

147
2 ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

EFFECTO DE LA DL-LISINA EN GLANDULAS SUBMANDIBULARES DE RATAS DIABETICAS

PRUEBA ESCRITA

TITULACION POR ALTO PROMEDIO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

MARIA ELENA VELAZQUEZ ROMERO



TUTOR:

DR. EN C. JOSE DOMINGO MENDEZ F.

MEXICO. D. F.

1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

273501



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Este trabajo se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Metabólicas, Hospital de Especialidades, CMN, Siglo XXI, IMSS. Bajo la dirección del Dr. en C. José D. Méndez F.

A Dios.

Pedí fuerza para grandes logros,
me hizo débil para que aprendiera humildemente a obedecer.
Pedí poder para obtener las alabanzas del hombre,
me dió debilidad para sentir la necesidad de Dios.
Pedí de todo para disfrutar de la vida,
me concedió la vida para disfrutar de todo.
Pedí riquezas para poder ser feliz,
me dió pobreza para poder ser sabio.
Pedí salud para poder hacer cosas grandes,
me dió enfermedad para poder hacer cosas buenas.
No pedí nacer ... y Dios me dió una madre y un padre maravillosos.
No recibí nada de lo que pedí, pero me fue otorgado todo lo
que necesité y me fueron concedidas todas las peticiones que
No hice.
Gracias por permitirme terminar este logro.

A mi mamá:

Gracias por confiar en mi,
por tu apoyo y comprensión y
principalmente por **tu amor**.

A mi papá:

Gracias por toda la ayuda que me diste en el transcurso de mi carrera.

A mis hermanos:

Ivett y Eduardo, les dedico este logro con todo mi amor,
esperando algún día tener el suyo en mis manos.

A tí Eduardo:

Con todo mi amor, por tu apoyo y comprensión.
Este será un ejemplo.

A la Facultad de Odontología de la
Universidad Nacional Autónoma de México:

Gracias por abrirme sus puertas y brindarme
la oportunidad de estudiar y aprender.

CONTENIDO.

	Página
Resumen.	4
Introducción.	5
Diabetes Mellitus.	7
Clasificación de la Diabetes Mellitus.	10
Diabetes Mellitus y Cavidad Bucal	11
Diabetes Experimental.	12
• Aloxana.	12
• Estreptozotocina	15
Glándulas Salivales.	16
Páncreas	18
• Función Exocrina.	18
• Función Endocrina.	19
• Células α .	19
• Células β .	19
• Síntesis de Insulina.	19
Materiales y Métodos.	21
• Esquema de Trabajo.	22
• Determinación de Glucosa.	24
• Determinación de Triacilglicéridos.	24
• Determinación de Colesterol.	27
Procesamiento de Tejidos para Histología.	28
• Tinción de Hematoxilina-Eosina.	28
Resultados.	29
• Efecto de aloxana.	29
• Efecto de DL-lisina.	29
• Histopatología.	35
Discusión.	40
Conclusiones.	44
Bibliografía.	44

RESUMEN.

En este trabajo se estudió el efecto de DL-lisina, un aminoácido esencial, sobre las glándulas submandibulares y el páncreas de ratas de la cepa Sprague-Dowley normales y con diabetes inducida.

Se seleccionaron 24 ratas macho con un peso de 200 a 380 g. y se dividieron, en 4 grupos. El Grupo 1 no recibió ningún tratamiento (Control). El Grupo 2 fueron ratas normales, a las que se les inyectó 1ml de DL-lisina 10 mM, i.p. por 20 días. El Grupo 3 fueron ratas a las que se les indujo diabetes con 120 mg. de aloxana/kg. El Grupo 4 estuvo formado de ratas diabéticas a las que se les inyectó 1 ml. de DL-lisina 10 mM diariamente por 20 días.

Los animales fueron sacrificados a los días 10 y 20 del experimento. Se midieron glucosa, triacilglicéridos y colesterol en el suero de sangre colectada de la aorta abdominal. Las glándulas submandibulares y el páncreas fueron recuperados para histología.

Los resultados indican que la administración de DL-lisina 10 mM provocó daño en la glándula submandibular y en el páncreas de los animales normales y que este daño fue mayor en aquellas ratas que previamente habían sido inyectadas con aloxana.

La concentración de glucosa fue más alta en las ratas diabéticas que recibieron DL-lisina al día 10 del experimento (348.5 mg/dl vs. 208 mg/dl, respectivamente). Los estudios histológicos concuerdan con las alteraciones clínicas observadas. Se desconoce el mecanismo preciso por el cual la DL-lisina produce estos efectos, pero se propone que pudiera ser a través de la cadaverina, una diamina que se produce por descarboxilación de lisina, por lo que estos resultados abren una línea de investigación sobre los efectos de la DL-lisina en la cavidad bucal.

INTRODUCCIÓN.

Los aminoácidos se definen como compuestos orgánicos, constituidos por dos grupos funcionales: el grupo amino y el grupo carboxilo. Se les conoce más propiamente como α -aminoácidos (α -a.á.), debido a que ambos grupos funcionales están unidos al mismo átomo de carbono alfa, excepto la prolina que es un iminoácido. Los α -a.á. difieren entre sí en sus grupos R o cadenas laterales, los cuales les confieren diferentes propiedades físicas y químicas. La fórmula general de los α -a.á. se presenta en la *Figura 1*.¹

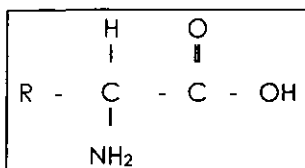


Figura 1. Fórmula general de los α -a.á.

El primer α -a.á. aislado de una proteína hidrolizada fue la glicina (antes conocida como glicocola), se obtuvo en 1820 a partir de la gelatina. Posteriormente en 1935 se aisló la treonina a partir de un hidrolizado de fibrina.²

Debido a sus propiedades ópticas los α -a.á. han sido clasificados en dos series: los $L\alpha$ -a.á. y los $D\alpha$ -a.á. Los primeros, además de constituir las unidades monoméricas de las proteínas desempeñan funciones celulares de vital importancia, ya que generan intermediarios que son utilizados en vías metabólicas diversas. También constituyen otros compuestos como los antibióticos; valinomicina, actinomicina D y gramicidina S. Son también componentes de paredes celulares bacterianas donde funcionan como un sistema de defensa contra diversas peptidasas.¹

Se han descrito cerca de 250 α -a.á. que han sido encontrados tanto en plantas como en hongos.³ Para la mayor parte de estos α -a.á. sus funciones biológicas no han sido dilucidadas. Dado que muchos son tóxicos, se cree que puedan tener una función de protección.¹ De cualquier manera resultan

¹ Voet, D. and Voet, J.: *Biochemistry*, John Wiley & Sons, USA, 1990, pp. 59-73.

² Lehninger, A.L.: *Bioquímica, Las bases moleculares de la estructura y función celular*, 2ª Edición, Ediciones omega, S.A., Barcelona, España, 1979, pp. 73.

³ Fowden, L., Lea, J.P. and Bell, E.A.: *The non-protein aminoacids of plants*, Adv. Enzymology 50:117-175, 1979.

de gran interés bioquímico, por su importancia fisiológica, su biosíntesis y metabolismo.⁴

Varios α -a.á. y sus derivados funcionan con frecuencia como mensajeros químicos en la comunicación entre células. Algunos de estos son: el ácido y aminobutírico (GABA) y la dopamina.^{1,5}

Algunos α -a.á. son producidos por el organismo y se consideran no indispensables y otros son indispensables o esenciales y deben por lo tanto ingerirse en la dieta.

Se ha informado en la literatura sobre la toxicidad que causa la administración de dosis excesivas de α -a.á. en algunas glándulas, tal es el caso de la L-arginina que produce pancreatitis necrosante en ratas cuando se inyectan dosis de 500 mg/100g de peso.^{6,7}

Este trabajo fue diseñado para estudiar el efecto de DL-lisina sobre las glándulas submandibulares en ratas normales y con diabetes inducida. Adicionalmente, se hicieron algunas observaciones sobre la función pancreática.

⁴ Meister, A.: *Biochemistry of aminoacids*, 2nd. Ed.; Academic Press, New York, USA, 1965.

⁵ Litter, M.: *Farmacología experimental y clínica*, 7ª Ed., El Ateneo, Argentina, 1986, pp. 565.

⁶ Kishino, Y. and Kawamura, S.: *Pancreatic damage induced by injecting a large dose of arginine*. Virchows Arch. (Cell Pathol) 47:147-155, 1984.

⁷ Tani, S., Itoh, H., Okabayashi, Y., Nakamura, T., Fujii, M., Fujisawa, T., Koide, M. and Otsuki, M.: *New Model of acute necrotizing pancreatitis induced by excessive doses of arginine in rats*. Digestive Diseases and Sciences 35(3):367-374, 1990.

DIABETES MELLITUS.

Definición y descripción.

Hasta hace unos días se consideraba a la diabetes como una enfermedad crónica en la cual el organismo prácticamente no utiliza insulina. En el mes de julio de 1997, se publicó la nueva clasificación de la diabetes por el COMITÉ DE EXPERTOS SOBRE EL DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS⁸, quienes definen a la diabetes mellitus como un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia que resulta de defectos de la secreción de insulina, defectos en su acción o ambos. Esta hormona, que es sintetizada y secretada por las células beta pancreáticas, capacita al cuerpo para utilizar la energía proveniente de los carbohidratos de los cuales la glucosa es el principal combustible para que el cuerpo obtenga la energía que requiere. La utilización de carbohidratos ocurre de manera primaria en el cerebro que oxida de 100 a 150 g de glucosa por día. Cuando se considera el consumo de glucosa de los tejidos periféricos junto con el del cerebro, se calcula que se requieren de 150 a 250 g de glucosa por día en un individuo normal, lo que implica un gasto promedio de 2 a 3 mg/min./kg. de peso.

Cabe señalar que el consumo de glucosa ocurre de dos formas: el consumo mediado por insulina y el consumo no mediado por insulina.⁹ Por definición, el consumo de glucosa mediado por insulina ocurre solamente en tejidos que son sensibles a la acción de esta hormona, de esta forma se consume el 30% de la glucosa total y se realiza en músculo esquelético, corazón y tejido adiposo. Por el segundo proceso el cual no es mediado por insulina se consume el 70% de la glucosa total y ocurre en el cerebro, nervios, células sanguíneas, riñón y tejido visceral. Cuando no hay insulina o bien ésta no actúa, el nivel de glucosa sanguínea aumenta. La hiperglucemia crónica de la diabetes se asocia con daño a largo plazo, disfunción y falla en varios órganos, especialmente en los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos.

Varios procesos patogénicos están involucrados en el desarrollo de diabetes. Éstos varían desde la destrucción autoinmune de las células beta del páncreas con la consecuente deficiencia de insulina hasta anomalías que resultan

⁸ Report of the Expert Committee on the *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. *Diabetes Care* 20(7):1183-1197, 1997.

⁹ Olefsky, J.M. and Molina, J.M.: *Insuline resistance in man*. In: *Diabetes mellitus*. Rifkin, H. and Porte, D. (Eds.) 4th Ed., Elsevier, N.Y., 1990, pp. 131-132.

en resistencia a la acción de la insulina. Las bases de las anomalías en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas en diabetes es la acción deficiente de la insulina sobre los tejidos blanco.

