

# **VARIACIONS DE LES RELACIONS GLUCOSA/INSULINA PEL TRACTAMENT AMB SULFONILUREES EN LA RATA**

Comunicació presentada el dia 31 de gener de 1978  
a les I Jornades d'Endocrinologia de la S.C.B.

per

**J. CODINA i E. HERRERA**

Càtedra de Fisiologia General. Facultat de Biologia.  
Universitat de Barcelona.

Aquest treball ha estat realitzat en part amb una ajuda  
de la «Comisión Asesora de Investigación Científica Técnica  
de la Presidencia del Gobierno»

## **INTRODUCCIÓ**

La injecció intravenosa d'insulina va acompanyada d'un descens en els valors de glucèmia<sup>1,2</sup>, mentre que la supressió de la insulina circulant produeix hiperglucèmia<sup>4</sup>, ja sigui a causa de la destrucció de les cèl·lules beta del pàncrees<sup>3</sup> o bé per la injecció intravenosa d'anticossos contra la insulina.

Des dels primers treballs de LOUBATIERRE<sup>5</sup> es coneix que l'administració oral o intravenosa de tolbutamida produeix hipoglucèmia, la qual sempre és precedida per un augment dels valors d'insulina circulant<sup>6</sup>. Això féu pensar que les sulfonilurees estimulaven la secreció pancreàtica d'insulina, la qual secreció seria la causant de la subsegüent hipoglucèmia.

Aviat s'observà, però, que l'administració de certes sulfonilurees en alguns models experimentals produïen hipoglucèmia sense alterar els nivells circulants d'insulina<sup>7</sup>.

El tractament crònic amb sulfonilurees produeix una resposta hipoglucèmia disminuída d'aquestes drogues<sup>8</sup>, la qual cosa podria atribuir-se als seus efectes extrapancreàtics.

El present treball s'ha realitzat amb la finalitat d'estudiar la importància de la secreció d'insulina sobre l'efecte hipoglucèmia de les sul-

fonilurees. Hem utilitzat la tolbutamida com a sulfonilurea base i dues drogues de l'anomenada «segona generació»<sup>9</sup>, com són la glibenclamida i la glipentida, d'efecte hipoglucemiant molt més intens.

#### MATERIALS I MÈTODES

S'han utilitzat rates femelles verges de la soca Wistar de  $143.2 \pm 3.4$  g de pes corporal. Aquests animals foren distribuïts en quatre grups. Els controls rebien el dissolvent de la droga, format per carboximetilcel·lulosa al 0.5 % amb tween-80 (0.25 %). Aquest mitjà també era utilitzat per a suspendre la tolbutamida (1000 mg/100 ml), glibenclamida o glipentida (5 mg/100 ml). En tots els experiments, els animals rebien 1 ml de la suspensió corresponent per cada 100 g de pes corporal. Els experiments aguts començaven a les 9 del matí i en els crònics els animals rebien dues dosis de droga (a les 11 i a les 19 hores, respectivament), i les mostres de sang es prenién per la cua sense anestesiar els animals. En el tractament agut se'ls treia sang abans de començar l'experiment (temps zero) i als 7.5, 15, 22.5, 30, 60, 120 i 180 minuts després de l'administració de la droga. A cada mostra de sang es prenia una alíquota, la qual era desproteïnitada pel mètode de la glucosa oxidasa<sup>11</sup> i la resta se centrifugava a 4 °C per a obtenir el plasma en el qual es determinava la insulina segons el mètode ràdioimmunològic descrit per HEDING<sup>12</sup>.

#### RESULTATS

##### 1. *Tractament agut amb sulfonilurees*

A la taula 1 es presenten els valors de glucèmia en les rates tractades de forma aguda amb sulfonilurees. Els controls no presenten variacions notables en les seves glucèmies durant tot l'experiment. Però les rates que rebien tolbutamida, glibenclamida o glipentida presenten una ràpida hipoglucèmia. L'efecte es presenta primer en les rates tractades amb tolbutamida (als 7.5 minuts). Després ve l'efecte de la glipentida, la qual produeix hipoglucèmia als 22.5 minuts i, finalment, la glibenclamida comença a ser hipoglucemiant als 60 minuts de l'administració de la droga. Malgrat aquestes diferències en els temps de resposta, el valor mínim de glucèmia obtingut per a cada grup era semblant.

