

43
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Efectos de la insulina en la histomorfología de glandulas salivales de ratas tratadas previamente con aloxana

T E S I S
Que para obtener el Titulo de
CIRUJANO DENTISTA
p r e s e n t a

JOSE MAURICIO CALZADA LOPEZ



México, D. F. ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA 1992

TESIS CON
FALLA DE ORIENTACION



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Pags.
Antecedentes.....	4
Páncreas e Insulina.....	4
Mecanismos autónomos involucrados.....	5
Insulina y Diabetes.....	6
Glándulas salivales e Insulina.....	9
Diabetes experimental.....	10
Aloxana y Estreptozotocina:.....	10
Diabetes experimental por aloxana.....	12
Diabetes experimental e insulina.....	15
Objetivo.....	19
Materiales.....	20
Metodología.....	21
Resultados	
a) Del tratamiento con aloxana.....	22
b) Del tratamiento con aloxana más insulina.....	25
Discusión.....	36
Conclusiones.....	39
Bibliografía.....	40

I N D I C E D E F I G U R A S

Pág.

Foto No. 1	Glándula parótida tratada con aloxana únicamente(40 X).....	22
Foto No. 2	Glándula submaxilar únicamente con aloxana (40 X).....	23
Foto No. 3	Glándula sublingual tratada con aloxana (40 X).....	24
Foto No. 4	Glándula Parótida tratada con aloxana más insulina (40 X).....	25
Foto No. 5	Glándula Parótida tratada con aloxana más insulina (20 X).....	26
Foto No. 6	Glándula Parótida tratada con aloxana más insulina (40 X).....	27
Foto No. 7	Glándula Submaxilar tratada con aloxana más insulina (40 X).....	28
Foto No. 8	Glándula Submaxilar tratada con aloxana más insulina (40 X).....	29
Foto No. 9	Glándula Sublingual tratada con aloxana más insulina (40 X).....	30
Foto No.10	Glándula Sublingual tratada con aloxana más insulina (10 X).....	31

I N D I C E D E T A B L A S

	Pág.
Tabla No. 1 Glándulas Parótidas de ratas tratadas con insulina.....	32
Tabla No. 2 Glándulas Submaxilares de ratas tratadas con insulina.....	33
Tabla No. 3 Glándulas sublinguales de ratas tratadas con insulina.....	34

A N T E C E D E N T E S :

PANCREAS E INSULINA: El islote pancreático se compone de cuatro tipos reconocibles de células, y cada uno de ellos sintetiza un polipéptido diferente; la insulina en la célula beta, el glucagón en la célula alfa, la somatostatina en la célula D y el polipéptido pancreático en la célula PP o F; así mismo cada tipo celular muestra una distribución característica en el islote (1) donde las células alfa forman la corteza externa y representan alrededor del 25% del islote.

La liberación de insulina parece estar controlada por la interacción coordinada de productos alimenticios, hormonas gastrointestinales y otros estímulos hormonales y neurales. En esta última categoría, el sistema nervioso autónomo y el central (SNC) tienen gran importancia (1,2).

De acuerdo con el papel de la insulina como promotora del almacenamiento de todos los combustibles, es comprensible que los aminoácidos, los ácidos grasos y cuerpos cetónicos provoquen su secreción. En el humano, la glucosa es muy probablemente que sea el estímulo principal, pero en otros animales, según la dieta, los aminoácidos o los ácidos grasos pueden ser los más importantes reguladores de su secreción.

MECANISMOS AUTONOMOS INVOLUCRADOS. El efecto predominante de la norepinefrina o epinefrina es inhibir la secreción de insulina, esta respuesta es mediada por receptores alfaadrenérgicos. Además, la activación selectiva de receptores beta-adrenérgicos estimula la secreción de insulina. El ejercicio y los estados patológicos que activan el sistema nervioso autónomo, como hipoxia, hipotermia, cirugía y quemaduras graves, suprimen la secreción de insulina por medio del mecanismo de los α -receptores. Las drogas colinomiméticas y la estimulación del nervio vago aumentan la liberación de insulina (3).

El sistema adrenérgico y el colinérgico, que inervan con abundancia a los islotes, pueden controlar la secreción basal de insulina y la reacción al stress. De este modo, el bloqueo de los receptores alfa aumenta, así como el bloqueo de los receptores muscarínicos o beta disminuye la concentración plasmática basal de insulina.

El hipotálamo regula los estímulos simpáticos y parasimpáticos hacia los islotes. El estímulo eléctrico del hipotálamo ventrolateral conduce a un rápido incremento de la secreción de insulina a través de una vía vagal. El estímulo eléctrico del hipotálamo ventromedial provoca una disminución de la secreción de insulina mediada por los nervios esplénicos.

El hipotálamo también controla el apetito e integra el comportamiento alimentario, y por lo tanto es un importante regulador de la secreción de las células beta (3, 4)

MECANISMOS AUTONOMOS INVOLUCRADOS. El efecto predominante de la norepinefrina o epinefrina es inhibir la secreción de insulina, esta respuesta es mediada por receptores alfaadrenérgicos. Además, la activación selectiva de receptores beta-adrenérgicos estimula la secreción de insulina. El ejercicio y los estados patológicos que activan el sistema nervioso autónomo, como hipoxia, hipotermia, cirugía y quemaduras graves, suprimen la secreción de insulina por medio del mecanismo de los α -receptores. Las drogas colinomiméticas y la estimulación del nervio vago aumentan la liberación de insulina (3).

El sistema adrenérgico y el colinérgico, que inervan con abundancia a los islotes, pueden controlar la secreción basal de insulina y la reacción al stress. De este modo, el bloqueo de los receptores alfa aumenta, así como el bloqueo de los receptores muscarínicos o beta disminuye la concentración plasmática basal de insulina.

El hipotálamo regula los estímulos simpáticos y parasimpáticos hacia los islotes. El estímulo eléctrico del hipotálamo ventrolateral conduce a un rápido incremento de la secreción de insulina a través de una vía vagal. El estímulo eléctrico del hipotálamo ventromedial provoca una disminución de la secreción de insulina mediada por los nervios esplénicos.

El hipotálamo también controla el apetito e integra el comportamiento alimentario, y por lo tanto es un importante regulador de la secreción de las células beta (3, 4)

INSULINA Y DIABETES : Aunque una fracción de la insulina plasmática endógena o exógena puede estar asociada con ciertas proteínas, en su mayor parte parecen circular en la sangre y linfa como hormona libre. El volúmen de distribución de la insulina se aproxima al volúmen del líquido extracelular. En condiciones de ayuno, el páncreas secreta 20ui de insulina por hora a la vena porta; la concentración de insulina en la sangre portal es 2 a 4 ng/ml (50 a 100 microunidades/ml) en la circulación periférica es 500 pg/ml (12 microunidades/ml). También se encuentra en circulación una pequeña cantidad de proinsulina.

En la diabetes insulino dependiente existe una marcada reducción del volúmen de las células beta (1, 2). La célula alfa, D y PP no parecen estar alteradas. En la diabetes no insulino dependiente se encuentran incrementadas las células alfa y no se observan alteraciones mayores de las células beta, D o PP.

