REVISTA ESPAÑOLA DE FISIOLOGIA, 30, 91-96. 1974

Acción de las sulfonilureas tolbutamida y glipentida sobre los niveles de lacticodeshidrogenasa plasmática

J. García-Rafanell y J. Morell-Mestre

Departamento de Farmacología
Laboratorios J. Uriach & Cía., S. A.
Barcelona

(Recibido el 13 de diciembre de 1973)

J. GARCIA-RAFANELL and J. MORELL-MESTRE. *Action of the Sulfonylureas Tolbutamide and Glypentide on the Lacticdehydrogenase Plasma Levels.* Rev. esp. Fisiol., 30, 91-96. 1974.

The effect of tolbutamide and glypentide (a new oral hypoglycemic agent) on the lactate dehydrogenase (L.D.H.) plasma levels of rabbits and rats has been studied.

The administration of single oral doses of these drugs (150 mg/kg tolbutamide and 5 mg/kg glypentide in rabbits; 150 mg/ kg tolbutamide and 25 mg/kg glypentide in rats), produces a similar blood sugar decrease in both species. However L.D.H. plasma levels of animals treated with tolbutamide increase considerably.

Contrarily, glypentide does not induce any significative increase of enzymatic activity in rabbits plasma. In rats plasma was observed a significative increase of 38 % only five hours after administration.

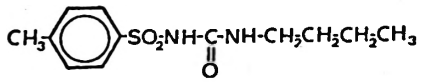
These results are in good agreement with those described by other authors about the extrapancreatic actions of tolbutamide and make us to think in a greater pancreatic specificity of glypentide.

La lacticodeshidrogenasa (L.D.H.), junto con las deshidrogenasas del α-hidroxibutirato y del isocitrato, posee valor diagnóstico en afecciones renales, hepáticas, musculares (distrofia muscular, poliomiositis, trauma muscular), en enfermedades malignas diseminadas, en ciertos trastornos hemáticos y especialmente en el infarto de miocardio (2, 8, 15, 19, 21).

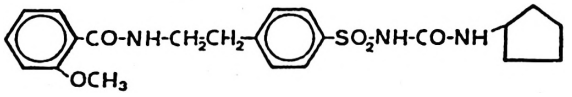
A pesar de que se ha descrito la relación entre la diabetes y los niveles de la L.D.H. en diversos tejidos (3, 12, 16, 22), no disponemos de información relativa a los efectos de los hipoglucemiantes de síntesis sobre la actividad lacticodeshidrogenásica.

En el presente trabajo se estudia la actividad de la lacticodeshidrogenasa plasmática total de conejo y rata, tras la administración oral de dosis equihipoglucemiantes de tolbutamida y glipentida. La glipentida es un nuevo hipoglucemiante oral del grupo de las sulfonilureas, que ha sido sintetizado y estudiado en nuestro laboratorio (7, 14) y corresponde a la denominación química N-[4-(beta-<o-ani-

samido>-etil)-bencenosulfonil]-N'-ciclopentilcarbamida. Las estructuras químicas de ambas sulfonilureas son las siguientes:



Tolbutamida



Glipentida (UR-661)

Material y métodos

Las experiencias se llevaron a cabo en conejos machos de 2,5 kg Gigante Español y ratas machos Spragüe-Dawley de 200-250 g mantenidas en ayunas desde 15 horas antes de administrarles por vía oral dosis únicas de las sulfonilureas tolbutamida y glipentida: 150 y 5 mg/kg en el conejo y 150 y 25 mg/kg en la rata, respectivamente. Ambos fármacos fueron administrados en forma de suspensión en carboximetilcelulosa (solución acuosa al 0,5 %) y el volumen administrado fue de 1 ml/kg en el conejo y de 1 ml/100 g en la rata. Los animales control fueron tratados exclusivamente con el disolvente. A continuación, y a intervalos de tiempo previamente fijados, se efectuaron extracciones de sangre en la vena marginal de la oreja de los conejos, y por decapitación y sangrado en las ratas. La sangre recogida en presencia de heparina, se centrifugó a 1.500 × g durante 15 minutos, a 4° C. Con el plasma así obtenido se determinó la actividad enzimática y la glucemia.

