

149
2ej.

RECIBIDA EN
SECRETARIA
1994
FEB 16



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

"EFECTO DE ISOPROTERENOL SOBRE LA
ACTIVIDAD DE ARGINASA DE GLANDULAS
SALIVALES DE RATA CON DIABETES INDUCIDA"

T E S I S
QUE PRESENTA:

GUSTAVO HERNANDEZ MARIN.

Para obtener el título de:
CIRUJANO DENTISTA

Dirigió:

DR. JOSE D. MENDEZ.

V. B.

Feb. 16, 94



MEXICO, D.F.

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

A mis padres:

Sra. Margarita Marín de Hdz.
Sr. José Hernández Rmz.
Por haberme dado la vida.

A mis hermanos.

A mis tíos:

Sra. Amelia Marín de Nava.
Sr. Raúl Nava Chávez.

Sra. Socorro Caballero de Marín.
Sr. A. Luis Marín Téllez.

Al Dr. José D. Méndez.
Por haberme instruido desinteresadamente,
mis infinitas gracias.

A la Dra. Hilda Jiménez Noricumbo.
Por su entrañable afecto,
su amistad y su compañía.

Al Act. Víctor Servín Bravo.
Por su eterna amistad.

Al Dr. Raúl Díaz Checa.
Por saber ser amigo.

A la Dra. Shantal Rodríguez Ojeda.
Una manera de ser.

Al Sr. Juan Carlos Meza Mosqueda.

In memoriam
Guillermina Marín.
Donde quiera que se
encuentre.

A todos mis profesores y compañeros que compartieron
conmigo la carrera, de todo corazón.

A la facultad de odontología
porque con este trabajo obtuve
grandes satisfacciones.

Pero sobre todo a
Dios porque sin el no
hubiera llegado
hasta aquí.

**Este trabajo se realizó en el
Laboratorio de Bioquímica de la
División de Posgrado e
Investigación, de la facultad de
Odontología de la UNAM bajo la
dirección del Dr. José D. Méndez.**

INDICE

1.0	Introducción	1
2.0	Clasificación de glándulas salivales	2
2.1	Secreción salival	3
3.0	Composición de la saliva	7
4.0	Regulación de la secreción salival	12
5.0	Alteraciones patológicas	15
5.1	Diabetes mellitus	15
5.2	Xerostomia	16
5.3	Síndrome de Sjögren	17
5.4	Síndrome de Mikulicz	18
5.5	Glándulas salivales	19
5.6	Carcinoma anaplásico	20
5.7	Adenoma pleomórfico	20
5.8	Carcinoma de células acinicas	21
5.9	Sialadenitis	22
6.0	Sialogogos	22
6.1	Pilocarpina	22
6.2	Isoproterenol	23
7.0	Pollaminas	24
7.1	Generalidades	25
8.0	Arginasa en saliva	27
9.0	Regulación de proteínas salivales	27

10.0	Sialogogos y síntesis de poliaminas en parótida	28
11.0	Triacilglicéridos	31
12.0	Biosíntesis de Lípidos	31
13.0	Hipótesis	32
14.0	Objetivo	32
15.0	Materiales	32
16.0	Métodos	34
16.1	Determinación de glucosa en suero sanguíneo	34
16.2	Determinación de triacilglicéridos	38
16.3	Determinación de arginasa	41
16.4	Determinación de proteínas	44
16.5	Determinación de peso seco	47
17.0	Diagrama de procesamiento	50
18.0	Resultados	51
18.1	Inducción de diabetes	51
18.2	Pérdida de peso corporal	51
18.3	Peso de glándulas	52
18.4	Concentraciones de proteínas	52
18.5	Determinación de peso seco	54
18.6	Actividad de arginasa	56
19.0	Tablas y gráficas	58
20.0	Discusión	67

21.0 Conclusiones	70
22.0 Referencias	71

RESUMEN.

Se estudio el efecto de isoproterenol sobre la actividad de arginasa en glándulas salivales de ratas normales (parótida, submaxilar, sublingual y von Ebner) y diabéticas (120mg/kg de aloxana i.v.).

Se formaron 5 grupos de ratas de la cepa Long Evans (5 machos adultos por grupo). I. Control 0.154 M NaCl, II. Diabético control 0.154 M NaCl 96 horas después de administración de aloxana. III. Diabético 0.154 M NaCl 192 horas después de aloxana. IV. Diabética 192 horas mas isoproterenol (30 mg/Kg de peso) sacrificada a los 20 minutos. V. Diabética 192 horas mas isoproterenol (30 mg/Kg de peso) sacrificadas a las 6 horas.

Se determino glucosa, triacilglicéridos, proteínas, peso seco y actividad de arginasa.

La concentración de aloxana de 120 mg./kg. de peso fue capaz de inducir diabetes.

La actividad de arginasa fue afectada en todas las glándulas.

La glándula sublingual presento un aumento en la actividad de arginasa a los 20 minutos despues de la administración del isoproterenol. Mientras que a las 6 horas la actividad de la enzima presento un ligero incremento en la glándula de von Ebner.

INTRODUCCION.

Las glándulas salivales humanas están compuestas por glándulas merocrinas. Sus conductos se abren dentro de la cavidad oral. Hay tres pares de glándulas mayores las cuales están clasificadas como glándulas salivales mayores o glándulas salivales propiamente dichas, estas son las parótidas, las submaxilares y las sublinguales. Además hay numerosas pequeñas glándulas ampliamente distribuidas en la mucosa y submucosa de la cavidad oral. Estas son conocidas como las glándulas salivales menores, Estas realizan muchas funciones de las cuales la más extensamente estudiada es la producción de saliva. La saliva es el producto secretado de las glándulas y realiza muchas otras funciones como asistir en la masticación y deglución de la comida y en la digestión de ciertos componentes del alimento.

CLASIFICACION DE GLANDULAS SALIVALES. (4)

Las glándulas salivales del hombre pueden ser clasificadas de tres maneras:

- I.- De acuerdo a la localización de las glándulas. Glándulas del vestíbulo y glándulas de la cavidad oral propiamente dicha.
- II.- De acuerdo a su tamaño, glándulas mayores y glándulas menores.
- III.- De acuerdo a las sustancias que las células excretoras elaboran, estas son glándulas mucosas, serosas y mixtas.

GLANDULA	INERVACION PARASIMPATICA POR LA VIA DEL	TIPO HISTOLOGICO	PORCENTAJE DE LA SECRECION EN EL HOMBRE (1.5 l/día).
Parótida	Glossofaríngeo	Seroso	25
Submaxilar	Facial	Mixto	70
Sublingual	Facial	Mucoso	5

Las células secretoras de las glándulas mucosas elaboran una secreción viscosa que contiene mucina. La porción secretada de las glándulas serosas contiene una secreción líquida que contiene albúmina. Finalmente las glándulas mixtas con células productoras de porciones serosas y moco. (1)

Una glándula de suma importancia es la glándula de von Ebner, que se encuentra en la base de la lengua, y es un conjunto de glándulas que producen

amilasa y lipasa y degradan triacilglicéridos para ser más fácil su emulsificación en el estómago con la participación de lipasa pancreática. (2)

El pH de la saliva se encuentra entre 6.0 y 7.4 margen que permite la acción óptima de la amilasa.

SECRECIÓN SALIVAL.

Tiene lugar en dos etapas:

- La primera que incluye los acinos.
- La segunda los conductos salivales. figura 1 (4).

Los acinos secretan la llamada secreción primaria, que contiene a las enzimas salivales en una solución de composición diferente a la del plasma, sin embargo la secreción primaria fluye siguiendo los conductos y tienen lugar dos procesos de transporte activo que modifican netamente la composición iónica de la saliva. En primer lugar los iones de sodio son reabsorbidos y los iones de potasio son secretados activamente hacia los ductos salivales en recambio por el sodio, por lo tanto la concentración sódica de la saliva disminuye como la de los cloruros, mientras que aumenta la del potasio. En segundo lugar se secretan iones de bicarbonato hacia los conductos, este proceso es catalizado por la anhidrasa carbónica que se encuentra en las células epiteliales de los conductos. Durante la secreción de iones de bicarbonato se absorben en forma pasiva todavía más iones de cloruro a cambio de iones de bicarbonato.

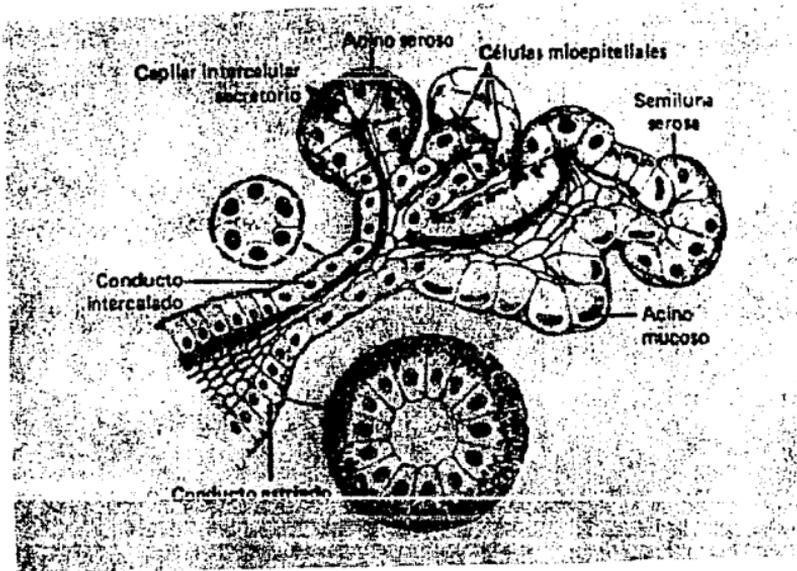


Figura 1. ELEMENTOS DE LA SECRECION SALIVAL.

En presencia de una secreción excesiva de aldosterona, la reabsorción de sodio y de cloruro, la secreción de potasio aumenta considerablemente de manera que la concentración de cloruro sódico entonces disminuye hasta ser casi nulo, mientras que la del potasio aumenta más todavía (5).

Las secreciones de las glándulas salivales mayores contienen una proteína de peso molecular mayor que causa la aglomeración de ciertas bacterias salivales y se fija a la apatita, se calcula que las secreciones contienen 33 % de proteínas, 19 % de carbohidratos y 5 % de ácido sialico, los constituyentes restantes aun no se han determinado, se cree que pueden tener una participación en la formación de la placa. La dificultad de recolectar la saliva submaxilar del conducto y sus propiedades físicas, han limitado el estudio detallado de sus proteínas.

La saliva sublingual se secreta en pequeños volúmenes (aproximadamente 5 % de la saliva total) y es difícil recolectarla por separado.

Algunos componentes como la IgA de la saliva difiere de la del suero en que tiene un peso molecular mayor, la IgA para la glándula salival proviene del plasma donde se sintetiza una proteína adicional llamada secretora o pieza de transporte, la cual se fija a dos moléculas de IgA y se secreta de esa forma.

La pieza secretora que es en si misma antigénica y migra como una globulina, puede estar en la saliva en forma de un elemento libre en la mayoría de los niños y en algunos adultos, si hay ausencia de globulina.

La IgA se encuentra en la saliva parotídea en concentraciones altas y la cantidad de IgM e IgG es sumamente baja, también se encuentran huellas de albúmina. Las inmunoglobulinas del fluido gingival están presentes en proporciones similares a las del plasma e IgA.

En la saliva completa se han detectado 18 aminoácidos de los cuales 9 se han encontrado en forma constante y los otros 9 en ciertas ocasiones, también se encuentran presentes péptidos y hay evidencia de que actúan como factores en el metabolismo de las bacterias salivales.

En la saliva están presentes urea, creatinina, ácido urico y amoníaco.

COMPOSICION DE LA SALIVA.

Los resultados son expresados en mg.100/ml. salvo en los casos en que se especifique otra unidad.

