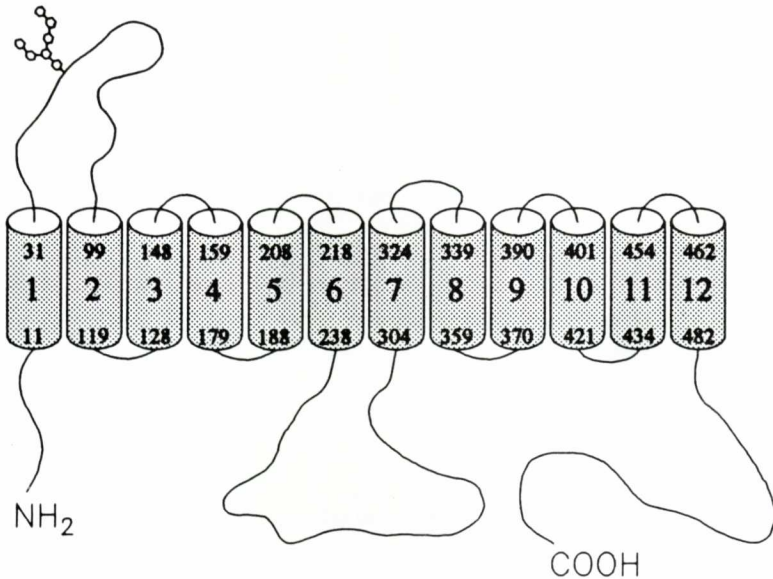


FIGURA 5. Representació esquemàtica de l'estructura secundària prevista per al GLUT2 a partir de la seva seqüència d'aminoàcids. La proteïna presenta una N-glicosilació a la posició 62, indicada pels hexàgons (Mueckler *et al.*, 1985).

vi conformacional de la proteïna provocant la reorientació del transportador i l'alliberament del substrat a l'altra banda de la membrana.

A més de la diferent distribució tissular de les isoformes GLUT, aquests transportadors també presenten diferent especificitat per al substrat, unes característiques cinètiques pròpies i una diferent sensibilitat a la citocalasina B, substància inhibidora del transport facilitat d'hexoses en la majoria de transportadors GLUT (Bell *et al.*, 1993).

Pel que fa a la semblança entre el sistema SGLT1 i els GLUT, l'única coincidència és que ambdós presenten dotze segments transmembrana (Pajor i Wright, 1992). En realitat, es tracta de dues famílies que agrupen proteïnes amb diferent estructura i funció: una família inclouria els cotransportadors de substrats i ions i l'altra família inclouria transportadors facilitats.

Estructura i funció del GLUT2

El transport equilibratiu de la membrana basolateral és mitjançat pel membre de la família anomenat GLUT2 (Figura 5). Es tracta d'una proteïna de 61 kD i de 524 aminoàcids que va ésser clonada i identificada en el fetge l'any 1988 (Fukumoto *et al.*, 1988; Thorens *et al.*, 1988), i presentava un 55,5 % d'identitat respecte al GLUT1. La principal

diferència respecte a les altres proteïnes de la família és que l'ansa que uneix els segments M₁ i M₂ té 64 aminoàcids en el GLUT2 i només 32 en els altres membres (Fukumoto *et al.*, 1988; Thorens *et al.*, 1988; Bell *et al.*, 1993) i és probablement aquesta diferència la responsable de les característiques cinètiques pròpies d'aquest sistema (Thorens, 1992).

En les cèl·lules epitelials de l'intestí el sistema GLUT2 s'expressa a la membrana basolateral dels enteròcits situats a la punta i a les parets de les vellositats (Thorens *et al.*, 1990). Es produeix doncs la coexpressió de dos sistemes de transport, SGLT1 i GLUT2, a les cèl·lules diferenciades de la vellositat (Wright *et al.*, 1994a). Recentment, també n'ha estat descrita la presència a la membrana apical de les cèl·lules absorbents de l'intestí de rata, si bé en una quantitat molt reduïda que s'incrementa significativament en animals diabètics (Debnam *et al.*, 1995). L'especificitat d'aquest mecanisme independent de Na⁺ és diferent a la del transport actiu de la membrana luminal; GLUT2 és capaç d'utilitzar, a més de D-glucosa i D-galactosa, altres monosacàrids com són la 2-deoxi-glucosa, D-mannosa i D-fructosa (Bihler i Cybulski, 1973). Aquest transportador és insensible a la florricina però inhibible per floretina (Kimmich i Randles, 1975), teofil·lina (Holman i Naftalin, 1975; Moretó *et al.*, 1984) i citocalasina B (Kimmich i

TAULA II. Escala d'afinitat dels monosacàrids per al sistema GLUT2 de la membrana basolateral. Els monosacàrids estan llistats en ordre decreixent d'afinitat (Kimmich, 1981).

2-deoxi-D-glucosa
D-glucosa
D-galactosa, 3-oxi-metil-D-glucosa
D-mannosa
D-xilosa
D-fructosa

Randles, 1979). Una escala d'afinitat del transportador envers diferents monosacàrids es mostra a la taula II (Kimmich, 1981).

La funció del GLUT2 és la de transferir els soluts acumulats dins de la cèl·lula cap a la làmina pròpia a favor del gradient de concentració (Murer i Hopfer, 1977). La D-glucosa acumulada en contra de gradient de concentració dins les cèl·lules epitelials gràcies al sistema SGLT1, travessa la membrana basolateral a través del GLUT2 per accedir als capil·lars més propers.

La característica cinètica i per tant funcional més notable d'aquest sistema, en comparar-lo amb els altres membres de la família GLUT, és que presenta una baixa afinitat per al substrat i una elevada velocitat màxima (Kimmich i Randles, 1975). La K_m del GLUT2 per a la D-glucosa o per als seus anàlegs estructurals no metabolitzables (Gould *et al.*, 1991; Bell *et al.*, 1993) té un valor de 42 mM, més elevada que la K_m dels altres transportadors de la família GLUT, compresa entre 2 i 26 mM (per a la revisió vegeu Thorens, 1993). L'elevada K_m d'aquest sistema de transport és fonamental per a la funció que duu a terme en l'epiteli intestinal. La baixa afinitat per al substrat fa que la saturació del sistema de transport no sigui el factor limitant per al seu funcionament i per tant, la quantitat de solut transportat depèn només de la seva concentració. Aquesta característica permet que la sortida de D-glucosa de les cèl·lules epitelials a través de la membrana basolateral s'acomodi en qualsevol moment a la concentració de substrat present dins la cèl·lula.

L'any 1987, Maenz i Cheeseman (1987) varen observar que la K_m del GLUT2 per a la sortida de D-glucosa de l'enteròcit és molt similar a la K_m d'entrada, tal com també succeeix amb el GLUT2 del fetge (Craik i Elliott, 1979; Ciaraldi *et al.*, 1986). Aquest transportador seria doncs també responsable de l'aportació de nutrients a les cèl·lules

epitelials de l'intestí, sobretot en els períodes de dejuni. Una altre paper atribuït al GLUT2, tenint en compte la seva capacitat per a transportar D-fructosa, és el de constituir la via de sortida de la cèl·lula per a aquesta hexosa (Bell *et al.*, 1993).