Para clasificación de la diabetes Se han propuesto varios métodos pero aquí describimos solo una: 1) Insulino dependiente (antes llamada de iniciación juvenil). 2) Insulino independiente (antes llamada de iniciación adulta o madura). 3) Diabetes madura o insulino independiente en los jóvenes, un tipo de enfermedad rara y con leve herencia dominante; 4) Diabetes Mellitus o intolerancia a los hidratos de carbono asociada con ciertos síndromes genéticos. 5) Diabetes Mellitus Secundaria (inducida por drogas, enfermedad pancreática, hormonal,

anomalías de receptores, etc.) y 6) Diabetes Mellitus Gestacional (5). Las dos primeras formas de la enfermedad representan la gran mayoría de los pacientes. Varias formas de diabetes inusuales no incluidas en la clasificación anterior se observan en los países subdesarrollados. Estas formas de diabetes se asocian frecuentemente con cálculos pancreáticos masivos y una destrucción pancreática concomitante. La etiología es desconocida, pero se han sugerido factores nutricionales y tóxicos. La secreción de insulina estructuralmente anormal que posee una menor actividad biológica también ha sido descrita como una rara causa de diabetes (6).

La diabetes mellitus debida a inadecuada secreción de insulina por las células beta del páncreas se caracteriza por hiperglucemia, hiperlipemia, cetonemia y azouria. Cuando la deficiencia es severa puede haber cetoacidosis diabética. El propósito de la siguiente explicación es considerar estas aberraciones metabólicas en términos de los efectos de la insulina y del glucagón sobre diferentes tejidos y órganos.

Hiperglucemia: La hiperglucemia por deficiencia de insulina y exceso de glucagón es consecuencia de la subutilización y la sobreproducción de la glucosa (7).

En ausencia de insulina hay marcada reducción del transporte de glucosa através de ciertas membranas celulares. Lundsgaard 1939 (8) fué el primero en sugerir que la insulina aumenta al transporte de glucosa, y Levine y

col., 1949 (9) demostraron que la insulina aumenta el volumen de la distribución de la galactosa (que no se metaboliza) en el perro nefrectomizado eviscerado. Establecieron que la hormona acelera el transporte de ciertas hexosas, incluida la glucosa a través de las membranas celulares; la exclusión de la glucosa en el compartimiento intracelular debido a una membrana plasmática relativamente "impermeable" explica la subutilización de glucosa en el estado diabético pero también podía explicarse como efecto sobre el índice de fosforilación de glucosa, primer paso obligado del metabolismo. La insulina aumenta el transporte de glucosa con independencia del índice de fosforilación, como demostraron en el preparado de diafragma de rata (10).

Los preparados de insulina se dividen en tres categorías, según la rapidez, duración e inestabilidad de su acción después de su administración subcutánea. Se clasifican de acuerdo al tipo de acción en rápida, intermedia y prolongada pero se admite que un determinado preparado de insulina puede mostrar grandes variaciones de acción o actividad en una población de pacientes y hasta en una misma persona, especialmente si tiene diabetes lábil. La insulina cristalina se prepara por precipitación de la hormona en presencia de zinc (como cloruro de zinc) en un medio buffer. La insulina cristalina disuelta en agua se llama también inyección de insulina o insulina normal, después de la inyección subcutánea se absorbe rápidamente;

la acción comienza pronto y es de duración relativamente corta (7).

GLANDULAS SALIVALES E INSULINA.

En cavidad bucal un signo común en la diabetes es el aumento de la severidad de la enfermedad periodontal (11, 12) Otros autores establecen que pacientes controlados con terapia de insulina, no muestran enfermedad periodontal severa (13).

Al mismo tiempo las enfermedades del páncreas se asocian con alteraciones en la función y el tamaño de las glándulas salivales por lo general se reporta agrandamiento parotídeo bilateral asociado a enfermedades crónicas como la diabetes, desnutrición, elevación rápida de la glucosa en sangre e hipertensión arterial, (15, 16, 17) la causa del agrandamiento de la glándula parótida no esta bien esclarecida (14, 18).

Los primeros investigadores creían que el agrandamiento glandular era el resultado de una hiperplasia compensatoria (función endócrina) como respuesta al bajo nivel de insulina, sin embargo no está claro el papel de la función endócrina sobre la glándula parótida (14, 18), por otra parte el agrandamiento parotídeo puede ser un mecanismo para contrarrestar la xerostomia que en estos pacientes, es un signo clínico común (14, 19).

La insulina tiene un efecto directo en la estimulación del crecimiento corporal y del crecimiento de las glándulas salivales y endócrinas por medio de un aumento en la

síntesis de RNA, el cual presumiblemente promueven la síntesis de enzimas y proteínas estructurales. (14, 18). Los efectos de estimulación de insulina sobre la glándula y crecimiento corporal quizá tenga un efecto sinérgico de esta hormona sobre la acción fisiológica de la hormona de crecimiento, adrenocorticoesteroides y tiroxina, al mismo tiempo el efecto de la insulina en el mantenimiento del metabolismo normal de carbohidratos el cual indirectamente mantiene el metabolismo normal de proteínas y lípidos, que quizá contribuya al efecto promotor de crecimiento sobre el cuerpo en general así como las glándulas salivales y endócrinas (18).

DIABETES EXPERIMENTAL

Es posible inducir diabetes experimental en animales de laboratorio como las ratas, conejos, gatos, monos, perros y palomas (20), por medio de la administración de 2 diabetógenos, el primero que es la aloxana que es un derivado del ácido mesoxálico y el segundo diabetógeno es la estreptozotocina (12, 21).

ALOXANA Y ESTREPTOZOTOCINA

La historia de la aloxana empieza con la observación de Jacobs (20) en 1937. El encuentra que la inyección de aloxana en conejos da como resultado una hiperglucemia severa por lo tanto se define que la dosis diabetógena de la aloxana es la que un 80% de los animales de una especie dada, producirán hiperglucemia sustancial y necrosis de las

células de los islotes pancreáticos, pero la cual no causa daño observable a otros órganos (22).

Los agentes que con bastantes selectividad destruyan las células beta inducen a la diabetes mellitus hipoinsulinémica. Estos compuestos incluyen el aloxano, ácido dialúrico, dehidroascorbico y dehidroisoascorbico, algunas quinolonas y estreptozotocina. La ingestión accidental de un raticida VACOR, también se ha acompañado de la destrucción de células beta y de la aparición de diabetes (23).

Cuando la estreptozotocina, derivado N-nitroso de glucosamina producido por el *Streptomyces achromogenes*, se inyecta en ratas, hay degeneración de células beta pancreáticas. En los últimos años la estreptozotocina ha reemplazado al aloxano como agente preferido para producir un estado diabético en animales de experimentación y es clínicamente útil para tratar tumores que secretan insulina (23).

Tanto el aloxano como la estreptozotocina pueden actuar a través de la ruptura de las cadenas del DNA en las células beta. La aloxana parece llevar a cabo esta ruptura como resultado de la generación de radicales libres, mientras que la estreptozotocina actúa a través de la alquilación de las bases del DNA (24).

También se ha observado que la aloxana puede inactivar una proteínasa dependiente del calcio y de la

calmodulina, y cuya actividad se encuentra relacionada con la secreción de insulina (25).

DIABETES EXPERIMENTAL POR ALOXANA.

Anderson y col., (14) observaron que en la diabetes inducida por aloxana en ratas, era significativamente mayor la ingesta de alimentos en el grupo experimental que en los animales control.

Ellos mismos en el exámen bioquímico proporcionaron que los niveles de amilasa estaban reducidos en las ratas diabéticas, y que el nivel de peroxidasa no estaba afectado por la diabetes inducida por aloxana.

Durante el exámen histológico observaron grandes vacuolas intracelulares que contenían lípidos en los acinis, pero no en las células del conducto del tejido parotídeo glandular y reportan numerosas figuras mitóticas en los animales diabéticos comparados con los animales control, los cambios glandulares y salivales no fueron características de un aumento en la función glandular sino que se relacionaba a una estimulación reducida de la glándula.