COMPONENTES	SALIVA EN REPOSO	SALIVA ESTIMULADA
SALIVA TOTAL		
-Flujo.	-	1.72±0.96 ml/min.
-Total de solidos.	300-860	400-900
-Restos.	-	170-350
Constituyentes Inorgánicos.		
-Proteínas totales.	140-640	170-420
-Aminoácidos.	-	175±0.89(g/l)
-Amilasa.	38	277±736 U/ml-3
-Lactoferrina.	-	8.6±3.7 ug/ml.
-Lisozima.	22	0.4-62
-IgA.	0.2±2.0	84 mg/l
-Perixidasa.	-	1.12±0.43 mU
-IgG.	1.52±8.4	51.4±38.5 mg/l
-Tiocianato.	-	1.21±0.69 mM
-IgM.	0.63±0.13	4.8±3.6 mg/l
-Hipotiocianato.	-	16.6±9.4 uM
-Glucosa.	1.0	0.5-3
-Citrato.	-	Trazas.
-Lactato.	-	Trazas
-Aminiacio.	-	1-12
-Colesterol.	2.5-50	-

-Acido urico.	0.05-0.2	-
-Carbohidratos.	-	1.20±1 gr/l
COMPONENTES.	SALIVA EN REPOSO.	SALIVA ESTIMULADA.
Constituyentes Inorgánicos.		
-Sodio.	0-20	60
-Potasio	60-100	80
-Tiocianato fumador	6-12	-
-No fumador.	1.3	-
-Calcio.	2.2-11.3	6
-Fosfato total.	-	10.30±6.60 mM
-Cloruro.	50	100
-Nitrógeno.	0.015-0045	-
-Fluoruro.	0-015-0 045	0.007-0.021
SALIVA PAROTIDEA:		
-Flujo ml/min.	46.05±36.5(8.00h)	1.22±0.72
-Total de sólidos.	ul/min. 500-900	-
Constituyentes Inorgánicos.		
-Total de proteínas	272.4±28.6 mM	229±179
(*)-Amilasa.	60	120
(*)-Lactoperoxidasa	60	120
(+)-Lisozima.	-	0.5-8
(+)-Lactoferrina.	81±36	54±26
(+)-IgA.	13.5±6.0 (8.00h)	-
	23.1-15.0 (2.00h)ug/min	1.7-63

(*)-Componente secretorio.	-	-
(+)-IgG	-	0-0.1
		0-0.1
(+)-IgM	0.94±1-9 (8.00h)	-

COMPONENTES.	SALIVA EN REPOSO.	SALIVA ESTIMULADA.
-Urea.	26	10-16
-Amoniaco.	0.9	0.3
-Acido Urico.	4	7
-Carbohidratos.	-	2-5
-Total de carbohidratos.	-	30±48
	Valor.	Valor.
-Glucosa.	1	0.9±1.1
-Lipidos.	-	1.5
-Glicoproteínas Catiónicas.	-alto contenido.	-
-Glicoproteínas aniónicas.	-bajo contenido.	-

Constituyentes inorgánicos.

-Sodio.	1.3±0.6 mM	42.6±22.6 méq/l
-Potásio.	28.4±1.8 mM	26.5±8.8 mEq/l
-Calcio.	0.92±0.1 mM	1.26±0.88 mM
-Magnesio.	0.2-1.5	0.02-0.80
-Cloro.	16.8±1.2 m	32.00±17.85

-Bicarbonato.	3.3	30-360
-Fosfato Inorgánico.	7.1±0.6 mM	3.28±2.60 mM
-Tiocianato.	30	18
-pH.	5.2-6.2	7.57±0.37
-Iones de flúor.	0.02	0.01
-Nitrógeno.	-	19.4±32.7

COMPONENTES SALIVA	EN REPOSO SALIVA	ESTIMULADA.
--------------------	------------------	-------------

SUBMANDIBULAR

-FLUJO.	0.26±0.15 ml/min.	1.38±0.79
-Total de proteínas	30-80	30-150
-Carbohidratos libres.	-	0-4
-Total de carbohidratos.	8.39±3.48	0.34±0.41 g/l
(*)-Lactoferrina.	-	0.5-4.2
(+)-IgA	1.6	-
(*)-Componente secretorio.	-	20
-Urea.	10.5	20
-Amoniaco.	0.9	0.080
-Acido Urico.	3.3	1.3

CONSTITUYENTES ORGANICOS.

(*)-Glicoproteínas de alto peso molecular (sust. grupos sanguíneos).	-	-
-Lípidos.	-	2.0
(*)-Glicoproteínas catiónicas.	-bajo contenido.	-
(*)-glicoproteínas aniónicas.	-alto contenido.	-

CONSTITUYENTES INORGANICOS.

-Sodio.	3.30±3.66 m Eq/l	45.5±23.4 mM
-Potasio.	13.9± mEqiv/l	17.8±7.2 mM
-Calcio.	0.81±0.39 mM	1.92±0.86 mM
-Magnesio.	0.17	-
-Cloro.	12.0±4.6 m Eq/l	23.4±11.3 mM
-Bicarbonato.	13	150
-Fosfato total.	7.92±6.50 mM	6.87±4.3 mM
-Fosfato inorgánico	5.63±1.92 mM	55±4.0 mM
-pH.	(6.73±0.45)	6.1-7.5
-Nitrato.	36.2±20.1 g/l	0.59±0.19

GLANDULAS SALIVALES MENORES.

-Proteínas.	145-560	145-355
-Sodio.	6-86.25	25.3-225.4
-Potasio.	39-113	43-97.5
-Magnesio.	0.96-2.9	0.96-1.92
-Cloro.	56-189	66.5-381.5
-Fosfato.	0.77-341	0.62-1.86

(*) Producto de células acinares de la glándula.

(+) Producto de regiones no-acinares de origen desconocido. (6)

REGULACION NERVIOSA DE LA SECRECIÓN SALIVAL

En el límite del bulbo raquídeo y la protuberancia se encuentran los tres núcleos salivales que controlan la secreción de las glándulas parótidas, submaxilares y sublinguales. figura 2 (6).

Son estimuladas por situaciones insipílicas o táctiles en la lengua u otros sitios de la boca.

La mayor parte de los estímulos gustativos, especialmente el sabor ácido desencadenan una copiosa secreción de saliva, frecuentemente hasta 5 ml. por minuto o sea de 8 a 20 veces el ritmo basal de secreción.

La presencia de material suspendido como bacterias, células epiteliales, mucina y la perdida espontanea de dióxido de carbono, después de su recolección cambia su composición, de ahí que la exactitud de ciertos análisis dependerá del tiempo que transcurra entre su recolección y su estudio.

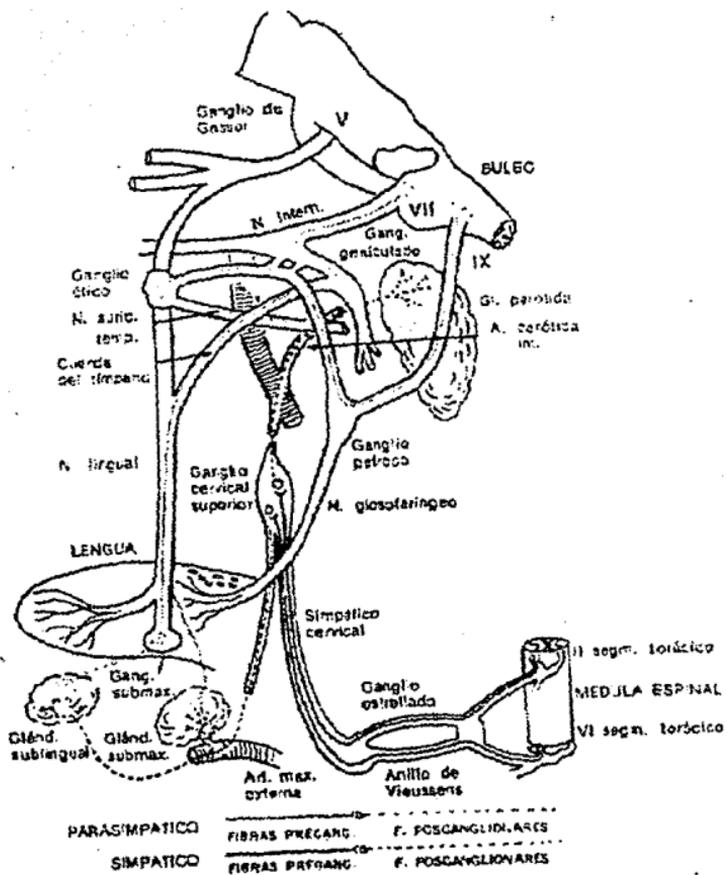


FIGURA 2. DIAGRAMA DE LA INERVACION DE LAS GLANDULAS SALIVALES.

Es difícil recolectar saliva bajo condiciones normales, la saliva cuya secreción se obtiene al masticar cera o ligas de hule, (técnica que se utiliza con frecuencia) puede ser distinta a la que se produce en presencia de alimentos.

La saliva varía entre individuos así como en el individuo mismo bajo distintas circunstancias, por esas razones es imposible dar un cálculo cuantitativo satisfactorio de la composición de la saliva del hombre.

El contenido total de proteínas en la saliva del hombre es de 300 mg/100 ml. en promedio y puede variar considerablemente.

La concentración de saliva de parótida y de la glándula submaxilar y los resultados dependen del método de análisis, ya que cada método considera diferentes tipos de parámetros, tales como el contenido de nitrógeno, enlaces peptídicos y la cantidad de tirosina y triptófano.

Tanto en la saliva de la parótida como en la submaxilar se encuentran enzimas como la amilasa, cuya actividad es más elevada en la primera (parótida) y la lisozima que es más elevada en la segunda (submaxilar).

También se encuentran las glicoproteínas (conocidas anteriormente como mucinas), anticuerpos y huellas de proteínas de la sangre.

ALTERACIONES PATOLÓGICAS

Dentro de las diversas patologías que causan trastornos en la producción de la saliva tenemos a los siguientes que son los de mayor importancia:

DIABETES MELLITUS.

La diabetes mellitus es un trastorno del metabolismo de los carbohidratos, los lípidos y las proteínas, hay un déficit absoluto o relativo de insulina, hiperglucemia en ayunas, glucosuria y una fuerte tendencia a la aparición de arteriosclerosis, microangiopatía y nefropatía (7).

Los cambios en la boca son frecuentemente los primeros síntomas de la diabetes mellitus, la observación de estos cambios puede ayudar al médico a diagnosticar la enfermedad.

De las distintas áreas de la boca el tejido periodontal es el más afectado por lo que es el que ha atraído más la atención de los investigadores recientemente, particularmente en los aspectos microbiológicos e inmunológicos. Por otra parte y entre los cambios reales que se pueden apreciar en el diabético es la xerostomía o boca seca, que es un simple indicador de la deshidratación general por la que está pasando el paciente no controlado y esto se establece porque en estos pacientes la estimulación del fluido salival es reducido.

Los diabéticos controlados no manifiestan algún cambio cuantitativo en la saliva, mientras en las concentraciones de calcio se han establecido que son

considerablemente elevadas en ambas glándulas estimuladas, parótida y submaxilar, en comparación con individuos no controlados.

Un estudio realizado en el laboratorio de biología estructural del Instituto Nacional de Investigación Dental en los E.U demostró que cambios marcados ocurren en las glándulas de ratas inducidas a ser diabéticas con estreptozotocina consistente en una alteración intracelular de la organización acinar y células estriadas del conducto. Este trabajo confirmó los estudios previos de los cambios de las glándulas salivales en ratas diabetizadas con aloxana en los cuales se estableció que la amilasa de parótida disminuyó y la peroxidasa aumentó (8).

XEROSTOMIA .

La reducción de la secreción salival, xerostomía, se asocia con muchas patologías. En raros casos existe ausencia congénita de una o más de las glándulas salivales principales o conductos excretores. La mayoría de los casos de xerostomía parece relacionarse con el uso de medicamentos (antidepresivos tricíclicos, antihistaminicos, fármacos hipotensores y fenotiazinas). La reducción del flujo salival se observa en muchos trastornos, en los cuales se desarrolla fiebre o deshidratación (9).

SINDROME DE SJOGREN.

EL síndrome de Sjögren es un trastorno crónico inflamatorio que quizá responda a una etiología autoinmune, se caracteriza por un conjunto de alteraciones inflamatorias que incluye queratoconjuntivitis seca, faringoamigdalitis seca, artritis reumatoide, aumento de tamaño de las glándulas parótidas y en ocasiones de las glándulas submaxilares y xerostomia.

