

Laboratorio de Fisiología Animal
Facultad de Ciencias
Universidad de Barcelona

Efecto de la hidroflumetiazida sobre la absorción intestinal de azúcares

por
M. Lluch y F. Ponz

(Recibido para publicar el 13 de enero de 1963)

La absorción intestinal de fructosa, que no se transporta activamente (8, 24), parece ser que se efectúa por dos mecanismos, uno mediante simple difusión (3) a través del epitelio absorbente y otro mediante su conversión a glucosa (4, 11), paso este que ha sido demostrado en preparaciones de intestino *in vitro* de diversos animales (8, 11, 24).

La conversión de la fructosa a glucosa puede realizarse, quizás incluso de modo preferente, por la acción de la cetohehexocinasa (10, 19), enzima que en un trabajo anterior uno de nosotros observó que era inhibida de un modo significativo por ciertas tiazidas diuréticas (13).

Por este motivo nos pareció de interés el estudiar si la hidroflumetiazida (HFT) (6-trifluormetil-7-sulfanil-3, 4-dihidro-1, 2, 4-benzotiadiazina-1, 1-dióxido) que entre las ensayadas presentaba una acción inhibitoria mayor sobre la cetohehexocinasa de hígado, afectaba a la absorción intestinal de fructosa. Era conveniente, además, investigar si la posible acción inhibitoria se ejercía exclusivamente sobre la absorción de fructosa o si era de carácter más general sobre otros azúcares. Se ha ensayado por ésto en ratas *in vivo*, el efecto de la HFT sobre la absorción de fructosa, glucosa, galactosa y arabinosa.

Material y métodos

Los experimentos se efectúan en ratas blancas adultas de peso superior a 100 gr, bajo anestesia con uretano. En cada animal se practican cuatro absorciones sucesivas con la técnica de SOLS y PONZ (2) con soluciones de azúcar 0,3 M.

La hidroflumetiazida se disuelve a la concentración deseada en la solución de azúcar. Dada su poca solubilidad a pH neutro se colocan en todas las experiencias, las soluciones de azúcar a pH 7,3 que no influye en la absorción (14, 15) con lo que se consigue aumentar la solubilidad de la HFT.

El azúcar residual se determina según SOMOGY (20). La temperatura de los animales se mantiene prácticamente constante durante las experiencias (23).

Los resultados obtenidos se expresan en las tablas en porcentajes medios de variación de la absorción con sus correspondientes errores (17), así como los valores medios de absorción para cada azúcar expresados en micromoles de azúcar absorbido por centímetro de longitud de intestino (23).

Resultados

1. Efecto inhibidor

Para las hexosas (d-glucosa, d-galactosa y d-fructosa) se han utilizado tiempos de absorción de 30 minutos en asas intestinales *in situ* de unos 25 cm de longitud. En un primer tipo de experiencias, la primera absorción se realizaba con la solución de azúcar, mientras que en las 2.^a, 3.^a y 4.^a absorciones la solución de azúcar contenía HFT $2,5 \times 10^{-3}$ M.

Como puede verse en la tabla I, la absorción intestinal de d-fructosa es la más fuertemente inhibida, efecto que es mayor en las cuartas absorciones, en que por tercera vez estaba presente en la luz del intestino la HFT. También se inhibe la absorción de d-glucosa y d-galactosa, aunque en grado notablemente inferior.

TABLA I

Efecto de la hidroflumetiazida (HFT) $2,5 \times 10^{-3}$ M sobre la absorción intestinal de azúcares 0,3 M por intestino de rata.