Estructura i funció del GLUT5

L'any 1990, Bell i els seus col·laboradors (Kayano *et al.*, 1990) varen aïllar un cDNA a l'intestí humà que va ésser atribuït a un transportador de D-glucosa anomenat GLUT5 clonat i identificat dos anys més tard (Burant *et al.*, 1992). Es tracta d'una proteïna de 501 aminoàcids que presenta un 41 % d'identitat respecte al GLUT2 i és la proteïna de la família GLUT més diferent. La seva estructura secundària prevista és molt similar a la del GLUT2 excepte que l'ansa existent entre M_1 i M_2 és molt més curta (37 residus respecte a 67) (Wright *et al.*, 1994a).

Aquest transportador únicament és present a la membrana apical dels enteròcits de la punta i de les parets de les vellositats (Davidson *et al.*, 1992), tal i com succeeix amb els altres transportadors d'hexoses. Es tracta d'una proteïna implicada més en el transport de fructosa que no pas el de D-glucosa (Burant *et al.*, 1992) i constitueix la principal ruta utilitzada per a la D-fructosa procedent de la dieta per a accedir al citoplasma de les cèl·lules epitelials de l'intestí (Mahraoui *et al.*, 1991; Davidson *et al.*, 1992). Aquesta característica està relacionada, a més, amb el fet que de les sis isoformes descrites dins la família de proteïnes GLUT, la que presenta menys homologia estructural amb les altres és el GLUT5 (Kayano *et al.*, 1990). Així doncs, la D-fructosa entraria dins les cèl·lules absorbents de l'intestí mitjançant el GLUT5 i en sortiria a través de la membrana basolateral a través del GLUT2 (Cheeseman, 1993). En comparar les carac-

terístiques cinètiques de GLUT2 i GLUT5 respecte a la fructosa, s'observa que el primer té una menor afinitat (K_m de 67 mM) que el GLUT5 (K_m de 6 mM) (Bell *et al.*, 1993). D'altra banda, i a diferència del GLUT2, el transport de fructosa a través del GLUT5 no és inhibït per D-glucosa o D-galactosa ni per citocalasina B (Burant *et al.*, 1992).

ABSORCIÓ PER MECANISMES NO MITJANÇATS

A l'epiteli intestinal hi ha dues vies majoritàries per les quals els soluts penetren per mecanismes no mitjançats: la via transcel·lular, a través de l'enteròcit i la via paracel·lular, a través de les unions intercel·lulars de l'epiteli intestinal.

Via transcel·lular

Les membranes cel·lulars són poc permeables al flux passiu de soluts hidrofílics de mida gran o intermèdia, com ara els monosacàrids. Tot i així, en cèl·lules epitelials aïllades (Kimmich i Randles, 1984; Ferrer *et al.*, 1994) i en vesícules de la membrana apical (Brot-Laroche *et al.*, 1986; Ikeda *et al.*, 1989) s'ha comprovat que és un component prou significatiu com per tenir-lo en compte en els estudis d'absorció intestinal. La contribució de la difusió simple a través de la membrana basolateral, en el flux de monosacàrids a través d'aquest domini cel·lular, pot arribar a ésser, fins i tot, de la mateixa magnitud que la dels mecanismes mitjançats (entre un 35 % i un 62 % a concentracions de 1-2 mmol/l de substrat; del Castillo i Robinson, 1982; Pinches *et al.*, 1993).

El mecanisme de pas és principalment per difusió a través de la bicapa lipídica si bé també s'ha suggerit la presència de proteï-

nes integrals de membrana amb uns dominis hidrofílics, que formarien un canal o porus a través del qual poden difondre les molècules hidrofíliques (Hamilton *et al.*, 1987).

Via paracel·lular

La via paracel·lular ha estat proposada com la principal ruta d'entrada no mitjançada per als monosacàrids, per un mecanisme d'arrossegament per solvent (Pappenheimer, 1988). Madara i Pappenheimer (1987) i Pappenheimer i Reiss (1987) es basen en el fet que troben una concentració luminal de D-glucosa més gran que la concentració de saturació de l'SGLT1. En aquestes condicions, el sistema de transport estaria saturat i el flux de monosacàrid restant seria massa elevat com per a ésser atribuït a la difusió simple i seria aleshores que l'arrossegament per solvent esdevindria la principal via d'entrada per a les hexoses. A més, el fet que un cop saturat el cotransportador de Na^+ i D-glucosa, l'entrada sigui directament proporcional a la seva concentració luminal dóna suport a la hipòtesi abans esmentada (Vinardell i Bolufer, 1983; Meddings i Westergaard, 1989).

Aquesta hipòtesi ha estat, però, fortament controvertida ja que Diamond (1991) i Ferraris *et al.* (1990) trobaren concentracions luminals postprandials de D-glucosa molt més baixes. Aquests autors treuen rellevància al paper de l'arrossegament per solvent i proposen que el mecanisme majoritari per a l'absorció de D-glucosa és el transport mitjançat dependent de Na^+ . D'aquesta manera la capacitat d'absorció de l'intestí seria suficient per a absorbir els monosacàrids presents a la llum intestinal.

Pappenheimer (1993) addueix, però, que l'elevada capacitat de les hidrolases presents a la membrana apical dels enteròcits

augmentaria la concentració de D-glucosa en el microdomini de la vora en raspall fins a uns nivells molt superiors als proposats per Ferraris *et al.* (1990).

Estudis realitzats a l'intestí de pollastre posen de manifest que a la vora luminal de l'epiteli, el percentatge de participació dels mecanismes no mitjançats respecte als mitjançats varia segons la regió intestinal considerada i oscil·la entre un 37% al duodè i un 7% al recte (Amat, 1991). Tenint en compte que la difusió a través de la membrana del enteròcit no es modifica regionalment (Ferrer *et al.*, 1994), la via paracel·lular seria la responsable de les diferències regionals observades. A més, l'estructura de les unions estretes varia tant al llarg de l'intestí com de l'eix criptavellositat i permet explicar en gran mesura el fet que hi hagi zones més permeables que d'altres (Madara, 1989). La participació d'aquesta via difereix també al llarg del desenvolupament ja que en els animals joves adquireix més importància que en els adults i aquest és un mecanisme adaptatiu de l'intestí a les necessitats energètiques de l'animal (Juan *et al.*, 1995).

REGULACIÓ DE L'ABSORCIÓ INTESTINAL D'HEXOSES

L'absorció dels principals monosacàrids de la dieta, D-glucosa, D-galactosa i D-fructosa, és un procés regulat per l'epiteli intestinal. La regulació pot ésser específica o bé inespecífica, implicar fenòmens tant cel·lulars com paracel·lulars, ésser fruit d'una resposta adaptativa controlada pels propis substrats absorbits o bé tractar-se de fenòmens determinats genèticament.