La etiología autoinmune está sustentada por los siguientes hallazgos:

- Autoanticuerpos contra citoplasma de las células de los conductos excretores salivales en más del 50% de los casos.
- Artritis reumatoide asociada en más del 50% de los casos.
- Factor reumático en más del 75% de los casos.
- Frecuentemente asociada con otras enfermedades del tejido conectivo.
- Las glándulas salivales se encuentran afectadas de tamaño en forma bilateral o unilateral.

Los sialogramas revelan dilatación puntiforme, globular y cavitaria de los conductos principales (sialectasia) a nivel histológico es posible apreciar una infiltración inicialmente pericanalicular y que se extienden hacia los acinos de manera gradual hasta que la glándula es reemplazada por completo por una cantidad de linfocitos, inmunoblastos, centros germinativos y células plasmáticas.

Las células mioepiteliales en proliferación rodean los restos de los conductos alterados y forman los llamados "islotos mioepiteliales". La destrucción irreversible de acinos glandulares provoca marcada sequedad en las membranas mucosas, y el flujo salival es inferior al normal. Es posible detectar alteraciones similares en las glándulas lagrimales además de las salivales accesorias (10).

El error más común en la concepción del origen de boca seca es que esta se debe a ciertas fibras simpáticas, este punto de vista debe ser erradicado, debido a que esta clase de fibras no existen, la inhibición se debe a influencias centrales provenientes de centros más altos de actividad en los centros salivales, y es por eso que se suprime la actividad de reflejo. Ambas variaciones se producen en las terminaciones neuroefectoras y en las respuestas celulares en diferentes glándulas de diferentes especies, las células mioepiteliales son generalmente contraídas por ambos nervios simpático y parasimpático. Los vasos sanguíneos también tienen una inervación dual pero los impulsos parasimpáticos causan vasodilatación como parte de la secreción. En donde las fibras vasoconstrictoras del simpático son parte de un sistema de control vascular más generalizado y no parte directa de un modo de secreción refleja simpática (11).

SINDROME DE MIKULICZ.

No todas las hiperplasias de las glándulas salivales obedecen a tumores. En 1888 Mikulicz describió un caso que se refería a una tumoración bilateral indolora de

las glándulas salivales y lagrimales, cuyo examen histológico evidenció un filtrado masivo de tejido linfoide. El termino "síndrome de Mikulicz" es empleado por algunos para indicar que la hiperplasia de las glándulas salivales (con o sin compromiso de las glándulas lagrimales) se halla relacionado con dicho tipo de proceso generalizado, y reservan el de "enfermedad de Mikulicz" para los casos de lesiones linfoepiteliales benignas de paróitida en los cuales ocurre compromiso glandular en ausencia de trastorno sistémico alguno. (12)

ENFERMEDADES DE GLANDULAS SALIVALES POR RADIACION.

Los pacientes que reciben niveles tumorocidas de radiación por cáncer de cabeza y cuello con frecuencia desarrollan una gran variedad de alteraciones inmediatas, intermedias y de larga duración en tejidos y estructuras aledañas a la zona radiada.

Cuando la radiación pasa por las glándulas salivales se producen alteraciones en el volumen, viscosidad y pH, así como de los componentes orgánicos e inorgánicos de la saliva.

A medida que el nivel de radiación aumenta, disminuye el flujo de saliva. La porción serosa de la glándula es la que más se afecta y que primero se pierde. Las células mucosas son más resistentes por lo que se afectan después que las células serosas, pero antes que la de los conductos y persisten durante un período mayor. Las glándulas menores sufren cambios similares a las mayores, pero de menor intensidad.

Durante la radioterapia y unos pocos meses después, puede producirse recuperación de algunas de las funciones glandulares. Sin embargo el proceso de regeneración es lento.

Un porcentaje de los pacientes expuestos a 6000 rad. (6000 cGy) o más, desarrolla xerostomía grave y en estos casos no solo disminuye el volumen de la saliva, también aparecen alteraciones cualitativas en la viscosidad, pH, concentración de inmunoglobulina y electrolitos, que causan aumento de la placa bacteriana (13).

CARCINOMA ANAPLASICO.

El carcinoma anaplasico se denomina también adenocarcinoma indiferenciado o sólido o carcinoma de células de transición constituye el 1 % de los tumores salivales mayores como en los menores. Es uno de los tumores más malignos de las glándulas salivales (14).

ADENOMA PLEOMORFICO.

(Tumor mixto benigno de las glándulas salivales).

El adenoma pleomórfico es un tumor benigno que se origina en las glándulas salivales; proviene de las células epiteliales de los conductos y su patrón es variable (pleomórficos). La mayor parte de las lesiones emanan de la parótida, comprenden el 75 % de los tumores parótideos (15).

CARCINOMA DE CELULAS ACINICAS.

Es un tumor característico de las glándulas salivales que afecta sobre todo a las mayores y en especial a la parótida. Se origina en las células de reserva ductales, aunque hay evidencia que indica que las células acínicas por si mismas retienen el potencial de transformación neoplásica, representa el 14 % de los tumores de la glándula parótida, 9 % de los carcinomas de las glándulas salivales y en 3 % de los casos afecta en forma bilateral la parótida (16).

SIALADENITIS.

El termino sialadenitis se refiere a la inflamación de las glándulas salivales. Se clasifica en bacteriana y obstructiva.

La sialadenitis bacteriana ocurre en niños y ancianos principalmente y produce recurrentemente aumento de tamaño y dolor en la glándula afectada, la superficie de la piel que la cubre puede ser roja-lechosa y al presionar la glándula puede haber descarga purulenta por el orificio del conducto. El estreptococo viridans puede estar relacionado con la lesión en el paciente geriátrico.

La sialadenitis obstructiva es la forma más común, y esta relacionada con piedras salivales (sialolitiasis) o depósitos de moco. En estos casos el conducto de la glándula esta muy inflamado.

En la sialadenitis obstructiva ocurre en una edad media. Los hombres son los más frecuentemente afectados que las mujeres. En orden de frecuencia las glándulas

involucradas son la submaxilar (75 %), parótida (20 %) y la sublingual (5 %). La glándula involucrada está aumentada de tamaño y es dolorosa; pero estos síntomas son especialmente fuertes antes, y durante las comidas (17).

SIALOGOGOS

Sialogogo:(de sialo, y del griego agogos, conductos)

Agente medicamentoso que aumenta la secreción de la saliva. Si la cantidad de la saliva es menor a la normal la cual puede suceder a consecuencia de varias enfermedades o intoxicaciones, están indicados ciertos procedimientos o medicamentos que regulan la secreción. El más común de los procedimientos utilizados es sencillamente masticando goma, beber pequeñas cantidades de agua fresca o acidulada con jugo de limón o fumar un cigarrillo. Cuando estos procedimientos no hallan dado resultado se deberá recurrir al yodo y principalmente a los sialogogos de los cuales los de mayor importancia son la pilocarpina, el carbacol, y el isoproterenol (figura 3) (18).

PILOCARPINA.

La pilocarpina se extrae de especies de pilocarpus y puede obtenerse como nitrato y clorhidrato. Sus acciones más netas estriban en causar salivación y sudación, se emplea a veces para tratar el glaucoma, gracias a su acción micótica y para contrarrestar la midriasis producida por la atropina. Las dosis elevadas de pilocarpina tienen acción estimulante, seguida de un etapa depresora sobre el sistema nervioso central.

ISOPROTERENOL.

Este producto suele denominarse isoprenalina, o Isopropilnoradrenalina. el preparado de una farmacoepa es el compuesto recémico. En Estados Unidos se le denomina Isoproterenol. El isoproterenol no es metabolizado por la monoaminoxidasa ni es captado por neuronas adrenergicas, pero si lo es extraneuronamente; entonces es convertido rápidamente en el derivado 3-metoxi-beta por acción de la catecol-o-metiltransferasa de los tejidos (19).

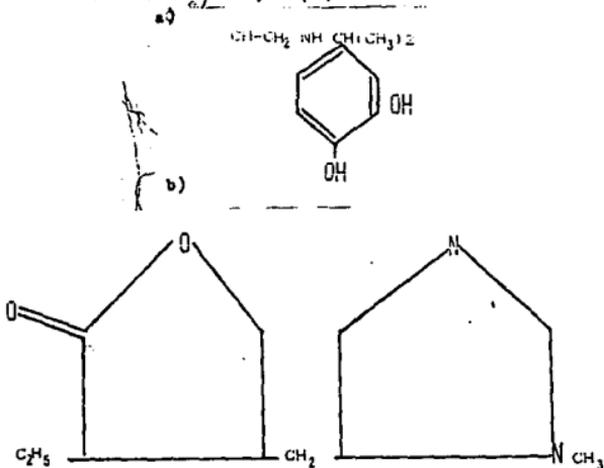


Figura 3. Formulas de algunos sialogogos. a) Isoproterenol b) Pilocarpina.

(fig.3)

POLIAMINAS.

El descubrimiento de la función de las poliaminas, **putrescina, espermina y espermidina (figura 3)** en relación con diversos procesos tales como crecimiento celular, multiplicación y diferenciación ha despertado gran interés para su estudio en diversas áreas de la investigación, estas moléculas a semejanza de los ácidos nucleicos se encuentran ampliamente distribuidos en los sistemas vivientes, lo que significa que su presencia es esencial para la realización de los procesos de la función celular. La presencia de poliaminas se reportó en el páncreas, una glándula con funciones exócrinas y endócrinas. Estas moléculas se producen en los islotes de langerhans y su función ha sido relacionada con la síntesis de la insulina entre otras (20).

Por otro lado existen varios estudios que sugieren que las glándulas salivales son órganos con una función doble, una digestiva y la otra probablemente endocrina, similar a la que desempeña el páncreas. El descubrimiento reciente de que las glándulas salivales son órganos que sintetizan numerosas sustancias no digestivas como reninas, calicreina y glucagón hacen pensar que existen elementos celulares especializados que se encargan de la síntesis de estos productos.

Recientemente un nuevo tipo de células denominadas microgranulares ha sido descrito en la glándula submandibular como posible sitio donde se sintetiza el glucagón (21).

La concentración de las poliaminas ha sido determinada en las glándulas salivales en los flúidos de la cavidad bucal.

GENERALIDADES SOBRE POLIAMINAS.

Las poliaminas fueron descubiertas por Antoni van Leeuwenhoek en 1678 cuando se encontraba estudiando semen humano y observó la formación de cristales (espermina).

Nicolás Vauquelin en 1791 observó estos cristales en el semen y confirmó su insolubilidad en agua y etanol concluyendo que eran fosfato de calcio.

Boettcher en 1895 señaló que estos cristales estaban formados por proteínas.

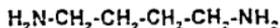
Schreiner en 1878 dijo que estos cristales eran sales de fosfato de un compuesto orgánico simple.

Finalmente en 1906 Otto Rosenheim descubrió la fórmula y estructura de espermina y la putrescina (22).

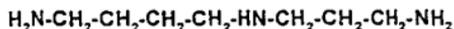
Posteriormente se aislaron la espermina, la putrescina y la cadaverina también de tejidos de animales frecuentemente en estado de putrefacción. En la actualidad se sabe que la distribución de las poliaminas es universal.

En los mamíferos la síntesis de las poliaminas se lleva a cabo a partir de la ornitina. La cual es descarboxilada por la ornitina descarboxilasa (ODC) para formar putrescina, precursor de la espermidina y espermina.

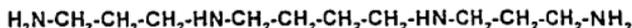
Otras enzimas que participan en la síntesis de poliaminas son la espermidina y la espermina sintasas y la S-adenosil metionina descarboxilasa (SAMD). La ornitina disponible para estas reacciones proviene del plasma además de la que se forma en las células por la acción de la arginasa, una enzima del ciclo de la urea, que tradicionalmente ha sido estudiada en el hígado, pero su presencia ha sido demostrada en otros tejidos extrahepáticos. En la degradación y la transformación de estas moléculas participan otras enzimas denominadas aminoóxidasa (23).



PUTRESCINA



ESPERMIDINA



ESPERMINA

(n.34)

(24)

ARGINASA EN SALIVA.

La arginasa ha sido aislada y caracterizada de saliva humana.