La determinación de la actividad enzimática se llevó a cabo en un espectrofotómetro de doble haz Hitachi Perkin-Elmer 124, según la técnica descrita por KUBOWITZ y OTT (11) y a una temperatura de 25° C.

Todos los ensayos se efectuaron en tampón de fosfato, *p*H = 7,4 (0,05 M), conteniendo piruvato sódico (*) y NADH (**) a concentraciones iniciales de $1{,}8 \times 10^{-4}$M y 1×10^{-4}M respectivamente en un volumen final de 3 ml. La reacción se iniciaba al adicionar a la cubeta 0,3 ml de plasma.

La variación de L.D.H. plasmática se expresa en porcentaje de incremento con respecto al nivel basal o bien en unidades internacionales (U.I.), de acuerdo con la recomendación de la Unión Internacional de Bioquímica.

Los niveles de glucosa en sangre se determinaron por el método de la o-toluidina (9) (***).

Resultados

En la figura 1 se observa la variación de la glucemia de los conejos tratados con glipentida (n = 7), y tolbutamida (n = 7), tras la administración oral de dosis únicas equihipoglucemiantes de ambos fármacos. La glucemia desciende un máximo del 40 % a las 6 horas de la administración. Al cabo de 24 horas se han recuperado los valores basales.

Con el mismo plasma obtenido para los ensayos de glucemia en el conejo, se determinó la actividad de la L.D.H. En la figura 2 se observan los cambios de este enzima tras la administración de las sulfonilureas. Aquellos animales tratados con glipentida (fig. 2a) no muestran aumentos estadísticamente significativos de la deshidrogenasa respecto a los niveles hallados en los conejos control (n = 7). Sin embargo, los tratados con tolbutamida (figura 2b) manifiestan incrementos significa-

* Boehringer (Mannheim), Art. 15.019 NAAA.
** Boehringer (Mannheim), Art. 15.142.
*** Merkotest, Art. 3.353.

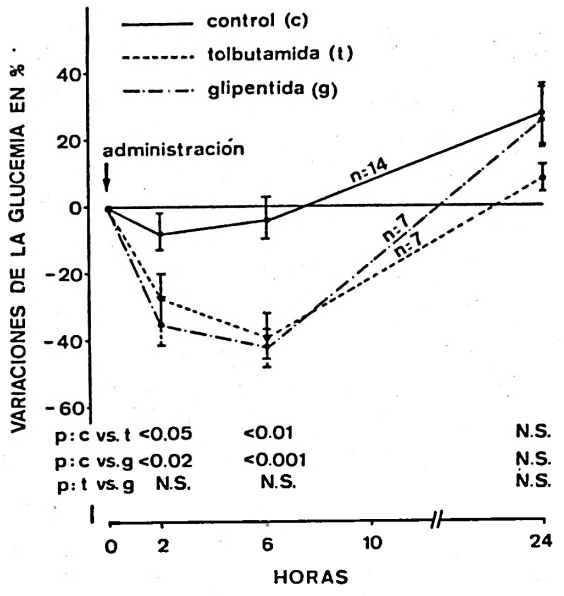


Fig. 1. *Variación de los niveles de glucosa plasmática de conejos tras la administración oral de una dosis única de tolbutamida (150 mg/kg) o de glipentida (5 mg/kg).*
Cada punto representa la variación porcentual media±s.e.m. obtenido con n animales. Valores basales de la glucemia en mg %: lote control = 130,6±9,4; lote tolbutamida = 124,7±7,8; lote glipentida = 113,0±7,3.

tivos del enzima a las 6, 24 y 48 horas después de la administración, alcanzándose a las 24 horas una actividad enzimática cuatro o cinco veces superior a la de los animales control (n = 7).