A la taula 2 es presenten els valors d'insulina. Pot observar-se un ràpid augment d'insulina circulant als 7.5 minuts, el qual augment es manté fins als 60 minuts per a la glipentida, mentre que en el cas de la gliben-

clamida els valors es normalitzen a partir del minut 60 de l'administració de la droga. Les rates que rebien tolbutamida presenten una elevació dels valors d'insulina circulants des dels 7.5 minuts fins al minut 60, però aquesta elevació no esdevé significativa en cap moment en relació als controls.

TAULA 1.— Efecte del tractament agut amb sulfonilurees sobre la concentració de glucosa a la sang (mg/100 ml). Els valors representen la mitjana ± E.T.M. La significativitat davant el grup control es representa: \* p<0.05; \*\* p<0.01; \*\*\* p<0.001.

	MINUTS							
	0	7.5	15	22.5	30	60	120	180
Control	82.8 ± 3.7	92.6 ± 3.5	96.3 ± 3.2	96.2 ± 3.4	99.8 ± 4.5	85.0 ± 4.7	86.3 ± 5.3	85.7 ± 6.4
Tolbutamida	86.9 ± 5.8	79.7 ± 4.4 *	66.1 ± 2.3 ***	59.2 ± 3.0 ***	53.0 ± 2.0 ***	34.1 ± 2.3 ***	36.3 ± 4.0 ***	43.2 ± 3.7 ***
Glibenclamida	83.9 ± 1.6	92.9 ± 3.5	104.7 ± 2.6	98.4 ± 2.6	94.3 ± 2.3	67.9 ± 4.0 *	54.2 ± 3.8 ***	54.7 ± 3.3 ***
Glipentida	87.1 ± 3.8	93.2 ± 5.3	88.5 ± 5.8	76.8 ± 7.4 *	71.8 ± 8.4 *	52.1 ± 5.7 **	47.7 ± 7.8 **	49.4 ± 6.2 **

TAULA 2.— Efecte del tractament agut amb sulfonilurees sobre la concentració d'insulina plasmàtica (µU/ml). Els valors representen la mitjana ± E.T.M. La significativitat davant el grup control es representa: \* p<0.05; \*\* p<0.01.

	MINUTS							
	0	7.5	15	22.5	30	60	120	180
Control	28.1 ± 2.9	29.0 ± 4.4	31.5 ± 5.2	30.6 ± 7.5	28.4 ± 7.2	20.7 ± 2.7	29.5 ± 3.7	20.7 ± 3.8
Tolbutamida	35.9 ± 6.4	51.2 ± 16.2	61.2 ± 12.7	64.4 ± 10.9	51.5 ± 7.3	37.8 ± 11.8	24.1 ± 8.0	20.0 ± 5.3
Glibenclamida	28.2 ± 5.8	48.8 ± 11.1	64.4 ± 14.0	62.3 ± 17.4	75.1 ± 15.3 *	25.8 ± 5.2	26.6 ± 4.9	32.0 ± 6.1
Glipentida	33.4 ± 5.2	72.3 ± 10.5 **	88.2 ± 15.2 *	72.1 ± 15.6 *	56.7 ± 14.4	91.4 ± 24.7 **	25.3 ± 5.5	29.8 ± 6.0

## 2. Tractament crònic amb sulfonilurees

A la taula 3 es presenten els valors de glucèmia en un tractament crònic amb sulfonilurees. Totes les extraccions de sang es feren al matí, abans de donar-les la suspensió corresponent. Com es pot veure, les rates tractades amb tolbutamida presenten valors de glucèmia una mica més alts que els controls, sense, però, que en cap moment la diferència esdevingui significativa. Això no obstant, les rates tractades amb glibenclamida o glipentida presenten hipoglucèmia els primers dies del tractament, la qual es manté fins al dia dissetè. Aquests valors ja són completament normalitzats el dia vint-i-novè del tractament.

TAULA 3. — Efecte del tractament crònic amb sulfonilurees sobre la concentració de glucosa a la sang (mg/100 ml). Els valors representen la mitjana  $\pm$  E.T.M. La significativitat davant el grup control es representa: \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ .

	DIES			
	0	3	17	29
Control	98.7 $\pm$ 3.7	93.8 $\pm$ 5.2	89.1 $\pm$ 3.0	97.9 $\pm$ 4.4
Tolbutamida	98.3 $\pm$ 3.3	96.6 $\pm$ 3.9	99.3 $\pm$ 3.9	118.1 $\pm$ 7.6
Glibenclamida	96.0 $\pm$ 1.5	64.2 $\pm$ 2.6 ***	70.3 $\pm$ 3.6 **	82.8 $\pm$ 6.0
Glipentida	100.2 $\pm$ 3.9	67.1 $\pm$ 5.6 *	71.4 $\pm$ 10.3	92.8 $\pm$ 4.5

A la taula 4 es presenten els valors d'insulina corresponents a aquest mateix experiment. S'hi observa que els valors circulants d'aquesta hormona ja són completament normalitzats malgrat les modificacions a la glucosa de la sang.

A la taula 5 es presenten els valors de glucèmia els dies tercer, desè i vint-i-quatrè del tractament crònic, tres hores després de l'administració de la droga. Pot observar-se que els tres grups de rates presenten una forta hipoglucèmia els dies tercer i desè, la qual disminueix apreciablement el dia vint-i-quatrè del tractament.

TAULA 4. — Efecte del tractament crònic amb sulfonilurees sobre la concentració d'insulina plasmàtica ( $\mu$ U/ml). Els valors representen la  $\pm$ E.T.M. Les diferències a cada grup amb el control no són significatives ( $p > 0.05$ , en tots els casos).

	DIES			
	0	3	17	29
Control	25.7 $\pm$ 1.6	25.7 $\pm$ 0.1	17.1 $\pm$ 3.6	22.4 $\pm$ 1.4
Tolbutamida	22.5 $\pm$ 1.6	26.7 $\pm$ 3.2	30.5 $\pm$ 3.7	23.5 $\pm$ 1.6
Glibenclamida	25.3 $\pm$ 1.6	26.3 $\pm$ 2.9	26.4 $\pm$ 3.4	24.0 $\pm$ 1.8
Glipentida	18.8 $\pm$ 2.0	25.1 $\pm$ 2.6	22.9 $\pm$ 2.6	22.1 $\pm$ 1.9

TAULA 5. — Efecte del tractament crònic amb sulfonilurees sobre la concentració de glucosa a la sang (mg/100 ml), tres hores després de l'última administració de la droga. Els valors representen la mitjana  $\pm$  E.T.M. La significativitat davant el grup control es representa: \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$

	DIES		
	3	10	24
Control	91.7 $\pm$ 2.2	91.9 $\pm$ 2.9	93.9 $\pm$ 5.2
Tolbutamida	62.4 $\pm$ 3.1 ***	58.5 $\pm$ 4.0 ***	81.9 $\pm$ 2.3
Glibenclamida	45.6 $\pm$ 3.6 ***	57.8 $\pm$ 5.0 ***	70.4 $\pm$ 4.6 **
Glipentida	68.2 $\pm$ 7.0 **	53.4 $\pm$ 3.9 ***	77.1 $\pm$ 4.3 *

A la taula 6 es presenten els valors d'insulina tres hores després de l'administració de la droga, els dies tercer, desè i vint-i-quatrè del tractament. En cap dels temps estudiats apareixen diferències significatives entre els grups experimentals i el control.

TAULA 6.— Efecte del tractament crònic amb sulfonilurees sobre la concentració d'insulina plasmàtica ( $\mu$ U/ml), tres hores després de l'última administració de la droga. Els valors representen la mitjana  $\pm$  E.T.M. Les diferències a cada grup amb el control no són significatives ( $p > 0.05$ , en tots els casos).