Esta enzima es dependiente de manganeso y a semejanza de la arginasa de otros tejidos, su actividad es máxima a un pH de 9.6-9.8 y tiene una Km para arginasa de 4.2 ± 0.7 mmol/l.

En saliva normal solamente se encuentra una forma cuyas propiedades son idénticas a la arginasa de hígado y células sanguíneas (25).

La actividad de la arginasa en individuos sanos varía entre 0.6 ± 0.06 y 0.11 U/mg. prot. y es mayor en la saliva de heterocigotos.

Recientemente se ha encontrado arginasa en pulpa dental y se estudio en diferentes estadios del desarrollo dental humano (26).

REGULACION DE PROTEINAS SALIVALES.

Estudios previos han mostrado que varios factores como la inducción de diabetes por aloxana, adrenalectomía o remoción del complejo tiroideo-paratiroideo puede influenciar en el rango del flujo de la concentración proteínica de la composición de la saliva parotídea de rata. Este estudio fue tomado como base para explorar mas allá la influencia de los glucocorticoides y la tiróxina de la saliva parotídea de rata en animales hormonalmente intactos en comparación con animales que han sido tratados, las ratas adultas macho han sido tratadas con 10 microgramos de dexametasona por cada 100 gramos de peso por 8 días, mostraron un 75 % de reducción en el volumen

de secreción de la saliva parotídea, en respuesta a estímulos uniformes. La concentración de la proteína fue incrementada en tres capas (superficiales).

La electroforesis en gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sodio ha permitido demostrar una relativa reducción en proteínas ácidas ricas en prolina y una proteína identificada como fracción V. Mientras que la amilasa se incrementa. La aparición en el microscopio electrónico de los gránulos es marcadamente diferente de los del control comparados con aquellos gránulos que exhiben una periferia densa con una reminiscencia de gránulos con apariencia electrolúcida. En contraste las ratas tratadas por 8 días con 20 ug de tiroxina por 100 g de peso mostró un 50 % de incremento en el volumen de la saliva recogida, en respuesta a los estímulos de secreción. Aunque la concentración de proteína no fue diferente de aquella del control. El gel electroforético mostró un relativo incremento en las proteínas ricas en prolina ácida básica y una reducción en la fracción V (27).

SIALOGOGOS Y SINTESIS DE POLIAMINAS EN GLANDULA PAROTIDA.

Se ha reportado que la secreción de amilasa en glándula parotídea de rata es estimulada por varias drogas entre las que destacan los agonistas adrenérgicos y colinérgicos.

Los efectos de los agonistas adrenérgicos como el isoproterenol son más frecuentes que aquellos de los agonistas colinérgicos (metoxamina y fenilefrina) y los agonistas colinérgicos (carbacol y pilocarpina).

La síntesis de la ODC y de la SAMD, dos enzimas involucradas en la síntesis de poliaminas es significativamente activada por los sialogogos en forma paralela a la secreción de amilasa y la velocidad de síntesis de DNA.

Esta información ha sido obtenida de algunos experimentos realizados "in vitro" en los que ha sido estudiado el efecto de los diferentes sialogogos sobre la respuesta proliferativa de células de parótida cultivadas.

El orden en que los sialogogos inducen a la actividad de ambas descarboxilasas es (28).

Isoproterenol > carbacol > metoxamina = pilocarpa

La inducción de las actividades enzimáticas es dependiente de la concentración y del tiempo. El carbacol requiere de una incubación mínima de 4 hrs. para estimulación máxima de ODC.

El metabolismo de poliaminas también ha sido estudiado en glándula parótida de rata después de ligar los conductos unilateralmente por períodos de 5 hrs. a 5 meses. Se observó un ligero incremento en el peso y en la glándula durante las primeras 24 hrs., después el peso disminuye gradualmente siendo menor del 50 % a los controles en 5 meses. La ODC se incrementó alcanzando valores altos en 3 días y 3 semanas, sin embargo el contenido de putrescina se observó que alcanzó el valor más alto a las 24 hrs.; una notable reducción en los contenidos de espermidina y espermina fue observada un día después de la ligación por todo el tiempo de observación.

Los resultados sugirieron que ocurrió un metabolismo de poliaminas inverso, esto es que la espermina se convirtió en espermidina la cual se convirtió en putrescina (29).

La incubación de rebanadas de glándulas submaxilares con isoproterenol 50 uM. 10-40 min. estimula la secreción de mucina e induce un incremento de 3 a 4 veces en la concentración de las poliaminas, putrescina, espermidina y espermina. Cuando se administra alfa difluorometilornitina, un inhibidor específico de la ODC se suprime el incremento inducido por el isoproterenol y se inhibe la secreción de mucina.

La putrescina exógena restablece los niveles de poliaminas tisulares y revierte parcialmente el efecto inhibitorio de la difluorometilornitina sobre la secreción de mucina. El incremento rápido en los niveles de poliaminas parece mediar la secreción de mucina estimulada por isoproterenol en la glándula submaxilar de rata (30).

La actividad de la ODC y la concentración de poliaminas también ha sido determinada en las glándulas salivales después de haber sido estimulados los nervios simpáticos y parasimpáticos por 3 hrs. Se ha observado que la actividad se reduce marcadamente en animales con ayuno de 24 hrs., disminuyendo también la actividad nerviosa de las glándulas salivales. La actividad de la ODC ha sido relacionada con la síntesis de macromoléculas (31).

TRIACILGLICERIDOS

Los ésteres de ácidos grasos y de alcohol se les designa a veces, como "grasas neutras" cuando los tres grupos hidroxilo de la glicerina se hallan esterificados con ácidos grasos, la estructura se llama triacilglicérido (aunque tradicionalmente se ha utilizado el nombre de "triglicérido" para designar a estos compuestos cosa que ya no debe hacerse).

Los triacilglicéridos constituyen la familia más abundante de los lípidos y los principales componentes de los lípidos de reposo o de reserva de las células animales o vegetales. Los triacilglicéridos que son sólidos a temperatura ambiente, se les conoce generalmente por "grasas", y los que son líquidos por "aceites" (32).

BIOSINTESIS DE TRIACILGLICERIDOS.

La biosíntesis de los triacilglicéridos es un proceso metabólico muy activo en los animales, particularmente porque su capacidad de almacenar triacilglicéridos es muy grande. En los seres humanos solamente pueden almacenarse unos cuantos centenares de gramos de glucógeno en el hígado y en los músculos, es escasamente lo suficiente para atender las necesidades energéticas del cuerpo durante unas doce horas, contrasta con ello el que la cantidad total de triacilglicéridos almacenada en el humano de contextura media sea de 12 kg, cantidad suficiente para satisfacer sus necesidades energéticas básicas durante un período prolongado de 8 semanas (33).

Con base en lo anterior consideramos importante estudiar el efecto del isoproterenol sobre la actividad de arginasa en las diferentes glándulas salivales bajo la siguiente hipótesis.

HIPOTESIS.

La administración de isoproterenol es capaz de inducir un incremento en la actividad de arginasa, una enzima que provee de sustrato para la biosíntesis de poliaminas.

OBJETIVO.

Medir la actividad de arginasa, proteínas y peso seco en glándulas salivales de ratas normales, ratas diabetizadas con aloxana y ratas diabetizadas tratadas con isoproterenol a diferentes tiempos. Determinando además, para evaluar el estado diabético de los animales niveles de glucosa y triacilglicéridos de ratas diabéticas a las 96 horas.

MATERIALES.

Se emplearon ratas macho adultos de la cepa Long Evans, de 4 a 5 meses de edad y de 300 más menos 30 gramos de peso.

GRUPOS.

Grupo 1. Ratas control 0.154 M Na Cl (n=5).

Grupo 2. Ratas a las que se les indujo diabetes con aloxana 96 horas.

Grupo 3. Ratas a las que se les indujo diabetes con aloxana 192 horas.

Grupo 4. Ratas diabéticas (192 horas.) más isoproterenol 20 minutos.

Grupo 5. Ratas diabéticas (192 horas.) más isoproterenol 6 horas.

A las ratas se les administró solución salina 0.154 M, ya que esta solución fue utilizada como vehículo.

A los grupos del 2 al 5 se les indujo diabetes con 120 mg de aloxana/Kg. de peso por vía endovenosa y los grupos 5 y 6 fueron tratados con el isoproterenol (30 mg/kg) por vía parenteral a los 20 min. y 6 h. posdiabetización (192 h.).

Todos los grupos fueron sometidos a ayuno de 18 horas, antes del estudio.

Los animales que se trataron a los 20 min. fueron inyectados previamente con dehydrobenziperidol (solución inyectable de 50 mg/Kg.) como tranquilizante a una dosis de 2.5 mg/Kg. de peso.

Después de 15 min. aplicamos ketamina (solución inyectable de 50 mg/ml.) como anestésico a una dosis de 50 mg/Kg de peso y se dejaron transcurrir 15 min. y después se realizó la disección comenzando por la línea media. Las ratas cuyo tratamiento fue a las 6 horas, fueron anestesiadas de la misma forma 20 min. antes del sacrificio.

Posteriormente se procedió a disecar las glándulas salivales colocándolas en solución salina sobre hielo. Una vez que se eliminaron restos de tejido adiposo procedimos a pesarlas, posteriormente se homogeneizaron en solución salina en una proporción de 20 % por el total de peso, inmediatamente después se separaron las alícuotas para las diferentes determinaciones programadas.

METODOS

DETERMINACION DE GLUCOSA EN SUERO SANGUINEO.
Test-Combinación. Glucosa GOD-POD. Boehringer Mannheim.

Gmbh, Mannheim, Alemania occidental.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA.

El peróxido de hidrógeno producido por la reacción enzimática de glucosa reacciona en presencia de peróxido reductasa (POD) con 4 aminofenazona y el fenol por acoplamiento oxidante forma 4 (-p-benzoquinona-monoimino)-fenazona + agua.

La cantidad de cromógeno formado es proporcional a la concentración de glucosa.

CONTENIDO DEL REACTIVO.

Cuando el reactivo es reconstituido de acuerdo con las instrucciones, las concentraciones aproximadas de los ingredientes son:

Amortiguador de fosfato 100 mml/l, D 7.0

Oxígeno 1-oxidorreductasa (GOD) 8U/ ml.

Peróxido reductasa (PAP) 1.1 U/ml.

4-aminofenazona 0.77 mmol/l.

Fenol 11 mml/l.

PREPARACION PARA EL REACTIVO.

Disolver el contenido del frasco que contiene el amortiguador con enzimas con 500 ml. o 1000 ml. de agua destilada según sea el caso y añadir 10 o 20 ml. del frasco que contiene fenol. Dar vueltas suavemente. No agitar.

ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO.

El reactivo no reconstituido debe ser almacenado entre 2 y 8 grados centígrados y puede ser usado hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta.

El reactivo reconstituido se mantiene estable por 4 semanas a 4 grados centígrados y 5 días entre 15 - 25 grados centígrados en frasco color ámbar.

RECOLECCION Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

La glucosa se reporta como estable por 24 horas a 25 grados centígrados; o por siete días a 4 grados centígrados si se añade un inhibidor de la glicólisis (NaF fluoruro de sodio, KF, fluoruro de potasio). Este reactivo es útil en la determinación de glucosa en suero o plasma de animales en ayunas, para lo que se recomienda separar los componentes celulares inmediatamente.

MATERIAL REQUERIDO.

Equipo de reactivo para glucosa.

Estándar de glucosa de 1 mg/ml en solución salina 0.9 %

Pipetas de precisión.

Tubos de ensayo.

Celdillas para colorímetro.

Agua destilada o desionizada.

PROCEDIMIENTOS.

Longitud de onda : 530 nm.

Temperatura de incubación: 37 grados centígrados

temperatura de medición: 25 grados centígrados

Tiempo de reacción: 10 minutos.

a) Llevar el colorímetro a cero con agua destilada.

b) Colocar en los tubos de reacción 20 ul. de problema estándar y agua destilada.

c) Agregar 2 ul. del reactivo a los tubos, mezclar e incubar por diez minutos a 37 grados centígrados en la obscuridad.

d) Medir el color final en un lapso no mayor de 10 min. posteriores a la incubación, frente al blanco del reactivo.