En la figura 3 se representa la variación porcentual de la glucemia de ratas tras la administración oral de dosis únicas de glipentida y tolbutamida, en relación con los niveles basales de los animales control. El ensayo se realizó en un total de 33 ratas para la glipentida (13 control y 20 tratadas) y 40 ratas para la tolbutamida (15 control y 25 tratadas).

Los dos fármacos producen una análoga disminución de la glucemia a las 1,5, 3 y 6 horas de la administración. Al cabo de 24 horas, los animales tratados con glipentida presentan todavía una hipoglucemia del 15,2 % con respecto al valor basal (glucemia en mg %: basal = 125,4± 4,0, a las 24 h. = 106,2±4,4; $P < 0,05$).

La actividad de la L.D.H. plasmática de rata se determinó en las mismas muestras de plasma empleadas para la determinación de la glucemia.

En la figura 4a se observa que, a las 5 horas de la administración de glipentida, se detecta un aumento significativo de

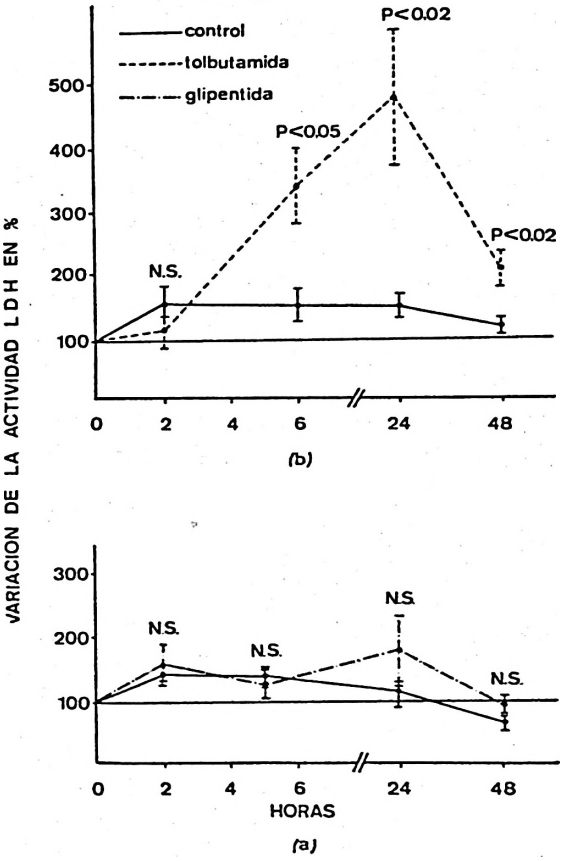


Fig. 2. *Cambio porcentual de la L.D.H. plasmática de conejo, tras la administración oral de (a) glipentida (5 mg/kg) y (b) tolbutamida (150 mg/kg).*
Cada punto representa el valor medio±s.e.m. obtenido en siete animales. Valores basales de actividad L.D.H. en U.I./litro de plasma: lote control glipentida = 445±67; lote glipentida = 460±63; lote control tolbutamida = 495±55; lote tolbutamida = 465±100.

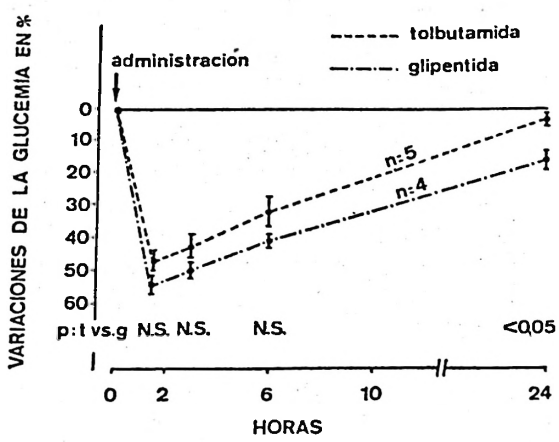


Fig. 3. *Variación de los niveles de glucosa plasmática de ratas, tras la administración de una dosis oral única de tolbutamida (150 mg/kg) o de glipentida (25 mg/kg).*
Cada punto representa la variación porcentual media±s.e.m. obtenido con n animales. Valores basales de la glucemia en mg %: lote control glipentida = 125,1±4,0; lote control tolbutamida = 109,2±1,4.

la L.D.H. del 38 % con respecto al valor control ($P < 0,01$). Sin embargo, en la figura 3b se aprecian incrementos de la actividad enzimática a las 3, 5 y 24 horas tras la administración oral de tolbutamida (150 mg/kg), que son significativos a las 3 horas ($P < 0,05$) y a las 24 horas ($P < 0,001$).