La diabetes por aloxana puede dar por resultado una alteración de la estimulación nerviosa por vía simpática o parasimpática sobre la parótida de la rata; esta hipótesis fué apoyada posteriormente por el efecto de la diabetes por aloxana sobre la composición de las proteínas en la saliva parotídea de la rata (26).

La diabetes inducida por estreptozotocina reduce los niveles de insulina así como eleva el glucagon en ratas wistar (12, 27).

Hand y Roy (27). provocaron diabetes en animales de 1 mes de edad por medio de una inyección I.V. de estreptozotocina, (65 mg/kg en 0.1 M de citrato buffer) en animales de edad aptos para procrear los cuales sirvieron como controles.

Esto dió por resultado un cambio rápido y marcado en el suero de los niveles de insulina, glucosa y triglicéridos, donde 24 hrs después de la estreptozotocina, la insulina serica había bajado un 23% de los valores del grupo control mientras que la glucosa y los triglicéridos se incrementaron de manera relativa a los controles, 10 meses después de la administración de Estreptozotocina, como se esperaba el crecimiento de los animales diabéticos estaba severamente retardado; ellos presentaban polifagia y polidipsia (12, 21, 24, 27).

Al observar al microscopio los especímenes de las ratas control se mostraba una marcada organización intralobular y arquitectura celular típica de la glándula parótida, las células acinares contenían un núcleo basalmente localizado y gránulos prominentes en el citoplasma apical los conductos intercalados eran relativamente grandes y las células que estaban más cerca de los acinis por lo general, tenían pequeños gránulos apicales densos, las células columnares de los conductos estriados, tenían citoplasma

pálido, núcleo localizado centralmente y numerosas mitocondrias en la parte basal.

24 hrs después de la inyección de Estreptozotocina, observaron pequeñas gotas de lípidos, las cuales aumentaron de tamaño y número con el tiempo grandes gotas de hasta 20um de diámetro. Los demás organelos se observaron desplazados y el citoplasma formó una banda delgada alrededor de la gota.

En los animales diabéticos mas viejos de 8 a 12 meses, las gotas de lípidos tendían a ser más pequeñas, también estaban presentes pequeñas gotas de lípidos en las células de los conductos estriados e intercalados un mes después de aplicada la Estreptozotocina (12).

Al comienzo del primer mes después de inyectada la Estreptozotocina, se observaron cristaloides en las células acinares con microscopio electrónico.

Los cristaloides eran parecidos en estructura a las que se describieron en las células acinares de animales normales y animales experimentales (23, 28). Los cristaloides por lo general tenían forma de bastones variando en longitud de 1um, hasta 10um. Ellos se incrementaron en frecuencia conforme avanzaban en edad los animales diabéticos, algunas células estaban casi llenas de cristaloides mientras que las células adyacentes contenían uno o ninguno.

Alteraciones significativas se observaron en la membrana basal alrededor del epitelio vascular y neural de la glándula parótida.

DIABETES EXPERIMENTAL E INSULINA

Frank y col. (18). demostraron que al administrar grandes dosis de insulina, las glándulas salivales de ratas diabéticas presentaban un crecimiento exagerado comparado con los controles normales, sugiriendo que la insulina puede tener un efecto directo estimulando el crecimiento corporal y el crecimiento de glándulas salivales y endócrinas.

Los efectos estimulantes de la insulina sobre la glándula y el crecimiento corporal pueden deberse al efecto sinérgico de la hormona del crecimiento (hipófisis) esto se explica en base a que la insulina, mantiene el metabolismo normal de los carbohidratos que indirectamente mantiene el metabolismo protéico y de grasas normal, el cual puede haber contribuido a promover el efecto de crecimiento sobre el cuerpo en general, así como de las glándulas salivales y endócrinas.

Smith (3) con el uso de técnicas de Radioinmunoensayo e inmunocitoquímica encontraron que las glándulas parótidas de ratas macho, poseen una población celular que contiene una sustancia parecida a la insulina la cual ha sido encontrada también en los humanos, esta sustancia es un péptido, por lo tanto el complejo de la glándula salival puede jugar un papel importante en la regulación de la homeostasis de la glucosa.

Anderson (14) demostró que el tratamiento con insulina de las ratas diabéticas da como resultado una restitución del crecimiento glandular, corporal, los niveles de DNA, RNA y de proteína total; así como la secreción enzimática en la glándula parótida volvieron a los valores del grupo control en los siguientes 7 días, estableciendo que la insulina en vivo tiene un papel importante en la regulación, crecimiento y función de la glándula parótida. Se ha demostrado que hay un efecto de la diabetes causada por aloxana y la insulina en vivo sobre el crecimiento y desarrollo de las glándulas salivales de la rata, y la insulina es una hormona que se necesita para la función normal de las glándulas (29).

Los efectos de la diabetes por aloxana sobre los niveles de amilasa y peroxidasa estaban invertidos, la insulina en vivo y las cuantificaciones de RNA provocó un incremento en la amilasa parotídea hasta los niveles control dentro de las siguientes 24 horas. Los niveles de peroxidasa disminuyeron en las ratas tratadas con insulina y se encontró que no fueron diferentes los valores en las ratas control a las 24 horas.

Las tres enzimas (amilasa, peroxidasa, y DNAasa) parecen tener origen en las células acinares de la glándula parótida de la rata, por lo tanto los resultados de este estudio sugieren que la insulina en vivo tiene un papel importante en la regulación de la síntesis de enzima secretoria en esta glándula (14).

Kumegawa y col. (30). reportaron que junto con la tiroxina y la prednisolona, la insulina in vivo estimula la síntesis de amilasa en la glándula parótida de los ratones, através de un efecto combinado sobre el mantenimiento de la síntesis de RNA y de Reticulo Endoplasmático Rugoso y la función del aparato de golgi, en contraste el aumento de los niveles de peroxidasa parotidea puede ser resultado por una disminución de la síntesis de tiroxina del animal diabético.

Chandra y col. (14). Reportaron que la tiroidectomía dio por resultado un aumento en la actividad de peroxidasa submandibular y que el tratamiento de los animales tiroidectomizados niveló la peroxidasa a los niveles de la rata control.

Anderson y col. (1) reportaron que la saliva parotidea que se colecta de ratas diabéticas muestran cambios desproporcionados en los niveles de proteínas cuando se comparan con la saliva control.

Con la administración de insulina demostraron una recuperación del crecimiento corporal, sobre el día 7 de tratamiento, el peso corporal aumento hasta un 24% comparado con las ratas diabéticas no tratadas, el peso de la glándula y las proteínas de la glándula parótida también aumentaron y por el día 28 no eran significativamente diferentes de aquellos animales control no diabéticos.

Con microscopía electrónica se observó acumulación de lípidos dentro de las células de los conductos intercalares

y las células acinares, además inclusiones cristaloides densas, se observaron con frecuencia en las células parenquimatosas de las glándulas de ratas diabéticas (2).

El tratamiento de las glándulas con insulina dió por resultado un retorno a una morfología glandular normal en la glándula parótida.

Por otra parte la presencia de lípidos dentro de las células acinares no indican lesión celular irreversible. La insulina en vivo lleva a una disminución en el tamaño y número de las vacuolas lipídicas, así como a una inversión por los efectos de la diabetes por aloxana sobre los niveles de enzimas secretorias.

OBJETIVO.