	BLANCO	ESTANDAR	PROBLEMA
AGUA	0.01 ml	-	-
ESTANDAR	-	0.01 ml	-
PROBLEMA	-	-	0.01 ml
REACTIVO	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

CALCULOS.

La concentración de glucosa se calcula como sigue:

$$(\text{glucosa}) = 100 \frac{\text{Absorbancia problema} - \text{blanco}}{\text{Absorbancia estándar} - \text{blanco}} \text{ (mg/dl)}$$

PRECAUCIONES.

El reactivo no reconstituido de enzimas, contiene azida de sodio como conservador. Se debe evitar por lo tanto el contacto con la piel y mucosas. La ingestión de grandes dosis puede provocar vasodilatación.

El reactivo que contiene fenol, es venenoso si está en contacto con la piel o es ingerido. causa cauterización. En caso de contacto con la piel lavar con polietilenglicol 400.

DETERMINACION DE TRIACILGLICERIDOS EN SUERO SANGUINEO.

Reactivo Triacilglicéridos Color. (Gilford Systems, 132 Artino Street, Oberlin, Ohio. U.S.A.)

FUNDAMENTO.

El glicerol producido por la hidrólisis enzimática de triacilglicéridos es fosforilado por adenosininitrofosfatasa (ATP) para producir 1-glicerofosfato y ADP en la reacción catalizada por gliceroquinasa (GK). La glicerofosfatodeshidrogenasa (G-1-PDH) cataliza la oxidación de 1-glicerofosfato en presencia de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) para producir NADH (nicotinamida adenina dinucleótido reducido) que es usado para reducir la anilina de cloruro de 2-tretrazolio (iodofenil-p)-3-(nitrofenil-p)-5-fenil (INT) a formazán en la reacción catalizada por diaforasa. El formazán absorbe la luz a 530 nm. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glicerol y por tanto, a la concentración de triacilglicéridos.

CONTENIDO DEL REACTIVO.

Cuando el reactivo reconstituido esta de acuerdo con las instrucciones, las concentraciones aproximadas de los ingredientes del reactivo son las siguientes:

ATP	1.0 mmol/l.
NAD	1.2 mmol/l.
INT	1.0 mmol/l.
GK (microbiana)	120 U/l

G-1-PDH 3500 U/l

Diaforasa 450 U/l.

Lipasa (microbiana) 1×10^5 U/l

Amortiguador (pH 7.7)

PREPARACION DEL REACTIVO.

Reconstituir los frascos del reactivo para triacilglicéridos (color) 6.5, 15.5 o 50 con 6.5 ml, 15.5 ml o 50 ml de agua destilada o desionizada respectivamente. Dar vuelta ligeramente para disolver. No agitar.

ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO.

El reactivo no reconstituido debe ser almacenado entre 2-8 grados centígrados y puede ser usado hasta la fecha de expiración de la etiqueta.

El reactivo reconstituido se mantiene estable por 8 hrs. a temperatura ambiente (18 a 25 grados centígrados) o por 5 días refrigerado de (2 a 8 grados centígrados) cuando está protegido contra la luz.

RECOLECCION Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS.

Puede usarse suero o plasma obtenido de los animales en ayunas.

Los anticoagulantes tales como EDTA, oxalato o heparina no causan inhibición.

Una hemólisis moderada no afecta significativamente los resultados obtenidos en esta prueba.

No debe usarse citrato de sodio.

Para la obtención de las muestras deben usarse tubos y tapas libres de glicerol.

Los triacilglicéridos se reportan como estables por 3 días a temperatura ambiente. Sin embargo se recomienda almacenamiento refrigerado o congelado de las muestras.

DETERMINACION DE ARGINASA.

La actividad de la arginasa se mide indirectamente midiendo la concentración de urea.

Fundamento de la prueba.

Para medir el contenido de urea se utiliza una modificación del método propuesto por Geyer y Dabich.

Contenido.

Reactivo colorido. Extracto acuoso de una solución que contiene 2.4 mM de tiosemicarbazida y 4.1 mM de 2-3 butanodienmonoxima.

Reactivo ácido. (se prepara al momento de usarse) 0.1 ml de cloruro férrico 0.12 mM en ácido fosfórico al 56.7 %. Esta alícuota se lleva a un volumen de 100 ml. con ácido sulfúrico al 20 %.

Procedimiento.

Para determinar la actividad de arginasa se hicieron previamente mediciones a diferentes valores de pH. Con lo que se pudo establecer la condición de medida óptima para la enzima de cada glándula: Para esto se toman 0.2 ml de homogeneizado y se le agregan 0.5 ml de buffer ($MnCl_2$ 0.2 mM en Tris HCl 0.04 M previamente ajustado para obtener la actividad máxima de la enzima y solución salina al 0.9 % y pH para diferente para cada glándula.(cuadro 1). Se incubaba a 55 grados centígrados durante 1 hora, se centrifuga durante 10 minutos a 3000 rpm se toma del

sobrenadante una alícuota para hacer una dilución 1:10, de la dilución anterior se toman 0.9 ml y se le agrega 0.1 ml de una solución de arginina 0.04 M pH 9.4 que contiene glicina 0.15 M, se incuba a 37 grados centígrados por 15 minutos, e inmediatamente se pone en baño de agua hirviendo durante 15 minutos, se toman las alícuotas y se completa a un mililitro con agua destilada, se agrega a esta muestra 1 ml de reactivo colorido y 2 ml de reactivo ácido, se mezclan y se cubren los tubos. Se calientan a 92 grados centígrados durante 25 min. posteriormente se enfrían y se lee la absorbancia a 530 nm.(cuadro 2).

Las muestras, el blanco y la curva estándar se hacen por duplicado.

A la lectura de la muestra se le resta la lectura del blanco de forma que la absorbancia se interpola en una curva estándar contra la concentración de urea en ug. Teniendo los microgramos de urea, estos se relacionan con los microgramos de tejido que se tienen al final de todo el procedimiento, partiendo de la concentración inicial del homogeneizado. El factor obtenido ug urea/ug de peso húmedo (tejido) se relaciona con la concentración de proteína.

Cuadro 1.

GLANDULA.	pH
PAROTIDA	11.0
SUBMAXILAR	8.5
SUBLINGUAL	8.5
VON EBNER	10.0

Cuadro 2. Procedimiento que se sigue para la determinación colorimétrica de urea.

	UREA mcg	AGUA (ml)	MONOXIMA TIOSEMICARBAZIDA (ml)	CLORURO Fe (ml)
BLANCO	0	1	1	2
1	1.5	0.9	1	2
2	3.0	0.8	1	2
3	4.5	0.7	1	2
4	6.0	0.6	1	2
5	7.5	0.5	1	2

DETERMINACION DE PROTEINAS.

Método de Lowry para determinación de proteínas con el reactivo de Folin-Ciocalteu (34).

FUNDAMENTO:

Desde que fue propuesto el reactivo de Folin para la determinación de proteínas, se han reportado numerosas modificaciones analíticas en cuanto a su procedimiento de utilización. Se han estudiado las peculiaridades y limitaciones de este reactivo en cuanto a efectos a diferente pH, tiempo de reacción, concentración de reactivos y sustancias que interfieren.

Existen dos pasos que dan origen al color final con la proteína:

- a) La reacción con el cobre en alcali.
- b) La reducción del reactivo fosfomolibdico-fosfotungstico por la proteína tratada con el cobre.

RACTIVOS:

1.- Solución 1

Hidróxido de sodio al 2 %

Tartrato doble de sodio y potasio al 0.02 %

2.- Solución 2

Solución al 0.5 % de sulfato de cobre ; agua destilada.

3.- Solución 3

Se mezclan 50 volúmenes de la solución uno en 1 volumen

de la solución dos al momento de usarse.

- 4.- Reactivo de Folin- Ciocalteu (diluido).
- 5.- Solución estándar de albúmina bovina 0.2 mg/ml .

Cuadro 3. Procedimiento que se sigue para hacer una curva de proteínas (Lowry).

	ALBUMINA mcg	AGUA (ml)	MEZCLA CUPROALCA LINA(ml)	REACTIVO FOLIN (ml)
BLANCO.	0	0.5	2	0.2
1	20.0	0.4	2	0.2
2	40.0	0.3	2	0.2
3	60.0	0.2	2	0.2
4	80.0	0.1	2	0.2
5	100.0	0.0	2	0.2

APARATOS

- 1.- Colorímetro.
- 2.- Baño de 37 grados centígrados.
- 3.- Centrifuga.
- 4.- Vortex.

PROCEDIMIENTO

Se toman 0.1 ml. de homogeneizado y se le agregan 0.5 ml. de hidróxido de sodio 1 N, se incuba a 37 grados centígrados durante 30 minutos. Se centrifuga a 3000 rpm y se toma una alícuota del sobrenadante para hacer una dilución de 1:10.

Se toman las alícuotas según el tipo de glándula y se completa a 0.5 ml. con agua destilada. Hecho lo anterior se agrega 2 ml. de la solución 3 y se deja reposar durante 10 minutos. Después se agregan 0.2 ml. del reactivo de Folin y se deja reposar durante 20 minutos, de forma que pasado este tiempo se lee la absorbancia a 530 nm.

Las muestras, blanco y curva estándar se hacen por duplicado.

CALCULOS :

La unidad en la que fue reportada la cantidad de proteína en el tejido fue la siguiente:

mg. prot/ mg. de tejido.

A la lectura de la muestra se le resta la lectura del blanco de modo que la absorbancia resultante se interpola en la curva estándar de absorbancia contra concentración de proteínas en ug.

Teniendo los ug. de proteínas se relaciona con los ug de tejido que se tienen al final de todo el procedimiento partiendo de la concentración inicial del homogeneizado. Teniendo el factor de ug. de prot/ug. de tejido (peso húmedo).

DETERMINACION PESO SECO.

Determinación rápida del peso seco por colorimetría (35).

FUNDAMENTO :

Es un método colorimétrico rápido y preciso para la determinación del peso seco de muestras biológicas. El método consiste en hacer reaccionar las muestras en una solución altamente ácida de dicromato de potasio durante 20 minutos a 92 grados centígrados y enseguida determinar la densidad óptica del producto formado a 630 nm.

Las ventajas de este procedimiento son las siguientes:

- a) Requiere de un mínimo de tiempo para la determinación.
- b) Su mayor sensibilidad y exactitud se obtiene usando equipo estándar del laboratorio.
- c) El método es insensible a compuestos inorgánicos y por lo tanto puede ser aplicado a homogeneizados de tejidos preparados en soluciones inorgánicas.

DESVENTAJAS:

- a) El dicromato reacciona específicamente con grupos que contienen carbono.

REACTIVOS :

1.- Solución de dicromato de potasio en ácido sulfúrico concentrado.

1 g. de Dicromato de potasio.

50 ml. de Acido Sulfúrico Concentrado.

calentar a 70 grados centígrados.

2.- Solución estándar de manosa o manitol 2 mg/ml.

APARATOS.

1.- Parrilla eléctrica.

2.- Colorímetro.

3.- Vortex.

PROCEDIMIENTO :

Se toman 0.05 ml. del homogeneizado y se completa a 1 ml. con agua destilada. Una vez hecho esto se agregan deslizando por la pared del tubo 2 ml. de la solución del dicromato de potasio en ácido sulfúrico y se mezclan, se deja enfriar y se lee la absorbancia a 660 nm.

Las muestras, el blanco y la curva estándar se elaboran por duplicado.

CALCULOS :

La cantidad de peso seco se reporta como :

ug peso seco/mg de tejido húmedo.

A la lectura de la muestra se le resta la lectura del blanco de modo que la absorbancia resultante se interpola en una curva estándar de absorbancia contra concentración de manosa manitol.

Cuadro 4. Procedimiento para determinar peso seco.