La acción deficiente de la insulina resulta de la inadecuada secreción y/o respuestas disminuidas de los tejidos a la insulina en uno o más puntos en las complejas vías de acción de las hormonas. El desajuste en la secreción de insulina y los defectos en la acción de la misma frecuentemente coexisten en el mismo paciente y por lo tanto no se sabe con certeza que anomalía, si hay una sola, es la causa primaria de la hiperglucemia.

Los síntomas de marcada hiperglucemia incluyen poliuria, polidipsia, pérdida de peso, algunas veces con polifagia, y visión borrosa. La hiperglucemia también puede acompañarse de alteraciones del crecimiento y susceptibilidad a ciertas infecciones.

Las complicaciones a largo plazo de la diabetes incluyen: retinopatía con pérdida potencial de la visión; nefropatía que conduce a falla renal; neuropatía periférica con riesgo de úlceras en los pies, amputación y neuropatía causando síntomas gastrointestinales, genitourinarios y cardiovasculares y disfunción sexual. La glicación de proteínas tisulares y otras macromoléculas y el exceso de producción de compuestos poliológicos a partir de la glucosa están entre los mecanismos que se ha pensado que producen daño tisular a partir de hiperglucemia crónica. Los pacientes con diabetes tienen una incidencia aumentada de enfermedad cardiovascular aterosclerótica, vascular periférica, y cerebrovascular.

La hipertensión, anomalías del metabolismo de lipoproteínas, y la enfermedad periodontal son con frecuencia encontradas en gente con diabetes. El impacto emocional y social de la diabetes y las demandas de terapia pueden causar importante disfunción psicológica en pacientes y sus familias.

La vasta mayoría de casos de diabetes caen en dos amplias categorías de etiopatogenia. En una categoría (diabetes tipo 1), la causa es una deficiencia absoluta de la secreción de insulina.

En individuos en un aumentado riesgo de desarrollar este tipo de diabetes pueden con frecuencia ser identificados por evidencia serológica de un proceso patológico autoinmune que ocurre en los islotes pancreáticos y por marcadores genéticos. En la otra categoría mucho más prevalente (diabetes tipo 2), la causa es una combinación de resistencia a la acción de la insulina y una inadecuada respuesta secretoria de insulina. En esta categoría se puede

presentar un grado de hiperglucemia suficiente para causar cambios patológicos y funcionales en varios tejidos blanco, pero sin síntomas clínicos, puede estar presente por un largo período de tiempo antes de que la diabetes sea detectada. Durante este período asintomático, es posible demostrar una anormalidad en el metabolismo de carbohidratos por mediciones de la glucosa plasmática en condiciones de ayuno o después de un desafío con una carga de glucosa oral.

Otros tipos específicos de diabetes, así como la diabetes gestacional se incluyen en el *cuadro 1*.

Datos Estadísticos.

En los Estados Unidos aproximadamente 14 millones de personas tienen diabetes (5-6% de la población), pero solamente 7 millones han sido diagnosticados y están recibiendo tratamiento. En nuestro país se calcula que del 6 al 8% de la población padece diabetes.

La diabetes es la tercera causa que conduce a nuevos casos de enfermedad renal, ceguera, amputación e impotencia. Las enfermedades del corazón y el infarto son de 2 a 6 veces más comunes en gente con diabetes.

Riesgo para Desarrollar Diabetes.

Cualquier persona puede desarrollar diabetes, pero el riesgo es mayor que el normal si se tienen cualquiera de los siguientes factores:

1. 40 años de edad o más.
2. Sobrepeso.
3. Una historia familiar de diabetes.
4. Si se tuvo diabetes durante el embarazo.
5. Si se tuvo un hijo con un peso 4050 g.
6. Si se tiene herencia hispánica, afroamericana o indioamericana.

CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS.⁸

Cuadro 1.

<p>I. Diabetes tipo 1 Destrucción de células β que conduce a una deficiencia absoluta de insulina. A. Mediada por mecanismos inmunológicos B. Idiopática</p>	<p>II Diabetes tipo 2 Existen variaciones que van desde el predominio de la resistencia a la insulina con relativa deficiencia de ésta, hasta el defecto predominante en la secreción con resistencia a la acción de la hormona.</p>
<p>III Otros tipos específicos-</p>	
<p>A. Defectos genéticos de la función de la célula β:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. En cromosoma 12, IINF-1α (MODY 3) 2. En cromosoma 7, glucocinasa (MODY 2) 3. En cromosoma 20, IINF-4α (MODY 1) 4. En DNA mitocondrial 5. Otros <p>B. Defectos genéticos en la acción de la insulina</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Resistencia a la insulina tipo A 2. Leprechaunismo 3. Síndrome de Rabson-Mendenhall 4. Diabetes lipotrófica 5. Otros <p>C. Enfermedades del páncreas exocrino</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pancreatitis 2. Traumatismo/pancreatectomía 3. Neoplasia 4. Fibrosis quística 5. Hemocromatosis 6. Pancreatopatía fibrocalcúscosa 7. Otras <p>D. Endocrinopatías</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Acromegalia 2. Síndrome de Cushing 3. Glucagonoma 4. Feocromocitoma 5. Hipertiroidismo 6. Somatostatinaoma 7. Aldosteronoma 8. Otras 	<p>E. Sustancias químicas o drogas capaces de inducir diabetes:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pentamidina 2. Ácido nicotínico 3. Glucocorticoides 4. Hormona tiroidea 5. Diazóxido 6. Agonistas β-adrenérgicos 7. Tiazidas 8. Difenilhidantoína 9. α-interferón 10. Otras <p>F. Infecciones</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Rubéola congénita 2. Citomegalovirus 3. Otras <p>G. Formas poco comunes de diabetes mediada inmunológicamente:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Síndrome del hombre rígido 2. Anticuerpos contra el receptor de insulina 3. Otras <p>H. Otros síndromes que algunas veces se asocian con diabetes:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Síndrome de Down 2. Síndrome de Klinefelter 3. Síndrome de Turner 4. Síndrome de Wolfram 5. Ataxia de Friedreich 6. Corea de Huntington 7. Síndrome de Lawrence Moon Beidel 8. Distrofia miotónica 9. Porfiria 10. Síndrome de Prader Willi 11. Otros
<p>IV Diabetes mellitus gestacional</p>	

DIABETES MELLITUS Y CAVIDAD BUCAL.

La cavidad bucal se ve afectada por el desarrollo de procesos infecciosos, alteraciones funcionales que producen un impedimento en la masticación y deglución. Se ha comprobado la presencia de anomalías en el funcionamiento de las glándulas salivales, semejante a las alteraciones que característicamente ocurren en el Síndrome de Sjogren, así como crecimiento asintomático de las glándulas salivales submandibulares y parótidas.

Una de las manifestaciones más frecuentes de la diabetes es la xerostomía, se cree que es un reflejo de la deshidratación general que se presenta en individuos no controlados.^{10,11} Además de la xerostomía, inflamación e hipertermia de la mucosa y pérdida de papilas filiformes de la lengua.

Las manifestaciones bucales de la diabetes comprenden, además de las periodontales: xerostomía, lengua ardiente, mal gusto y mayor predisposición a las infecciones por *Candida albicans*.

Los niveles de glucosa sanguínea se reflejan en los fluidos de la boca. Los niveles de glucosa en saliva de individuos no diabéticos se encuentran entre 0.2 y 3.3 mg/dl, mientras que en los diabéticos estos valores son del doble (0.45 - 6.3 mg/dl).

En hijos de madres diabéticas se han descrito alteraciones en la mineralización de la dentición primaria e hipoplasia simétrica del esmalte.

Se ha postulado que los niveles altos de glucosa y la disminución del flujo salival, puede influir en la incidencia de caries, tanto en humanos como en animales.¹⁰

¹⁰ Triger, N. and Boguslaw, B.: *The mouth in diabetes*. In: Diabetes Mellitus, Rifkin, H. and Porter, D. (Eds). Fourth Edition, Elsevier Science. New York. 1990, pp. 850-855.

¹¹ Méndez, J. D. y Ramos, H. G.: *Repercusiones de la diabetes mellitus en la cavidad bucal*. *Práctica Odontológica* 15(9):31-34, 1994.

DIABETES EXPERIMENTAL.

En animales, la inducción de la diabetes se ha logrado por medio de diversas técnicas experimentales. La diabetes es inducida en forma quirúrgica, por infección viral, administración de hormonas o con agentes químicos y algunos animales pueden desarrollar diabetes de manera espontánea como las ratas, ratones y hámsters, que son considerados modelos adecuados para el estudio del desarrollo natural de la enfermedad.¹²

En 1889 Von Mering y Minkowski produjeron diabetes experimental en perros mediante la pancreatometomía total, desde entonces se usa en muchas especies con el propósito de crear modelos experimentales.¹³

La administración de hidrocortisona y hormona adrenocorticotrópica inducen hiperglucemia e hiperplasia en las células β .

Por otra parte, el uso de agentes químicos para inducir diabetes permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción de un estado diabético.

Los agentes que han sido más usados son la aloxana y la estreptozotocina, que en dosis diabetogénicas actúan en forma selectiva por las células β pancreáticas.^{11 13} Se define como dosis diabetógena la cantidad de agente inductor que en 80% de los animales de una especie dada produce hiperglucemia sostenida y necrosis de las células β del islote pancreático y no causa daño en otros órganos.

Aloxana.

Es un derivado del ácido úrico con propiedades oxidantes, cuya fórmula es $C_4H_2N_2O_4$. Esta sustancia se combina fácilmente con el zinc y con los grupos sulfhidrilo, causando lesiones en las membranas de las células β del islote pancreático.

¹² Méndez, J. D. y Ramos, H. G.: *Modelos experimentales*. En: Diabetes Mellitus. Islas, S. y Lifshitz, A. (Eds.), Interamericana Mc Graw Hill, México, 1993, pp. 41-55.

¹³ Méndez, J. D. and Ramos, H. G.: *Animal models in diabetes research*, Arch. Med. Res. 25(4):367-75, 1994.

Es estable a pH menores de tres e inestable en agua a pH neutro. Desde hace muchos años se conoce la actividad diabética de esta sustancia, pero el mecanismo de acción preciso, aún se desconoce.¹⁴

Malaisse¹⁵ ha propuesto que los efectos dañinos sobre la permeabilidad de la membrana, sobre las rutas metabólicas generadoras de energía y sobre la secreción de insulina, se debe posiblemente a la formación de radicales libres; ya que en un medio con alta concentración de grupos SH, la aloxana es rápidamente reducida en la célula a ácido dialúrico, el cual la autoreoxida nuevamente a aloxana. Existen evidencias que demuestran la interacción entre la aloxana y los grupos SH de la membrana, es un efecto importante en su citotoxicidad.

Por su parte Kawada, et al¹⁶ informaron que los radicales aniónicos de la aloxana son los responsables del daño a las células β ; esto se genera probablemente por la acción del sistema microsomal citocromo P450 sobre ella; rechazando así la hipótesis de Malaisse que era la más aceptada hasta ahora, pues menciona que la aloxana no produce O_2 sino que muestra un efecto secuestrante de tal radical.

Okamoto y col.¹⁷ consideraron la fragmentación del DNA en las células β como un evento crucial causado por acumulación de superóxido y radical OH y/o alquilación de DNA. Las rupturas de las cadenas de DNA son responsables del deterioro de la síntesis y secreción de la insulina. Esto inicia inmediatamente los procesos de reparación que involucran la activación de poli (ADP-ribosa) sintasa y el empleo asociado de NAD. La disminución del NAD es tan precipitada que llega a ser irreversible y resulta en la interpretación virtual de la energía dependiente del NAD, metabolismo de proteínas y necrosis celular.