Fué analizar el efecto de la insulina sobre la histomorfología del parénquima de las glándulas salivales mayores (Parótida, submaxilar y sublingual), posterior a la administración de aloxana.

M A T E R I A L E S

TRABAJO EXPERIMENTAL

- 6 Ratas de cepa Long-Evans.
- Guantes, Cubrebocas.
- Sustancia Diabetógena (Aloxana).
- Insulina de acción rápida.
- Estuche de disección.

TRABAJO DE LABORATORIO

- Histokinette.
- Parafina.
- Microtómo.
- Portaobjetos y Cubreobjetos.
- Tina de Flotación.
- Tren de Tinción de Hematoxilina y Eosina.

OBTENCION DE RESULTADOS

- Microscopio de campo claro.
- Axiophot.
- Hojas de tabulación.
- Computadoras.

M E T O D O L O G I A :

Se utilizaron 6 ratas machos cepa Long-Evans con peso de 300-350 gr. Durante la fase experimental las ratas se tuvieron en condiciones controladas de temperatura (20 C). Su alimentación fué a base de purina y agua ad libitum.

METODO:

Los animales se dividieron en dos grupos:

Grupo 1: Comparación Aloxana una dosis. (3 ratas)

Grupo 2: Experimental Aloxana mas insulina. (3 ratas)

DOSIS:

La administración de aloxana para todos los animales en experimentación fué una dosis de 120 mg/kg de peso disuelta en solución de cloruro de sodio 0.15Molar (i.v.) según trabajos del Dr Méndez (31).

La administración de insulina fué por vía subcutánea de 0.15 UI. de Insulina por cada 100 gr de peso a las 48, 72 y 96 hrs. después de haber sido administrada la aloxana.

Los animales fueron sacrificados dos horas después de la última administración, se seccionaron las cabezas, se diseccionaron cada una de las glándulas parótidas, submaxilares y sublinguales se colocaron en solución neutra fijadora de formalina al 10%. Los especímenes se procesaron de manera rutinaria para su inclusión en parafina, se realizaron cortes a 5 micra en forma seriada y se llevaron a cabo tinciones con Hematoxilina y Eosina.

Las observaciones se hicieron bajo microscopio de campo claro y los hallazgos se registraron en hojas de tabulación.

RESULTADOS DEL TRATAMIENTO CON ALOXANA

GLANDULA PAROTIDA:

En los acini de la glándula parótida tratada con aloxana encontramos vacuolización acinar leve, (1) con pérdida severa del patrón acinar, los núcleos se encontraban hipercromáticos y aumentados en número y tamaño

(2)

El citoplasma presentó gránulos basófilos gruesos (3)

Los conductos intercalares y estriados presentaron disrupción de células ductuales y disposición irregular de las mismas (4), los núcleos se encontraban con una marcada polarización hacia el lumen del conducto y su citoplasma se observó con una vacuolización leve (5). Foto No. 1.

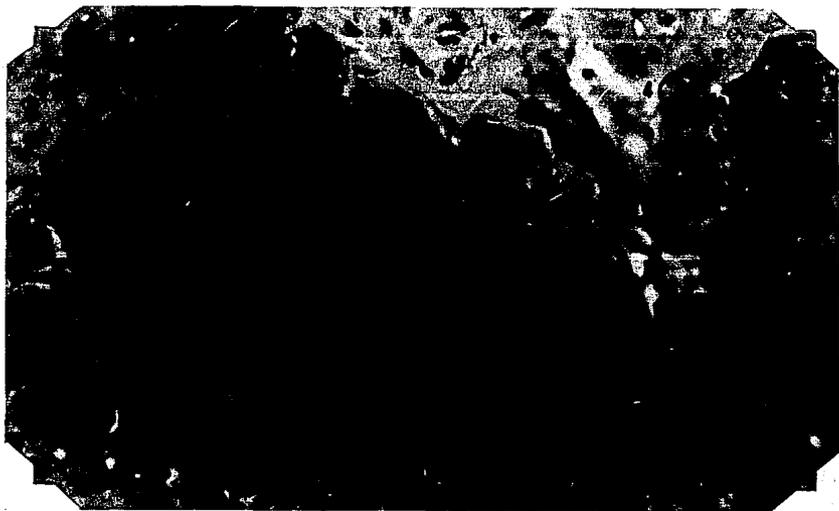


Foto No.1 : Glándula Parótida tratada con aloxana a un aumento de 40 X.

GLANDULA SUBMAXILAR:

Presentó pérdida severa del patrón acinar observándose una vacuolización levemente marcada (6) límites celulares imprecisos los núcleos se encontraron gigantes e hipercromáticos y polarizados hacia la porción apical (7).

A nivel ductual se observó una pérdida leve de límites celulares y de lumen (8). Foto No. 2.

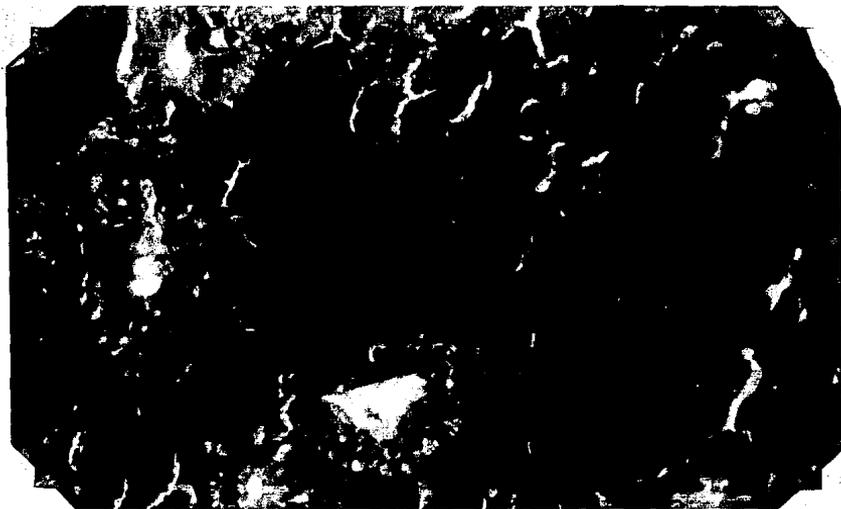


Foto No. 2: Glándula submaxilar tratada con aloxana a un aumento de 40 X.

GLANDULA SUBLINGUAL:

Se observó pérdida del patrón acinar y límites celulares imprecisos (9), con marcada hipertrofia y una vacuolización severa (10) los núcleos se encontraban hiper Cromáticos y desplazados hacia el centro de los acinis mucosos (11); y el citoplasma presentó gránulos basófilos finos.

A nivel ductual se observó una severa vacuolización con pérdida y disrupción de límites celulares (12), los núcleos se encontraban desplazados hacia la zona apical. Foto No. 3.

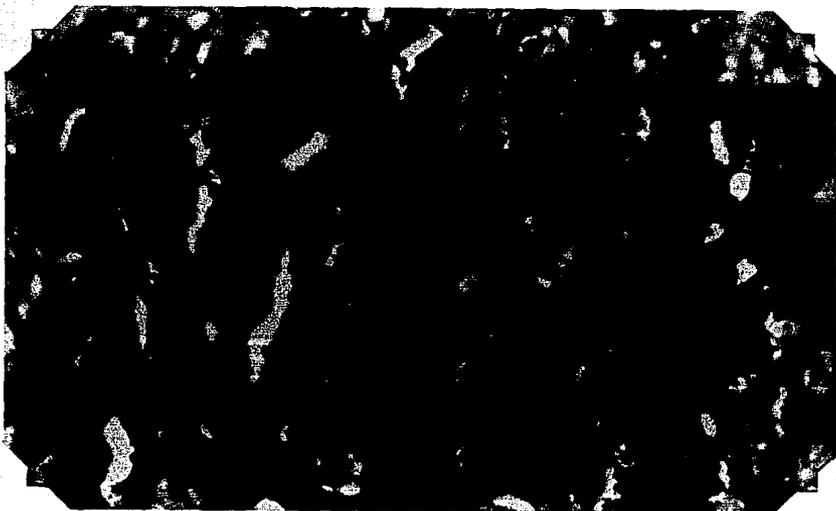


Foto No. 3 : Glándula sublingual tratada con aloxana.
a un aumento de 40 X.