Discusión

Además de la actividad insulino-secretora de la tolbutamida, varios autores han estudiado sus diversas acciones extrapancreáticas, a las que se atribuyen, por otra parte, las acciones tóxicas descritas para este hipoglucemiante. Estas acciones se han puesto de manifiesto especialmente a nivel renal (13), hepático (1, 5), cardiovascular (4, 10, 17, 20) y tiroideo (6, 18). Por tanto, el aumento de la actividad L.D.H. plasmática, tras la administración

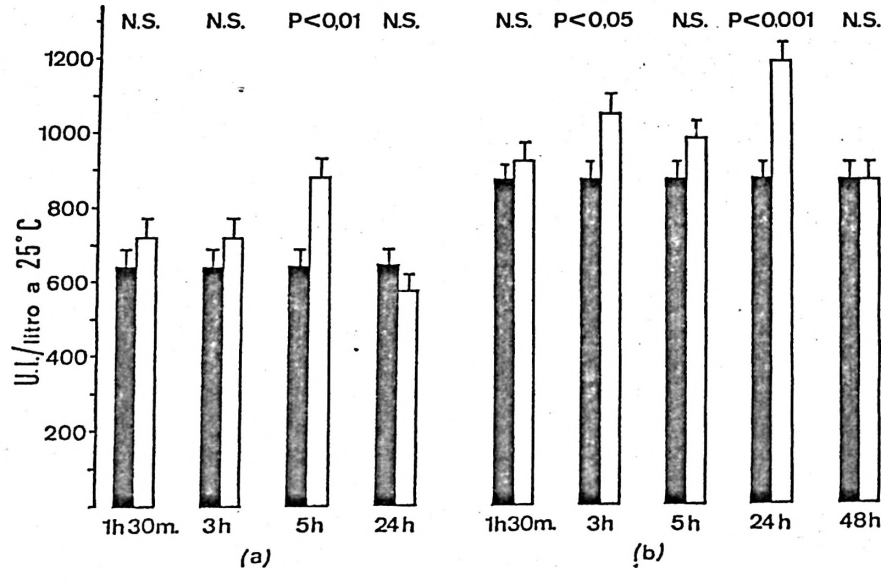


Fig. 4. *Incremento de la actividad L.D.H. de plasma de rata (valor medio±s.e.m.) tras la administración oral de dosis únicas equihipoglucemiantes de (a) glipentida (25 mg/kg) y (b) tolbutamida (150 mg/kg).*
Controles: ■; tratados: □.

de una dosis masiva única de tolbutamida, podría explicarse a través de estas acciones extrapancreáticas y pondría de manifiesto una acción tóxica específica a nivel celular.

Por el contrario, la administración de dosis equihipoglucemiantes de glipentida no provoca aumentos sensibles de la actividad L.D.H., lo que nos induce a pensar — de acuerdo con las condiciones experimentales ensayadas — que dicho fármaco carece de las acciones extrapancreáticas que determinan estas variaciones en los niveles de L.D.H. plasmática. En efecto, mientras que dosis de glipentida 6-30 veces inferiores a las de tolbutamida producen una hipoglucemia similar, la tolbutamida provoca una franca variación de la actividad L.D.H. plasmática y la glipentida no varía prácticamente dicha actividad.

Se ha determinado la actividad del enzima total, como reflejo de la hiperactividad celular consecuencia de las acciones extrapancreáticas. Sin embargo, un estudio particular de los isoenzimas de la L.D.H. proporcionaría un reconocimiento más preciso del tejido o tejidos responsables del aumento plasmático del enzima tras la administración de tolbutamida.