La administración de aloxana es más efectiva por vía intravenosa en una dosis de 40 a 45 mg/kg. y produce daño funcional irreversible en cuestión de minutos y cambios estructurales dentro de las primeras horas. En la *Figura 2*, se resume el mecanismo de acción de la aloxana.¹⁵

¹⁴ Méndez, J. D. y Ramos, H.G.: *Diabetes mellitus experimental*. En Ciencia Veterinaria, UNAM, México, 1989, pp. 914-927.

¹⁵ Malaisse, W. J.: *Mechanism of alloxan toxicity*. Biochem Pharmacol 31:3527-3534, 1982.

¹⁶ Kawada, J.: *New hypotheses for the mechanisms of streptozotocin and alloxan induced diabetes mellitus*, Ya Kung-Ku-Zasshi, 112(11) :773-791, 1992.

¹⁷ Okamoto, H., Yamamoto, H. and Takasawa.: *Lessons from animal diabetes II*. Shatiri E. Renold AE (Eds.), 1988, London, J. Libbey, 149-1557.

Mecanismos de Acción de la Aloxana.^{15,17}

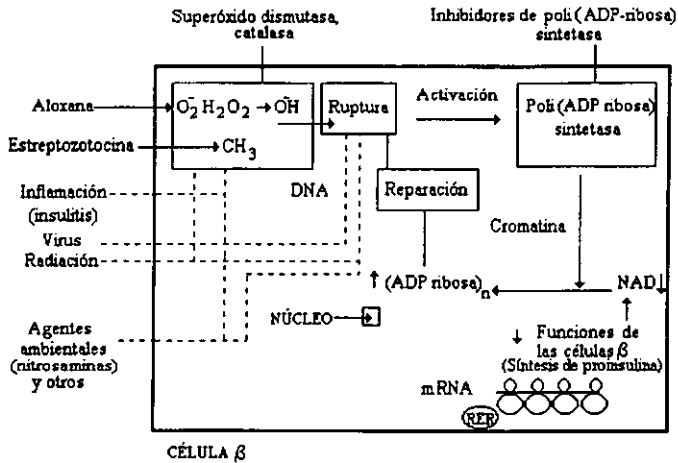


Figura 2

La secuencia de eventos que sigue a la inyección de la aloxana inician con una hiperglucemia regulada, por una excesiva secreción temporal de adrenalina, seguida rápidamente por liberación de insulina con un descenso de glucosa en la sangre, después se produce lesión en las células β , desaparece la insulina y las células degeneran con un incremento de los niveles de glucosa en la sangre.

Las células α de los islotes permanecen inalteradas. Sin embargo, cantidades excesivas del fármaco provocan daño en hígado, riñón y corteza suprarrenal^{11, 13}. Los efectos de la aloxana pueden ser prevenidos usando varios mecanismos como alcalosis metabólica inducida con bicarbonato de sodio, o lactato; la glucosa, manosa y la fructosa también protegen de la acción de aloxana.¹⁷

Estreptozotocina.

Es un antibiótico extraído de *Streptomyces acromogenes* y es preparado en forma pura. Su fórmula empírica es $C_8H_{15}N_3O_7$. Es una sustancia química selectiva para las células β .

A semejanza con la aloxana, la fijación a la membrana es el primer hecho en el proceso patológico, existen evidencias que indican que la toxicidad de la estreptozotocina es mediada por el reconocimiento específico de algunos receptores sobre las células β , se cree que provoca un decremento en los niveles del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD), ya que puede disminuir tanto su síntesis como incrementar su hidrólisis.¹²

Inhibe la incorporación de precursores de la síntesis de DNA, RNA y proteínas, el grupo 1 metil-nitrosourea es el responsable de la toxicidad celular, afecta a algunas células α -, la toxicidad se basa en el papel central de los nucleótidos de pirimidina en el metabolismo de las células β . La nicotinamida protege a los animales contra la citotoxicidad tanto de estreptozotocina como de aloxana.¹⁸

¹⁸ Abdel - Rahman, M.S., Elrakhawy, F. I. and Iskander, F.A.: *Protection of β cells against the effect of alloxan*, Toxicol Lett 63(2):155-164, 1992.

GLÁNDULAS SALIVALES.

Las glándulas salivales son glándulas exocrinas, estudios permiten sospechar que son órganos con función doble, una digestiva y otra probablemente endocrina, su situación como glándulas anexas al aparato digestivo y su estructura anatómica las hacen muy parecidas a la glándula pancreática, que tiene esa doble función.

Histológicamente están compuestas por elementos parenquimatosos cubiertos y sostenidos por tejido conectivo y constituido por unidades secretoras terminales, que llegan hacia conductos que desembocan en la cavidad bucal.¹⁹

Existen tres pares de glándulas de gran tamaño, localizadas extraoralmente, conocidas como glándulas salivales mayores, y éstas son, las parótidas, las submandibulares y las sublinguales; y numerosas glándulas pequeñas, ampliamente distribuidas en la mucosa y submucosa de la cavidad bucal, conocidas como glándulas salivales menores.²⁰ (Cuadro 2).

La función más importante de las glándulas salivales es la producción de la saliva, la cual provee de protección natural a los dientes y tejidos blandos de la cavidad oral, y ayuda a la masticación, deglución y digestión de los alimentos.

¹⁹ Netter, H.: *Sistema endocrino y enfermedades metabólicas*, Tomo IV. Colección CIBA de ilustraciones médicas, Masson Salvat - Medicina, 1993, 143-145, 159, 160, 163.

²⁰ Braskar, S.N.: *Histología y Embriología Bucal de Orban*. Editorial Prado, 1993. pp. 336-370.

Clasificación de las Glándulas Salivales.²⁰

Cuadro 2

Las glándulas salivales pueden ser clasificadas de tres formas:

- I. De acuerdo a la localización de las glándulas:
 - a) Glándulas del vestíbulo.
 - b) Glándulas de la cavidad oral propiamente dicha.
- II. De acuerdo a su tamaño:
 - a) Glándulas mayores.
 - b) Glándulas menores.
- III De acuerdo a las sustancias que las células secretoras elaboran:
 - a) Glándulas mucosas.
 - b) Glándulas serosas.
 - c) Glándulas seromucosas.

PÁNCREAS.

Está compuesto por dos tipos de tejido glandular bien diferenciados, que se encuentran topográficamente en íntima relación, la porción exocrina y la endocrina.

Función Exocrina.

Ocupa la mayor parte del espesor pancreático y en su interior se encuentran acúmulos de células endocrinas que constituyen los islotes pancreáticos.²¹

Las células secretoras acinares son de forma piramidal y se disponen en grupos redondeados y tubulares, en cada porción secretora se inserta un tubo intercalar estrecho, tapizado por células cuboidales y que más distalmente son substituidas por células columnares, contienen conductos interlobulares redondeados por tejido areolar con algunas fibras musculares lisas y fibras nerviosas.

Las células acinares zimógenas exocrinas tienen núcleo basal con citoplasma basófilo, en la porción apical supranuclear tiene un aparato de Golgi rodeado de numerosos gránulos de secreción que contienen las enzimas de secreción pancreática, también contiene células ganglionares y cordones de células epiteliales relativamente indiferenciadas, las cuales son pluripotenciales para reposición de las células de los islotes pancreáticos.

El páncreas es la principal fuente de enzimas como la alfa amilasa y el quimotripsinógeno, que actúan en el duodeno, el yeyuno y en menor cantidad en el íleon. En los seres humanos la síntesis de enzimas pancreáticas es de aproximadamente 10g. de proteínas por día. El páncreas de rata, que solo contiene 0.2g. de proteínas en su tejido, sintetiza cerca de 0.4g. de proteína enzimática, en 24 horas. El páncreas también secreta bicarbonato, el cual neutraliza el contenido ácido que el estómago pasa al duodeno. Esta secreción lleva el pH a un valor 6 - 7 en el duodeno, lo cual permite que las enzimas digestivas actúen con mayor eficacia.

²¹ Gayton, A.: *Fisiología y Fisiopatología Básica*, Interamericana Philadelphia, 1979, p. 500.

Función Endocrina.

Forma los islotes pancreáticos o los de Langerhans, los cuales son acúmulos esferoidales distribuidos irregularmente en la porción exocrina, se pueden contar hasta un millón de islotes en el individuo normal. Cada islote está formado por células endocrinas poliédricas con una red de capilares o sinusoides e inervación autónoma.²¹

Las principales y numerosas células endocrinas son el tipo α que secretan glucagón y el tipo β que secretan insulina, por lo general, las células α se localizan en la periferia de los islotes, mientras que las β son localizadas en el centro.

El tercer tipo de células endocrinas son las células D, las cuales son productoras de gastrina, y su localización en los islotes es periférica al igual que las células α ; se ha demostrado la presencia de somatostatina o un péptido similar.

Los islotes pancreáticos desempeñan un papel importante en el control del metabolismo, ya que, además de insulina, producen tres hormonas que son: glucagón, que es una hormona antagonista de la acción de la insulina, pues eleva los niveles de glucosa en la sangre; el polipéptido pancreático que regula la liberación de las enzimas digestivas pancreáticas, y la somatostatina, proteína que inhibe la secreción de las hormonas producidas por los islotes.

Células Alfa.

La distribución del glucagón extraíble en diversas porciones del páncreas, presenta un paralelismo relativo con la abundancia relativa de estas células.

Células Beta.

Son el centro de la síntesis, almacenamiento y secreción de insulina.

Síntesis de Insulina.

La insulina es una proteína pequeña, con peso molecular de 5734 daltones. La molécula de insulina está formada por dos cadenas polipeptídicas diferentes, una cadena A que consiste en 21 aminoácidos y una cadena B que consta de 30 aminoácidos unidos por dos puentes disulfuro.

La insulina se sintetiza como fragmento de una proteína mayor denominada proinsulina, la que a su vez tiene como precursor a la preproinsulina, que es sintetizada en los ribosomas. El páncreas humano tiene aproximadamente 200 unidades de insulina y se secretan 50 unidades por día, por lo tanto, poca insulina se almacena y se debe sintetizar con mucha rapidez.

La insulina aumenta la utilización de glucosa, facilitando así su transporte al interior de la célula, en especial la de los tejidos adiposo y muscular, su actividad es selectiva ya que solo transporta hexosas y pentosas que tienen la misma configuración en los primeros tres carbonos que la D-glucosa. La insulina incrementa la velocidad de oxidación de la glucosa en la célula en particular por vía glucolítica y aumenta la síntesis de glucógeno, especialmente en hígado y músculo esquelético; así mismo, impide la liberación de glucosa del hígado, inhibiendo a la enzima intracelular glucosa 6 fosfatasa, el resultado final de todos los efectos de la insulina es disminuir la concentración de glucosa en sangre.²²

²² Martín, J. M., Erlich, R.M., Holland, F.J.: *Etiology and Pathogenesis of Insulindependent Diabetes Mellitus*, Raven Press, New York, 1981, pp. 21-26.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Se utilizaron 24 ratas macho Sprague Dawley, con un peso de 300 a 380g. Los animales fueron alimentados con agua y dieta normal. Se dividieron al azar en cuatro grupos de 6 ratas cada uno. En el esquema de trabajo se muestra la integración de los cuatro grupos de ratas, distribuidos de la siguiente manera:

- Grupo 1. 6 ratas control.
- Grupo 2. 6 ratas control tratadas con DL-lisina.
- Grupo 3. 6 ratas diabéticas control.
- Grupo 4. 6 ratas diabéticas tratadas con DL-lisina.