GLANDULA SUBLINGUAL:

Se observó pérdida del patrón acinar y límites celulares imprecisos (9), con marcada hipertrofia y una vacuolización severa (10) los núcleos se encontraban hiper cromáticos y desplazados hacia el centro de los acinis mucosos (11); y el citoplasma presentó gránulos basófilos finos.

A nivel ductual se observó una severa vacuolización con pérdida y disrupción de límites celulares (12), los núcleos se encontraban desplazados hacia la zona apical. Foto No. 3.



Foto No. 3 : Glándula sublingual tratada con aloxana.
a un aumento de 40 X.

RESULTADOS DEL TRATAMIENTO CON ALOXANA MAS INSULINA

GLANDULA PAROTIDA:

A nivel acinar se observó vacuolización severa del citoplasma (13), el patrón acinar sufrió pocas alteraciones ya que los límites celulares se mantuvieron sin cambios evidentes.

El núcleo se observó afectado en forma variable algunos eran hipercromáticos, otros eran gigantes y en algunas áreas se encontraban desplazados a la periferia de la célula (14)

Foto No 4.

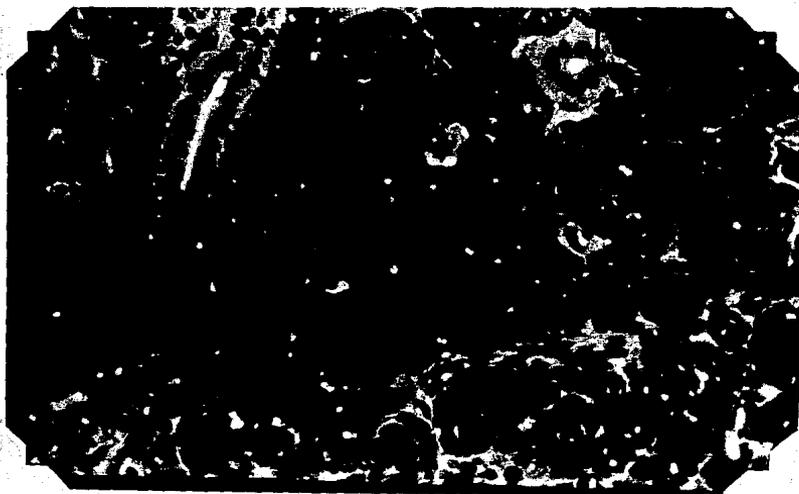


Foto No.4 : Glándula Parótida tratada con aloxana más insulina a un aumento de 40 X.

El citoplasma presentó un aspecto granular fino, basófilo y en algunas áreas eosinófilos. Se observó la presencia de células de tamaño mayor a las acinares, con límites bien definidos (15), citoplasma fuertemente basófilo con el núcleo poco evidente y vacuolización citoplásmica (16).
Foto No 5.



Foto No.5 : Glándula Parótida tratada con aloxana más insulina a un aumento de 20 X.

Los conductos estriados se encontraban levemente afectados presentando vacuolización leve (17) , núcleos hiper Cromáticos, algunos con nucleolo prominente (18) , pérdida moderada de las estriaciones, límites celulares imprecisos (19) , presencia de material basófilo filante predominando células columnares y cúbicas altas (20).Foto No 6.

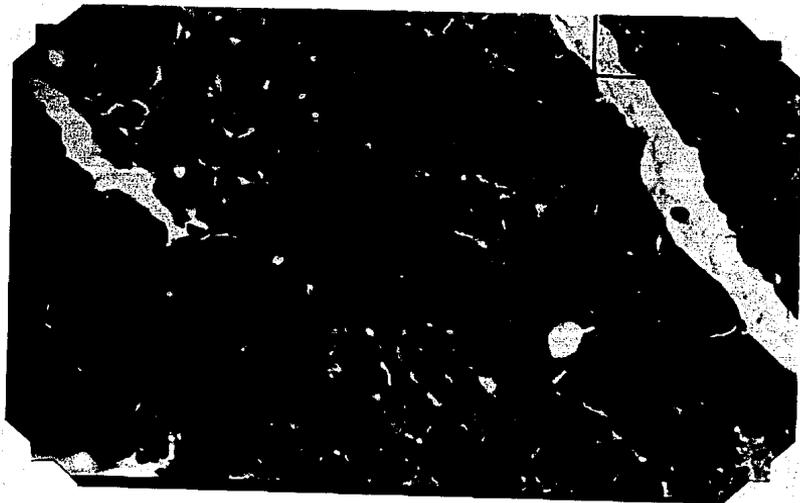


Foto No 6 : Glándula Parótida tratada con aloxana más insulina a un aumento de 40 X.

GLANDULA SUBMAXILAR:

El patrón acinar se encontraba moderadamente hipertrófico y presentaba una marcada vacuolización (21) que varió desde grandes vacuolizaciones hasta pequeñas, que sólo se observaron a mayor aumento. Se observaron numerosos núcleos con una marcada polaridad basal (22). Foto No 7.

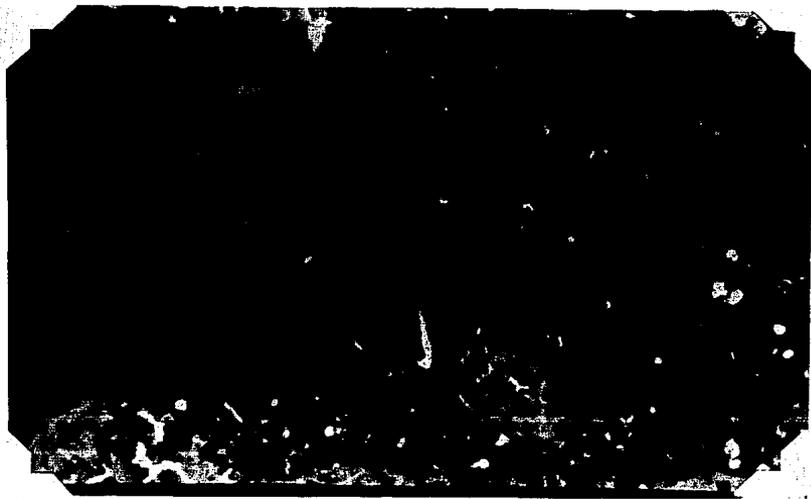


Foto No 7 : Glándula Submaxilar tratada con aloxana más insulina a un aumento de 40 X.