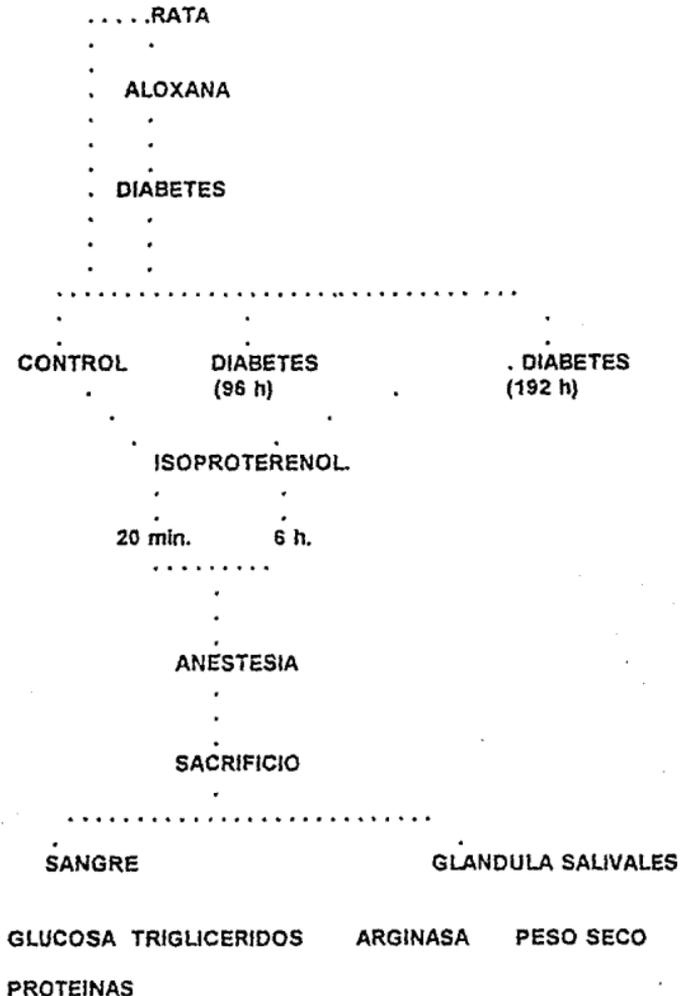
	MANITOL mcg	AGUA (ml)	SOLUCION OXIDANTE
BLANCO	0	1.0	2
1	400	0.8	2
2	800	0.6	2
3	1200	0.4	2
4	1400	0.2	2
5	2000	0.0	2

Teniendo los ug. de peso seco se relacionan con los ug. de tejido que resultan del procedimiento dado partiendo de la concentración original del homogeneizado.

Lo que se expresó como:

ug. de peso seco /mg de tejido húmedo.

DIAGRAMA DE PROCESAMIENTO DE TEJIDO.



RESULTADOS.

INDUCCION DE DIABETES.

La administración de aloxana a una dosis de 120 mg/kg de peso fue capaz de inducir hiperglucemia a las 96 horas como se pudo ver por los valores de glucosa en el suero, los cuales fueron significativamente diferentes ($P < 0.005$). Para el grupo control de 135.41 ± 10 mg./dl y para el grupo diabético de 363.87 ± 52.03 mg/dl ($n=7$). Los valores de triacilglicéridos también fueron modificados de 47.18 ± 5.53 mg/dl en el grupo control a 70.83 ± 21.46 mg/dl ($n=7$), para el grupo tratado con aloxana, corroborando el estado diabético Tabla 4.

Por lo que es este se estableció como óptimo para estudiar los efectos de la diabetes químicamente inducida sobre las diferentes glándulas salivales de ratas.

PERDIDA DE PESO CORPORAL A LAS 96 Y 192 HORAS.

Con relación al peso de las ratas se observó una disminución en el grupo de animales tratados con aloxana después de 96 horas, al compararlos con ratas normales. Cuando se analizaron los datos de peso en forma individual se observó para la rata 1 un cambio de 336 a 298 g, la rata 2 de 337 a 302 g, en la rata 3 de 301 a 268 g en la rata 4 de 328 a 291 g, en la rata 5 de 307 a 271 g, en rata 6 de 332 a 279 g, en todos los casos la pérdida de peso fue considerable (Ratas normales 323.5 ± 15.55 , Diabéticas 96 horas 284.33 ± 14.24) Tabla 1.

En el grupo de ratas sacrificadas a las 192 horas observamos el mismo comportamiento con relación a la pérdida de peso. A si en la rata 1 donde el cambio fue de 328 a 246 g , seguía el mismo comportamiento de disminución de peso en relación con el grupo de 96 horas, en la rata 2 de 336 a 272 g, en la rata 3 de 310 a 256 g , en la rata 4 de 313 a 266 g , en la rata 5 de 327 a 275 g , y en la rata 6 de 307 a 233 g , en todas las ratas la pérdida de peso fue significativa (Ratas normales 320.16 ± 11.72 , Diabéticas 192 horas 258 ± 16.26) (Tabla 2.)

PESO DE GLANDULAS.

Se pudo observar una pérdida de peso en las glándulas de las animales tratados con aloxana en relación al peso de las glándulas normales.

En la Glándula Parótida (n=10) el cambio fue de 610.20 ± 108.80 a 523.03 ± 198.45 mg.

En la glándula submaxilar (n=10) de 646.39 ± 39.07 a 543.15 ± 12.14 mg.

En la glándula sublingual (n=10) de 183.52 ± 43.08 a 103.10 ± 21.13 mg.

En la glándula de von Ebner (n=5) de 79.22 ± 16.16 a 118.22 ± 46.06 mg. (Tabla 5).

CONCENTRACIONES DE PROTEINAS.

Las concentraciones de proteínas totales de los grupos de ratas normales y ratas diabéticas en las glándulas parótidas (n=10) fueron en promedio de 86.27 ± 27.10

mg. de prot./mg de tejido para ratas normales y mostrando un descenso significativo de 50.20 ± 20.37 mg. de prot./mg de tejido en diabéticas a las 96 horas.

En las glándulas submaxilares ($n=10$) se presentó el mismo patrón 110.62 ± 6.04 mg. de prot./mg de tejido en el grupo de ratas control y 46.59 ± 9.82 mg. de prot./mg de tejido en el grupo de ratas diabéticas.

En las glándulas sublinguales ($n=10$) 94.94 ± 11.78 mg. de prot./mg de tejido en grupo de ratas normales y 40.60 ± 9.22 mg. de prot./mg de tejido en el grupo de ratas diabéticas siguiendo un patrón similar.

Las glándulas de von Ebner ($n=5$) 130.68 ± 19.14 mg. de prot./mg de tejido en el grupo de ratas control y 30.39 ± 2.54 mg. de prot./mg de tejido para el grupo de ratas diabéticas a las 96 horas, estas glándulas mostraron el valor mas bajo en las condiciones en que se realizo este trabajo.

Los resultados que se obtuvieron se presentan en la tabla 5 y se comparan con los obtenidos en las glándulas de ratas diabéticas de 192 horas en el grupo control.

Las glándulas parótidas ($n=10$) tuvieron en promedio 86.27 ± 27.70 mg. de prot./mg de tejido para el grupo de ratas normales y disminuyó a 51.66 ± 15.42 mg. de prot./mg de tejido en diabéticas 192 horas.

En las glándulas submaxilares ($n=10$) cambio de 110.62 ± 6.04 mg de prot./mg de tejido en el grupo de ratas normales y 46.44 ± 13.62 para el grupo de ratas diabéticas de 192 horas, donde también se presento una disminución marcada.

Las glándulas sublinguales (n=10) mostraron el siguiente comportamiento 94.94 ± 11.78 mg. de prot./mg. de tejido para el grupo de ratas normales y 55.32 ± 55.32 mg. de prot./mg de tejido húmedo para el grupo de ratas diabéticas a las 192 horas. Esta glándula presentó un incremento con respecto al grupo de 96 horas (40.60 ± 9.82 mg. prot./mg de tejido) pero sin alcanzar el valor de ratas normales (94.94 ± 11.78 mg. de prot./mg de tejido).

Con respecto a las glándulas de von Ebner (n=5) los resultados que obtuvimos fueron de 130.68 ± 19.14 mg. de prot./mg de prot. para el grupo de ratas normales y 38.03 ± 10.80 mg. de prot./mg de tejido presentando un ligero incremento en relación al grupo de ratas diabéticas tratadas a las 96 horas (30.37 ± 2.54 mg de prot./mg de tejido) pero sin llegar a los valores de rata normal 130.68 ± 19.14 mg. de prot./mg de tejido para ratas normales, los cuales nos indican que estas glándulas son las mas afectadas (Tabla 5.)

DETERMINACION DE PESO SECO.

En relación a la determinación de peso seco en glándulas parótidas (n=10) de ratas tratadas a las 96 horas se obtuvieron los valores de 196.89 ± 37.59 mg de peso seco/mg de tejido y con respecto al grupo de ratas normales 190.72 ± 69.39 ug de peso seco/mg de tejido húmedo. Para las ratas tratadas por 192 horas se obtuvo un valor de 245.60 ± 135.59 ug de peso seco/mg de tejido húmedo presentando este grupo el valor mas alto.

En las glándulas submaxilares (n=10) el valor fue de 157.99 ± 40.56 ug de peso seco/mg de tejido húmedo para el grupo de ratas diabéticas de 96 horas y de 16.45 ± 3.76 ug de peso seco/mg de tejido húmedo y en el grupo control. Para el grupo de ratas tratadas a las 192 horas, 171.15 ± 51.12 ug de peso seco/mg de tejido húmedo presento aumento considerable al ser comparados entre si.

Un comportamiento similar presentaron las glándulas sublinguales (n=10), el grupo de ratas normales mostró un valor de 14.41 ± 03.85 ug de peso seco/mg de tejido húmedo. Para el de ratas diabéticas tratadas a las 96 horas el valor fue de 152.65 ± 51.31 ug de peso seco/mg de tejido húmedo, mientras que las ratas de 192 horas dieron un valor de 130.93 ± 54.93 ug de peso seco/mg de tejido húmedo.

En las glándulas de von Ebner (n=5) el valor del grupo de ratas normales fue de 249.64 ± 46.52 ug de peso seco/mg de tejido húmedo, para el grupo de ratas tratadas a las 96 horas 223.88 ± 22.04 ug de peso seco/mg de tejido húmedo y para el grupo de ratas diabéticas tratadas a las 192 horas, 161.48 ± 63.48 ug de peso seco/mg de tejido húmedo. Esta glándula presento una reacción a la inversa en relación a las demás glándulas ya que sus valores descendieron y en las demás glándulas los valores aumentaron (Tabla 6).

ACTIVIDAD DE ARGINASA.

El amortiguador para determinar la actividad de arginasa para cada glándula fue ajustado a diferentes valores de pH ya que previamente se realizaron pruebas para establecer las condiciones óptimas de medición de la actividad de la enzima en el tejido glandular (Cuadro 1). Los resultados de la actividad de arginasa en glándulas salivales de rata normal, con diabetes inducida a diferentes tiempos (96 y 192 horas) y tratadas con isoproterenol 20 minutos y 6 horas se presentan en la (Tabla 7).

En las glándulas parótidas (n=10) del grupo control normal se observó una actividad de 20.25 ± 0.85 nanomoles de urea/ mg de proteínas/min. En el grupo de ratas diabéticas 192 horas (n=10) los resultados fueron de 12.06 ± 2.03 nanomoles de urea/mg. Mientras que los resultados que obtuvimos con el sialogogo a los 20 minutos (n=10) fueron de 10.75 ± 0.78 nanomoles de urea/mg. de prot./min. y el registrado a las 6 horas (n=10) 12.65 ± 0.76 nanomoles de urea/mg de prot./min. aparentemente no se registró cambio alguno.

Las glándulas submaxilares (n=10) presentaron el siguiente comportamiento, 117.715 ± 13.20 nanomoles de urea/mg de prot./min. para el grupo de ratas control, Para el grupo de ratas diabéticas 192 horas (n=10) 79.83 ± 6.80 nanomoles de urea/mg. de prot./min. que también presentó disminución, en el grupo de ratas diabéticas sacrificadas a las 192 horas y tratadas con el

isoproterenol a los 20 minutos (n=10), los resultados fueron los siguientes: 53.69 ± 19.07 nanomoles de urea/mg. de prot./min. y de 29.00 ± 3.00 nanomoles de urea/mg. de prot./min. para el grupo de ratas diabéticas tratadas a las 192 horas y tratadas con isoproterenol y sacrificadas a las 6 horas (n=10).