Animales n.º	Azúcar 0,3M	Tiempo absorción (mín.)	Absorción normal μ M/cm	Absorciones sucesivas (Var. %)		
				2. ^a HFT	3. ^a HFT	4. ^a HFT
8	D-glucosa	30	$41 \pm 4,6$	$-17 \pm 6,3$	$-18 \pm 8,0$	$-15 \pm 5,6$
7	D-galactosa	30	$47 \pm 4,9$	$-9 \pm 7,8$	$-22 \pm 2,8$	$-28 \pm 3,4$
7	D-fructosa	30	$20 \pm 1,6$	$-48 \pm 8,0$	$-46 \pm 10,8$	$-60 \pm 8,1$

Se han practicado otros experimentos en que la HFT sólo estaba presente en las segundas y cuartas absorciones, mientras que en las primeras y terceras se absorbía únicamente la solu-

ción de azúcar 0,3 M. Los resultados se expresan en la tabla II

Para la l-arabinosa, se ha utilizado una modificación a la técnica de absorciones sucesivas (16), con volumen inicial de absorción de 2 ml y asas de unos 10 cm de longitud. Después de un período previo para alcanzar la constancia de absorción (12), se practicaban en cada animal tres absorciones sucesivas de 60 minutos, la primera y la tercera con la solución de l-arabinosa sin HFT y la segunda en presencia de HFT $2,5 \times 10^{-3}$ M (véase tabla II).

TABLA II

Efecto de la hidroflumetiazida (HFT) sobre la absorción de azúcares por el intestino de rata.

Animales n.º	Azúcar 0,3 M	Tiempo absorción (min.)	HFT M	Absorción normal M/cm	Absorciones sucesivas (Var. %)		
					2.ª HFT	3.ª	4.ª HFT
5	D-glucosa	30	5×10^{-4}	$34 \pm 4,0$	$-1,4 \pm 3,0$	$-5,0 \pm 6,0$	$-15 \pm 2,0$
5	D-glucosa	30	$2,5 \times 10^{-3}$	$41 \pm 4,0$	$-21 \pm 2,8$	$-11 \pm 2,2$	$-25 \pm 2,7$
4	D-fructosa	30	$2,5 \times 10^{-4}$	$28 \pm 1,7$	$-3,3 \pm 3,6$	$-3,3 \pm 3,6$	$-1,0 \pm 4,6$
6	D-fructosa	30	5×10^{-4}	$23 \pm 1,7$	$-18 \pm 2,4$	$-1,0 \pm 2,3$	$-20 \pm 1,0$
6	D-fructosa	30	$2,5 \times 10^{-3}$	$22 \pm 2,5$	$-38 \pm 4,2$	$+9,0 \pm 3,0$	$-39 \pm 3,6$
6	D-galactosa	30	$2,5 \times 10^{-3}$	$48 \pm 6,0$	$-13 \pm 3,4$	$-8,0 \pm 2,9$	$-23 \pm 9,4$
5	L-arabinosa	60	$2,5 \times 10^{-3}$	$9 \pm 1,0$	$+10 \pm 4,2$	$-3,0 \pm 6,6$	—

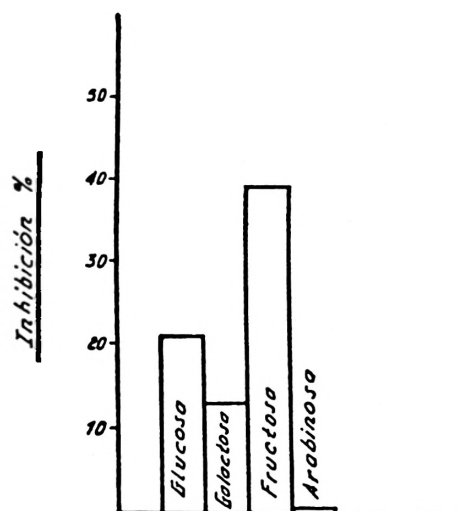


FIG. 1. Efecto de la hidroflumetiazida $2,5 \times 10^{-3}$ M sobre la absorción de azúcares 0,3 M por intestino de rata.

Como indica la tabla II y la figura 1, la HFT $2,5 \times 10^{-3}$ M no inhibe la absorción de arabinosa, mientras que reduce la de glucosa, galactosa y fructosa. De estas hexosas, la más fuertemente inhibida es, como en las experiencias anteriores, la fructosa. Con HFT 5×10^{-4} M se encuentra también la misma diferencia: La primera vez que está presente no tiene efecto con la glucosa y es aún muy claro con la fructosa (18 %). La HFT $2,5 \times 10^{-4}$ M no muestra ya acción sobre la absorción de fructosa.