Els mecanismes específics són aquells en què el transport d'un determinat substrat es modifica per canvis en el nombre o en l'afinitat de les estructures encarregades del seu transport. Un exemple ben documentat és la

inducció de l'SGLT1 per la dieta (Ferraris, 1994). També es poden presentar adaptacions inespecífiques, com les que afecten la superfície d'absorció per canvis en el nombre de cèl·lules absorbents o bé per canvis en el nombre o la grandària de vellositats i microvil·lis (Holt *et al.*, 1984; Mitjans *et al.*, 1995) o del gruix de la capa d'aigua no agitada (Thomson, 1979). S'han observat, igualment, canvis funcionals a diferents nivells de la vellositat, com és el cas dels animals acabats de néixer que transporten nutrients a tots els punts de l'eix de la vellositat mentre que en els adults la funció de transport es troba restringida al terç superior d'aquesta estructura (Smith, 1981).

Una de les variables que més afecta la capacitat d'acumulació i per tant de transportar substrats, és el gradient electroquímic del Na^+ a través de la membrana apical. Aquesta variable depèn de nombrosos factors, entre els quals es pot destacar l'activitat de l'ATPasa de Na^+ i K^+ , i la permeabilitat apical i basolateral al Na^+ i altres ions. Així, per exemple, l'increment en la capacitat d'acumulació de monosacàrids induït per AMPc s'atribueix a una disminució de la permeabilitat apical al Na^+ (Hyun i Kimmich, 1982; Sharp i Debnam, 1994) i és independent del Cl^- present al líquid extracel·lular (Moretó *et al.*, 1984). En canvi, Nath *et al.* (1989) conclouen que en cèl·lules HRT-18, la secreció de Cl^- induïda per AMPc està associada a l'activació d'un sistema SGLT. D'altra banda, l'adaptació a dietes amb un baix contingut en NaCl redueix la capacitat per a transportar monosacàrids, aparentment per una reducció en la $V_{\text{màx}}$ atribuïble a un augment de la permeabilitat apical al Na^+ (Jaso *et al.*, 1995).

Un altre mecanisme d'importància és la modificació de la fermesa de les unions estretes que fixen els enteròcits, ja que aquests canvis poden afectar el moviment de soluts per la via paracel·lular. Papenheimer (1993)

postula que la importància de la via paracel·lular en l'absorció de sucres i aminoàcids es basa en una sèrie d'observacions: primer, l'exposició de l'epiteli a concentracions mil·limolars de D-glucosa dona lloc a un increment de l'amplada de les unions intercel·lulars; segon, la regulació de les unions estretes per part de la D-glucosa és un procés dependent de Na^+ i inhibible per florricina, fets que suggereixen que la resposta està desencadenada per l'activació de l'SGLT1. Segons Papenheimer i Volpp (1992), l'activació de l'SGLT1 dona lloc a un increment de la pressió osmòtica intracel·lular, que s'acompanya d'un augment del volum cel·lular. La resposta reguladora inicia la contracció de l'actomiosina del citoesquelet que envolta la regió apical de l'enteròcit, provocant un canvi en la geometria de les unions estretes.

Regulació adaptativa de l'absorció d'hexoses per la dieta

Les aldohexoses i la fructosa, així com els aminoàcids no essencials, formen un grup de nutrients que els animals utilitzen com a font d'energia i que, tal com prediu la hipòtesi de Ferraris i Diamond (1989), haurien de regular els seus transportadors per un augment en el seu nombre (*up-regulation*) en resposta a l'increment de la seva concentració al contingut intestinal. Aquest patró s'acompleix per als monosacàrids ja que els carbohidrats de la dieta estimulen la captació apical de D-glucosa i D-galactosa. Aquest efecte és degut a la inducció de transportadors a la membrana apical de l'enteròcit i, per tant, es manifesta amb un canvi en la $V_{\text{màx}}$ sense afectar la K_m (Karasov i Diamond, 1983). En aquest sentit està demostrat que l'augment en la captació apical de D-glucosa induït per la dieta, és directament proporcional a la quantitat de llocs específics de

fixació de la florricina (Ferraris i Diamond, 1989). Aquests resultats indiquen que els efectes de la dieta sobre el transport del monosacàrid es duen a terme a través d'un augment de l'activitat SGLT1.

Canvis en la composició lipídica de la membrana poden modificar també la capacitat de transport. En aquest sentit, Brasitus *et al.* (1989) varen observar que animals alimentats amb dietes capaces d'augmentar la proporció d'àcids grassos de la membrana presenten un increment en l'activitat de l'SGLT1. Aquests autors han suggerit que la causa de la modificació de l'activitat de transport és deguda a canvis en la composició d'àcids grassos d'un domini de la membrana a prop del transportador.

L'estudi de la fisiologia molecular de l'SGLT1 en el xai ha permès aprofundir en el coneixement dels senyals implicats en la regulació apical del transport d'hexoses. En els xais, l'etapa que segueix el deslletament es caracteritza perquè tota la D-glucosa ingerida o formada a la llum intestinal és fermentada en el rumen. En aquestes condicions no arriba D-glucosa a l'intestí prim i la reducció luminal d'aquest monosacàrid s'acompanya d'una reducció dràstica del cotransport de Na^+ i D-glucosa (Shirazi-Beechey *et al.*, 1991; Lescale-Matys *et al.*, 1993). Així, l'abundància i activitat de l'SGLT1 disminueix unes 200 vegades en desenvolupar-se l'activitat del rumen; ara bé, la infusió intestinal de D-glucosa o el manteniment dels xais en una dieta a base de llet, permet mantenir l'expressió i l'activitat del transportador. La disminució de l'mRNA de SGLT1 durant aquesta etapa és de només quatre vegades i indica que la regulació per decrement del transport (*down-regulation*) es produeix posttranslacionalment. Experiments realitzats amb xais adults, alimentats amb D-galactosa, D-fructosa, 3-O-MeGlc (anàleg de la D-glucosa no metabolitzable) i 2-DOGlc (anàleg no subs-

trat de l'SGLT1) han demostrat que l'intestí és capaç de regular «per increment» l'expressió i l'activitat SGLT1. Aquests resultats indiquen que l'estímul per al transport d'aldohexoses pot ésser mitjançat per monosacàrids no metabolitzables i fins i tot per hexoses no transportables.

On es produeix la inducció del transport? Una de les hipòtesis que està en voga proposa que el senyal es detecta en etapes immadures de l'enteròcit quan encara es troba a la cripta de l'epiteli. Aquesta hipòtesi implica que els enteròcits de les criptes ja estan compromesos per al transport de monosacàrids o bé que els transportadors són induïts i sintetitzats en forma de precursors inactius, que s'activen durant la migració de les cèl·lules cap a la punta de la vellositat (Stirling i Kinter, 1967; Weiser, 1973; Ferraris i Diamond, 1992). Això explicaria que la màxima inducció del transport es produeixi 48 h després de l'increment luminal del monosacàrid, que és el temps que les cèl·lules epitelials intestinals necessiten per a migrar des de la cripta fins a la punta de la vellositat (Madara i Trier, 1994).