Las glándulas sublinguales (n=10) del grupo control normal presentaron 52.20 ± 8.92 nanomoles de urea/mg. de prot./min. Para el grupo de ratas diabéticas control de 192 horas (n=10) 13.96 ± 5.46 nanomoles de urea/mg. de prot./min. A los 20 minutos (n=10) los resultados fueron 25.90 ± 2.69 nanomoles de urea/mg. de prot./min. A las 6 horas (n=5) 13.96 ± 5.46 nanomoles de urea/mg de prot./min. respectivamente presentando un comportamiento similar a las anteriores glándulas.

Las glándulas de von Ebner presentaron una actividad de 27.70 ± 0.24 nanomoles de urea/mg. de prot./min. para las glándulas normales control (n=5) y de 21.16 ± 4.32 nanomoles de urea/mg. de prot./min en el grupo de ratas diabéticas de 192 horas (n=5). Con respecto a las glándulas tratadas con el sialogogo a los 20 minutos (n=5) la actividad fue de 19.73 ± 09.16 nanomoles de urea/mg. de prot./min. y en el grupo que recibió el isoproterenol a las 6 horas (n=5) dio un valor de 22.70 ± 09.19 nanomoles de urea/mg. de prot./min. observándose una mayor recuperación a las 6 horas, a diferencia de las demás glándulas pero sin llegar a los valores del grupo normal. (Tabla 7).

TABLA 1.

PESO DE RATAS ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO CON
 ALOXANA 96 HORAS.

RATAS NORMALES	DIABETICAS 96 HORAS
----------------	---------------------

336 g.	298 g.
337 g.	302 g.
301 g.	268 g.
328 g.	291 g.
307 g.	271 g.
332 g.	279 g.

* $X=323.16 \pm 15.55$ $X=284.33 \pm 14.24$

Valores expresados en gramos.

* Promedio \pm D.E.

TABLA 2.

PESO DE RATAS ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO CON
ALOXANA 192 HORAS.

RATAS NORMALES	DIABETICAS 192 HORAS
----------------	----------------------

328 g.	246 g.
336 g.	272 g.
310 g.	256 g.
313 g.	266 g.
327 g.	275 g.
307 g.	233 g.

* $X=320.16 \pm 11.72$ $X=258 \pm 16.26$

Valores expresados en gramos.

* Promedio \pm D.E.

TABLA 3.

PESO PROMEDIO \pm LA D.E. DE LAS GLANDULAS SALIVALES NORMALES
Y 192 HORAS DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE
ALOXANA.

GLANDULA	NORMAL (CONTROL)	192 HORAS
PAROTIDA	610.20 \pm 108.88	523.03 \pm 198.45
SUBMAXILAR	646.39 \pm 39.07	543.15 \pm 12.14
SUBLINGUAL	183.52 \pm 43.68	103.10 \pm 21.13
VON EBNER	79.22 \pm 16.16	118.22 \pm 46.0

El peso esta expresado en gramos.

PESO DE GLANDULAS ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO CON ALOXANA 96 Y 192 HORAS

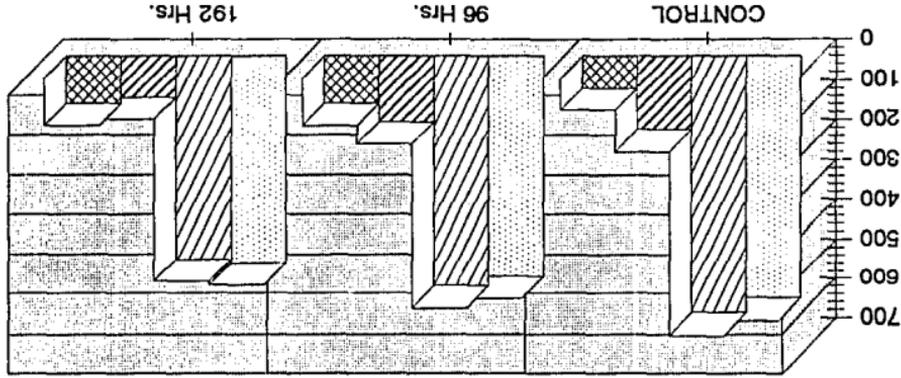


TABLA 3

GLANDULAS
 □ PAROTIDA ▨ SUBMAXILAR ▩ SUBLINGUAL ▤ VON EBNER

VALORES PROMEDIO EXPRESADOS EN MILIGRAMOS

TABLA 4.

**CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y TRIACILGLICERIDOS EN EL
SUERO DE RATA NORMAL Y CON DIABETES
INDUCIDA.**

Determinaciones	Control	Diabético
Glucosa mg/dl (n=7)	135.41±10	363.87±52.03 *
Triacilglicéridos mg/dl (n=7)	47.18±5.53	70.83±21.46 *

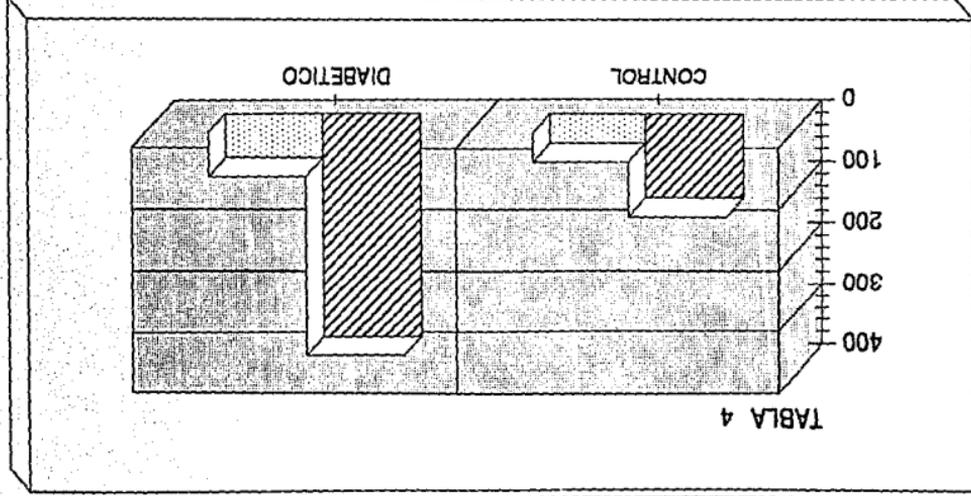
n= numero de determinaciones.

* Hay diferencia significativa cuando se compara con el control.
(Prueba estadística de Fisher).

(P<0.005).

CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y TRIACILGLICERIDOS EN EL SUERO
DE RATA NORMAL Y CON DIABETES INDUCIDA

mg/dl.



DETERMINACIONES
GLUCOSA ▨ TRIACILGLICERIDOS

Hay diferencia significativa cuando se compara con el control ($P < 0.005$)
 $n = 7$ (número de determinaciones).

TABLA 5.

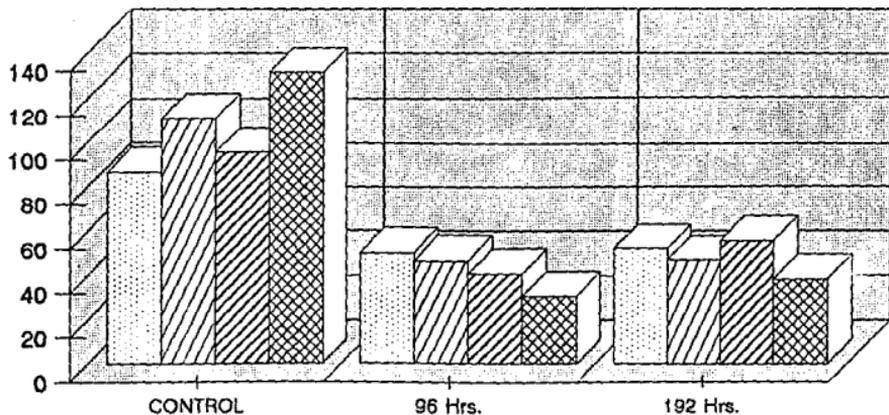
PROMEDIO \pm LA D.E. DE LA CONCENTRACION DE PROTEINAS TOTALES EN LAS GLANDULAS SALIVALES ANTES Y DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE ALOXANA.

GLANDULA	NORMAL CONTROL	TRATADA 96 HORAS	TRATADA 192 HORAS
PAROTIDA	86.27 \pm 27.10	50.20 \pm 10.37	51.66 \pm 15.42
SUBMAXILAR	110.62 \pm 6.04	46.59 \pm 9.82	46.44 \pm 13.62
SUBLINGUAL	94.94 \pm 11.78	40.60 \pm 9.82	55.32 \pm 12.89
VON EBNER	130.68 \pm 19.14	30.37 \pm 2.54	38.03 \pm 10-80

mg. de prot./mg de tejido.

VALORES DE PROTEINAS ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO
CON ALOXANA 96 Y 192 HORAS

TABLA 5



GLANDULAS

□ PAROTIDA ▨ SUBMAXILAR ▩ SUBLINGUAL ▩ VON EBNER

mg de prot/mg.de tej.

TABLA 6.

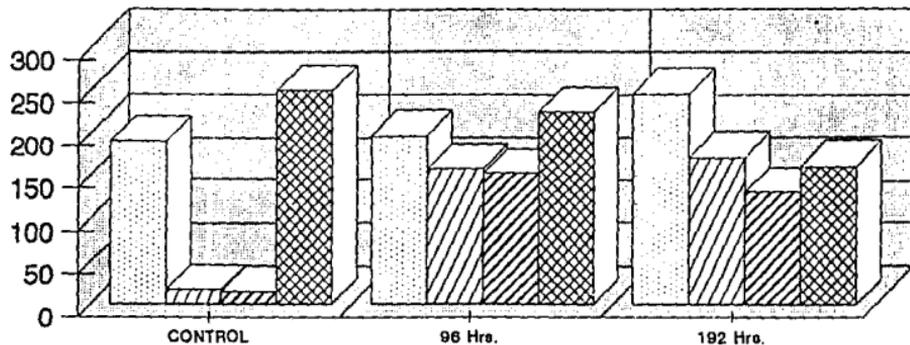
PROMEDIO \pm LA D.E. DE VALORES DE PESO SECO.

GLANDULA	NORMALES CONTROL	TRATADA 96 HORAS	TRATADA 192 HORAS
PAROTIDA	190.72 \pm 69.39	196.89 \pm 37.59	245.60 \pm 135.59
SUBMAXILAR	16.45 \pm 3.76	157.99 \pm 40.56	171.15 \pm 51.12
SUBLINGUAL	14.41 \pm 3.85	152.65 \pm 51.31	130.93 \pm 54.33
VON EBNER	249.64 \pm 46.52	223.88 \pm 22.04	161.48 \pm 63.48

ug de peso seco/mg de tejido húmedo.

VALORES DE PESO SECO DE RATAS NORMALES Y DIABETICAS A LAS
96 Y 192 HORAS.

TABLA 6



GLANDULAS

PAROTIDA
 SUBMAXILAR
 SUBLINGUAL
 VON EBNER

ug. de peso seco/mg. de tej húmedo.

TABLA 7.

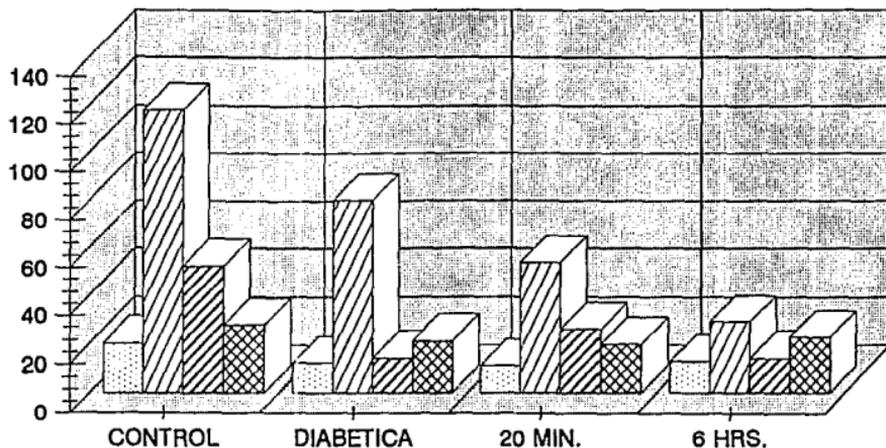
EFFECTO DE ISOPROTERENOL SOBRE LA ACTIVIDAD DE ARGINASA EN
GLANDULAS SALIVALES DE RATAS NORMALES Y TRATADAS CON
ALOXANA 192 HORAS.