En todos los casos con hexosas, se observa que el lavado del intestino con solución salina tiende a normalizar la absorción (véase tabla II, terceras absorciones).

2. Efecto local

En un grupo de animales se dispusieron experiencias en dos asas al objeto de ver si el efecto inhibitor de la HFT sobre la absorción intestinal de d-fructosa, se debía a una intoxicación general del animal por paso de la HFT a la circulación general o bien se debía a una acción local sobre la mucosa absorbente. En el asa proximal se efectuaban las cuatro absorciones sucesivas con solución de fructosa 0,3 M, mientras que durante la primera y tercera se ponía en el asa distal solución salina 0,9 %, y durante la segunda y cuarta, solución salina con HFT $2,5 \times 10^{-3}$ M, concentración que inhibe claramente la absorción de fructosa cuando está presente en la solución del azúcar. Los resultados (Tabla III) muestran que la HFT no produce inhibición significativa si se encuentra en asa distinta de la que se absorbe el azúcar.

TABLA III

Efecto de la hidroflumetiazida ($2,5 \times 10^{-3}$ M) sobre la absorción intestinal de d-fructosa en la rata. La HFT se coloca en asa distinta de la que absorbe el azúcar, durante las absorciones segundas y cuartas

Animales N.º	Tiempo absorción	Absorción normal $\mu\text{M}/\text{cm}$	Absorciones sucesivas (Var. %)		
			2.ª	3.ª	4.ª
5	30	$18 \pm 1,5$	$-3 \pm 2,6$	$-5 \pm 2,1$	$-7 \pm 2,7$

Discusión

La HFT, de acuerdo con los resultados expuestos, inhibe la absorción de fructosa, galactosa y glucosa, mientras que carece

de efecto sobre la absorción de arabinosa. La inhibición de la penetración de fructosa es, sin embargo, significativamente más importante que la correspondiente a las otras dos hexosas, tanto porque se manifiesta a concentraciones más bajas, como por ser más intensa a igual concentración.

El efecto inhibidor se debe con seguridad a una acción local sobre el epitelio mismo, ya que las mismas concentraciones de HFT puestas en asas distintas a la que absorbe el azúcar carecen de acción, lo que está de acuerdo con la sorprendentemente baja toxicidad de las benzotiadiazidas (18). Por otra parte basta lavar con suero fisiológico la luz del intestino que ha contenido solución de azúcar y HFT para que en la inmediata absorción en ausencia del fármaco se alcancen prácticamente los valores normales. Esto hace pensar en que la HFT no queda muy retenida en las células o que una buena parte del efecto se ejerza en la superficie celular. En el mismo sentido hablan los resultados en que se hacían tres absorciones sucesivas con HFT en que la inhibición es poco acumulativa.

De los cuatro azúcares ensayados, la glucosa y la galactosa son activamente transportables por el intestino (1, 2, 6, 7), mientras que la fructosa y la arabinosa no lo son (24). Sin embargo, las velocidades de absorción de la fructosa y arabinosa son muy diferentes: la primera se absorbe a una velocidad que es aproximadamente mitad que la de glucosa y de galactosa, mientras que para la arabinosa es mucho menor (5, 21).

El efecto de la HFT, que se absorbe relativamente bien por el intestino y tiene buena capacidad para combinarse con las proteínas (9), puede explicarse como resultado de la inhibición de algún proceso metabólico celular que repercute directa o indirectamente en el transporte activo (acción sobre la entrada de glucosa y de galactosa) y por lo que se refiere a la fructosa, la inhibición metabólica debe afectar a las transformaciones de este azúcar que facilitan en alto grado su penetración (3). Cobra especial interés en este sentido la notable inhibición que la HFT ejerce sobre la cetohecoquinasa (13).

Resumen

Se estudia mediante la técnica de absorciones sucesivas de SOLS y PONZ, el efecto de la hidroflumetiazida (HFT) sobre la absorción de diversos azúcares por el intestino de rata *in situ*.