Al grupo 1. No se le administró ningún tratamiento.

Al grupo 2. Se le administró 1 ml. de DL-lisina, (DL-lisina Cat. No. L-2513. Sigma Chemical Co.) 10 mM i.p. durante 20 días.

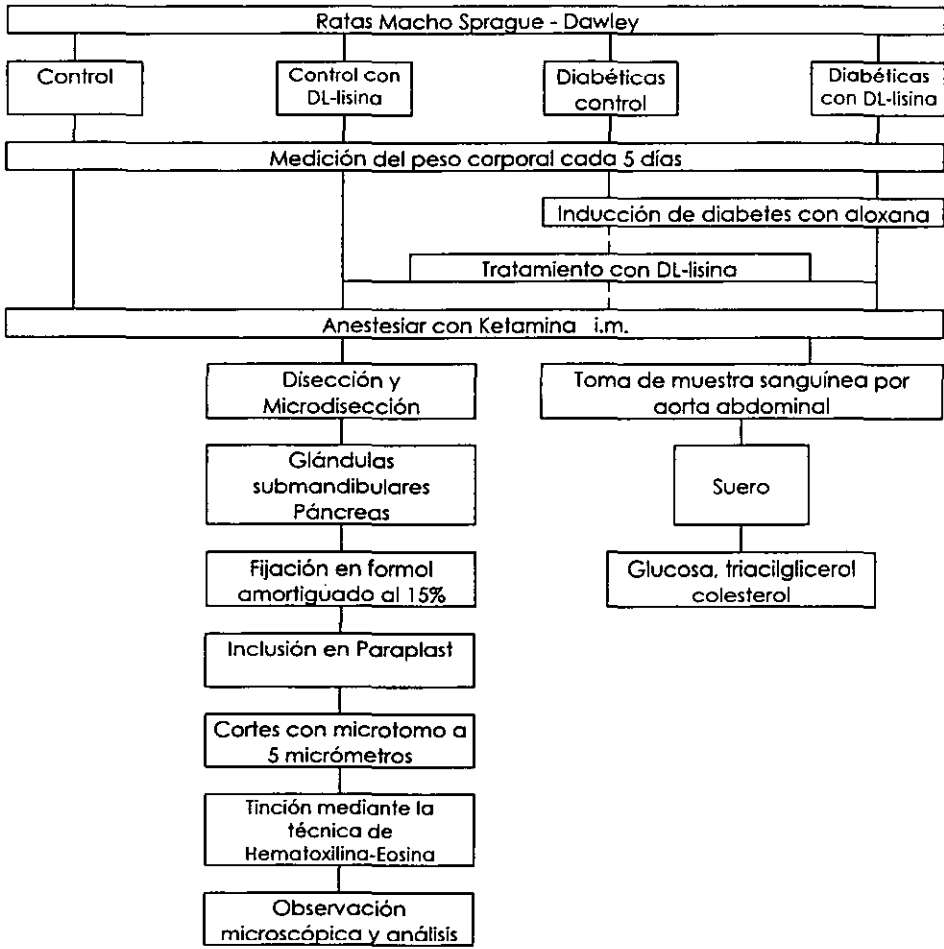
Al grupo 3. Se les indujo diabetes con una sola inyección de aloxana (Cat. No. A-8128 Sigma Chemical Co.); la dosis fue de 120 mg/kg. i.p.

Al grupo 4. Se les indujo diabetes con una sola inyección de aloxana; la dosis fue de 120 mg/kg. i.p. Se les administró diariamente 1 ml. de DL-lisina 10 mM, i.p durante 20 días.

El peso de los animales fue registrado desde el inicio del experimento y evaluado a diferentes tiempos, así como las mediciones de glucosa sanguínea, triacilglicéridos y colesterol total, de acuerdo al esquema de trabajo propuesto (*Figura 3*).

ESQUEMA DE TRABAJO.

Figura 3



Con la finalidad de tener valores de referencia, se sacrificaron 3 ratas, una de cada grupo, del 1 al 3. Las muestras de sangre fueron colectadas para hacer las determinaciones indicadas, y las glándulas submandibular y pancreática, separadas para histología.

Para la toma de muestras sanguíneas, las ratas fueron pesadas a los 10 y 20 días en condiciones de ayuno y anestesiadas con la administración de 0.6 ml. de Ketamina i.m., después de 20 minutos se procedió a diseccionar a la rata, se buscó la aorta abdominal que se localiza encima de la vena cava inferior y cerca del recto (Figura 4), donde se realizó la punción para la obtención de sangre, cada muestra fue colocada en un tubo de ensayo.

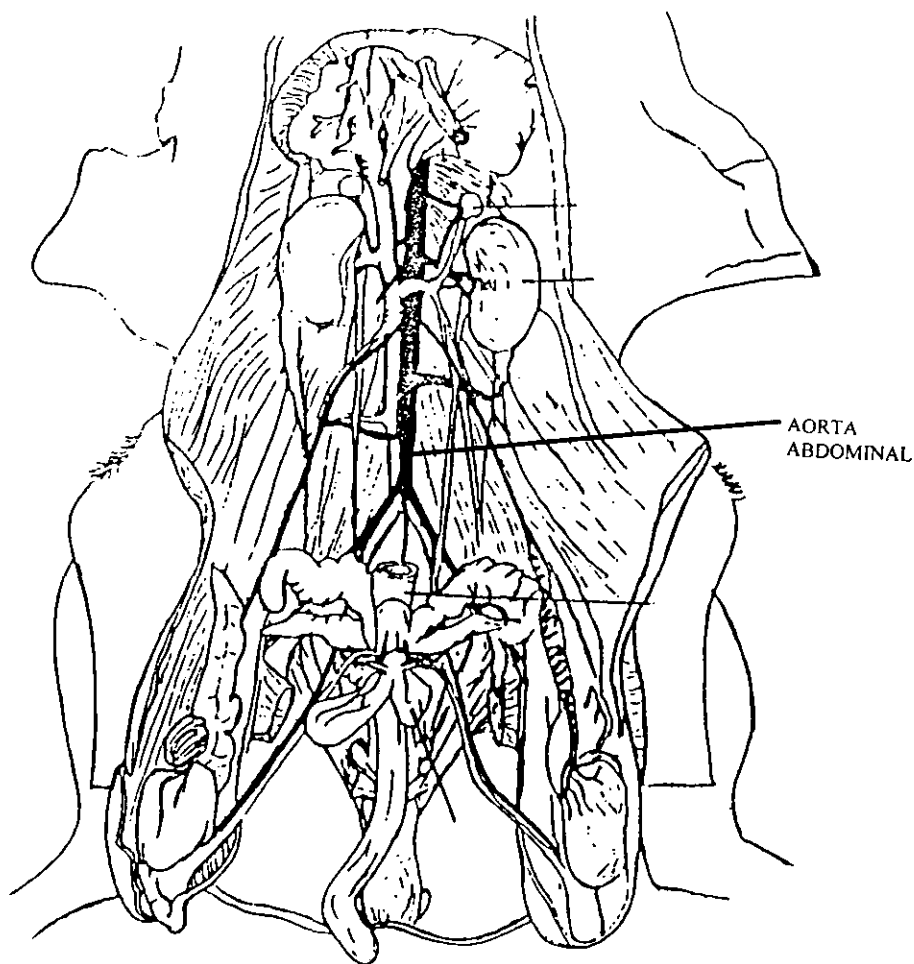


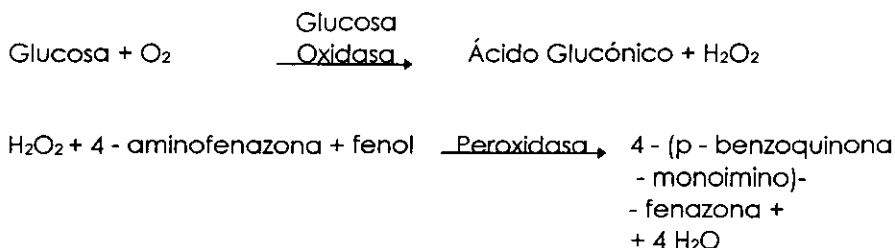
Figura 4. Localización de la aorta abdominal.

y centrifugada a 3000 x rpm, 15 minutos, separándose el suero, al que se le practicaron las determinaciones de glucosa, de triacilglicéridos y colesterol total. Posteriormente, se hicieron las disecciones del páncreas y de las glándulas submandibulares, colocándose en formol al 10% para observaciones histológicas por diferentes técnicas. En la *Figura 5*, se muestra la localización de las glándulas submandibulares de la rata.

Las determinaciones bioquímicas en el suero se hicieron como sigue:

1) *Determinación de la concentración de glucosa sanguínea.*

Se utilizó el método de glucosa-oxidasa de Trinder²³, que se basa en la oxidación de glucosa por la glucosa-oxidasa, con la subsiguiente cuantificación del peróxido de hidrógeno liberado, usando el reactivo de color 4-aminofenazona y fenol, el cual por medio de la fenol oxidasa nos forma un complejo colorido cuya absorbencia se mide a 540 mμ. La concentración de este complejo es directamente proporcional a la concentración de glucosa.

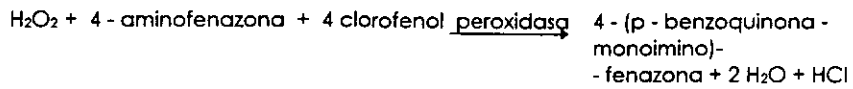
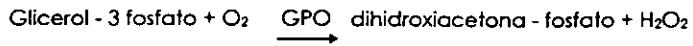
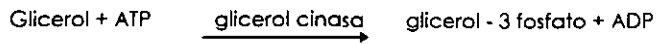


2) *Determinación de triacilglicéridos.*

Se determinaron con el método enzimático colorimétrico de Wahlefeld A.W.²⁴, basado en la hidrólisis enzimática de los triacilglicéridos por la lipasa y en la determinación enzimática subsiguiente de glicerol formado, por medio de las enzimas glicerol-cinasa, fosfoglicerol-oxidasa y peroxidasa, produciéndose H₂O₂ que forma un complejo colorido con el reactivo de color 4-aminofenazona y el 4 clorofenol cuya absorbancia se mide a 620 mμ el cual es directamente proporcional a la concentración de triacilglicéridos en la muestra.

²³ Trinder, P.: *Determination of glucose in blood using oxidase with an alternative oxygen acceptor*, Am. Clin. Biochem, 6:24, 1969.

²⁴ Wahlefeld, A. W. en: H. V. Bergmeyer, *Methoden der Enzymatischen Analyse*, 3° Ed. Tomo II, Verlag Chemie, Weinheim, 1974, pp. 1878.