A nivel ductual se observó pérdida de los límites celulares (23), desaparición de los gránulos normales con formación de masas eosinófilas pálidas y homogéneas, vacuolización leve (24), en un caso se observó contenido celular en la luz de un conducto, algunas de ellas de aspecto epitelial. Foto No.8

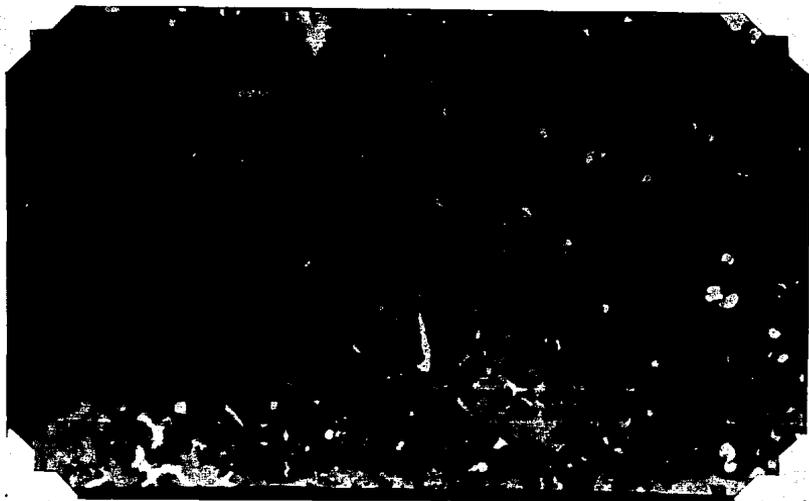


Foto No 8 : Glándula Submaxilar tratada con aloxana más insulina a un aumento de 40 X.

GLANDULA SUBLINGUAL :

Las células acinares no revelaron alteraciones citológicas evidentes (25) . Los conductos estriados presentaron disrupción y fragmentación celular (26), pérdida de lumen moderado, polaridad nuclear hacia el lumen (27) y presencia de material anfófilo intraductual (28) .Foto No. 9 y 10.

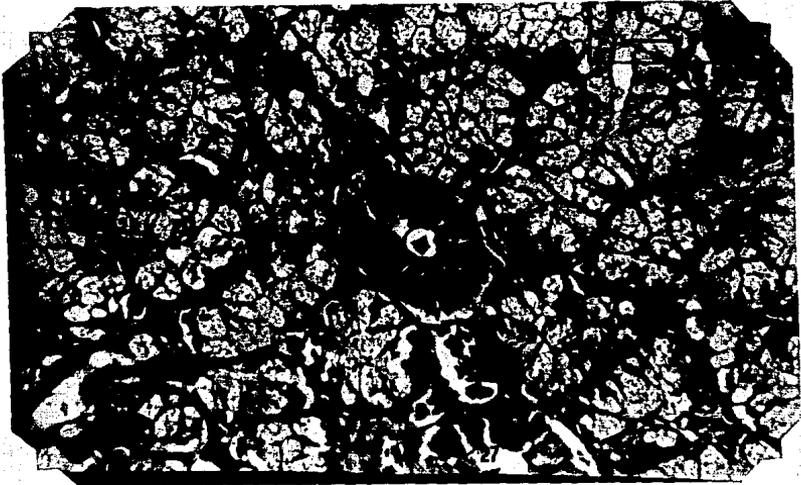


Foto No. 9 : Glándula sublingual tratada con aloxana más insulina a un aumento de 40 X.

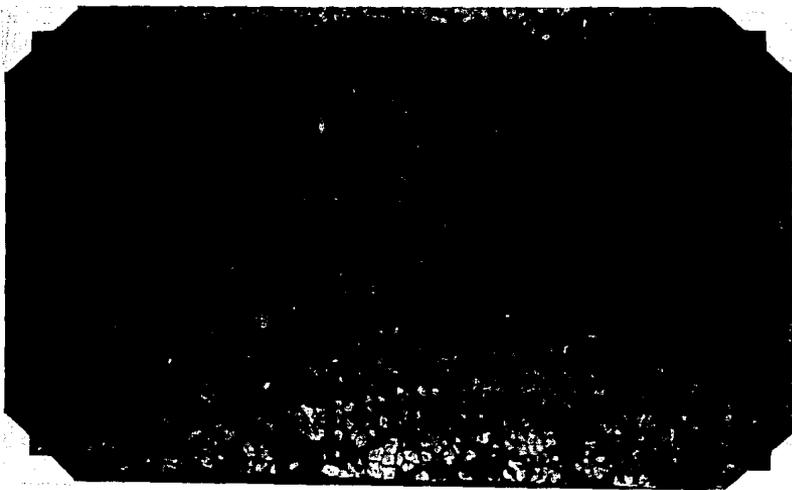


Foto No.10 : Glándula Sublingual tratada con aloxana
más insulina a un aumento de 10 X.

TABLA DE CONCENTRACION DE DATOS

PAROTIDAS DE RATAS TRATADAS CON INSULINA

Parámetros : 0=nulo 1=leve 2=mederado 3=severo

ACINI	M1P	M2P	M3P	M4P	M5P	M6P	PROM%
Pérdida del patrón cel	2	2	1	2	2	3	2.0
Vacuolización acinar	2	3	3	1	3	2	2.33
Cito. C/basófilo	2	2	2	3	2	2	2.16
Pérdida de límites cels	1	3	1	2	1	1	1.5
Gránulos basófilos gsos	1	1	2	1	0	0	0.83
Hipertrofia	1	0	1	1	2	2	0.33
Núcleos desplazados	2	1	1	2	2	2	1.66
Núcleos gigantes	1	1	2	3	2	2	1.83
Núcleos hiper cromáticos	1	2	1	2	1	1	1.33
Nucleolo prominente	2	3	2	2	1	2	2.0
Cromatina condensada	2	2	0	3	2	2	1.83
Cromatina dispersa	1	2	2	1	0	1	1.16

CONDUCTOS INTERCALARES

Vacuolización	0	0	0	0	0	0	0.00
Disposición irregular	0	1	0	0	0	0	0.16
Dispersión de cels.ducts	0	1	0	0	0	0	0.16
Gránulos citoplasmáticos	1	0	0	0	0	0	0.16
Núcleo Vesicular	0	0	0	0	0	0	0.00
Nucleolo prominente	0	0	0	0	0	0	0.00

CONDUCTOS ESTRIADOS

Disposición irregular	2	1	1	1	0	3	1.33
Vacuolización	1	1	0	0	0	1	0.5
Disrupción de cels.duct	0	2	0	0	0	0	0.33
Núcleo vesiculado	1	0	0	3	0	1	1.0
Nucleolo prominente	1	1	1	1	1	0	1.0
Coágulo anfófilo	0	2	1	2	0	0	0.83

CONDUCTO EXCRETOR

Cels. columnares	0	0	0	1	0	0	0.16
Cels. cúbicas	1	0	0	1	0	0	0.33
Cels. cúbicas altas	2	0	0	0	0	0	0.33
Vacuolización	1	0	0	0	0	0	0.16
Núcleo vesicular	1	0	0	0	0	0	0.16
Contenido ductual	1	0	0	2	0	0	0.5
Disrupción de cels.duct	0	0	0	2	0	0	0.33

CONDUCTOS INTRALOBULARES

	M1P	M2P	M3P	M4P	M5P	M6P	PROM%
Pérdida de lumen	2	0	0	0	0	0	0.33
Vacuolización	1	1	0	0	0	0	0.33
Disposición irregular	1	1	0	0	1	0	0.5
Dispersión de cels.ducts	0	0	0	0	2	0	0.33
Gránulos citoplásmicos	0	1	0	0	0	0	0.16
Núcleo vesicular	1	2	0	0	1	0	0.66
Núcleo prominente	1	2	0	0	0	0	0.5
Cont. de luz anfófilo	2	3	0	0	1	0	1.00