L'absorció de D-glucosa és un procés transepitelial que implica també la membrana basolateral i la via paracel·lular. El transportador GLUT2 basolateral és el que controla el pas de D-glucosa cap al compartiment serosal. En tractarse d'un transportador de tipus equilibratiu de baixa afinitat (Kimmich i Randles, 1975; Thorens, 1993), la seva capacitat de transferència en l'estat estacionari depèn de la capacitat concentrativa del transportador apical i del nombre de transportadors. Aquesta darrera variable pot modificar-se a curt termini, en qüestió de minuts com és en el cas de la hiperglucèmia (Maenz i Cheeseman, 1986) o bé adaptar-se més lentament. En un estudi realitzat en rates alimentades amb una dieta amb un alt contingut en carbohidrats, la V_{\max} per la D-glucosa es triplica després de set dies i aug-

menta el nombre de llocs de fixació de la citocalasina B (Cheeseman i Harley, 1991). Aquests autors varen observar que els monosacàrids que indueixen el transport basolateral (D-glucosa, D-fructosa) són metabolitzats per l'enteròcit i van arribar a concloure que el seu metabolisme és un pas necessari per a iniciar els canvis observats, ja que els monosacàrids poc o gens metabolitzables (D-galactosa, 3-O-metil-D-glucosa) no són capaços d'incrementar el transport.

Pel que fa a la regulació des del compartiment sanguini, estudis realitzats en animals diabètics (Thomson, 1981; Debnam *et al.*, 1990) indiquen que la D-glucosa plasmàtica regula «per increment» el transport apical de glucosa i s'observa un augment tant de l'activitat de l'SGLT1 com del seu mRNA. El senyal responsable pot ésser la D-glucosa que penetra per la membrana basolateral o bé per un efecte d'aquesta hexosa al cantó mucosal després de difondre cap a la llum intestinal.

La fructosa es transporta a través del GLUT5 de la membrana apical (Burant *et al.*, 1992) i arriba a l'espai intersticial emprant el GLUT2, és a dir, el mateix transportador que les aldohexoses (Cheeseman, 1993). En el cas del transportador apical, el comportament és anàleg a l'observat per D-glucosa i D-galactosa, ja que l'increment en el transport induït per la dieta s'explica per un augment de la V_{\max} sense canvis en la K_m (Crouzoulon i Korieh, 1991). A la membrana basolateral, el canvi és anàleg al descrit per als altres monosacàrids. Cheeseman (1993) ha demostrat que després de 4 h d'una perfusió luminal de fructosa, el transport basolateral d'aquest monosacàrid es quadruplica i aquest increment és degut probablement a l'activació de proteïnes GLUT2 preexistents a la membrana.

La permeabilitat passiva, mesurada amb L-glucosa, no varia davant de canvis en la concentració luminal de carbohidrats, al-

menys en el cas dels rossegadors (Diamond i Karasov, 1984) i tampoc observen canvis en l'estructura intestinal a nivell de les vellositats que es puguin relacionar amb el contingut intestinal de monosacàrids. En canvi, Ginsburg i Heggeness (1968) han observat un increment de la massa intestinal en resposta a una ingesta augmentada d'hidrats de carboni.

Atès que la taxa de recanvi dels transportadors apicals i basolaterals és similar (Cheeseman i Harley, 1991; Ferraris i Vinnakota, 1993) cal pensar que la dieta induïx canvis paral·lels en el nombre de transportadors apicals i basolaterals i estimula així les taxes de transport transepitelial sense que la concentració del monosacàrid al citosol hagi d'augmentar significativament a l'estat estacionari.

Regulació adaptativa de l'absorció d'hexoses durant el desenvolupament

Els canvis en el transport intestinal durant el desenvolupament postnatal dels vertebrats estan relacionats amb dos tipus de factors: els derivats de la modificació en la composició de la dieta i la necessitat d'absorbir quantitats més grans de menjar per tal d'assolir un creixement adequat (Buddington, 1992). En les etapes inicials del desenvolupament, l'intestí utilitza estratègies d'adaptació tant específiques com inespecífiques per tal d'adequar l'absorció dels nutrients als requeriments energètics. Així, els eventuais canvis en les propietats cinètiques dels transportadors poden anar acompanyats d'increments en la superfície d'absorció (Holt *et al.*, 1984; Mitjans *et al.*, 1995) i en el pes de l'intestí i la taxa de renovació cel·lular (Klein, 1989). Tambés s'han descrit canvis en la composició lipídica de la membrana (Vázquez *et al.*, 1995) que, tal com ja s'ha esmentat anteriorment, poden

afectar la funció dels transportadors.

Els canvis en el transport de nutrients que es produeixen en el decurs del desenvolupament postnatal poden seguir tres patrons segons el substrat implicat (Buddington, 1992): disminució (aldohexoses, aminoàcids, algunes vitamines), increment seguit de disminució (fructosa a algunes espècies, àcids biliars), o bé relativa constància (colina). En el cas de les aldohexoses, quan els fluxos del monosacàrid es normalitzen per unitat de pes de teixit, s'observa una disminució en la capacitat de transport (Planas *et al.*, 1986; Shirazi-Beechey *et al.*, 1991; Toloza i Diamond, 1992). Aquesta observació pot resultar sorprenent sobretot tenint en compte que precisament és en aquestes etapes inicials quan es produeix un gran increment del pes corporal i per tant de les necessitats energètiques de l'animal. Buddington i Diamond (1989) justifiquen aquesta paradoxa tot recordant que el que té significat fisiològic per a l'animal és la capacitat d'absorció de la totalitat de l'intestí. A més, a la majoria de les espècies estudiades, la taxa metabòlica normalitzada pel pes corporal disminueix en augmentar la massa corporal; per tant, malgrat que les necessitats energètiques augmentin amb l'edat, ho fan més a poc a poc que el pes corporal i donen lloc així que la capacitat d'absorció en relació al pes disminueixi. El fet important, però, és que malgrat que els fluxos normalitzats per pes o superfície disminueixin, la capacitat total augmenta a causa del ràpid increment de la massa intestinal (Toloza i Diamond, 1992).

En el cas de la fructosa, durant el desenvolupament es produeixen canvis reversibles que es corresponen amb la ingesta d'aquest monosacàrid en la dieta «natural» de l'espècie. Així, tal com es mostra a la figura 6, l'activitat del transportador de fructosa és baixa a l'etapa d'alletament perquè la llet conté poca fructosa. Després del deslle-