	DIES		
	3	10	24
Controls	34.6 $\pm$ 7.5	25.9 $\pm$ 9.6	30.1 $\pm$ 9.8
Tolbutamida	30.3 $\pm$ 8.3	31.7 $\pm$ 6.1	27.2 $\pm$ 6.8
Glibenclamida	28.8 $\pm$ 6.6	19.6 $\pm$ 1.7	23.9 $\pm$ 4.9
Glipentida	21.7 $\pm$ 6.4	22.6 $\pm$ 7.3	17.0 $\pm$ 4.1

#### DISCUSSIÓ

De forma semblant a com han descrit altres autors <sup>6, 13</sup> en el present treball, hem observat que el tractament agut amb sulfonilurees produeix un ràpid alliberament d'insulina pel pàncreas. Aquest alliberament es manifesta ja als 7.5 minuts de l'administració de la droga. La glucèmia disminueix de manera diferent en cada grup, la qual cosa concordaria amb la presència d'uns efectes extrapancreàtics descrits per a aquestes drogues per altres autors <sup>14</sup> i també al nostre laboratori <sup>15</sup>, els quals efectes contribuirien i/o mantindrien la hipoglucèmia en els animals alimentats.

Encara que les dosis de droga administrades en tractament agut són equihipoglucèmies <sup>16</sup>, en el tractament crònic observem que la tolbuta-

mida provoca una hipoglucèmia a les tres hores de l'administració de la droga, i que ha desaparegut a les 16. I, això no obstant, no s'han alterat els valors d'insulina; la glibenclamida i la glipentida indueixen uns valors de glucèmia que es troben disminuïts durant un període de temps més gran i es troben normalitzats els valors d'insulina. Tot això ens posa de manifest que els efectes extrapancreàtics de les sulfonilurees són més duradors que no els pancreàtics.

Podem observar que el tractament crònic amb sulfonilurees produeix un efecte hipoglucèmiat cada cop més petit amb el temps d'administració de la droga. No tenim dades suficients per interpretar aquest fenomen, però això ens permet suggerir que aquest tipus de tractament produeix una menor resposta insulinoatròfica, com ja és descrit en la bibliografia<sup>17</sup>, i un canvi en la sensibilitat dels teixits extrapancreàtics envers aquestes drogues.

#### BIBLIOGRAFIA

1. HIATT, N., KATZ, J. i SHEINKPF, J. A. — «Endocrinology», 87: 186 (1970).
2. KNOPP, R. H., RUDER, H. J., HERRERA, E. i FREINKEL, N. — «Acta Endocrinológica», 65: 352 (1970).
3. LASUNCIÓN, M. A. — «Tesina de Licenciatura» (1975).
4. MARTIN, R. J. i BALDWIN, R. L. — «Endocrinology», 88: 868 (1971).
5. LOUBATIERES, A. — «Arch. Int. Physiol», 54: 174 (1946).
6. CERASI, E., CHOWERS, I., LUFT, R. i WIDSTROM, A. — «Diabetologia», 5: 343, 1969.
7. REAVEN, G. M., LINDLEY, T. S., WEISINGER, J. R. i SWENSOM, R. S. — «Diabetes», 22: 367 (1973).
8. CODINA, J., LASUNCIÓN, M. A. i HERRERA, E. — Aceptado para publicar en «Diabete et Metabolisme» (1978).
9. LOUBATIERES, A., MARIANI, M. M., RIBES, G. i ALRIC, R. — «Acta diabetol. Lat.», 10: 261 (1973).
10. SOMOGYI, M. — «J. Biol. Chem.», 106: 69 (1945).
11. HUGGETT, A. ST. G. i NIXON, D. A. — «Lancet», 1: 368 (1957).
12. HEDING, L. G. — «Diabetologia», 8: 260 (1972).
13. BEYER, J., HAUPT, E., CORDES, V., KUTSCHERA, J. i SCHOFFLING, K. — «Horm. Met. Res.», 5: 9 (1973).
14. CHAN, S. S. i FAIN, J. N. — «Mol. Pharmacol.», 6: 513 (1970).
15. HERRERA, E. — «Life Sciences», 16: 645 (1975).
16. GARCÍA-RAFANELL, J., LASUNCIÓN, M. A., MORELL, J. i HERRERA, E. — «Res. Esp. Fisiol.», 33: 103 (1977).
17. DURÁN-GARCÍA, S., JARROUSSE, C. i ROSSELIN, G. — «J. Clin. Invest.», 57: 230 (1976).