La HFT $2,5 \times 10^{-3}$ M, inhibe la absorción intestinal de glucosa, galactosa y fructosa y no presenta efecto alguno en la de arabinosa. El grado de inhibición es variable para cada azúcar y siempre mayor con la fructosa (fructosa 38 %, glucosa 21 % y galactosa 13 %). En experiencias con dos asas se demuestra que el efecto es local sobre la mucosa absorbente.

Summary

The effect of hydroflumethiazide on the intestinal absorption of sugars

A study has been made, using the SOLS and PONZ technique of successive absorptions, of the effect of hydroflumethiazide (HFT) on the absorption of various 0.3 M sugars (d-glucose, d-galactose, d-fructose and l-arabinose) by the rat intestine *in situ*.

The HFT 2.5×10^{-3} M has no action on the absorption of l-arabinose, while it inhibits that of d-glucose, d-galactose and d-fructose. The inhibition is clearly greater with the fructose. With HFT 5×10^{-4} M, the only significant inhibition is that of the intestinal absorption of d-fructose.

When the HFT 2.5×10^{-3} M is present in an intestinal loop which is not the one that absorbs the fructose, it does not present any effect, which result can be attributed to the fact that the effect of the HFT is local on the absorbing epithelium.

The greater inhibition found with the d-fructose can be related with the inhibition of the cetohehexokinase by the HFT.

Bibliografía

- (1) ATKINSON, R. M., PARSON, B. J. and SMYTH, D. H. : *J. Physiol.*, **135**, 581, 1957.
- (2) BARANY, E. and SPERBER, E. : *Skand. Arch. Physiol.*, **81**, 290, 1939.
- (3) CRANE, R. K. : *Physiol. Rev.*, **60**, 789, 1960.
- (4) DARLINGTON, W. A. and QUASTEL, J. H. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **43**, 194, 1953.
- (5) DAVIDSON, J. N. and GARRY, R. C. : *J. Physiol.*, **99**, 239, 1941.
- (6) FISHER, R. B. and PARSONS, D. S. : *J. Physiol.*, **110**, 281, 1950.
- (7) FISHER, R. B. and PARSONS, D. S. : *J. Physiol.*, **119**, 224, 1953.
- (8) FRIDHANDLER, L. and QUASTEL, J. H. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **56**, 412, 1955.
- (9) FUCHS, M., MOYER, J. H. and NEWMAN, B. E. : *An. New York Acad. Scien.*, **88**, 795, 1960.
- (10) GINSBURG, V. and HERS, H. G. : *Biochem. Biophys. Acta.*, **38**, 427, 1960.
- (11) KIYASU, J. Y. and CHAIKOFF, I. L. : *J. Biol. Chem.*, **224**, 935, 1957.
- (12) LARRALDE, J. y GIRÁLDEZ, A. : *R. esp. Fisiol.*, **13**, 253, 1957.
- (13) LLINÁS, J. M. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **18**, 109, 1962.
- (14) PONZ, F. y LARRALDE, J. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 255, 1950.
- (15) PONZ, F. and LARRALDE, J. : *Nature.*, **168**, 912, 1951.
- (16) PONZ, F. y LLUCH, M. : *R. esp. Fisiol.*, **16**, 321, 1960.
- (17) PONZ, F. y LLUCH, M. : *R. esp. Fisiol.*, **18**, 123, 1962.
- (18) RENNICK, B. : *An. New York Acad. Scien.*, **88**, 785, 1960.
- (19) SALOMÓN, L. L. and JOHNSON, J. E. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 179, 1959.

- (20) SOLS, A. : *R. esp. Fisiol.*, **5**, 149, 1949.
- (21) SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **2**, 283, 1946.
- (22) SOLS, A. and PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **3**, 207, 1947.
- (23) VIDAL-SIVILLA, S., SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 195, 1950.
- (24) WILSON, T. H. and VINCENT, T. N. : *J. Biol. Chem.*, **216**, 851, 1955.