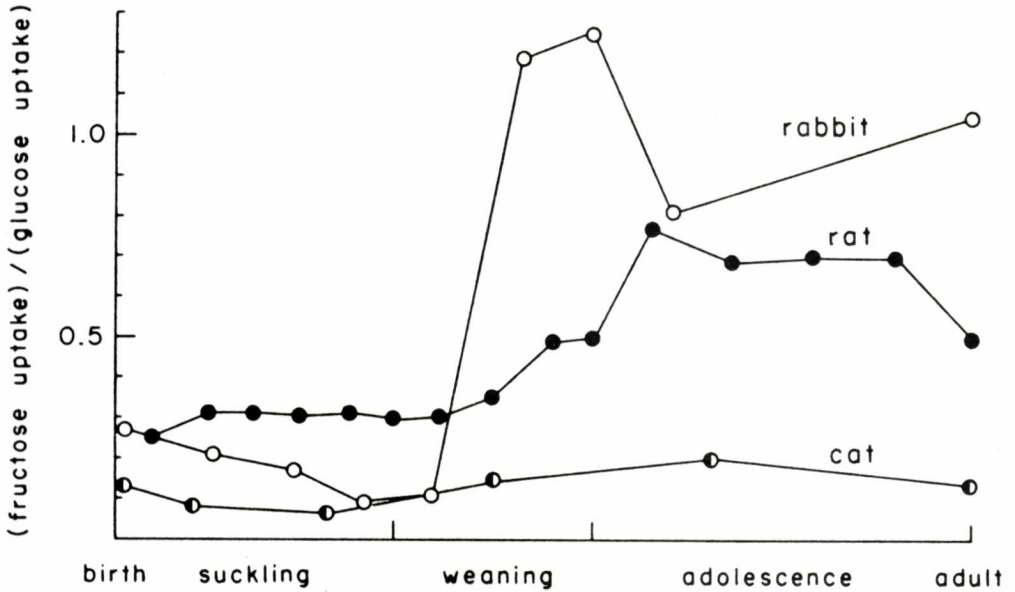


FIGURA 6. Representació de quocient entre dels fluxos totals D-fructosa i D-glucosa a través de la vora apical de l'epiteli al llarg del desenvolupament. La tècnica emprada és la dels segments everits i la concentració d'hexoses és de 50 mmol/L. Les dades de la rata procedeixen del jejú; les del conill, de l'ili, i les del gat, de tot l'intestí prim (Buddington i Diamond, 1989; figura reproduïda amb el permís dels autors).

tament s'observa un augment en el transport d'aquest monosacàrid al conill i la rata, espècies que ingereixen normalment una dieta rica en fructosa. En canvi, en el gat no s'observa cap increment, probablement perquè la fructosa no forma part de la seva dieta natural.

Les adaptacions morfològiques i funcionals durant el desenvolupament estan, en general, determinades genèticament si bé amb un cert marge per a la inducció o repressió del transport per components de la dieta. En aquest sentit es poden distingir dos patrons de comportament: un primer tipus en què predomina la «programació genètica», com és el cas dels canvis en el transport postnatal de D-galactosa a la rata i de D-fructosa en el gat (Tolosa i Diamond, 1992), on la taxa de transport és independent de la presència del substrat a la llum

intestinal; el segon tipus, amb el predomini del control luminal, seria el cas abans descrit del transport de monosacàrids en el xai. En aquesta espècie els monosacàrids luminals sembla que són els principals determinants del manteniment o bé de l'aparició de la funció de transport (Shirazi-Beechey *et al.*, 1991). Sigui quin sigui el patró, els canvis en la funció es poden correlacionar amb l'expressió o la densitat de SGLT1, GLUT5 o GLUT2. És interessant, però, destacar que aquests canvis que es produeixen durant el desenvolupament en els transportadors no sempre es correlacionen amb la quantitat de l'mRNA que en codifica la síntesi (Lescalet-Maty *et al.*, 1993; Miyamoto *et al.*, 1992; Shirazi-Beechey *et al.*, 1991), la qual cosa suggereix una regulació posttranscripcional del transport.

AGRAÏMENTS

Els treballs dels autors citats en el text han estat subvencionats per l'ajut 3099-83 de la CAICYT i per diversos ajuts de la DGICYT (PB85-0324, PB87-0140, PB88-0219, PB91-0159, PB91-0274).

BIBLIOGRAFIA

- ALPERS, D. H. (1994). «Digestion and absorption of carbohydrates and proteins». A: Johnson, L. R., *Physiology of the gastrointestinal tract*. Nova York: Raven Press, pàg. 1723-1749.
- ALVARADO, F. (1966). «D-Xylose active transport in the hamster small intestine». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 112, pàg. 292-306.
- ALVARADO, F.; R. K. CRANE (1962). «Phloridzin as a competitive inhibitor of the active transport of sugars by hamster small intestine, *in vitro*». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 56, pàg. 170-172.
- ALVARADO, F.; M. LHERMINIER (1982). «Phenylalanine transport in guinea pig jejunum. A general mechanism for organic solute and sodium cotransport». *J. Physiol. Paris*, núm. 78, pàg. 131-145.
- AMAT, C. (1991). «Propietats elèctriques i del transport de monosacàrids de l'intestí prim i gros del *Gallus gallus*». Tesi Doctoral, Universitat de Barcelona.
- BÉLIVEAU, R.; M. DEMEULE; K. H. IBNOUL; M. BERGERON; G. BEAUREGARD; M. POTIER (1988). «Radiation-inactivation studies on brush-border-membrane vesicles. General considerations and application to the glucose and phosphate carriers». *Biochem. J.*, núm. 252, pàg. 807-813.
- BELL, G. I.; C. F. BURANT; J. TAKEDA; G. W. GOULD (1993). «Structure and function of mammalian facilitative sugar transporters». *J. Biol. Chem.*, núm. 268, pàg. 19161-19164.
- BELL, G. I.; T. KAYANO; J. B. BUSE; C. F. BURANT; J. TAKEDA; D. LIN; H. FUKUMOTO; S. SEINO (1990). «Molecular biology of mammalian glucose transporters». *Diabetes Care*, núm. 13, pàg. 198-208.
- BENNET, E.; G. A. KIMMICH (1992). «Na⁺ binding to the Na⁺ glucose cotransporter is potential dependent». *Am. J. Physiol.*, núm. 262, pàg. C510-C516.
- BIHLER, I.; R. CYBULSKI (1973). «Sugar transport at the basal and lateral aspect of the small intestinal cell». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 298, pàg. 429-433.
- BRASITUS, T. A.; P. K. DUDEJA; M. J. BOLT; M. D. SITRIN; C. BAUM (1989). «Dietary triacylglycerol modulates sodium-dependent D-glucose transport, fluidity and fatty acid composition of rat small intestinal brush-border membranes». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 979, pàg. 177-186.
- BROT-LAROCHE, E.; M. A. SERRANO; B. DELHOMME; F. ALVARADO (1986). «Temperature sensitivity and substrate specificity of two distinct Na⁺-activated D-glucose transport systems in guinea pig jejunal brush border membrane vesicles». *J. Biol. Chem.*, núm. 261, pàg. 6188-6176.
- BUDDINGTON, R. K. (1992). «Intestinal nutrient transport during ontogeny of vertebrate». *Am. J. Physiol.*, núm. 263, pàg. R503-R509.
- BUDDINGTON, R. K.; J. M. DIAMOND (1989). «Ontogenic development of intestinal nutrient transporter». *Annu. Rev. Physiol.*, núm. 51, pàg. 601-619.
- BURANT, C. F.; J. TAKEDA; E. BROU-LAROCHE; G. I. BELL; N. O. DAVIDSON (1992). «Fructose transport in human spermatozoa and small intestine is GLUT5». *J. Biol. Chem.*, núm. 276, pàg. 14523-14526.
- CARRUTHERS, A. (1990). «Facilitated diffusion of glucose». *Physiol. Rev.*, núm. 70, pàg. 1135-1176.
- CASTILLO, J. R. DEL; J. W. L. ROBINSON (1982). «The simultaneous preparation of basolateral and brush-border membrane vesicles from guinea-pig intestinal epithelium, and the determination of the orientation of the basolateral vesicles». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 688, pàg. 45-56.
- CHEESEMAN, C. I. (1993). «GLUT2 is the transporter for fructose across the rat intestinal basolateral membrane». *Gastroenterology*, núm. 105, pàg. 1050-1056.
- CHEESEMAN, C. I.; B. HARLEY (1991). «Adaptation of glucose transport across rat enterocyte basolateral membrane in response to altered dietary carbohydrate intake». *J. Physiol. Lond.*, núm. 437, pàg. 563-575.
- CIARALDI, T. P.; R. HORUK; S. MATTHAEI (1986). «Biochemical and functional characterization of the rat liver glucose-transport system». *Biochem. J.*, núm. 240, pàg. 115-123.
- CRAIK, J. D.; K. R. F. ELLIOTT (1979). «Kinetics of 3-O-methyl-D-glucose transport in isolated rat hepatocytes». *Biochem. J.*, núm. 182, pàg. 503-508.
- CRANE, R. K. (1962). «Hypothesis for mechanism of intestinal active transport of sugars». *Fed. Proc.*, núm. 21, pàg. 891-895.
- (1965). «Na-dependent transport in the intestine and other animal tissues». *Fed. Proc.*, núm. 24, pàg. 1000-1005.
- (1977). «The gradient hypothesis and other models of carrier-mediated active transport». *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, núm. 78, pàg. 99-159.
- CROUZOUON, G.; A. KORIEH (1991). «Fructose transport by rat intestinal brush border membrane vesicles.