TABLA DE CONCENTRACION DE DATOS

GLANDULAS SUBMAXILARES DE RATAS TRATADAS CON INSULINA

Parámetros: 0=nulo 1=leve 2=moderado 3=severo

ACINI	M1SM	M2SM	M3SM	M4SM	M5SM	M6SM	PROM%
Pérdida de patrón acinar	2	1	2	2	3	2	2.00
Vacuolización	2	1	2	3	2	3	2.16
Cit. C/pred. basófilo	0	1	1	1	2	2	1.16
Pérdida de lim.cels.	1	0	2	1	1	2	1.16
Gránulos basófilos gsos.	0	0	1	0	3	1	0.83
Hipertrofia	1	0	1	0	2	2	1.00
Núcleos desplazados	1	1	2	2	1	2	1.50
Núcleos gigantes	1	0	2	1	1	1	1.00
Núcleos hipercromáticos	1	0	1	1	0	2	0.83
Nucleolo prominente	1	0	1	1	0	1	0.66
Cromatina condensada	2	1	1	2	1	2	1.66
Cromatina dispersa.	2	0	1	1	0	1	0.83

CONDUCTOS INTERCALARES

Pérdida de lumen	1	2	1	2	3	2	1.83
Vacuolización	1	1	0	2	2	0	1.00
Disp.irregular de cels.	2	1	1	1	3	1	1.50
Disrupción de cels.ducts	1	0	1	1	1	2	1.00
Núcleo vesicular.	1	1	1	1	1	2	0.33
Nucleolo prominente	2	2	1	1	0	1	1.16
Contenido de luz anfófilo	2	1	2	2	3	2	2.00

CONDUCTOS ESTRIADOS

	M1SM	M2SM	M3SM	M4SM	M5SM	M6SM	PROM%
Disposición irregular	1	1	1	1	3	2	1.50
Vacuolización	2	2	2	1	2	1	1.66
Disrupción de cels.ducts	0	0	2	0	2	2	1.00
Núcleo vesiculado	1	1	2	0	1	2	1.16
Núcleo prominente	2	1	2	1	1	1	1.33
Coágulo anfófilo	1	2	2	2	1	2	1.66

CONDUCTOS INTRALOBULARES

	M1SM	M2SM	M3SM	M4SM	M5SM	M6SM	PROM%
Pérdida de lumen	0	1	1	2	0	1	0.83
Vacuolización	0	0	0	0	0	1	0.16
Disposición irregular	0	1	1	1	0	2	0.83
Disperción de cels.ducts	0	1	0	2	0	2	0.83
Gránulos citoplásmicos	0	1	1	0	0	1	0.5
Núcleo vesicular	0	0	0	1	0	1	0.33
Núcleo prominente	0	1	2	0	0	0	0.5
Cont. dela luz anfófilo	0	2	2	2	0	2	1.33

TABLA DE CONCENTRACION DE DATOS

GLANDULAS SUBLINGUALES DE RATAS TRATADAS CON INSULINA

Parámetros : 0=nulo 1=leve 2=moderado 3=severo

ACINI	M1SL	M2SL	M3SL	M4SL	M6SL	PROM%
Pérdida de patrón acinar	1	0	1	0	2	0.8
Vacuolización	1	0	1	1	2	1.0
Cito c/ pred. basófilo	0	0	0	0	1	0.2
Pérdida de limts. cels.	0	0	1	0	2	0.6
Gránulos basofs.gsos.	1	0	0	0	1	0.4
Hipertrofia	0	0	0	0	1	0.2
Núcleos desplazados	1	1	3	3	2	2.0
Núcleos gigantes	1	0	2	1	2	1.2
Núcleos hiperromático	1	0	1	0	1	0.6
Núcleo prominente	2	1	1	0	2	1.2
Cromatina condensada	1	0	1	0	1	0.6
Cromatina dispersa	2	1	2	1	2	1.6

CONDUCTOS ESTRIADOS

	M1SL	M2SL	M3SL	M4SL	M6SL	PROM%
Disposición irregular	1	0	1	2	2	1.2
Vacuolización marcada	0	1	0	0	1	0.4
Disrupción de cels. ducts.	0	1	0	0	0	0.2
Núcleo vesiculado	1	0	0	0	1	0.4
Nucleolo prominente	2	1	1	0	2	1.0
Coágulo anfófilo	2	2	1	0	1	1.0

D I S C U S I O N

Ha sido demostrado por Anderson y col. (14) el efecto de la diabetes por aloxana y de la insulina en el desarrollo y crecimiento de las glándulas salivales de rata, en las cuales ellos reportaron que la insulina puede ser requerida para el funcionamiento normal de la glándula submaxilar específicamente, Palla (32) menciona que los niveles de amilasa en la glándula parótida de la rata diabética se observa reducida en la diabetes por aloxana.

Leyva y col. (33) en un estudio previo a este indican que las alteraciones morfológicas de la glándula parótida en ratas tratadas con aloxana parece que son debidas a un efecto directo de ella, esto apoyado en que al las 96 hrs. de administrado el fármaco, el daño que se reporta en páncreas es similar al que ellos encontraron en parótida, siendo probablemente un efecto tóxico debido quizá a que como lo demuestra Smith (3) las glándulas parótidas tienen una población celular con sustancia parecida a la insulina donde ellos establecen que la glándula salival puede jugar un papel importante en el metabolismo de la glucosa; Acosta del Río (34) quien estudio el efecto de la aloxana sobre glándulas salivales y el páncreas, describe que no unicamente se afectan las células beta de los islotes pancreáticos sino que también las células acinares, y que los islotes sufrieron un fenómeno hiperplásico y no

degenerativo y además que las tres glándulas salivales sufrieron alteraciones desde leves hasta severas nosotros en la revisión de tres glándulas salivales mayores tratadas con aloxana para comparar el efecto de la insulina obtuvimos que existía hipertrofia de acinis serosos, núcleos gigantes, vacuolización severa y el epitelio ductual tuvo predominio de células cúbicas altas y columnares en los cual nuestros resultados no concuerdan con leyva y col. (33) debido a que nosotros no pudimos observar vacuolas dentro de las células ductuales en las cuales se observaría la célula cubica baja.

La glándula más afectada y que hasta el momento de escribir este trabajo no ha sido reportado fué la glándula sublingual, que mostró alteraciones severas al ser tratadas con aloxana donde hubo pérdida del patrón acinar y alteraciones severas a nivel de los ductos.

Contrario a lo reportado por Benitez Bibriesca (12) que dice que algunos acini sufren necrosis, nosotros no observamos en ninguna de las glándulas este fenómeno.

Cuando se administró insulina a la rata a la cual previamente le habíamos aplicado la dosis de aloxana, lo mas evidente fue observar que la vacuolización acinar no fué uniforme en cuanto a tamaño como presentó el grupo de aloxana, si no que fue un patrón vacuolar desde pequeñísimas vacuolas hasta vacuolas grandes casi iguales a las de las ratas tratadas con aloxana. Este dato concuerda con el estudio de Anderson (14) en que refiere que la

insulina provoca una disminución en el tamaño y número de las vacuolas lipídicas, así como un efecto inverso sobre los niveles de enzimas secretorias cuando se administra insulina, este hallazgo no lo podemos discutir ya que nosotros no lo analizamos. Más sin embargo podemos hipotetizar que el tratamiento con insulina provoca un retorno a la morfología glandular normal en las glándulas submaxilar y sublingual sin poder decir en este momento si detenga o revierta el daño causado por la aloxana. Este fenómeno no lo observamos en la glándula parótida fenómeno opuesto por lo reportado por Anderson (14).