Resumen

Se ha estudiado el efecto de la tolbutamida y de la glipentida (nuevo hipoglucemiante oral) sobre los niveles del enzima lacticodeshidrogenasa (L.D.H.) en el plasma de conejos y ratas.

La administración de dosis orales únicas de estos fármacos (150 mg/kg de tolbutamida y 5 mg/kg de glipentida en conejos y 150 mg/kg de tolbutamida y 25 mg/kg de glipentida en ratas), produce una análoga disminución de la glucemia en ambas especies. Sin embargo, los niveles de L.D.H. en el plasma de los animales tratados con tolbutamida aumentan de forma considerable.

La glipentida, por el contrario, no provoca incrementos significativos de la actividad enzimática en el plasma de conejo. En plasma de rata, se observó un incremento significativo del 38 % sólo a las cinco horas de su administración.

Estos resultados apoyan los descritos por otros autores en relación con las acciones extrapancreáticas atribuidas a la tolbutamida y parecen indicar una mayor especificidad pancreática de la glipentida.

Bibliografía

1. ASHMORE, J., CAHILL, G. G., HASTINGS, A. B.: *Metabolism*, **5**, 774, 1956.
2. BATSAKIS, J. G., PRESTON, J. A. y BRIERE, R. O.: *Milit. Med.*, **129**, 1161, 1956.
3. BEITUER, R. y LATH, N.: *Nature New Biol.*, **241**, 281, 1973.
4. BLOODWORTH, J. M. B., JR.: *Metabolism*, **9**, 980, 1960.
5. BORSTEIN, J.: *Nature*, **179**, 534, 1957.
6. BROWN, J. y SOLOMON, D. H.: *Metabolism*, **5**, 813, 1956.
7. GOBERNA, R., LUCAS, M., TAMARIT, J., CEBEIRA, M., OSORIO, J. y RIVAS, B.: 3-Internat. Donau-Symposium über Diabetes Mellitus, Viena, 1973. Abstract n.° 22.
8. GREILING, H., ENGELS, G. y KISTERS, R.: *Klin. Wschr.*, **42**, 427, 1964.
9. HÄRTEL, A., HELGER, R. y LANG, H.: *Z. Klin. Chem. u Klin. Biochem.*, **7**, 183, 1969.
10. KHACHDURIAN, A. K. y BADEER, H. S.: *Metabolism*, **9**, 890, 1960.
11. KUBOWITZ, F. y OTT, P.: *Biochem. Z.*, **314**, 94, 1943.
12. MALATHY, K. y KURUP, A. P.: *Indian J. Biochem. Biophys.*, **9**, 307, 1972.
13. MOHNIKE, G. y BIBERGIL, H.: *Deuch. Med. Wochenschrift*, **8**, 900, 1956.
14. MORELL, J., SÁNCHEZ, M. S., MENGUAL, V. y URIACH, J.: *XIV Reun. Nal. Soc. Esp. C. Fisiol.*, Sevilla, 1973. Abstract n.° 22-3.
15. NACHLAS, M. M., FRIEDMAN, M. M. y COHEN, S. P.: *Surgery*, **55**, 700, 1964.
16. PADMAKER, K. D. y ARNOLD, L.: *Metabolism*, **13**, 285, 1964.
17. PALMER, R. F., LASSETER, K. C. y MCCARTHY, J.: *Lancet*, **1**, 604, 1964.
18. SEEGERS, W., MCGAVAC, T. H. y HAAR, H. O.: *J. Am. Geriat. Soc.*, **5**, 739, 1957.

19. WIEME, R. J. y VAN MAERCKE, Y.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **94**, 898, 1961.
20. WOLF, F. y GRANT, A.: *New Engl. J. Med.*, **184**, 915, 1971.
21. WROBLEWSKI, F., ROSS, C. y GREGORY, K.: *New Engl. J. Med.*, **263**, 531, 1960.
22. YOSHIKARA, O.: *Endocr. Jap.*, **16**, 609, 1969.