- Effect of high fructose diet followed by return to standard diet». *Comp. Biochem. Physiol.*, núm. 100, pàg. 175-182.
- DAVIDSON, N. O.; A. M. L. HAUSMAN; C. A. IFKOVITS; J. B. BUSE; G. W. GOULD; C. F. BURANT; G. I. BELL (1992). «Human intestinal glucose transporter expression and localization of GLUT5». *Am. J. Physiol.*, núm. 262, pàg. C795-C800.
- DEBNAM, E. S.; H. Y. EBRAHIM; D. J. SWAINE (1990). «Diabetes mellitus and sugar transport across the brush-border and basolateral membranes of rat jejunal enterocytes». *J. Physiol. Lond.*, núm. 424, pàg. 13-25.
- DEBNAM, E. S.; P. A. SHARP; S. K. S. SRAI (1995). «Contribution of GLUT2 in brush border glucose uptake». *Ital. J. Gastroenterol.*, núm. 27, pàg. 153.
- DIAMOND, J. M. (1991). «Evolutionary design of intestinal nutrient absorption: enough but not too much». *NIPS*, núm. 6, pàg. 92-96.
- DIAMOND, J. M.; W. H. KARASOV (1984). «Effect of dietary carbohydrate on monosaccharide uptake by mouse small intestine in vitro». *J. Physiol. Lond.*, núm. 349, pàg. 419-440.
- FERRARIS, R. P. (1994). «Regulation of intestinal nutrient transport». A: Johnson, L. R. *Physiology of the gastrointestinal tract*. Nova York: Raven Press, pàg. 1821-1844.
- FERRARIS, R. P.; J. M. DIAMOND (1989). «Specific regulation of intestinal nutrient transporters by their dietary substrates». *Annu. Rev. Physiol.*, núm. 51, pàg. 125-141.
- (1992). «Crypt-villus site of glucose transporter induction by dietary carbohydrate in mouse intestine». *Am. J. Physiol.*, núm. 262, pàg. G1069-G1073.
- FERRARIS, R. P.; R. VINNOKOTA (1993). «Regulation of intestinal nutrient transport is impaired in aged mice». *J. Nutr.*, núm. 123, pàg. 502-511.
- FERRARIS, R. P.; S. YASHARPOUR; K. C. K. LLOYD; R. MRZAYAN; J. M. DIAMOND (1990). «Luminal glucose concentration in the gut under normal conditions». *Am. J. Physiol.*, núm. 259, pàg. G822-G837.
- FERRER, R.; M. GIL; M. MORETO; M. OLIVERAS; J. M. PLANAS (1994). «Hexose transport across the apical and basolateral membrane of enterocytes from different regions of the chicken intestine». *Pflügers Arch.*, núm. 426, pàg. 83-88.
- FISCHBARG, J.; J. C. VERA (1995). «Multifunctional transporter models: lessons from the transport of water, sugars, and ring compounds by GLUTs». *Am. J. Physiol.*, núm. 268, pàg. C1077-C1089.
- FISHER, R. B.; D. S. PARSONS (1949). «A preparation of surviving rat small intestine for the study of absorption». *J. Physiol. Lond.*, núm. 110, pàg. 36-46.
- FREEMAN, H. J.; G. A. QUAMME (1986). «Age-related changes in sodium-dependent glucose transport in rat small intestine». *Am. J. Physiol.*, núm. 251, pàg. G208-G217.
- FUKUMOTO, H.; S. SEINO; H. IMURA; Y. SEINO; R. L. EDDY; Y. FUKUSHIMA; M. G. BYERS; T. B. SHOWS; G. I. BELL (1988). «Sequence tissue distribution and chromosomal localization of m RNA encoding a human glucose transporter-like protein». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 85, pàg. 5434-5438.
- GINSBURG, J. M.; HEGGENESS, F. W. (1968). «Adaptation in monosaccharide absorption in infant and adult rats». *J. Nutr.*, núm. 96, pàg. 494-498.
- GOULD, G. W.; H. M. THOMAS; T. J. JESS; G. I. BELL (1991). «Expression of human glucose transporters in *Xenopus* oocytes: kinetic characterization and substrate specificities of the erythrocyte (GLUT1), liver (GLUT2) and brain (GLUT3) isoforms». *Biochemistry*, núm. 30, pàg. 5139-5245.
- HAMILTON, I.; J. ROTHWELL; D. ARCHER; A. T. R. AXON (1987). «Permeability of the rat small intestine to carbohydrate probe molecules». *Clin. Sci.*, núm. 73, pàg. 189-196.
- HARIG, J. M.; J. A. BARRY; V. M. RAJENDRAN; K. H. SOERGEL; K. RAMASWAMY (1989). «D-glucose and L-leucine transport by human intestinal brush-border membrane vesicles». *Am. J. Physiol.*, núm. 256, pàg. G618-G623.
- HEDIGER, M. A.; M. L. BUDARE; B. S. EMANUEL; T. K. MOHANDAS; E. M. WRIGHT (1989). «Assignment of the human intestinal Na⁺/glucose cotransporter gene (SGLT1) to the Q11.2_qlter region of chromosome 22». *Genomics*, núm. 4, pàg. 297-300.
- HEDIGER, M. A.; M. COADY; T. S. IKEDA; E. M. WRIGHT (1987a). «Expression cloning and cDNA sequencing of the Na⁺/glucose co-transporter». *Nature Lond.*, núm. 330, pàg. 379-381.
- HEDIGER, M. A.; T. S. IKEDA; M. COADY; C. B. GUNDERSON; E. M. WRIGHT (1987b). «Expression of size-selected mRNA encoding the intestinal Na⁺/glucose cotransporter in *Xenopus laevis* oocytes». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 84, pàg. 2634-2637.
- HEDIGER, M. A.; D. B. RHOADS (1994). «Molecular physiology of sodium-glucose cotransporters». *Physiol. Rev.*, núm. 74, pàg. 993-1026.
- HIRAYAMA, B. A.; H. C. WONG; C. D. SMITH; B. A. HAGENBUCH; M. A. HEDIGER; E. M. WRIGHT (1991). «Intestinal and renal Na⁺/glucose cotransporters share common structures». *Am. J. Physiol.*, núm. 261, pàg. C296-C304.
- HIRAYAMA, B. A.; E. M. WRIGHT (1992). «Glycosylation of the rabbit intestinal brush border Na⁺/glucose cotransporter». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 1103, pàg. 37-44.
- HOLMAN, G. D.; R. J. NAFTALIN (1975). «D-Galactose accumulation in rabbit ileum. Effect of theophylline on serosal permeability». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 406, pàg. 386-401.