C O N C L U S I O N E S

- 1.- La glándula submaxilar y sublingual del grupo aloxana mostró un daño mayor en acini y conductos.
- 2.- La glándula parótida del grupo insulina presentó igual cantidad de daño entre los conductos y los acini observándose mayor daño que la aloxana.
- 3.- En general al comparar al grupo aloxana con el grupo insulina el daño de las glándulas submaxilar y sublingual fué menor en el grupo insulina.
- 4.- De las tres glándulas mayores estudiadas (parótidas, submaxilar y sublingual) la más afectada por aloxana fué la sublingual y con el tratamiento de insulina el patrón glandular fué semejante a la glándula de características normales.
- 5.- Se sugiere analizar a mayor profundidad el efecto de estos fármacos en la histomorfología de la glándula sublingual, ya que fué la glándula con cambios más severos y que no se encontró reportada en la literatura.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Stefan, Y.; Orci L.; Malaisse-Lagae, f.; Perrelet, A.; Patel, Y.; and Unger, R.H. Quantitation of endocrine cell content in the pancreas of nondiabetic and diabetic humans. *Diabetes*; 1982, 31, 694-700.
- 2.- Rahier, J.; Goebbels, R.M.; and Henquin, J.C. Cellular composition of the human diabetic pancreas. *Diabetologia*; 1983, 24, 366-371.
- 3.- Phillip H Smith and D.G. Pael. Immunochemical Studies of the insulin-like material in the parotid gland of rats. *Departament of anatomy 1983 pag 661-666.*
- 4.- Shimazu, T., and Ishikawa, K. Modulation by the hypothalamus of glucagon and insulin secretion in rabbits; studies with electrical and chemical stimulations. *Endocrinology*, 1981, 108, 605-611.
- 5.- Symposium. (various authors.) International symposium on human insulin. (Karam, J.H., and Etwiler, D.D., eds.) *Diabetes Care*, 1983 6, 1-68.
- 6.- Shoelson, S.; Haneda, M.; Blix, P.; Nanjo, A.; Sanke, T.; Inouye, K.; Steiner, D.; Rubenstein, A.; and Tager, H. Three mutant insulins in man. *Nature*, 1983, 302, 540-543.
- 7.- Gotthard Schettler. *Medicina Interna II.*
- 8.- Lundsgaard, E. On mode of action of insulin, *ups. Lakfor. Forh.*, 1939, 45, 143-152.
- 9.- Levine, R.; Goldstein, M.; Klein, S.; and Huddleston, B. The action of insulin on the distribution of galactose in eviscerated nephrectomized dogs. *J. Biol. Chem.*, 1949, 179, 985-986.
- 10.- Park, C.R.; Bornstein, J.; and Post, R.L. Effect of insulin on free glucose content of rat diaphragm in vitro. *Am. J. Physiol.*, 1955, 182, 12-16.
- 11.- Banting, F.G.; Best C.H.; Collip Campbell W.R.; and Fletcher A.A. Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus. *Can Med Assoc J.*, 1922, 12, 141-146.

- 12.- Benitez B.L. Mourell M. Funcion de las Glandulas Submaxilares y las celulas microgranulosas en la diabetes experimental por Estreptozotocina en la rata. Arch. Invest. Med. 1983, 379-400.
- 13.- Bruvetiste R. Bixler D. Periodontal Disease in diabetics J Periodontol 1967; 38:271.
- 14.- Anderson L.C. and Johnson D.A. Effects of Aloxan Diabetes on rat parotid gland and saliva. Archs oral biol. 1981; 725-729.
- 15.- Conner S. Iranpour P. Alteration in Parotid salivary flow in diabetes mellitus. 1990; 55-58.
- 16.- Chandra T.R. Das, and A.G. Datta. Role of thyroid gland on the peroxidase and iodinating enzymes of submaxillary gland. Eur J. Biochem. 72:259-263, 1977.
- 17.- Davidson D. Leibel BS. Asymptomatic Parotid Gland Enlargement In Diabetes Mellitus. Ann Int. Med. 1969; 70:30.
- 18.- Frank t.y. Hsien s.l. Role of insulin in body Growth and the Growth of salivary and Endocrine Glands in Rats. J. Physiology. 1969:539-567.
- 19.- Golub c.m. Garant p.r. Inflammatory Changes in Gingival Collagen in the Aloxan Diabetic Rats. J Periodont. Res 1972; 12:402-28.
- 20.- Jacobs, II R. Proc. Soc. Exp. Biolo and Med 1937., 37:407.
- 21.- Shinohara TM. Okura KY, Mori M, Kakudo H. Effect of streptozotocin diabetes in plaque susceptible rats. J Dent Res 1986; 65:49-52.
- 22.- Martin G. Golner. and Georg Gomori. American Diabetes Association. Chicago. 19944, 87-110.
- 23.- Karam, J.H.; Lewitt, P.A.; Young, C.W.; Nowlain, R.E. Frankel, B.J.; Fujiya., H.; Freedman, Z.R.; and Grodsky, G.M. Insulinopenic diabetes after rodenticide (vacor) ingestion. Diabetes, 1980, 29, 971-978.
- 24.- Uchigata. Y.; Yamamoto; H nagai, H.; and Okamoto, H. Effect of poly(ADP-ribose) synthetase inhibitor administration to rats before and after injection of aloxan and streptozotocin on islet proinsulin shynthesis. Diabetes, 1983, 32, 316-318.

- 25.- Colca J.R.; Kotagel N.; Brooks C.L.; Lacy P.E.; Landt M.; and MC Daniel M.L. Alloxan Inhibition of Ca and calmodulin-dependent protein kinase activity in pancreatic islets. *J. Biol. Chem.*; 1983, 258, 7260-7263.
- 26.- Conner S. Iranpour P. Alteration in Parotid aloxan Diabetes Rats. *Oral Surg.* 1970;70:31.
- 27.- Arthur R.H. and Roy E.W. Effects of Streptozotocin-induced Diabetes on The Rat Parotid Gland. *Academy of pathology.* 1984;429- 440.
- 28.- Hougaard M, Nielsen H. Localization and biosynthesis of polyamines in insulin producing cells. *Biochem J* 1986;238:46.
- 29.- Anderson L.C. and B.L. Shapiro. The Effect of Aloxan Diabetes Submandibular gland. *Archs oral biol.* 24:343-345. 1979.
- 30.- Kumegawa, M., T. Takuma, S. Hosoda, and M. Nakashimi. Effects of hormones on differentiation of parotid glands of suckling mice in vitro. *Biochim. Biophys. Acta* 554:53-61, 1978.
- 31.- Méndez JD. Poliaminas. En: *Bioquímica e inmunología.* Diaz ZJD Hicks JJ Eds. Facultad de Medicina, UNAM. México. 1989:365-85.
- 32.- Palla, J.C. Ben Abdeljlil, and P. Desnuelle. Comparative study of control of amylase biosynthesis in rat pancrea and parotid glands. *Biochim. Biophys. Acta* 158:563-565, 1967.
- 33.- Leyva H.E. Ledesma M.C. Donohue C.A. y Méndez J.D. Histomorfología de parótida en ratas con diabetes inducida con aloxana. *Div de Investigación Fac de Odontología UNAM. Resumen III Congreso Nacional De Anatomía 1990 Villahermosa Tab.*
- 34.- Acosta del Río E. Histomorfología de glándulas salivales y páncreas en ratas tratadas con aloxana. *División de investigación Facultad de Odontología UNAM. 1991. México Distrito Federal.*