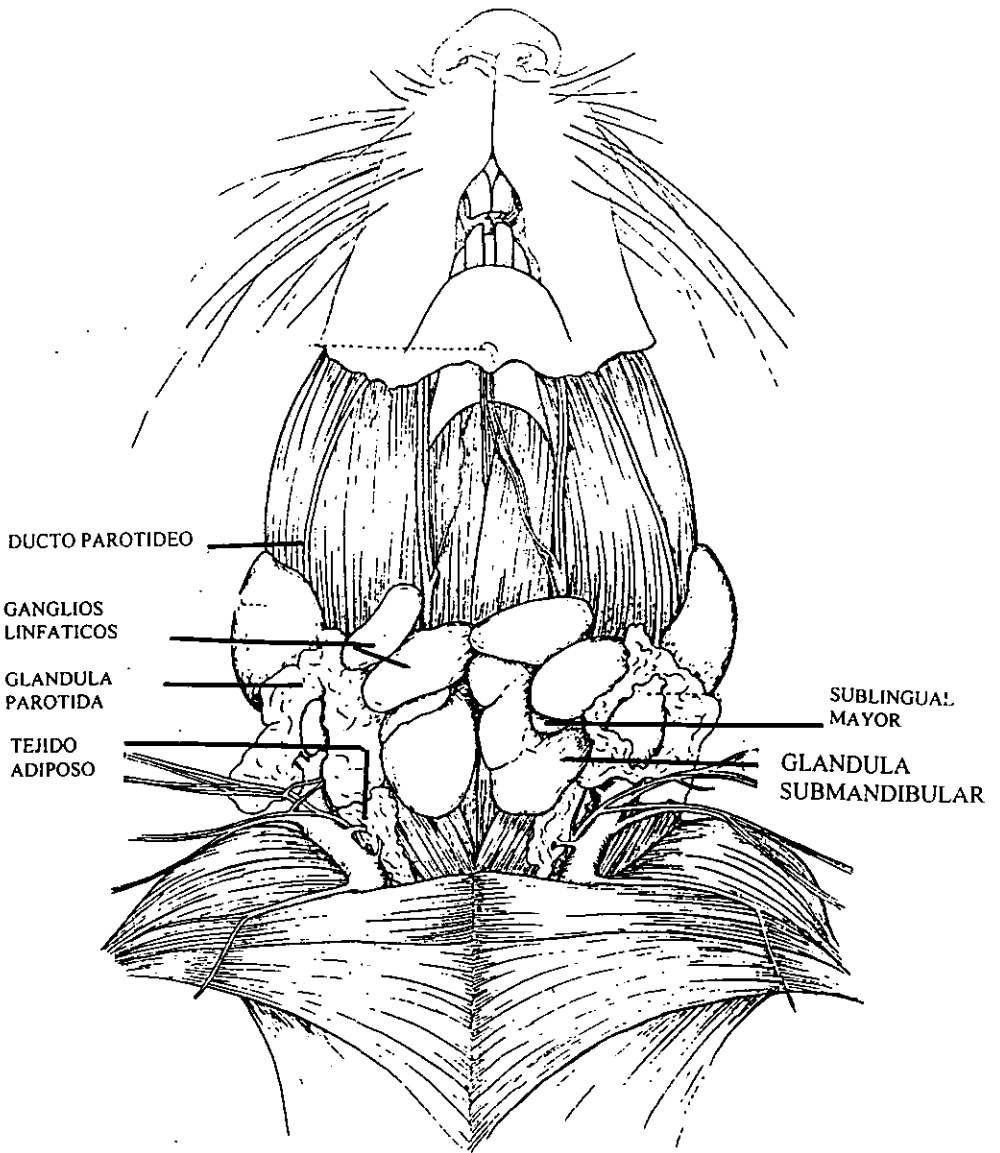


Figura 5. Disección superficial de las vísceras del cuello.

3) Determinación de colesterol total.

Se cuantificó por el método de Siedel y Katterman et al^{25,26} (reacción colorimétrica, que se fundamenta en la hidrólisis enzimática de los ésteres del colesterol por la colesterol esterasa y la oxidación del colesterol libre por la colesterol oxidasa.

La concentración de colesterol es directamente proporcional a la absorbancia a 540 mM que da el complejo formado con el reactivo de color 4-aminofenazona y el fenol con el H₂O₂ que se produce al oxidarse el colesterol libre.



²⁵ Siedel, J., Hägele, E.O., Ziegenhurn, J. and Wahlefeld, A.W.: *Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency.* Clin. Chem. 29:1075-1079, 1983.

²⁶ Katterman, R. and Cols.: *Rapid determination of total and free cholesterol in serum.* Clin. Chem. Clin. Biochem 22:245, 1984.

PROCESAMIENTO DE TEJIDOS PARA HISTOLOGÍA.²⁷

1. Tinción de Hematoxilina - Eosina.

Tejido:	En general.
Objetivo:	Esta técnica nos da un panorama general que nos permite decidir qué estructuras en especial queremos resaltar posteriormente.
Resultados:	Los núcleos se tiñen de morado. Citoplasma de naranja o rojo.
Material requerido:	Parafina, cajas de inclusión, lámpara de alcohol, microtomo de parafina, portaobjetos, tina de flotación.
Reactivos:	Hematoxilina de Harris y Eosina, xilol, alcohol al 100%, 96%, 70% y 30%, agua destilada y agua de la llave.
Procedimiento.	<ol style="list-style-type: none">1. Fijación en formol al 10%.2. Deshidratación e inclusión en parafina.3. Corte de 7 micrómetros.4. Montaje de los cortes en portaobjetos.5. Desparafinar e hidratar (xilol, alcohol, 100, 96, 70, 50%).6. Colocar los cortes en agua destilada.7. Teñir con Hematoxilina de 40 seg. a 5 min.8. Lavar con agua de la llave para virar el color carmesí o violáceo.9. Lavar con agua destilada.10. Deshidratar en alcoholes al 50 y 70%.11. Teñir con eosina de 1 a 2 seg.12. Deshidratar en alcoholes al 96% y 100% y montar.

²⁷ Aguilar, M., Cautiño, B. y Salinas, P.: *Manual General de Técnicas Histológicas y Citoquímicas*. 1ª Ed. Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F., 1996.

RESULTADOS.

Efecto de aloxana.

Después de la inyección i.p. de 120 mg. de aloxana/kg. de peso a los animales del Grupo 3, se observó una pérdida de peso considerable con respecto al Grupo 1 (Control), cuando el peso fue registrado al día 8 después de iniciado el experimento. Como puede observarse en la Tabla 1, la ganancia de peso en los animales tratados con aloxana fue en promedio de 16.7 g., mientras que en los animales normales fue de 26 g. En ocasiones la pérdida de peso fue tan alta que los animales no pudieron recuperarse, tal fue el caso de la rata 4 del Grupo 3, que registró una pérdida de peso de 108 g. al día 5 del experimento y tuvo que ser sacrificada, recuperando sus tejidos para análisis histológico.

En general la ganancia de peso de todos los grupos experimentales, estuvo por abajo del promedio del peso ganado por el Grupo Control que fue de 44.8 g. al término del estudio.

Estas observaciones concuerdan bien con datos previamente reportados en la literatura⁽¹²⁾, donde se describe que la inyección de aloxana provoca pérdida de peso, además de polidipsia, poliuria y polifagia, que son síntomas característicos de la diabetes mellitus.

Las determinaciones de glucosa en las muestras de sangre tomadas de la aorta aseguraron el estado diabético.

Clínicamente los animales mostraron hiperglucemia (132.5 mg/dl a 180 mg/dl) (figura 6) y los niveles elevados de triacilglicéridos (62 mg/dl a 104.5 mg/dl), (figura 7). Estos cambios fueron notables al día 10 del experimento.

Tanto los niveles de glucosa como los de triacilglicéridos fueron normales en el día 20, inclusive la concentración de triacilglicéridos fue menor que al inicio del experimento.

Efecto de DL-lisina.

Por demás interesante, resultó la observación cuando se registró el peso de las ratas del Grupo 2 (G2), que fueron tratadas con 1 ml de DL-lisina 10 mM,

i.p. (Tabla 1). La ganancia de peso al día 8 del experimento fue inclusive menor que la del Grupo 3, tratado con aloxana (promedio de 14 g. para el G2 y 16.7 g. para el G3, respectivamente). El comportamiento de los animales que recibieron DL-lisina fue muy similar al de aquellos que recibieron aloxana (G3). Los niveles de glucosa aumentaron considerablemente a los 10 días (132.5 mg/dl a 180 mg/dl y tendieron a disminuir al día 20 (149 mg/dl), (Figura 6).

La concentración sanguínea de triacilglicéridos fue alta a los 10 días y mostró una tendencia a la normalización al final del experimento (Figura 7), mientras que los niveles de colesterol permanecieron dentro de los valores normales.

Cuando la DL-lisina fue inyectada a los animales del grupo 4 (G4) que habían sido previamente inyectados con 120 mg. de aloxana/kg., causó una pérdida de peso aún mayor que aquella causada por la inyección de aloxana sola, siendo en promedio de 27.5 g. al día 8 del estudio. De este grupo de animales, la rata 4 había perdido ya 94.5 g. en este tiempo, valor que por ser tan alto no fue incluido para el cálculo del promedio anterior.

Con relación a las concentraciones de glucosa, éstas fueron más altas que las observadas en las ratas tratadas con aloxana (348.5 mg/dl y 208 mg/dl, respectivamente).

La concentración de triacilglicéridos fue elevada, similar a la observada para el Grupo Diabético (91 mg/dl y 104.5 mg/dl, respectivamente).

La concentración de colesterol no mostró variaciones importantes a los 10 o 20 días (Figura 8).

Tabla 1.

Control de peso (g) durante el tiempo de experimentación de las ratas normales y tratadas con aloxana y DL-lisina.

Grupo 1	Tiempo (días).						
	0	5	8	10	12	18	20
R-1	376		406	407†	-	-	-
R-2	302		328	np	343	348	349†
R-3	325		352	np	356	370	361.5†
R-4	320		346	345†	-	-	-
R-5	327		348	np	364	382	378†
R-6	328†		-	-	-	-	-
Grupo 2	0	5	8	10	12	18	20
R-1	364		378	376†	-	-	-
R-2	314		335	np	345	348	346†
R-3	345		349	355†	-	-	-
R-4	368		390	np	381	388	396†
R-5	335		344.5	np	355	366	365.5†
R-6	340†		-	-	-	-	-
Grupo 3	0	5	8	10	12	18	20
R-1	345		355.5	360†	-	-	-
R-2	345		366	np	385	384	368†
R-3	344		365	np	380	408	354†
R-4	330	222†	-	-	-	-	-
R-5	330		361	360†	-	-	-
R-6	327†		-	-	-	-	-
Grupo 4	0	5	8	10	12	18	20
R-1	336		290	292†	-	-	-
R-2	347		328.5		360	374.5	373†
R-3	340		317		348	352.5	347†
R-4	350		255.5	244†	-	-	-
R-5	323		306		338	362.5	362†
R-6	300		268		248.5†	-	-

Grupo 1 Grupo control.

Grupo 2 Grupo control + DL-lisina 10mM.

Grupo 3 Grupo diabético (120 mg. de aloxana/kg. i.p.).

Grupo 4 Grupo diabético tratado con DL-lisina 10mM, i.p.

†: Indica el tiempo de sacrificio.

np: No pesadas.

PROMEDIO DE LA CONCENTRACION DE GLUCOSA EN EL SUERO DE RATAS NORMALES Y DIABETICAS CON Y SIN TRATAMIENTO CON DL-LISINA.

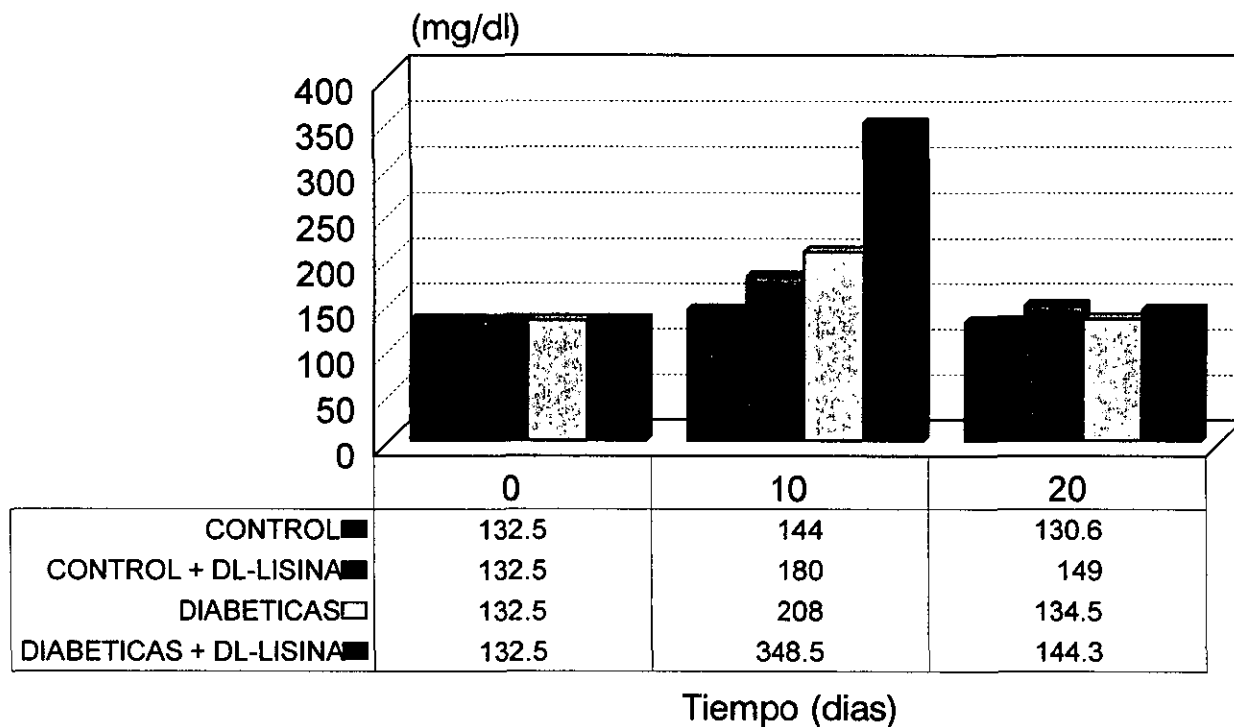


Figura 6

PROMEDIO DE LA CONCENTRACION DE TRIACILGLECERIDOS EN EL SUERO DE RATAS NORMALES Y DIABETICAS CON Y SIN TRATAMIENTO CON DL-LISINA.

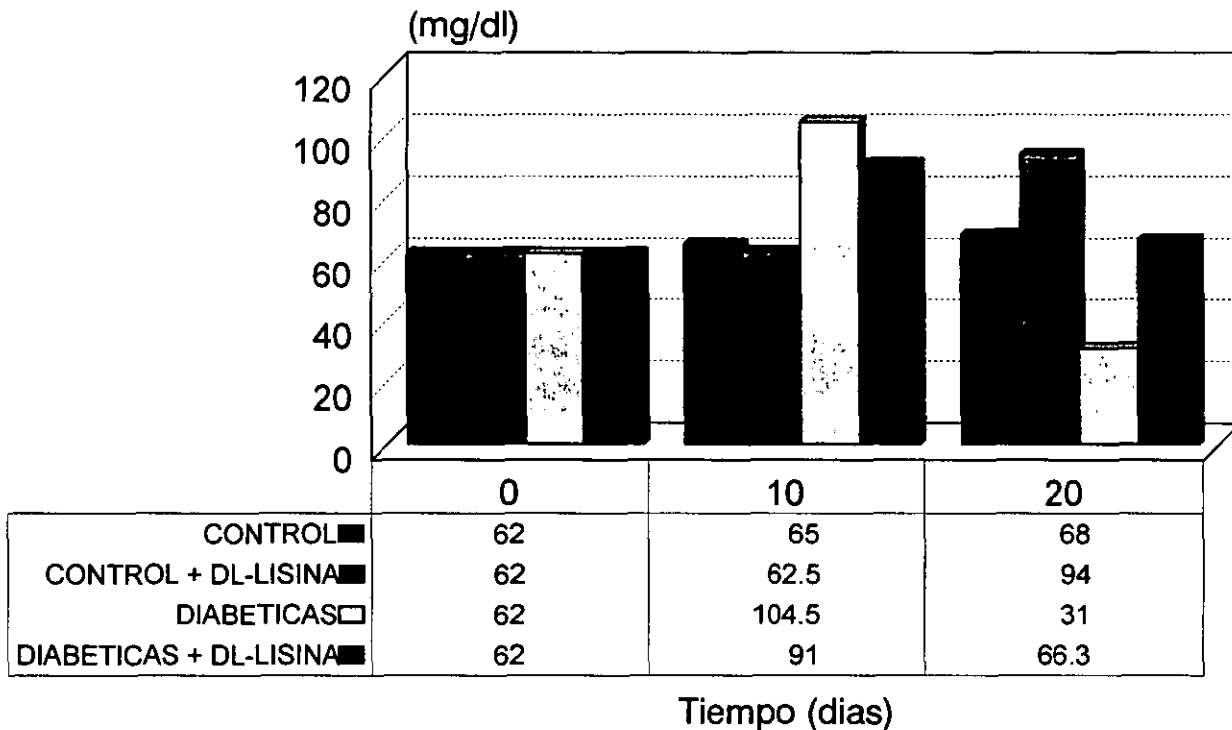


Figura 7

PROMEDIO DE LA CONCENTRACION DE COLESTEROL EN EL SUERO DE RATAS NORMALES Y DIABETICAS CON Y SIN TRATAMIENTO CON DL-LISINA.

ESTA TESIS NO DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

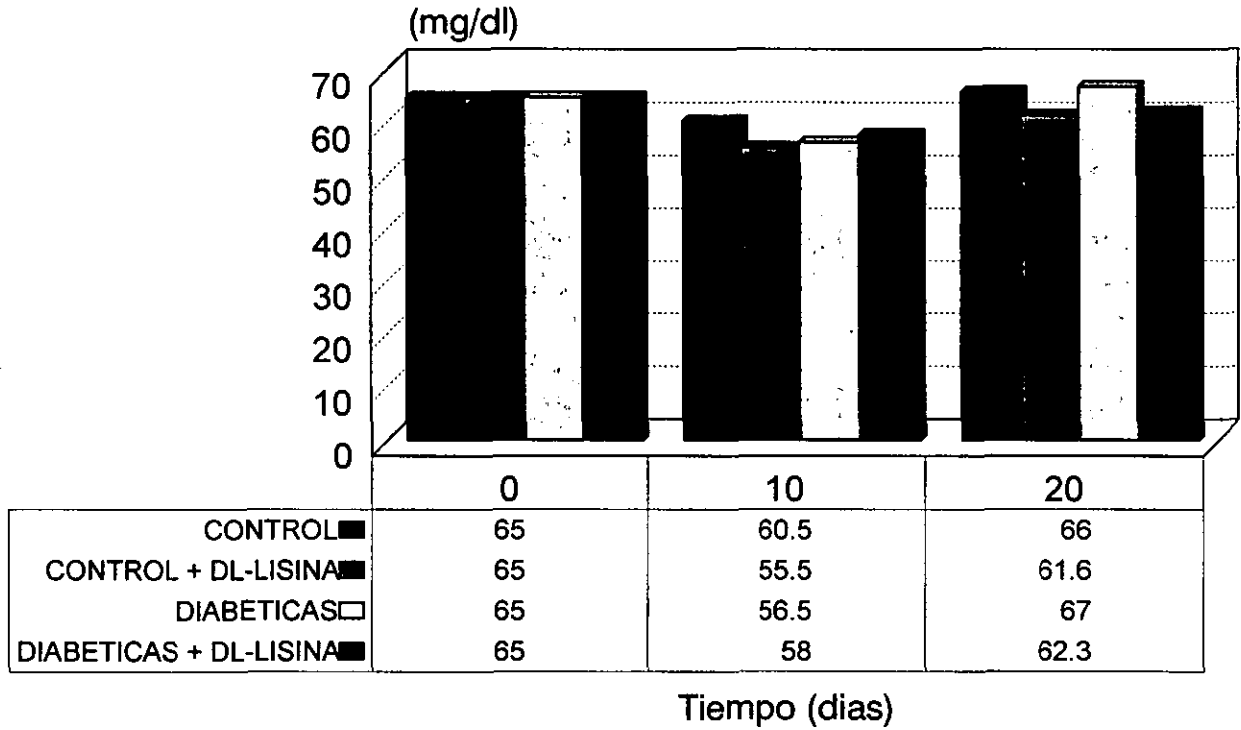


Figura 8

Histopatología.

En la Figura 9 se presentan los resultados del análisis histológico tanto del páncreas como de las glándulas submandibulares de ratas normales. Las estructuras se observan íntegras en ambos tejidos.

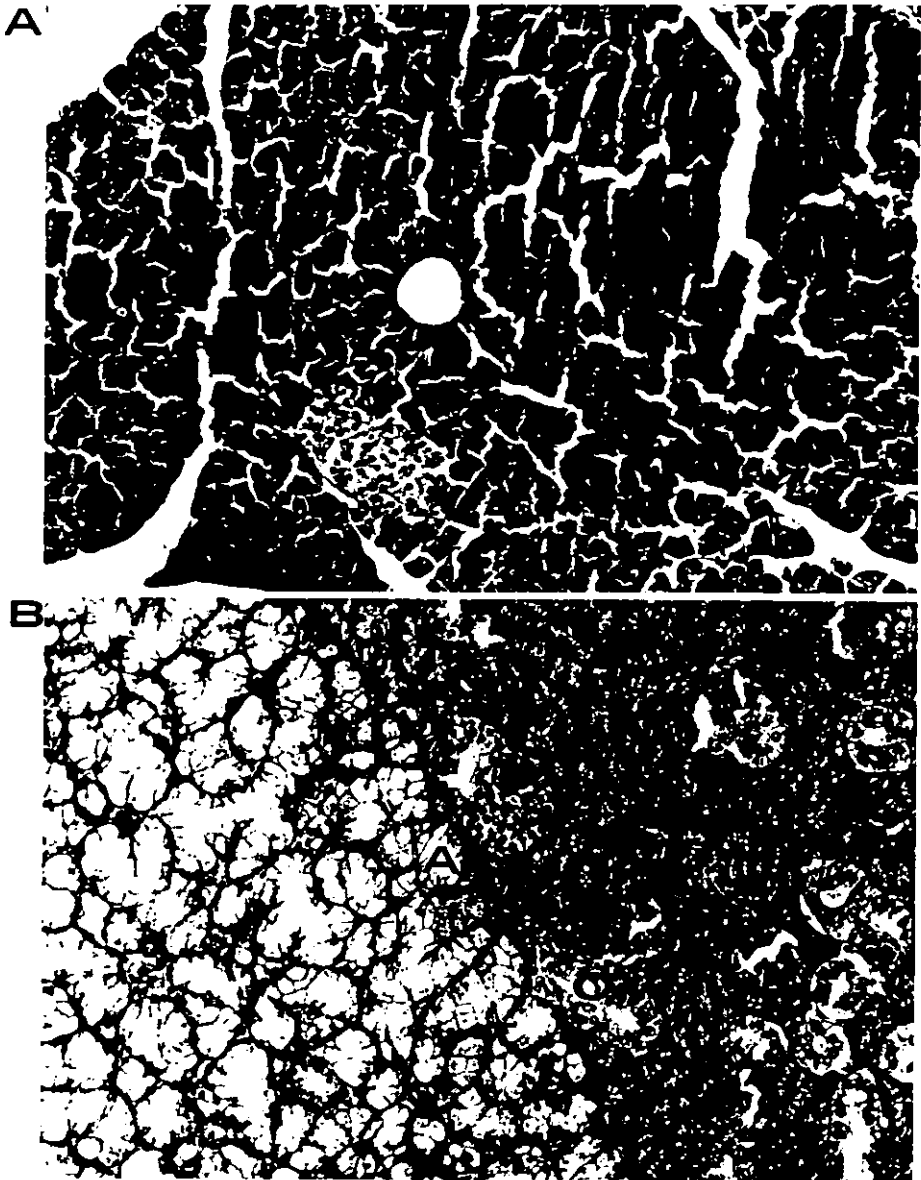
La Figura 10 muestra cortes histológicos del páncreas y glándula submandibular de ratas que fueron inyectadas con 1 ml de solución de DL-lisina 10 mM, i.p. diariamente y sacrificadas a los 10 días de iniciado el experimento. La administración de DL-lisina produjo alteraciones en ambas glándulas. Estas alteraciones pueden ser la causa de cambios que se observaron en las concentraciones de glucosa y de triacilglicéridos en el suero.

Los resultados histológicos de las ratas diabéticas (G3), se muestran en la Figura 11. Se observa daño en los islotes de Langerhans, característico del estado diabético, aunque la concentración de aloxana administrada también causó daño en la parte exocrina.

La glándula submandibular fue afectada principalmente en los acinos serosos y los conductos.

En la parte A de la Figura 12, se presentan los resultados histológicos del páncreas de una rata del Grupo 4, que fueron inyectadas con aloxana y luego inyectadas por 20 días con 1 ml de DL-lisina 10 mM, i.p.

El daño pancreático persiste tanto en la porción endocrina como en la exocrina. En la parte B, se aprecia un corte de glándula submandibular, que muestra daño causado por la inyección de aloxana y DL-lisina. El tejido corresponde a una rata del Grupo 4 sacrificada a los 10 días de iniciado el tratamiento con DL-lisina. Se observa alteración en los acinos serosos y en los conductos.



*Figura 9. Páncreas y glándula submandibular normales que corresponden al Grupo 1.
A. Se muestra un aspecto del páncreas donde se aprecian los islotes de Langerhans y células exocrinas.
B. Glándula submandibular. Se observan acinos mucosos intactos (A), acinos serosos (B) y los conductos glandulares (C). H y E (20X).*

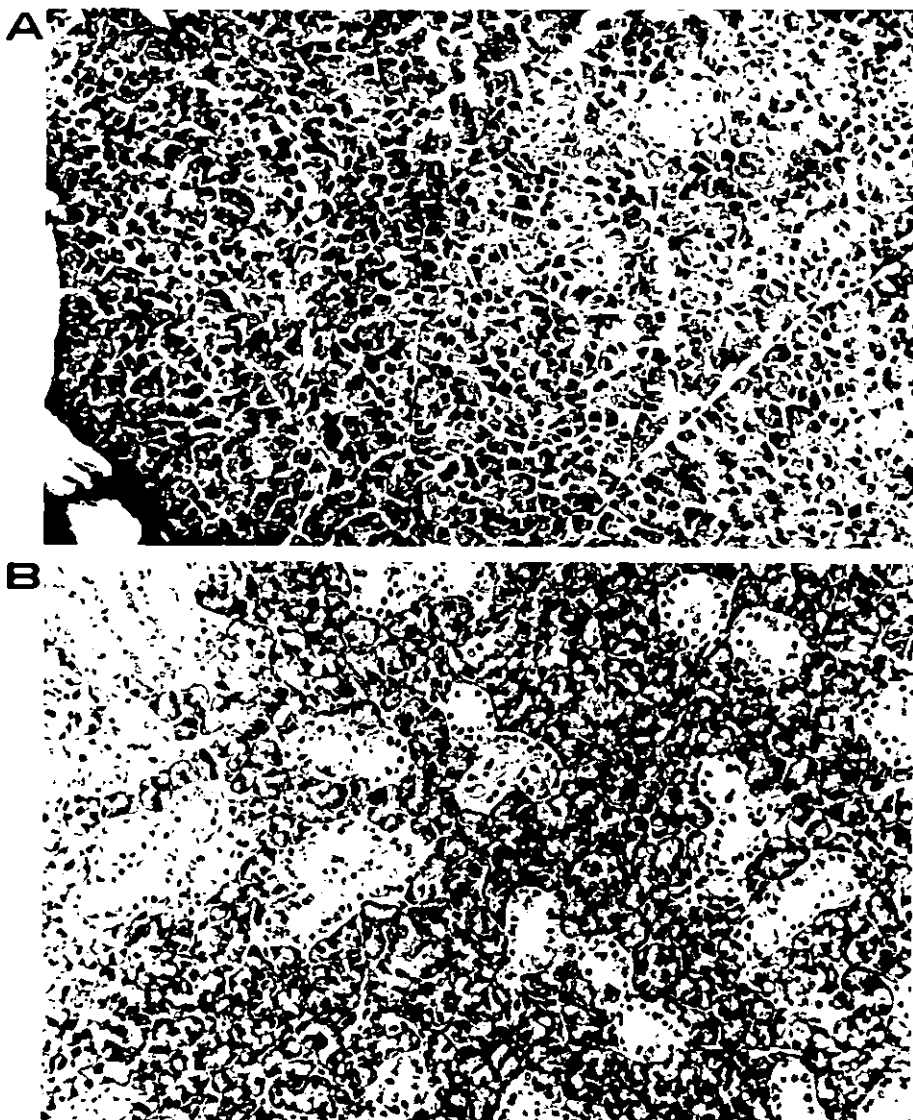


Figura 10. Páncreas y glándula submandibular de ratas normales (Grupo 2), que fueron tratadas con DL-lisina y sacrificadas a los 10 días.

A. Se observa alteración en el páncreas, hay disposición irregular de los núcleos, hiper cromatismo nuclear y pérdida de los gránulos exocrinos.

B. Glándula salival con daño en acinos serosos, se observan conductos dilatados, hiper cromatismo nuclear y disposición irregular de los núcleos. H y E (20X).



Figura 11. Los tejidos corresponden a ratas del Grupo 3, que fueron tratadas con aloxana para inducir diabetes y sacrificadas 10 días después.

A. Se observa necrosis en el islote pancreático y en la porción exocrina del páncreas. También se observa esteatosis (degeneración grasa).

B. La glándula submandibular muestra conductos dilatados y necrosis, así como extravasación de eritrocitos. H y E (20X).

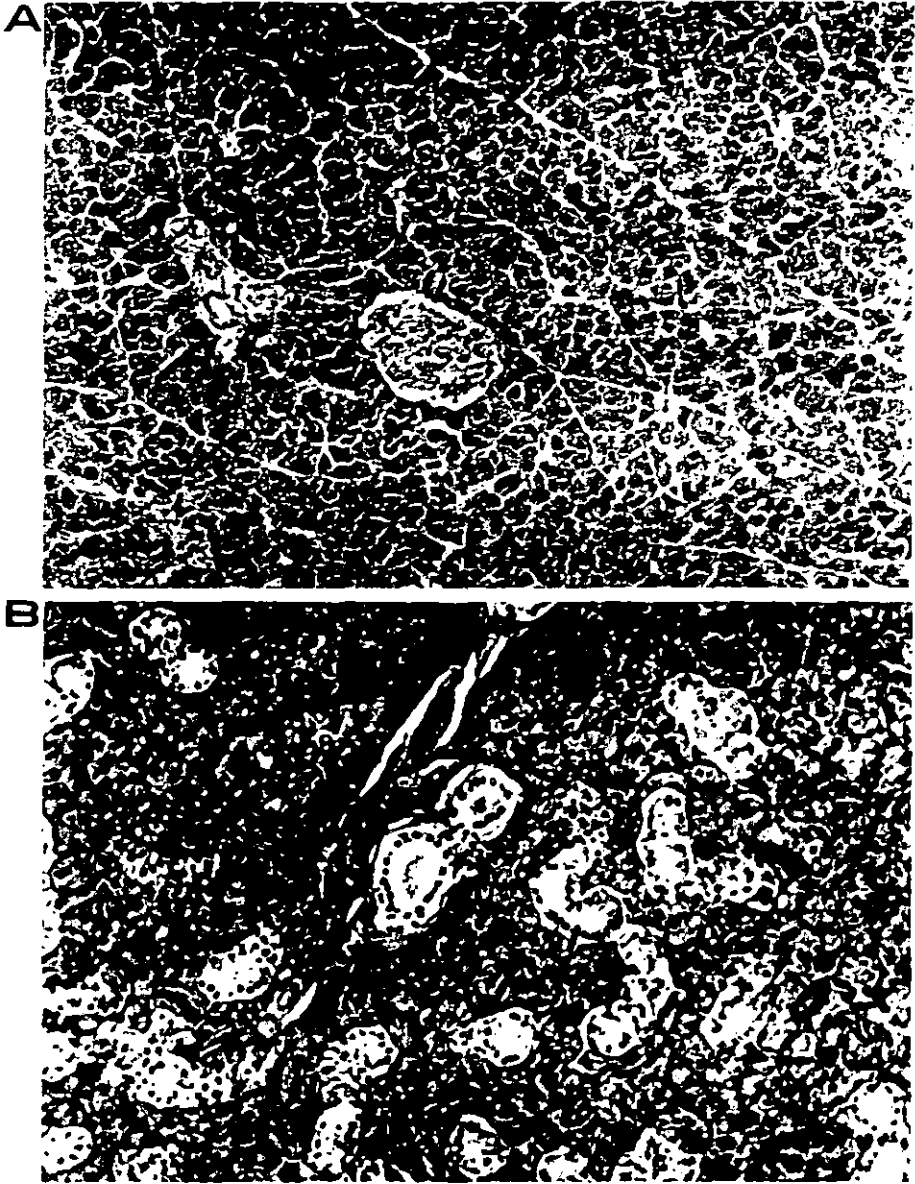


Figura 12. Páncreas y glándula submandibular que corresponden al Grupo 4.
A. Islote pancreático necrótico y algunos núcleos picnóticos en la parte exocrina. Se observa disposición regular de los acinos exocrinos.
B. Se presenta daño en acinos serosos, con núcleos picnóticos y disposición irregular de los conductos. H y E (20X).

DISCUSIÓN.

Ha sido ampliamente demostrado que la administración de aloxana causa diabetes en las ratas, y que esto se debe a un efecto directo de esta sustancia sobre las células beta pancreáticas causando su destrucción. Este efecto ha sido observado en este estudio donde pudimos ver inclusive necrosis en los islotes de langerhans, pero también se observaron otras alteraciones como núcleos gigantes y picnóticos, vacuolización y desgranulación del citoplasma. Las células acinares también mostraron una marcada vacuolización.

Está claro que esta sustancia causa un efecto tóxico no solamente sobre la función endocrina y la exocrina del páncreas, sino también a nivel de otras glándulas como la parótida²⁸, cuyas funciones son similares a las del páncreas.

En este experimento se pudo observar que la administración de 120 mg de aloxana/kg, i.p. afectó también la estructura de las glándulas submandibulares, como puede apreciarse en la Figura 11, donde se observa daño a diferentes niveles, incluyendo conductos dilatados y necrosis.

El efecto de la diabetes experimental sobre la glándula submandibular ha sido poco estudiado, al respecto, se ha descrito²⁹, que las glándulas submandibulares de ratas diabéticas presentan más células epiteliales, cargadas de gránulos citoplasmáticos, localizadas en los conductos intercalares y que estas células son semejantes, morfológicamente, a más células descritas previamente, pero que sólo se presentan en la hembra y la han dado como ejemplo del dimorfismo sexual de las glándulas salivales y que tiñéndolas con azul de toluidina a pH ácido, destacan claramente por sus gránulos de color azul más intenso y ligera metacromasia, esta característica ha permitido diferenciarlas de las células serosas, cuyos gránulos de secreción zimógeno se tiñen más pálido y no manifiestan metacromasia, además se menciona que estas células son particularmente numerosas y cargadas de gránulos en los animales diabéticos, en contraste con los grupos controles, en los cuales éstas fueron muy escasas.

Con relación al efecto de la administración de lisina, llama la atención el daño que produce no solamente a nivel de páncreas, sino también a nivel de

²⁸ Anderson, L. C., Johnson, D. A.: *Effects of alloxan diabetes on rat parotid gland and saliva*. J. Biochem. Physiol., 708:725-30, 1981.

²⁹ Benítez Bibriesca, L., Mourell, M., Camacho, E. C., López, U. G., Salas, R. R., Guevara, R., Freyre, H. R.: *Función de las glándulas submandibulares y de las células microgranulosas en la diabetes experimental por estreptozotocina en la rata*, Arch. Invest. Med. (Méx.) 14:379-389, 1983.

glándulas submandibulares, y a ambas glándulas son severamente afectadas en sus estructuras y función. En este trabajo solamente se evaluaron algunos parámetros bioquímicos, tales como la glucosa, triacilglicéridos y colesterol, de los cuales la glucosa y los triacilglicéridos fueron marcadamente alterados.

Aunque al final del experimento hubo una tendencia a la normalización, esto puede deberse a que la cantidad de aloxana administrada, no es suficiente para provocar hiperglucemia crónica y que se requiere aplicar un refuerzo de 60 mg de aloxana/kg para mantener la hiperglucemia por un tiempo mayor, según ha sido observado en otros estudios realizados en ratas en el mismo laboratorio. Cuando se administró DL-lisina, el efecto de ambas sustancias se sumó y el daño fue mayor, como pudo verse por los niveles de glucosa y de triacilglicéridos en el suero de las ratas tratadas con estas sustancias.

Algunos estudios relacionados con la dieta han demostrado que un bajo contenido de proteínas en la dieta reduce la síntesis de RNA en el hígado de rata.³⁰ Lo que concuerda con la disminución en la síntesis de proteína "in vitro" en el hígado y en el músculo esquelético observado en condiciones similares. Cuando hay deficiencia de lisina la recuperación de la síntesis de proteínas in vitro no se consigue después de dos días de dar el aminoácido, el contenido de RNA ribosomal (rRNA), se incrementa pero no totalmente. El cambio en la concentración en rRNA ha sugerido un efecto de la deficiencia de lisina y la recuperación a nivel genético se sabe que la síntesis de RNA requiere de la participación de las proteínas de la cromatina, de aquí que se hayan realizado estudios sobre la deficiencia de lisina en la dieta y de sus efectos en la síntesis de RNA y proteínas y en general sobre la cromatina.

Un alto contenido de lisina en las proteínas nucleares particularmente en histonas, implica un efecto específico de la deficiencia de este aminoácido sobre la estructura DNA-Proteína de la cromatina y también un efecto sobre la síntesis de RNA.

Se ha podido concluir que la deficiencia de lisina disminuye las actividades específicas de RNA polimerasas. Con la velocidad de crecimiento disminuida y el tamaño del hígado, la demanda para la producción de RNA llega a ser menor. La baja actividad y el crecimiento se revierte completamente en 48 horas de realimentación con el aminoácido.³¹

³⁰ Stefan, A. and Vonder Deken, A.: *Lysine deficiency reduces transcription activity and concentration of chromatin proteins reversibly in rat liver.* Acta Physiol. Scand., 117:519-525, 1983.

³¹ Omstedt, P. T. and Von der Decken, A.: *Dietary amino acid: Effect of depletion and recovery on protein synthesis in vitro in rat skeletal muscle and liver.* Br. J. Nutr. 31:67-76, 1974.

A la lisina se le ha asociado con los componentes de la cromatina, cuyos principales constituyentes son: el ácido desoxirribonucleico, las proteínas nucleares, ciertas enzimas unidas como las polimerasas de los ácidos nucleicos, una pequeña cantidad de ácido ribonucleico y generalmente una pequeña cantidad de lípidos.³

Las proteínas nucleares han sido clasificadas en dos grupos:

I. Histonas o proteínas básicas, y

II. Proteínas No-Histónicas o acídicas (las cuales incluyen a las enzimas nucleares.

Las histonas son proteínas básicas que están asociadas al DNA de las células somáticas de todos los organismos eucarióticos. Se les ha considerado como proteínas estructurales debido a que reúnen ciertas características comunes, tales como un contenido de más del 20% de aminoácidos básicos, entre ellos lisina, no contienen triptofano y sólo contienen pequeñas cantidades de cistena. De ahí que la deficiencia de lisina puede afectar la estructura y función de la cromatina, aunque un exceso podría provocar daño a nivel de estructura nuclear. Los resultados observados en este estudio muestran algunas alteraciones a nivel nuclear y la administración de DL-lisina 10mM produjo daño pancreático y de glándula submandibular a diferentes niveles, como se describe en las figuras 10 a la 12. La pérdida de peso fue marcada, algunos animales mostraron pérdida de peso similar al grupo tratado con aloxana.

Poco se conoce acerca del metabolismo de la DL-lisina, pero sus efectos pueden relacionarse con la formación de cadaverina.

La cadaverina, es una diamina que ha sido considerada dentro del grupo de las poliaminas.³² Esta diamina deriva de lisina y se produce por descarboxilación de este aminoácido, por medio de la enzima Lisina descarboxilasa (*Figura 13*).

³² Méndez, J. D.: *Poliáminas*. En: Bioquímica e Inmunología. Vol. II. Hicks, J. J. y Díaz-Zagoya, J. C. (Eds.). Facultad de Medicina. UNAM, México, D.F. 1988, pp. 365-385.

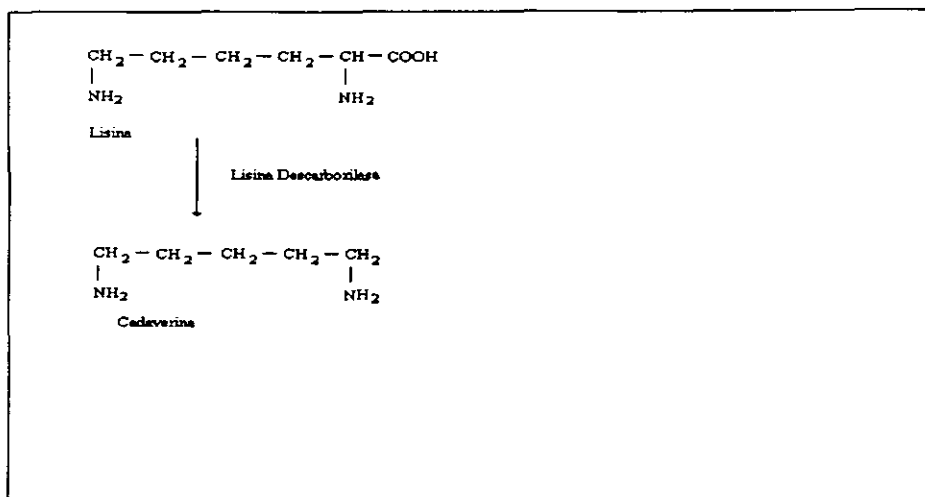


Figura 13. Formación de cadaverina a partir de lisina.

Las funciones "in vivo" de la cadaverina en el metabolismo macromolecular no se conocen bien. Se ha demostrado que esta amina tiene funciones similares a las de las otras poliaminas, ya que protege al DNA de la desnaturalización térmica, protege a los bacteriofagos T₅ contra la acción desnaturalizante de la urea y estimula la síntesis de proteínas in vitro.

Es claro que, en general, existe un paralelismo entre los niveles de estas aminas y el contenido macromolecular de tejidos en desarrollo, como se ha observado, inclusive, en varias semillas en procesos de germinación³³ que concuerda con otros sistemas biológicos.

En general, las poliaminas son un grupo de pequeñas moléculas que están presentes en todos los tejidos, principalmente en los sistemas que presentan crecimiento rápido. Favorecen la síntesis de proteínas "in vitro" e "in vivo", inducen división celular y crecimiento y retardan el envejecimiento tisular. La regulación de estos procesos se ha relacionado con su naturaleza básica y su capacidad para interactuar con diversas moléculas que presentan cargas negativas (polianiones).

Sin embargo, también está demostrado que cuando estas poliaminas se administran en exceso, pueden tener efectos adversos, como los que

³³ Villanueva, V. R., Adlaska, R. C. and Cantera-Solar, A. M.: *Changes in polyamine concentration during seed germination*. Phytochem. 17:1245-1249, 1978.

observamos en este estudio y los que han sido previamente reportados para L-arginina.

CONCLUSIONES.

Al realizar este trabajo pudimos observar que la dosis de aloxana inyectada en las ratas produjo hiperglucemia y alteró las concentraciones de triacilglicéridos al afectar el tejido pancreático. También se observó un efecto citotóxico en la glándula submandibular que fue confirmado por el análisis histológico.

La DL-lisina mostró efectos similares cuando se administró a ratas normales, pero este efecto se potenció cuando se administró a las ratas que previamente habían sido inducidas a ser diabéticas. Este efecto de la DL-lisina fue contrario a lo que se esperaba; una recuperación más rápida del daño causado por aloxana tanto en el tejido de la glándula submandibular como al pancreático.

Los mecanismos por los cuales la DL-lisina produce estos efectos se desconocen, pero estos resultados abren un nuevo campo de investigación sobre el metabolismo de este aminoácido en la glándula submandibular y en otros tejidos de la cavidad bucal.

BIBLIOGRAFÍA.

Está incluida en el pie de página.

observamos en este estudio y los que han sido previamente reportados para L-arginina.

CONCLUSIONES.

Al realizar este trabajo pudimos observar que la dosis de aloxana inyectada en las ratas produjo hiperglucemia y alteró las concentraciones de triacilglicéridos al afectar el tejido pancreático. También se observó un efecto citotóxico en la glándula submandibular que fue confirmado por el análisis histológico.

La DL-lisina mostró efectos similares cuando se administró a ratas normales, pero este efecto se potenció cuando se administró a las ratas que previamente habían sido inducidas a ser diabéticas. Este efecto de la DL-lisina fue contrario a lo que se esperaba; una recuperación más rápida del daño causado por aloxana tanto en el tejido de la glándula submandibular como al pancreático.

Los mecanismos por los cuales la DL-lisina produce estos efectos se desconocen, pero estos resultados abren un nuevo campo de investigación sobre el metabolismo de este aminoácido en la glándula submandibular y en otros tejidos de la cavidad bucal.

BIBLIOGRAFÍA.

Está incluida en el pie de página.