- HOLT, P. R.; R. R. PASCAL; D. P. KOTLER (1984). «Effect of aging upon small intestinal structure in the fischer rat». *J. Gerontol.*, núm. 39, pàg. 642-647.
- HOPFER, U.; R. GROSECLOSE (1980). «The mechanism of Na⁺-dependent D-glucose transport». *J. Biol. Chem.*, núm. 255, pàg. 4453-4462.
- HYUN, C. S.; KIMMICH, G. A. (1982). «Effect of cholera toxin in cAMP levels and Na⁺ influx in isolated intestinal epithelial cells». *Am. J. Physiol.*, núm. 243, pàg. C107-C115.
- IKEDA, T. S.; E. S. HWANG; M. J. COADY; B. A. HIRAYAMA; M. A. HEDIGER; E. M. WRIGHT (1989). «Characterization of a Na⁺/glucose cotransporter cloned from rabbit small intestine». *J. Membr. Biol.*, núm. 110, pàg. 87-95.
- JASO, M. J.; M. VIAL; M. MORETÓ (1995). «Hexose accumulation by enterocytes from the jejunum and rectum of chickens adapted to high and low NaCl intake». *Pflügers Arch.*, núm. 429, pàg. 511-516.
- JUAN, M. E.; M. C. TURMO; M. VIAL; J. M. PLANAS (1995). «Age-related changes of a-methyl-D-glucoside kinetic constants in guinea pig jejunum». *Ital. J. Gastroenterol.*, núm. 7, pàg. 158.
- KARASOV, W. H.; J. M. DIAMOND (1983). «Adaptative regulation of sugar and amino acid transport by vertebrate intestine». *Am. J. Physiol.*, núm. 245, pàg. G443-G462.
- KANAI, Y.; W. S. LEE; G. YOU; D. BROWN; M. A. HEDIGER (1994). «The human kidney low affinity Na⁺/glucose cotransporter SGLT2: delineation of the major renal reabsorptive mechanism for D-glucose». *J. Clin. Invest.*, núm. 93, pàg. 379-404.
- KAYANO, R.; C. F. BURANT; H. FUKUMOTO; G. W. GOULD; Y. S. FAN; R. L. EDDY; M. G. BYERS; T. B. SHOWS; S. SEINO; G. I. BELL (1990). «Human facilitative glucose transporter: isolation, functional characterization and gene localization of cDNAs encoding an isoform (GLUT5) expressed in small intestine, kidney, muscle and adipose tissue and an unusual glucose transporter pseudogene-like sequence (GLUT6)». *J. Biol. Chem.*, núm. 265, pàg. 13276-13282.
- KESSLER, M.; G. SEMENZA (1983). «The small-intestinal Na⁺, D-glucose cotransporter: an asymmetric gated channel (or pore) responsive to $\emptyset\Psi$ ». *J. Membr. Biol.*, núm. 76, pàg. 27-56.
- KIMMICH, G. A. (1981). «Intestinal absorption of sugar». A: Johnson, L.R. *Physiology of the gastrointestinal tract*. Nova York: Raven Press, pàg. 1035-1061.
- KIMMICH, G. A.; J. RANDELS (1975). «A Na⁺-independent phloretin sensitive monosaccharide transport system in isolated intestinal epithelial cells». *J. Membr. Biol.*, núm. 23, pàg. 57-76.
- (1979). «Regulation of Na⁺-dependent transport in intestinal epithelial cells by exogenous ATP». *Am. J. Physiol.*, núm. 238, pàg. C177-C183.
- (1984). «2-Deoxyglucose transport by intestinal epithelial cells isolated from the chick». *J. Membr. Biol.*, núm. 27, pàg. 363-379.
- KLEIN, R. M. (1989). «Cell proliferative regulation in developing small intestine». A: Leberthal, E. *Human gastrointestinal development*. Nova York: Raven Press, pàg. 393-436.
- KOEPSSELL, H.; J. SPANGENBERG (1994). «Function and presumed molecular structure of Na⁺-D-glucose cotransport systems». *J. Membr. Biol.*, núm. 138, pàg. 1-11.
- LEE, W. S.; Y. KANAI; R. G. WELLS; M. A. HEDIGER (1994). «The high affinity Na⁺/glucose cotransporter: re-evaluation of function and distribution of expression». *J. Biol. Chem.*, núm. 269, pàg. 12032-12039.
- LESCALE-MATY, L.; J. DYER; D. SCOTT; E. M. WRIGHT; S. P. SHIRAZI-BEECHEY (1993). «Regulation of ovine intestinal Na⁺/glucose cotransporter (SGLT1) is dissociated from mRNA abundance». *Biochem. J.*, núm. 291, pàg. 435-440.
- MACKENZIE, B.; M. PANAYOTOVA-HEIERMANN; D. D. F. LOO; J. E. LEVER; E. M. WRIGHT (1994). «SAAT1 is a low affinity Na⁺/glucose cotransporter and not an amino acid transporter». *J. Biol. Chem.*, núm. 269, pàg. 22488-22491.
- MADARA, J. L. (1989). «Loosening tight junctions: lessons from the intestine». *J. Clin. Invest.*, núm. 83, pàg. 1089-1094.
- MADARA, J. L.; J. R. PAPPENHEIMER (1987). «Structural basis for physiological regulation of paracellular pathways in intestinal epithelia». *J. Membr. Biol.*, núm. 100, pàg. 149-164.
- MADARA, J. L.; J. S. TRIER (1994). «The functional morphology of the mucosa of the small intestine». A: Johnson, L.R. *Physiology of the gastrointestinal tract*. Nova York: Raven Press, pàg. 1577-1645.
- MAENZ, D. D.; C. I. CHEESEMAN (1986). «Effect of hyperglycemia on D-glucose transport across the brush-border and basolateral membrane of rat small intestine». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 860, pàg. 277-285.
- (1987). «The Na⁺ independent D-glucose transporter in the enterocyte basolateral membrane: orientation and cytochalasin B binding characteristics». *J. Membr. Biol.*, núm. 97, pàg. 259-266.
- MAHRAOUI, L.; M. ROUSSET; E. DUSSAULX; D. DRAMOUL; A. ZWEIBAUM; E. BROU-LAROCHE (1991). «Expression and localization of GLUT5 in Caco-2 cells in human small intestine and colon». *Am. J. Physiol.*, núm. 263, pàg. G312-G318.

- MARGER, M. D.; M. H. SAJER (1993). «A major superfamily of transmembrane facilitators that catalyze uniport, symport and antiport». *Trends Biochem. Sci.*, núm. 18, pàg. 13-20.
- MEDDINGS, J. B.; H. WETTERGAARD (1989). «Intestinal glucose transport using perfused rat jejunum *in vivo*: model analysis and derivation of kinetic constants». *Clin Sci.*, núm. 76, pàg. 403-413.
- MITJANS, M.; G. BARNIOL; R. FERRER (1995). «Epithelial surface area in chicken small intestine during development». *Ital. J. Gastroenterol.*, núm. 7, pàg. 162.
- MIYAMOTO, K. I.; K. HASE; Y. TAKETANI; H. MINAMI; T. OKA; Y. NAHABOU, H. HAGIHIRA (1992). «Developmental changes in intestinal glucose transporter mRNA levels». *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, núm. 183, pàg. 626-631.
- MORETÓ, M.; J. M. PLANAS; C. DE GABRIEL; F. J. SANTOS (1984). «Involvement of cellular cyclic AMP in theophylline-induced sugar accumulation in chicken intestinal epithelial cells». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 771, pàg. 68-73.
- MUECKLER, M.; C. CARUSO; S. A. BALDWIN; M. PANICO; I. BLENCH; H. R. MORRIS; W. J. ALLARD; G. E. KIENHARD; H. F. LODISH (1985). «Sequence and structure of a human glucose transporter». *Science*, núm. 229, pàg. 941-945.
- MURER, H.; U. HOPFER (1977). «The functional polarity of the intestinal epithelial cell: studies with isolated plasma membrane vesicles». A: Kramer, M.; Lauterbach, F. *Intestinal Permeation*. Amsterdam: Excerpta Media, pàg. 294-312.
- NATH, S. K.; M. RAUTUREAU; M. HEYMAN; H. REGGIO; A. L'HELGOUALC'H; J. F. DESJEUX (1989). «Emergence of Na⁺-glucose cotransport in an epithelial secretory cell line sensitive to cholera toxin». *Am. J. Physiol.*, núm. 256, pàg. G335-G341.
- PAJOR, A. M.; E. M. WRIGHT (1992). «Sequence, tissue distribution and functional expression of a mammalian Na⁺/nucleoside co-transporter». *J. Biol. Chem.*, núm. 267, pàg. 3557-3560.
- PAPPENHEIMER, J. R. (1988). «Physiological regulation of epithelial junctions in intestinal epithelia». *Acta Physiol. Scand.*, núm. 133, pàg. 43-51.
- (1993). «On the coupling of membrane digestion with intestinal absorption of sugars and amino acids». *Am. J. Physiol.*, núm. 265, pàg. G409-G417.
- PAPPENHEIMER, J. R.; K. Z. REISS (1987). «Contribution of solvent drag through intercellular junctions to absorption of nutrients by the small intestine of the rat». *J. Membr. Biol.*, núm. 100, pàg. 123-136.
- PAPPENHEIMER, J. R.; K. VOLPP (1992). «Transmucosal impedance of small intestine: correlation with transport of sugars and amino acids». *Am. J. Physiol.*, núm. 263, pàg. C480-C493.
- PARENT, L.; S. SUPPLISSON; D. D. F. LOO; E. M. WRIGHT (1992a). «Electrogenic properties of the cloned Na⁺/glucose cotransporter. I. Voltage-clamp studies». *J. Membr. Biol.*, núm. 125, pàg. 49-62.
- (1992b). «Electrogenic properties of the cloned Na⁺/glucose cotransporter. I. A transport model under nonraped equilibrium conditions». *J. Membr. Biol.*, núm. 125, pàg. 63-79.
- PEERCE, P.; R. CLARKE (1990). «Isolation and reconstitution of the intestinal Na⁺/glucose cotransporter». *J. Biol. Chem.*, núm. 265, pàg. 1731-1736.
- PEERCE, B. E.; E. M. WRIGHT (1987). «Examination of the Na⁺-induced conformational change of the intestinal brush border sodium/glucose symporter using fluorescent probes». *Biochemistry*, núm. 26, pàg. 4272-4279.
- PINCHES, S. A.; S. M. GRIBBLE; R. B. BEECHY; A. ELLIS; J. M. SHAW; S. P. SHIRAZI-BEECHY (1993). «Preparation and characterization of basolateral membrane vesicles from pig and human colonocytes: the mechanism of glucose transport». *Biochem. J.*, núm. 294, pàg. 529-534.
- PLANAS, J. M.; M. C. VILLÀ; R. FERRER; M. MORETÓ (1986). «Hexose transport by chicken cecum during development». *Pflügers Arch.*, núm. 368, pàg. 1-5.
- RIKLIS, E.; J. H. QUASTEL (1958). «Effects of cations on sugar absorption by isolated surviving guinea pig intestine». *Can. J. Biochem. Physiol.*, núm. 36, pàg. 347-362.
- SCHMIDT, U. M.; B. EDDY; C. M. FRASER; J. C. VENTER; G. SEMENZA (1983). «Isolation of (a subunit of) the Na⁺/D-glucose cotransporter(s) of rabbit intestinal brush border membranes using monoclonal antibodies». *FEBS Lett.*, núm. 161, pàg. 279-283.
- SHARP, P. A.; E. S. DEBNAM (1994). «The role of cyclic AMP in control of sugar transport across the brush-border and basolateral membranes of rat jejunal enterocytes». *Exp. Physiol.*, núm. 79, pàg. 203-214.
- SHIRAZI-BEECHY, S. P.; B. A. HIRAYAMA; Y. WANG; D. SCOTT, M. W. SMITH; E. M. WRIGHT (1991). «Ontogenic development of lamb intestinal sodium-glucose co-transporter is regulated by diet». *J. Physiol. Lond.*, núm. 437, pàg. 688-708.
- SMITH, M. W. (1981). «Autoradiographic analysis of alanine uptake by newborn pig intestine». *Experientia*, núm. 37, pàg. 868-870.
- SMITH, M. W.; A. TURVEY; T. C. FREEMAN (1992). «Appearance of phlorizin-sensitive glucose transport is not controlled at mRNA level in rabbit jejunal enterocytes». *Exp. Physiol.*, núm. 77, pàg. 525-528.
- SOUBA, R. M.; B. R. STEVENS; W. W. SOUBA (1991). «Adaptive regulation of brush-border amino acid transport in a chronic excluded jejunal limb». *Am. J. Physiol.*, núm. 261, pàg. G22-G27.