GLANDULA	NORMAL CONTROL	DIABETICA 192 h CONTROL	ISOPROTERENO L 20 MINUTOS	ISOPROTERENOL 6 HORAS
PAROTIDA	20.25±0.85	12.06±2.03	10.75±0.78	12.65±1.76
SUBMAXILAR	117.715±13.20	79.83±6.80	53.69±19.07	29.0±3.0
SUBLINGUAL	52.2±8.92	13.96±5.46	25.90±2.69	13.90±2.26
VON EBNER	27.70±0.24	21.16±4.32	19.73±9.16	22.70±9.19

nanomoles de urea/mg. de prot./minuto.

EFFECTO DE ISOPROTERENOL SOBRE LA ACTIVIDAD DE ARGINASA EN GLANDULAS SALIVALES DE RATAS NORMALES, 192 H. 20 MIN. Y 6 H.

TABLA 7



GLANDULAS

PAROTIDA
 SUBMAXILAR
 SUBLINGUAL
 Serie 3
 VON EBNER

nanomoles de urea/mg. de prot/min.

DISCUSION.

La disminución en el peso que encontramos en las ratas diabéticas a las 96 y 192 horas fue considerable en relación a los grupos de ratas normales estos resultados están de acuerdo con los encontrados por Méndez y col.(36) quienes reportan que cuando se induce diabetes con aloxana, el peso de las ratas disminuye claramente.

El peso de las glándulas fue marcadamente disminuido en los tiempos de 96 y 192 horas relacionándolas con el grupo control.

Los valores de proteínas encontrados fueron considerablemente disminuidos lo que podría deberse en parte a la falta de insulina lo que sin duda afecta la síntesis de proteínas repercutiendo también en la actividad de la D y como consecuencia en la biosíntesis de poliaminas, aunque este parámetro no fue evaluado.

En cuanto a los valores de peso seco se encuentran aumentados los de las glándulas parótidas y glándula submaxilar, esto podría explicarse por el grado de deshidratación. La glándula de von Ebner disminuyo sus valores de una manera considerable (Tabla 4).

EFECTO DEL ISOPROTERENOL.

En la determinación de arginasa se encontró que en el grupo tratado con aloxana por 96 horas hubo aumento en la actividad de esta enzima. Por lo que estos datos concuerdan con los resultados reportados por Ikeno y col. (37) quienes observaron que en presencia de isoproterenol la ornitina descarboxilasa, enzima clave en la síntesis de poliaminas, es marcadamente estimulada.

El tratamiento con isoproterenol a la concentración y tiempos estudiados solamente fue capaz de inducir un mayor aumento en la actividad de arginasa a las 6 horas en la glándula de Von Ebner. Estos resultados sugieren un estudio a tiempos mas largos y a fin de revertir el daño glandular.

En animales diabéticos de 192 horas el isoproterenol solo aumenta la actividad de arginasa a los 20 minutos en el tejido de la glándula sublingual en relación al valor obtenido en rata diabética pero sin llegar al valor del grupo de ratas normales.

En las glándulas Parótida y von Ebner (Tabla 7) se obtuvieron valores que se acercaron a los resultados obtenidos en los grupos diabéticos control (n=5), pero sin llegar a los valores obtenidos en el grupo de rata normal.

Los valores obtenidos en parótida concuerdan con los reportados por Kikuchi et. al.(38) quienes encontraron que los agonistas colinérgicos y adrenérgicos estimulan la síntesis de poliaminas en esta glándula.

La arginasa que juega un papel importante en el ciclo de la urea puede estar en las glándulas salivales para proveer de ornitina, sustrato importante para la biosíntesis de poliaminas.

Con base en estos resultados nosotros pudimos observar que el isoproterenol es capaz de inducir un ligero incremento en la actividad de arginasa en la glándula sublingual. Por otra parte los resultados presentados también indican que las concentraciones de proteínas en las glándulas salivales; parótida, submaxilar, sublingual y von Ebner fueron afectadas por la inducción de diabetes con aloxana a las 96 horas (Tabla 5), corroborando lo encontrado por Leiget et. al. (38) quienes reportan que la Parótida es la glándula mas afectada cuando la rata es tratada con este fármaco.

CONCLUSIONES.

- 1.- La concentración de aloxana de 120 mg./kg. de peso es capaz de inducir diabetes en ratas.
- 2.- La actividad de arginasa fue afectada en todas las glándulas salivales.
- 3.- Se observó un aumento en el peso seco de las glándulas salivales lo que podría explicarse por la deshidratación que ocurre al manifestarse la diabetes ya que este es uno de los síntomas característicos de la enfermedad.
- 4.- Con base a los tiempos estudiados solo la glándula de von Ebner presentó un aumento en la actividad de arginasa (6 horas) aunque esta no alcanzó los niveles de arginasa normales, las demás glándulas presentaron una disminución considerable.
- 5.- La glándula sublingual presentó una mayor actividad en relación a las demás glándulas pero sin llegar a los valores de la rata normal y por los resultados obtenidos de la glándula von Ebner en 20 min. y 6 horas se observó una mayor recuperación a los 20 minutos a diferencia de las demás glándulas pero sin llegar a los valores del grupo normal.
- 6.- El secretagogo en la dosis empleada no fue capaz de estimular la actividad de arginasa en las diferentes glándulas.

REFERENCIAS.

- 1.- Orban, H.: Oral Histology, Sicher (Ed.) Saint Louis, 1966. 266-267 pp.
- 2.- Hand, R.H: The fine structure of the von Ebner's gland of the rat. J. Cell. Biol. 44: 340-343 1970.
- 3.- Ganong, W.F Fisiología Médica. Manual Moderno. Méx.D,f 1990 p.429
- 4.- Guyton, A.: Fisiología y Fisiopatología Básica. Interamericana (Ed.) Philadelphia, 1979. p. 500
- 5.- Del Castillo, L.F: Biología buco dental en Bioquímica e Inmunología, Vol II Hicks,J.J y Zagoya, J.C (Eds.) Facultad de Medicina, UNAM. D.F. 1989. p. 249.
- 6.- Houssay, B.A, Coldeyra, B.R. Fisiología Humana. Buenos Aires, Argentina 1969 p. 441
- 7.- Robbins, L.S. y Cotran, S.R.: Patología Estructural y Funcional. Madrid, Mc Graw-Hill (Ed.) 1990. p. 779

- 8.- Kissane, J.M : Patología.Interamericana (Ed.). St. Louis 1990, p.1202
- 9.- Robbins, L.S. y Cotran, S.R.: Patología Estructural y Funcional. Madrid, Mc Graw-Hill (Ed.) 1990. 184-185 pp.
- 10.- Garret, J.R. : The proper role of nerves in salivary secretion : A review
Department of oral Pathology. The Rayne Institute King's college J.Dent. Res. 66(2):
387-397, 1987.
- 11.- Spuge, J.D.: Oral Phatology. Saint Louis; Mosby Ed. pp.443-445
- 12.- Regezi, J.A and Sciubba, J.J.: Patología Bucal. Ed.Interamericana
Philadelphia,USA. 1989.p.249
- 13.- Goldman, H.M.: Patología Oral. Ed.Salvat Barcelona 1973 pp.1125,1131
- 14.- Giunta, J.: Patología bucal. Ed.Interamericana México 1978. pp.145
- 15.- Regezi, J.A., Sciubba, J.J.: Patología Bucal. Ed.Interamericana (Ed.)
Philadelphia,USA. 1991.p. 284

- 16.- Bhaskar, S.N.: Synopsis of Oral Pathology. Siger Ed. St Louis. USA. PP.588,589,590
- 17.- Bowman, W.C. Rand, M.J: Farmacología Bases Bioquímicas y Patológicas. Interamericana. Méx. D.F. 1990 p. 10.8
- 18.- Ganong, W.F. Fisiología Médica Manual Moderno. Méx. D.F 1989. p. 441.
- 19.- Bowman, W.C. Rand, M.J: Farmacología Bases Bioquímicas y patológicas. Interamericana. Méx. D.F. 1990 pp 11.27
- 20.- Hougard, M., Nielsen, J.H. and Larson, L.I.: Localization and biosynthesis of polyamines in insulin producing cells; Biochem. J., 238: 43-47, 1986.
- 21.- Benítez-Bribiesca, L., Mourell, M. Camacho-Escobar C., López-Urueta, G., Salas-Ramírez, R., Guevara, R. Y Freyre-Horta, R.: Función de las glándulas submaxilares y células microgranulosas en la diabetes experimental por estreptozotocina en la rata. Arch. Invest. Med. (MEX.), 14:379-405, 1983.
- 22.- Méndez, J.D., Yáñez. N. Wong, C. and Hicks, J.J.: Uterine arginase inhibition affect the rat embryonic development. Contraception, 33: pp. 597-604, 1986.

- 23.- Méndez, J.D.: Poliaminas. en: Bioquímica e Inmunología. Vol II., Hicks, J.J. Y Díaz-Zagoya, J.C. (Eds.) Facultad de Medicina, UNAM. MEXICO. D.F., 1989. pp 365-385.
- 24.- Pérez, R. y Méndez, J.D.: Presencia y función de las poliaminas de tejidos y fluidos bucodentales. *Práctica Odontológica* 11 (9): 63, 1990.
- 25.- Konarska, L. and Tomaszewski, L.: Human salivary arginase and its deficiency in argininaemia. *J. Clin. Chem Clin Biochem.*, 23: 337-342, 1985.
- 26.- Méndez, J.D., Pérez, R. Y Del Castillo, L.F.: (en preparación).
- 27.- Johnson, D.A. Alvarez, O.F. Etze, K.R. and Kalu, D.N. Regulation of salivary proteins. *J. Dent. Res* 66(2): 576-582, 1987.
- 28.- Kikuchi, K., Nishino, M. and Inohue, H.: Effect of sialogogues on the synthesis of polyamines and DNA in murine parotid gland. *Biochem. Biophys. Res. Commun*-144 (3): 1166, 1985.
- 29.- Nilsson, B.O., Ekstrom, J. and Rosengren, E. : Polyamine metabolism in rat parotid gland after duct ligation. *Acta Physiol. Scand.* 131 : 177-181, 1987.

- 30.- Blume, G.B., Koenig, H. and Golstone, A.D.: Association of increased polyamine levels with isoproterenol-stimulated mucin secretion in the rat submandibular gland. *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 132 (1): 118-125, 1985.
- 31.- Ekstron, J., Mansson, B., Nilson, O., Rosengren, E. and Tobin, C.: Increased polyamine formation in the rat salivary glands by stimulation of their autonomic nerve supply. *Oral Biol.*, 30(11/12):773-775. 1985.
- 32.- Lehinger, A. L.: *Bioquímica*. Omega (Ed.) Barcelona, 1991. p. 291
- 33.- Lehinger, A. L.: *Principios de Bioquímica*. Omega (Ed) Barcelona, 1991 p. 583
- 34.- Lowry, O.H. Rosenbrough, N.J. Farr, L.A. and Randall, R.J. (195) *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- 35.- Bernal, A. Méndez, J.D. y Rosado, A. A rapid colorimetric assay for dry weight. *Arch. Invest. Med. (Méx)*. 12: 83, 1981.
- 36.- Méndez, J.D. y Arreola M.A. Effect of L-Arginase on pancreatic arginase activity and polyamines in alloxan treated rats. *Biochem.Int.* 28 (4): 569-565, 1992.

37.- Ikeno, T. Ikeno, K. and Uno, T. Relationship serum-amylase activity and intraductal pressures in the rat parotid and submandibular salivary glands after administration of pilocarpine or isoprenaline. Arch. Oral-Biol. 33 (6) 403-406 1988.

38.- Kikuchi, K. Nishimo, M. and Inoue, H.: Effects of sialogogues on the syntheses of polyamines and DNA in murine parotid gland, Biochem.Biophys.Res Commun. 144 (3): 1161-1166, 1987

39.- Anderson, L.C.: Effects of alloxan diabetes and insulin in vivo on rat parotid gland. Am. J. Physiol.Society Gastrointestst. Liver Physil (8): 245 G 421-G437, 1983.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA