



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ALTERACIONES MORFOLÓGICAS EN LENGUA DE RATA
CAUSADAS POR LA DIABETES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANA DENTISTA
PRESENTA

SHIRLEY LEE BAKER REINOSO

Rocío Salceda S.

DIRECTORA: DRA. ROCÍO SALCEDA SACANELLES

ASESOR: DR. LUIS A. GAITÁN CEPEDA

MÉXICO,

2005

m348893

Doy las gracias a Dios por estar en todo momento conmigo y no abandonarme en los días más difíciles de mi vida.

La lista de agradecimientos es interminable.

A aquellas personas que en todo momento confiaron en mi capacidad y de las cuales he recibido todo el apoyo durante este proyecto tan importante que es mi vida. ¡Estoy infinitamente agradecida!

A mi familia:

Que con sus críticas han hecho de mí una mujer implacable y mejor ser humano.
Conchita, tu que sufriste mis desvelos.

A mis tíos:

Que siempre me han apoyado. En especial a mi tía Estela, sin tu apoyo mi camino hubiera sido más accidentado, a mi tío Víctor y Alina por creer siempre en mí.

A mi tío Luis y Vicky por ponerse en mis manos y ser los mejores pacientes.

A mi tío Manuel †, mi mejor compañero.

A mis primos:

Irene, por todos los conocimientos que recibí de ti, por ser como una hermana mayor, así como tu ayuda incondicional en este proyecto. ¡Muchas gracias!

Bety, por contar contigo, Yvette por escucharme. A todos los demás a los cuales quiero mucho.

A mis amigos:

Rebeca, por ser mi confidente, por todos tus consejos y estar siempre ahí.

Vic, afortunada soy de que llegaras al mismo salón de clases. A Rafa y Erendira, por compartir tantas cosas juntos.

Mauricio, por tu ayuda antes y durante la carrera.

Daniel, you came in to my life to motivate every single part of it.

Al Biologo Gustavo Sánchez Chávez por todo el apoyo técnico recibido para la realización de este trabajo.

A mis compañeros y amigos del laboratorio:

Clau, Miguel, Naty, Isma, Luis, Jethro, Cecy, por sus consejos, ayuda apoyo y motivación.

Gus, por tus recetas de colinesterasas, de platos fuertes y postres.

Especialmente quiero agradecerle a la Dra. Roció Salceda por el apoyo otorgado durante mi estancia en su laboratorio, por su gran don de investigación, su paciencia, su ayuda, su confianza. Con admiración y cariño.

Agradezco al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT, proyecto IN202403-3 por el apoyo económico para la realización de este trabajo

SLBR

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Shirley Lee Baker Reinoso

FECHA: 10-10-05

FIRMA: [Firma manuscrita]

CONTENIDO

LISTA DE IMAGENES.....	I
RESUMEN.....	II
1.INTRODUCCIÓN	1
1.1 DIABETES.....	1
1.2 ANTECEDENTES	2
1.2.1 La Diabetes y sus Manifestaciones Orales.....	2
1.2.3 Caries.....	3
1.2.4 Enfermedad periodontal.....	3
1.2.6 Alteración gustativa.....	4
1.3 ANATOMÍA DE LA LENGUA	5
1.4 HISTOLOGÍA DE LA LENGUA	6
1.5 MORFOLOGÍA DEL RECEPTOR GUSTATIVO.....	9
1.6 ASPECTOS EMBRIOLÓGICOS.....	11
1.7 FISIOLÓGÍA DEL GUSTO.....	11
1.7.1 Transducción del estímulo gustativo.....	12
1.7.2 Neurotransmisores y procesos de señalización en los receptores gustativos.....	13
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
3. JUSTIFICACIÓN.....	15
4. HIPOTESIS	15
5. OBJETIVOS.....	15
6. MÉTODOS	16
5.1 DETERMINACIÓN HISTOQUÍMICA DE COLINESTERASAS	16
5.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.....	17
7. RESULTADOS	18
6.1 EPITELIO	19
6.2 MEMBRANA BASAL.....	22
6.3 CÉLULAS CEBADAS O MASTOCITOS	25
6.4 TEJIDO CONECTIVO	28
6.5 TEJIDO ADIPOSO.....	31
6.6 ENDOTELIO	34
6.7 HISTOQUÍMICA DE LAS COLINESTERASAS.....	37
6.8 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.....	42
8. DISCUSION	45
9. CONCLUSIONES	49
10. BIBLIOGRAFÍA	50

Figura 1.	Estructura de la lengua en la que se muestra su anatomía.....	5
Figura 2.	Esquema de la lengua y su inervación.....	5
Figura 3.	Esquema de un corte de la lengua en donde se muestran sus diferentes tipos de papilas.....	7
Figura 4.	Esquema de la localización de las papilas linguales en la rata.....	8
Figura 5.	Esquema donde se muestra la estructura del receptor gustativo.....	9
Figura 6.	Esquema de micrografía en corte longitudinal del receptor gustativo.....	10
Figura 7.	Esquema del gusto central y patrones viscerales.....	14
Figura 8.	Fotografía de la morfología de la lengua de rata.....	18
Figura 9.	Fotografía del epitelio basal de la rata control.....	19
Figura 10.	Fotografía del epitelio basal de la lengua en una rata diabética de 20 días.....	19
Figura 11.	Gráfica que muestra el número de capas celulares del epitelio de la lengua de rata.....	20
Figura 12.	Fotografía de la membrana basal del epitelio lingual de la rata control Tinción PAS y Masson.....	22
Figura 13.	Fotografía de la membrana basal de rata diabética de 20 días. Tinción con PAS y Masson.....	22
Figura 14.	Gráfica que muestra el grosor de la membrana basal en las lenguas de rata.....	23
Figura 15.	Fotografía A, muestra células cebadas presentes en músculo de lengua de rata control B, muestra células cebadas en músculo de lengua de rata diabética de 20 días.	25
Figura 16.	Gráfica que muestra el número de células cebadas en músculo por mm ²	26
Figura 17.	Fotografía A muestra células cebadas en tejido conectivo de rata control, fotografía B muestra células cebadas en rata diabética de 45 días.....	28
Figura 18.	Gráfica que muestra el número de células cebadas en tejido conectivo por mm ²	29
Figura 19.	Fotografía A, células adiposas en tejido lingual de rata control, B adipocitos en diabéticas de 20 días.....	31
Figura 20.	Gráfica que muestra el número de células adiposas en el tejido lingual.....	32
Figura 21.	Fotografía A que muestra el grosor del endotelio del vaso en una rata control, B muestra el endotelio del vaso en una rata diabética de 45 días.....	34
Figura 22.	Gráfica que muestra el engrosamiento endotelial de los vasos en la lengua de ratas.....	35
Figura 23.	Fotografía de AChE en papila circunvalada (A) sin sustrato, (B) con sustrato, (C) sustrato más inhibidor.....	37
Figura 24.	Localización de AChE en la lengua de rata control.....	38
Figura 25.	Localización de AChE en la papila fungiforme de rata control.....	38
Figura 26.	Localización de AChE en papila circunvalada de rata control.....	39
Figura 26-1	Localización de AChE papila circunvalada a mayor aumento.....	39
Figura 27.	Localización de AChE en papila circunvalada de rata diabética de 20 días.....	40
Figura 28.	Localización de AChE papila circunvalada de rata de 45 días diabética.....	40
Figura 29.	Localización de BChE en rata control y diabética de 20 días.....	41
Figura 30.	Fotografía de la papila filiforme en microscopia electrónica y óptica.....	42
Figura 31.	Fotografía de la papila fungiforme en microscopia electrónica y óptica.....	43
Figura 32.	Fotografía de la papila circunvalada en microscopia electrónica y óptica.....	44

1.INTRODUCCIÓN

1.1 Diabetes

La Diabetes Mellitus (DM) es un trastorno metabólico caracterizado por un conjunto de alteraciones crónicas que se desarrollan cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando el organismo no puede utilizarla de forma eficaz, lo que ocasiona un aumento en las concentraciones de glucosa en la sangre llevando al daño de muchos órganos, como son: ojos, riñones, arterias, nervios, etc.¹

Existen dos tipos principales de DM: la tipo 1 y la tipo 2². En la diabetes tipo 1, también llamada juvenil, el sistema inmune destruye las células β del páncreas que secretan la insulina, lo que produce deficiencia de esta y hace necesaria su administración como terapia de reemplazo, por lo que también se le conoce como diabetes dependiente de insulina. La diabetes tipo 2, también llamada del adulto, es la más frecuente, el 90% de los casos corresponden a este tipo de enfermedad. En ella la manifestación primaria consiste en que las células del hígado, del tejido graso y de los músculos, entre otros, dejan de responder apropiadamente a la insulina, lo cual se conoce como resistencia a la insulina. Los signos y síntomas clásicos de la DM son más comunes en la forma insulino dependiente o tipo 1; comprenden la tríada de poliuria o micción frecuente, polidipsia o sed más intensa, y polifagia o hambre constante, prurito (piel, recto o vagina), debilidad y fatiga. El individuo puede perder peso, especialmente en la DM tipo 1 y la aparición de náuseas y vómitos acompañan a la cetoacidosis cada vez más intensa. En ocasiones, hay ansiedad, irritabilidad y apatía. En su mayor parte los signos y síntomas manifiestos se relacionan con las alteraciones fisiopatológicas propias de la enfermedad, y pueden ser reversibles con el diagnóstico temprano y un tratamiento eficaz. En sus aspectos fundamentales el trastorno en la función de la insulina ocasiona que los tejidos corporales reaccionen como si estuvieran en estado de ayuno, con lo que aumenta el catabolismo de las grasas con producción de ácidos grasos libres. Al mismo tiempo, el hígado genera cantidades excesivas de glucosa y cetonas (aliento a manzanas).

La cetoacidosis puede producir deshidratación, hipovolemia, coma diabético e incluso la muerte. Los síntomas pueden manifestarse en forma repentina, aunque la destrucción inadvertida de las células beta del páncreas se produzca en forma relativamente lenta e insidiosa. Otras manifestaciones de la enfermedad son visión borrosa, infecciones crónicas de la piel, lentitud en la cicatrización de heridas, entumecimiento de las extremidades y diversas alteraciones de la boca.³

La DM insulino no dependiente o tipo 2 produce signos y síntomas similares, excepto que comienza con relativa lentitud, es común la obesidad, la cetoacidosis es menos frecuente y menos grave.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que actualmente, existen aproximadamente 150 millones de personas con diabetes en todo el mundo. Está previsto que esta cifra se elevará a 300 millones para el año 2025, debido principalmente al aumento en el promedio de vida y a la urbanización de la población. En los países en vías de desarrollo, estas cifras representan un incremento del 170% en el número de casos y en los países desarrollados un aumento del 42%.⁴

1.2 Antecedentes

1.2.1 *La Diabetes y sus Manifestaciones Orales.*

Diversas lesiones orales inespecíficas acompañan la diabetes o son patognomónicas de ella, por lo cual algunos pacientes refieren los siguientes signos y síntomas:

Tendencia a la resequedad oral y sus estructuras. Esto ocurre por la disminución en el flujo salivar (xerostomía), la resequedad en la boca es un característica de la diabetes no controlada y posiblemente una consecuencia de la deshidratación, de cualquier manera una resequedad oral permanente es debida a una enfermedad microvascular o neuropática que afecta la mayor parte de las glándulas salivales.^{2,5,6} La xerostomía prolongada predispone a una acumulación local de placa y detritos que contribuyen al desarrollo de infecciones orales oportunistas (labilidad a caries dental y enfermedad periodontal), alteración del gusto, halitosis y aftas.^{7,8} En la DM tipo 2 la secreción salival parece ser particularmente influenciada por drogas xerogénicas y neuropatía autónoma. Adicionalmente, la terapia medicamentosa (antihipertensivos, diuréticos, ansiolíticos o antidepresivos) incrementa esta alteración.⁹

1.2.3 Caries.

Cualquier incremento responsable de la caries en la DM es un reflejo a las elevadas concentraciones de glucosa en saliva y fluido gingival crevicular en pacientes diabéticos, pero más comúnmente los individuos con DM desarrollan caries a consecuencia de una higiene oral pobre. ^{10,11} El cálculo dental, la caries, los focos apicales, la pulpitis y la necrosis pulpares son padecimientos comunes del órgano dentario. Los pacientes diabéticos suelen presentar odontalgia sin una causa que lo justifique. En la práctica diaria se ha observado un aumento en la movilidad dentaria con pérdida de los mismos y hasta un 37% de desdentados en pacientes diabéticos. ³

1.2.4 Enfermedad periodontal.

La DM no controlada o pobremente controlada posiblemente sea la causa del incremento en la susceptibilidad a infecciones orales, incluida la periodontitis; ¹² los pacientes diabéticos con problemas periodontales presentan mayor riesgo para desarrollar complicaciones micro y macrovasculares. ^{13,14} La periodontitis se presenta con mayor frecuencia en los pacientes con DM tipo 2 que en las personas no diabéticas. Algunos estudios han demostrado que la enfermedad periodontal y gingivitis ocurren más frecuentemente en pacientes diabéticos no controlados o pobremente controlados, que en aquellos con adecuado tratamiento. ¹⁵ Es interesante que el tipo y número de microorganismos subgingivales detectados en pacientes con DM tipo 2 es similar al encontrado en pacientes con periodontitis crónica. ¹⁶ La enfermedad periodontal en los pacientes diabéticos se asocia a la hiperglicemia que puede llevar a una reducción en la proliferación celular y un aumento en la síntesis de colágena y glucosaminoglicanos. ^{17,18}

1.2.5 Infecciones causadas por hongos.

La hiperglicemia en pacientes con DM pobremente controlados favorece la colonización de patógenos, particularmente de *Candida*. ¹⁹ La proliferación de levaduras y su adhesión al tejido se ven favorecidos por una alta concentración de glucosa en la sangre y saliva, que sirve como nutriente para el desarrollo de *Candida*. ²⁰ También existe un incremento en la incidencia de líquen plano en pacientes diabéticos, particularmente en su forma erosiva. ^{21,22} La mayoría de los reportes muestran una correlación entre la *Candida* y la DM. ^{23,24} La infección por *Candida* es más severa en pacientes

diabéticos que en personas sanas.²⁵ La *Candida dubliniensis* ha sido aislada de la cavidad oral en pacientes diabéticos tipo 1 y tipo 2 encontrando una mayor incidencia en pacientes dentados.²⁶

1.2.6 *Alteración gustativa.*

Existen diversas causas que ocasionan disfunción en el gusto. Dentro de las causas de origen interno están: La diabetes, el envejecimiento, la inflamación de la cavidad oral, reflujo gástrico, el Síndrome de Sjörgen, la anemia perniciosa, la enfermedad de Crohn e infecciones que reduzcan el flujo de sangre en la lengua e interfieran en la producción normal de la saliva provocando lesiones de las células receptoras.²⁷⁻³⁰

Entre las causas externas se encuentran: la exposición a pesticidas, metales o drogas, trauma, procedimientos quirúrgicos, radiación, etc.

La diabetes se ha visto asociada con algunas alteraciones en la lengua, como la glosodinia, lengua roja en bordes o con papilas hiperémicas e hipertróficas, en especial las fungiformes y el color amarillento en la cara ventral; la glositis; la lengua saburral; lengua despilada y con algunas fisuras.^{3,31} La disfunción en el gusto puede tener un impacto significativo en la calidad de vida de los pacientes. El déficit de este sentido puede afectar la ingesta de alimentos llevando a una pérdida de peso seguida de desnutrición.^{27,32}

La DM puede causar una pérdida de la sensación del gusto,²⁰ en efecto esto suele determinarse al momento del diagnóstico, de cualquier manera la alteración del gusto es usualmente no severa y generalmente tolerada, los pacientes diabéticos no diagnosticados prefieren sabores dulces, comida dulce que por lo tanto exacerba cualquier hiperglucemia. Muchos pacientes con polidipsia hiperglicémica muestran predilección a bebidas dulces, las cuales contienen una gran cantidad de carbohidratos refinados, la sensación en la alteración del gusto en la DM posiblemente es un reflejo de anomalías del receptor gustativo.^{32,34,36,37}

La mayoría de estos signos y síntomas se deben a la disminución del flujo salivar, la predisposición a las infecciones, a los cambios vasculares y a la alteración de las células encargadas de la inmunidad del paciente.

1.3 Anatomía de la lengua

La lengua es un órgano muscular situado en el piso de la cavidad bucal. Es importante como órgano gustativo, y en la masticación, deglución y articulación del lenguaje.

Presenta una punta y un borde, un dorso, una cara inferior y una raíz o parte posterior. Es convexa y se relaciona por arriba con el paladar. Se caracteriza por presentar un surco en forma de V, el surco terminal, que se dirige hacia adelante y a los lados a partir de una pequeña depresión, el agujero ciego (figura 1). Los dos tercios anteriores de la lengua están inervados por el nervio lingual, rama del nervio trigémino (V par) asociado a la sensibilidad general; la cuerda del timpano, rama del facial (VII) asociado al gusto. El tercio posterior de la lengua y las papilas circunvaladas están inervados por la rama lingual del nervio glosofaríngeo (IX) asociado tanto a la sensibilidad general como al gusto. Cerca de la epiglotis, la rama laríngea del vago (X) se encuentra asociada a la sensibilidad general y gusto (figura 2).

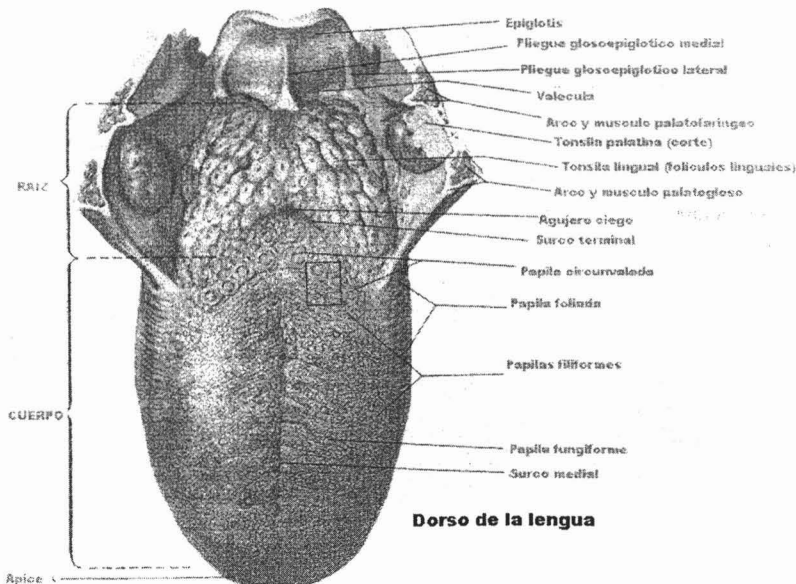


Figura 1. Estructura de la lengua en la que se muestra la anatomía y sus estructuras. (imagen modificada de Netter, 1994).



Figura 2. Esquema de la lengua donde se muestra su inervación. (imagen tomada de internet <http://www.icarito.latercera.cl/.../sentidos/gusto.htm>)

1.4 Histología de la lengua

Este órgano en el humano está formado por una masa de tejido muscular estriado, recubierto por una mucosa cuya estructura varía de acuerdo con la región estudiada. Las fibras musculares estriadas se entrecruzan en los tres planos del espacio y los haces musculares se hallan separados por tejido conectivo. La mucosa se presenta fuertemente adherida a la masa muscular por la penetración del tejido conectivo de la lámina propia hacia las fibras musculares.

En la superficie inferior de la lengua la mucosa se presenta lisa; en la cara opuesta sin embargo, su aspecto es extremadamente irregular debido a la presencia de pequeñas elevaciones que corresponden a las papilas gustativas. La región posterior de la cara dorsal de la lengua está separada por el surco o V lingual. Detrás de esta línea la superficie de la lengua presenta un número discreto de prominencias llamadas amígdalas, que se presentan como elevaciones de la mucosa y poseen criptas, en torno de las cuales se disponen un gran número de nódulos linfáticos.

Las papilas gustativas son elevaciones del epitelio oral y de la lámina propia que asumen formas y funciones diferentes. Las papilas filiformes de forma cónica y alargadas, son las más numerosas, cubren toda la superficie de la lengua y no contienen corpúsculos (receptores o botones) gustativos. Las papilas fungiformes son poco frecuentes y están entremezcladas con las papilas filiformes. Estas tienen una base estrecha y una parte apical más dilatada, asumiendo la forma de un hongo, a menudo presentan receptores gustativos. Las papilas circunvaladas tienen forma aplanada y están circundadas por un profundo surco; se encuentran a los lados de la V lingual en número de 7 a 12 y presentan en su parte lateral gran número de receptores gustativos. En el surco que rodea a estas papilas desembocan glándulas salivales I serosas. Las papilas foliadas son una serie inconstante de surcos y elevaciones localizadas en la parte posterior del borde lateral de la lengua (figura 3).

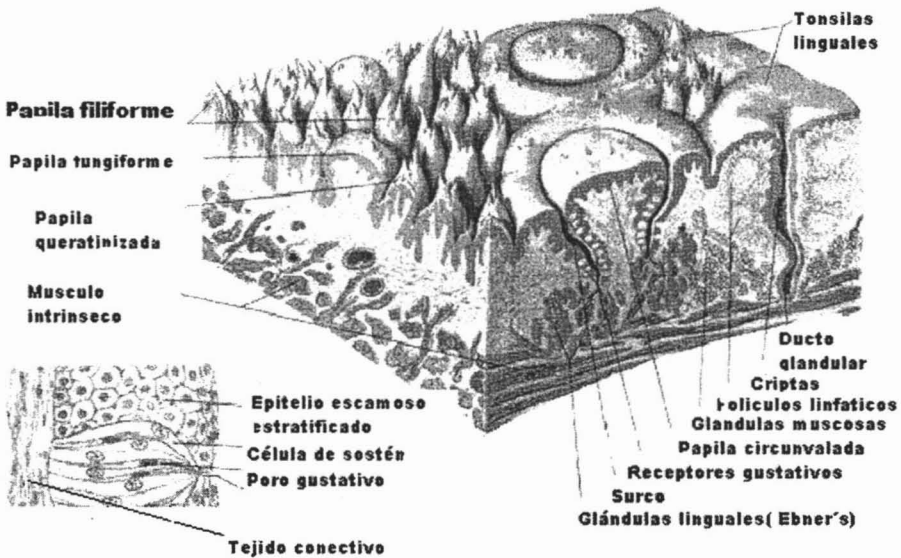
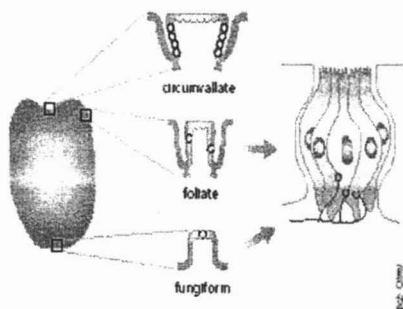


Figura 3. Corte de la lengua en donde se aprecian los diferentes tipos de papilas y su estructura. (imagen modificada del Netter, 1994).

En la rata, la lengua se extiende desde la epiglotis hasta los incisivos, la superficie dorsal está cubierta por pequeñas elevaciones llamadas papilas linguales, de las que existen 4 tipos: las papilas filiformes, las fungiformes, las foliadas y una sola papila circunvalada situada en la línea media cerca de la base de la lengua, a 2mm de la epiglotis

Las papilas filiformes, las mas abundantes, tienen forma cónica y están formadas por células epiteliales, la parte que se proyecta hacia la superficie esta compuesta por células queratinizadas. Las papilas fungiformes se presentan como pequeñas elevaciones cerca de la superficie y se forman a partir del epitelio que se encuentra por encima de la lámina propia, este epitelio está formado por 3 o 4 hileras de células. La papila fungiforme presenta un solo receptor gustativo en su parte central.³⁸ La papila circunvalada se encuentra rodeada por una fosa circular profunda, por lo que no se proyecta hacia la superficie; Las paredes de esta fosa están recubiertas por un epitelio escamoso estratificado que envuelve a numerosos receptores gustativos (figura 4).



1. Figura 4. Esquema de la lengua de rata que muestra la ubicación de las papilas y receptores gustativos. (imagen tomada de Meter Momaberts 2001).

Los receptores gustativos en las papilas fungiformes son muy parecidos en estructura a los de la papila circunvalada, pero difieren en que los receptores de las papilas fungiformes son de forma redonda y solo se distingue uno solo, mientras que en la papila circunvalada su forma es oval y se presentan de 10 a 20 receptores en cada papila.

1.5 Morfología del receptor gustativo.

Los adultos humanos poseen de 3000 a 10000 receptores gustativos de los cuales un gran número se localiza en las paredes de las depresiones que rodean las papilas circunvaladas, un número moderado se halla en las papilas fungiformes, algunos en las papilas foliadas y otros se localizan en el paladar, epiglotis, pilares amigdalinos e incluso el esófago proximal.

Los receptores gustativos u órganos sensoriales del gusto, son corpúsculos ovoides que miden de 35 a 70 micrómetros de diámetro.(figura 5). Cada receptor gustativo esta formado por dos extremos, un extremo apical, por donde se proyectan a través de un diminuto poro paquetes de entre 30 y 40 cilios sensoriales y un extremo basal que se conecta con el epitelio basal de cada papila gustativa.

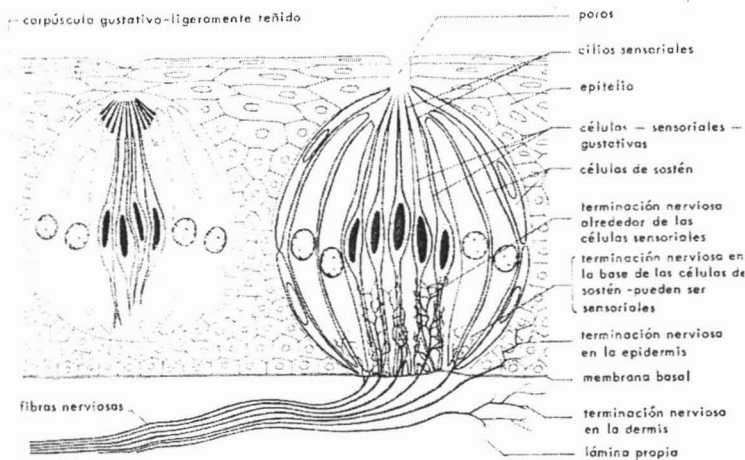


Figura 5. Esquema de la estructura del receptor gustativo. (figura tomada de Freeman & Bracegirdle 1975).

La renovación celular de cada receptor es constante ya que su promedio de vida es de aproximadamente 10 días.

Cada receptor gustativo en su parte interna se encuentra formado por diferentes tipos de células: células tipo I u oscuras (65% de la población), son células elongadas de apariencia oscura, se encuentran en posiciones periféricas dentro del botón. Aparentemente tienen función de soporte, aunque en algunas especies también presentan funciones sensoriales.

Las células tipo II o claras(20% de la población) son alargadas, el polo basal no alcanza la lámina basal. La membrana apical protruye dentro del poro gustativo con gran cantidad de microvellosidades.^{38,40}

Las células tipo III o serotoninérgicas (10% de la población), contienen vesículas densas, muchos filamentos intermedios (citoqueratina) y su núcleo es alargado.³⁶

Se ha reportado la presencia de acetilcolinesterasa en células tipo III de las papilas gustativas del ratón.⁴¹⁻⁴³

Las células tipo IV, se localizan en la membrana basal del epitelio, son las progenitoras de las células tipos I, II y III.

Los axones de las fibras nerviosas provenientes de los ganglios nerviosos penetran al botón gustativo a través de la lamina basal, donde la cubierta de células de Shwann se pierde. Las fibras nerviosas contienen neuropeptidos, los cuales se asocian a distintas funciones tales como la nociocepción, efectos tróficos y modulación mecanosensorial.³⁶

Los registros de una sola fibra nerviosa en nervios gustativos de varios animales han demostrado que, no todas las fibras nerviosas responden a una de las cualidades del gusto; lo que indica que una célula receptora puede reconocer diferentes tipos de estímulos gustativos.⁸



Fig 6 Micrografía en corte longitudinal de receptor gustativo, donde se muestra la estructura interna. (figura tomada de Cindy L. Yee et al. 2001)

1.6 Aspectos embriológicos.

En el hombre, las papilas gustativas aparecen hacia el final de la octava semana del desarrollo fetal. Primero se manifiestan las papilas circunvaladas y las foliadas, cerca de las ramas terminales del nervio glossofaríngeo (IX par craneal). Después, aparecen las fungiformes cerca de las terminaciones de la cuerda timpánica, (rama del nervio facial VII). Las papilas filiformes, se desarrollan durante la 10ª y la 11ª semanas y contienen terminaciones nerviosas aferentes sensibles al tacto.

Los receptores gustativos se forman durante las semanas 11 y 13 del desarrollo embrionario, debido a interacciones inductivas entre las células nerviosas gustativas procedentes de la cuerda timpánica y los nervios glossofaríngeo y vago.⁴⁴

La mayoría de los botones o receptores gustativos se forman en la superficie dorsal de la lengua y algunos en los arcos (pilares) palatoglosos, el paladar, la superficie posterior de la epiglotis y la pared posterior de la bucofaringe. La inyección de sacarina en la cavidad amniótica aumenta la actividad de deglución en el feto entre las semanas 26 – 28, se pueden inducir respuestas en la cara del feto mediante sustancias de sabor amargo, lo que indica que los receptores gustativos son funcionales y establecen vías reflejas con los músculos faciales.^{33,44,45}

1.7 Fisiología del gusto

La *Normogeusia*, es el nombre dado al sentido del gusto cuando este es normal. La pérdida o debilitamiento del gusto puede ocurrir en distintos grados:

- *Ageusia*, ausencia del sentido del gusto
- *Hipogeusia*, disminución del gusto
- *Disgeusia*, distorsión del gusto
- *Aliageusia*, alteración del gusto usualmente agradable
- *Pantogeusia*, persistencia anormal del gusto en la ausencia de estímulos.

Existen diversas causas que ocasionan disfunción en el gusto. Dentro de las causas de origen interno están: La diabetes, envejecimiento, inflamación de la cavidad bucal, algunas infecciones y xerostomía.²⁷⁻³⁰

Entre las causas externas se encuentran: la exposición a pesticidas, a metal o drogas a trauma, procedimientos quirúrgicos, radiación, etc.

En general se tienen cuatro cualidades gustativas primarias: dulce, ácido, amargo y salado; recientemente se ha identificado un receptor para ciertos aminoácidos y peptidos los cuales se relacionan con el agradable sabor llamado "umami" y un mecanismo receptor para el agua.³⁶

De este modo por lo menos 6 categorías del gusto caracterizables, de las cuales dos se sugiere que sirven para adquirir alta ingesta de calorías (dulce y umami), una amarga que nos advierte acerca de ingredientes tóxicos o dañinos y tres que están integrados en una asa de retroalimentación de la regulación iónica y osmótica (salado, ácido y agua).

Las sustancias amargas se degustan en la parte posterior de la lengua, las agrias o ácidas a lo largo de los bordes, las dulces en la punta mientras que las saladas se perciben en la parte anterolateral.

1.7.1 Transducción del estímulo gustativo.

La detección de un estímulo por la célula receptor del gusto genera un potencial del receptor, proceso llamado transducción. La aplicación de una sustancia (sabor o ligando) sobre las microvellosidades del receptor gustativo provoca una pérdida parcial de este potencial, es decir se despolariza. El mecanismo de transducción puede ser de 2 tipos: en la membrana de la célula gustativa el receptor es un canal iónico, o el receptor está asociado a proteínas efectoras (proteínas G) que actúan sobre los canales iónicos de la célula. Algunos ligandos del gusto se transducen por ambos mecanismos dependiendo de la especie o del estímulo químico.⁴⁷ El tipo de receptor proteico de cada receptor sensorial determina el tipo de cualidad gustativa que se detecta.³⁹

La actividad neural en las fibras nerviosas se ve reflejada por una serie de eventos eléctricos dentro de las células gustativas. Mayor la amplitud de despolarización en las células gustativas, mayor el número de impulsos en las fibras nerviosas. De cualquier manera un gran número de ligandos generan potenciales receptores en las células gustativas y descargas en las fibras nerviosas.

Los distintos estímulos gustativos desencadenan distintos mecanismos de transducción, y múltiples mecanismos pueden participar en la transducción de un estímulo gustativo en particular.⁴⁵

Los ligandos son gradualmente arrastrados por la saliva, con lo que se elimina el estímulo.

Para transferir la información sensorial al SNC, las fibras gustativas aferentes son excitadas por neurotransmisores liberados desde la célula gustativa.

1.7.2 Neurotransmisores y procesos de señalización en los receptores gustativos.

La transferencia de información de las células gustativas a los nervios aferentes, se piensa es mediada por sinapsis químicas en los receptores gustativos.^{38,40,47} El estímulo gustativo es transducido en un potencial eléctrico que se propaga a lo largo de la célula gustativa y causa la liberación de neurotransmisores hacia la hendidura sináptica.

La liberación de neurotransmisores excita los nervios aferentes y generan potenciales de acción, los cuales son llevados al SNC.

Para identificar una sustancia en particular como neurotransmisor, es necesario que se cumplan ciertos criterios.

- a) localización de la sustancia presente en la célula presináptica.
- b) Liberación de cantidades suficientes de la sustancia para ejercer la acción postsináptica
- c) Presencia de mecanismos específicos que remuevan esta sustancia de su sitio de acción.
- d) Que la sustancia propuesta como neurotransmisor produzca la misma acción que el neurotransmisor endógeno.

Siguiendo estos criterios, los candidatos propuestos como neurotransmisores en los receptores gustativos son los siguientes:

Acetilcolina (ACh), catecolaminas (dopamina, noradrenalina y adrenalina), serotonina, aminoácidos (glutamato, y ácido amino butírico [GABA]), péptidos (sustancia P, péptido intestinal vasoactivo, calcitonina, colecistoquinina).^{47,49}

Transmisión de las señales gustativas hacia el sistema nervioso central.

La figura 5, muestra las vías neuronales de la transmisión de las señales gustativas desde la lengua y la región faríngea hasta el sistema nervioso central. Los impulsos gustativos procedentes de los receptores gustativos de los dos tercios anteriores de la lengua viajan en la cuerda del tímpano, rama del nervio trigémino (V par craneal) hasta el nervio facial y finalmente, hacia el tracto solitario en el encéfalo. Las sensaciones gustativas procedentes de las papilas circunvaladas y de otras regiones posteriores de la boca se transmiten por el nervio glossofaríngeo (IX par craneal) también hacia el tracto solitario, pero a un nivel ligeramente inferior. Algunas señales gustativas se transmiten hacia el tracto solitario desde la base de la lengua y otras partes de la región faríngea por medio del nervio vago (X par craneal).

Todas las fibras gustativas hacen sinapsis en los núcleos del tracto solitario (NTS) el segundo núcleo de relevo para la salida ascendente del ligando es el parabraquial (PBN) del puente. El tercer núcleo de relevo es el componente parvocelular medio del complejo ventrobasal del tálamo (VPMpc). Este núcleo talámico proyecta al área cortical gustativa (CGA) en la corteza insular. Otras proyecciones ascendentes del PBN son el hipotálamo lateral, núcleo central de la amígdala y el núcleo de la estria terminal (Figura 7).

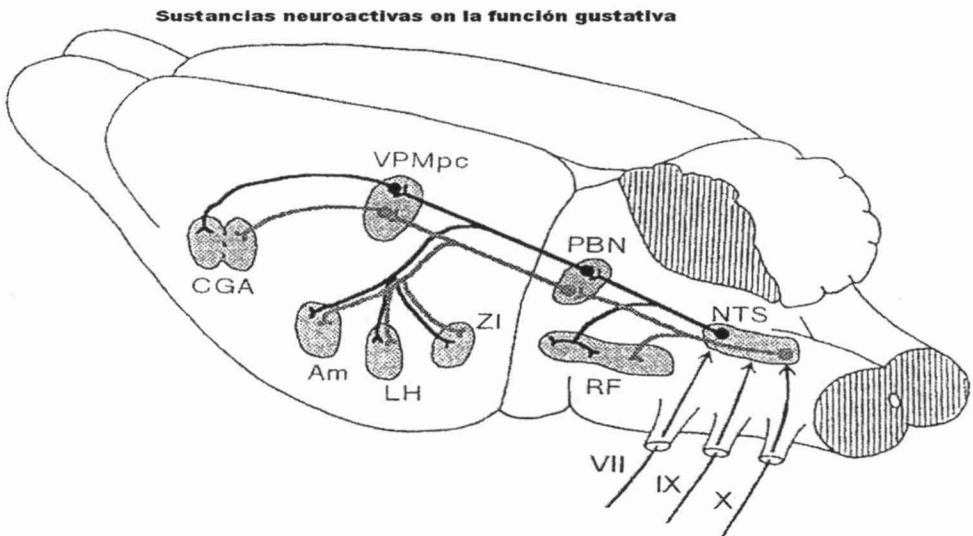


Figura 7. Esquema del gusto central y patrones viscerales en la ratona. VII nervio facial; IX, nervio glossofaríngeo; X, nervio vago; NTS, núcleo del tracto solitario; RF, formación reticular; PBN, núcleo parabraquial; LH, área hipotalámica lateral; ZI, zona incierta; Am, amígdala; VPMpc, parte parvocelular del núcleo talámico pestromedial; CGA, área gustativa cortical. (imagen tomada de Yamamoto 2003).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La diabetes es una enfermedad que afecta varios órganos y funciones. En pacientes diabéticos se reportó una disminución en la respuesta gustativa, sin embargo se desconocen las alteraciones que la causan.

3. JUSTIFICACIÓN

La identificación de estas posibles alteraciones pueden contribuir a un mejor tratamiento de la enfermedad, mejorar la calidad de vida y problemática del paciente.

4. HIPOTESIS

La diabetes produce alteraciones en el tejido lingual incluyendo las papilas gustativas, lo que lleva a alteraciones en el sistema sensorial gustativo.

5. OBJETIVOS

- 1.-Identificar los posibles cambios morfológicos en el tejido lingual de ratas diabéticas.
- 2.- Identificar posibles cambios morfológicos en las papilas gustativas de ratas diabéticas.

6. MÉTODOS

Se utilizaron ratas Long Evans adultas de 170-200g. Los animales se mantuvieron en condiciones normales de laboratorio con agua y alimento *ad libitum*. Se formaron dos grupos con 6 animales cada uno, controles (normales) y diabéticas. La diabetes se indujo mediante la inyección intraperitoneal de estreptozotocina (48.7mg/k) en 2 días subsecuentes. Los animales se utilizaron 20 y 45 días después del tratamiento con estreptozotocina. Las ratas se consideraron diabéticas si los niveles de glucosa en sangre fueron mayores de 300mg/dl. Los niveles de glucosa se determinaron al momento del sacrificio mediante un medidor digital de glucemia Accu-Chek Active de Roche.

Los animales se sacrificaron por decapitación, se extrajo la lengua hasta su parte más posterior cerca de la epiglotis; se fijaron en paraformaldehído al 4% de 24 a 48 horas, la lengua se seccionó en 3 cortes longitudinales, uno en la región media y dos laterales a éste. Un grupo de muestras se introdujo de 14 a 16 horas en un procesador automático de tejidos, posteriormente se incluyeron en parafina y se obtuvieron cortes de 4µm. Las muestras que se utilizaron para histoquímica e inmunohistoquímica se lavaron en buffer fosfatos durante una hora (3 veces), y se obtuvieron por congelación cortes de 9µm.

Los cortes se procesaron, utilizando varias técnicas, que nos permitieron valorar la morfología del tejido a nivel del microscopio de luz. Se utilizaron la técnica de rutina de hematoxilina-eosina, la de PAS para la identificación de glucógeno y la membrana basal, (50) y la de Masson para músculo y colágena, (51).

5.1 Determinación histoquímica de colinesterasas

La determinación histoquímica de acetilcolinesterasa (AChE) y butirilcolinesterasa (BChE) se realizó de acuerdo al método de Kamovsky y Roots (52).

Los cortes obtenidos por congelación, se fijaron en acetona durante 15 minutos a -20° C, posteriormente se lavaron en buffer fosfato de sodio 0.1 M pH 6.0 durante 10 minutos.

Para detectar actividad de AChE los cortes se incubaron en una mezcla de reacción que contiene buffer fosfato 0.1M pH 6.0; citrato de Na^{+} 0.01M; sulfato de cobre 3mM; ferricianuro de K 0.5mM; 1.72 mM de acetiltiocholina y $20\mu\text{M}$ de iso-ompa (tetraisopropilpirofosforamida inhibidor de la BChE).

La actividad de la de BChE se determinó utilizando como sustrato 1.5 mM de butiriltiocholina y $20\mu\text{M}$ de BW284c51 (1,5-bis alildimetilamoniofenil-pentano-3-1 dibromuro, inhibidor de la AChE).

Las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 3 horas y se enjuagó con buffer. La reacción se observa como un precipitado de color café amarillento.

Las observaciones se realizaron en un microscopio Nikon Alpha Photo XS acoplado a una cámara Nikon digital DXM 1200 con un software ACT-1.

5.2 Microscopía electrónica

El tejido se fijó en gutaraldehído al 3%, en PBS las muestras se lavaron 3 veces durante 10 minutos cada uno; se postfijaron en tetraóxido de osmio al 1% y se llevo a cabo la deshidratación del tejido en forma gradual utilizando diferentes concentraciones de etanol (de 30 al 100%) haciendo 3 cambios con etanol al 100%. Todo el procedimiento se llevó a cabo a 4°C . Las muestras se introdujeron en un secador de punto crítico marca Samdri-780, una vez secadas se colocaron en un ionizador de metales JFC-1100 y se fijó el tejido en una cinta adherente de carbón. Las muestras se observaron en microscopio de barrido JEOL- JSM 5410LV.

7. RESULTADOS

La figura (8) muestra la morfología normal de la lengua de la rata de la que se presentan 2 de sus diferentes papilas gustativas. En la parte dorsal de la lengua se identifica un epitelio plano estratificado queratinizado con papilas gustativas; la superficie sublingual presenta un epitelio más plano y carente de papilas. El epitelio basal de la superficie (lingual) dorsal presenta de 13 a 15 capas de células grandes binucleadas con cromatina de aspecto claro y nucleolo prominente, también se observan abundantes gránulos de queratohialina.

La tinción de PAS reveló que la membrana basal es delgada y continua, presenta escasas fibras de colágena, fibroblastos, así como células cebadas.

Las fibras musculares se disponen en haces longitudinales y transversales a todo largo del tejido. En la base de la lengua existen glándulas serosas, mucosas y escasos adipositos.

Entre las fibras musculares se observan abundantes células cebadas, arteriolas, venas y capilares.

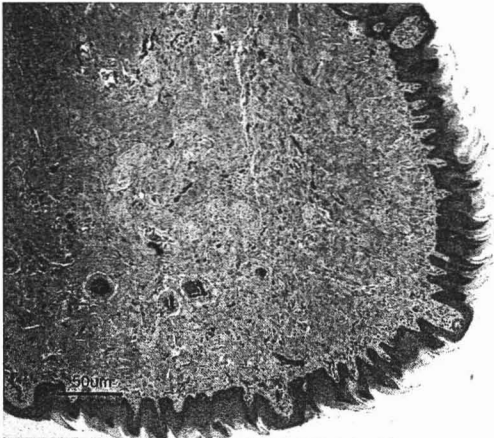


Figura 8. Esquema de la morfología de lengua de la rata, en donde se aprecian diferentes tipos de papilas. Tinción H&E.

6.1 Epitelio

A los 20 y 45 días del tratamiento con estreptozotocina se observaron varios cambios en la morfología de la lengua. El epitelio lingual presentó de 8-10 capas de células en los animales tratados con estreptozotocina por 20 y 45 días. (figura 10)

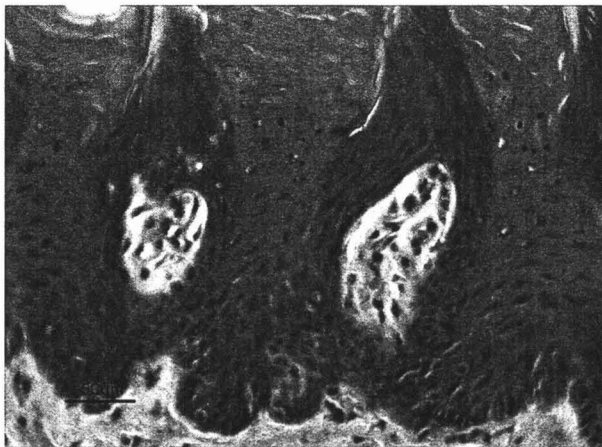


Figura 9. Epitelio basal de la rata control. tinción H&E

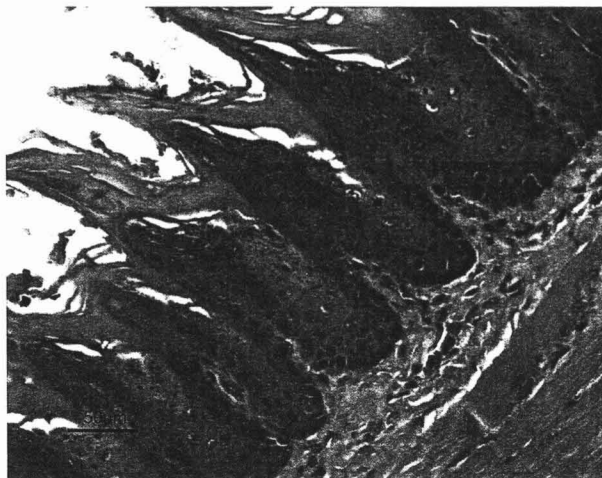


Figura 10. Corte histológico del epitelio basal de la lengua de rata diabética de 20 días, donde se muestra la morfología y el número de células del epitelio. Tinción H&E

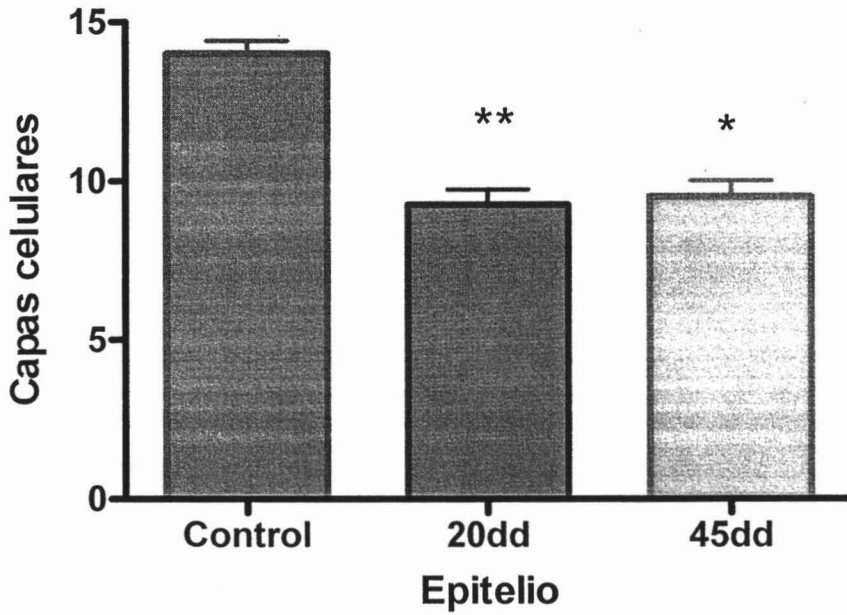


Figura 11. Capas celulares de epitelio en las lenguas de ratas controles y diabéticas a los 20 y 45 días. Los valores expresan las media \pm el error estándar, ** $p \leq .001$, * $p \leq .005$ en relación con el grupo control.

Prueba de T no pareada para Columna 2

Grupo variable : Columna:1

Diferencia hipotética = 0

Muestras	Diferencia promedio	No de datos	Valor -T	Valor-P
Control 20dd	4,750	6	7,750	,0003
Control 45dd	4,500	6	6,971	,0004
20dd,45dd	-,250	6	-,361	,7304

Información grupo para Columna 2

Variable de grupo: Columna 1

Muestras	Cuenta	Promedio	Varianza	Desviación estándar	Error estándar
Control	4	14,000	,667	,816	,408
20dd	4	9,250	,917	,957	,479
45dd	4	9,500	1,000	1,000	,500

6.2 Membrana basal.

La membrana basal del epitelio presenta en el grupo control un grosor de $3.9\mu\text{m}$, mientras que en las diabéticas de 20 y 45 días, presentó un grosor de $7.7\mu\text{m} \pm$ y $8.7\mu\text{m} \pm$ respectivamente (Figura 12y 13).

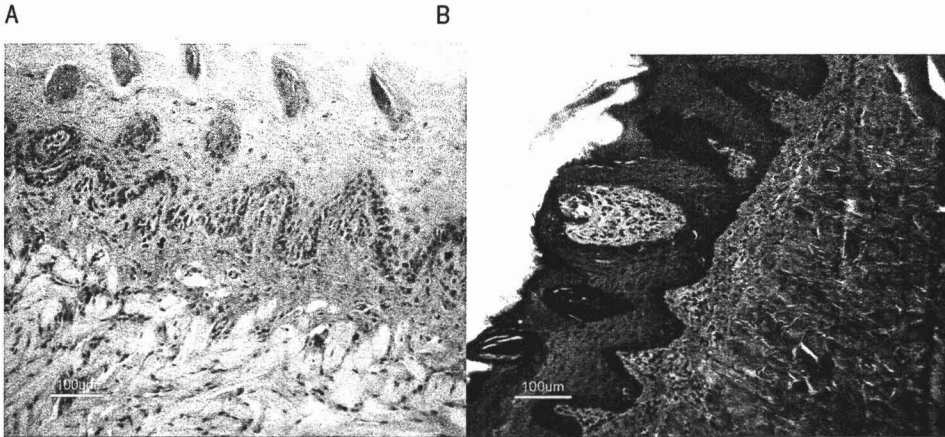


Figura12. Corte histológico que muestra la membrana basal del epitelio lingual de la rata control. (A) tinción PAS (B) tinción de Masson . Notese las papilas filiformes (A) y fungiforme (B)

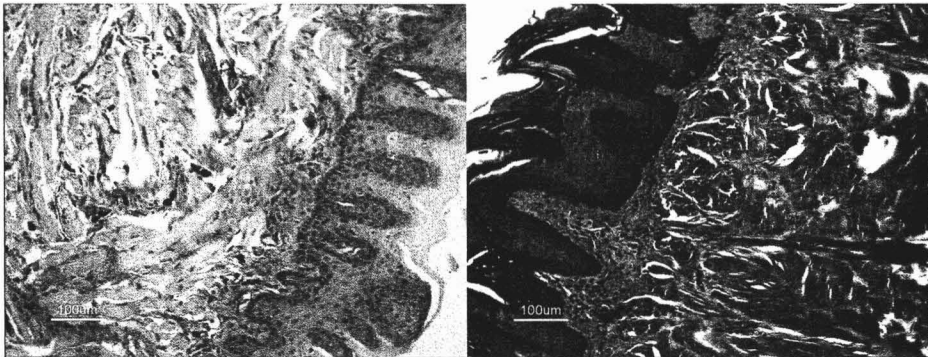


Figura13. Cortes histológicos de ratas diabéticas de 20 días, tinción PAS (izquierda) y tinción Masson (derecha) en donde se muestra el grosor de la membrana basal.

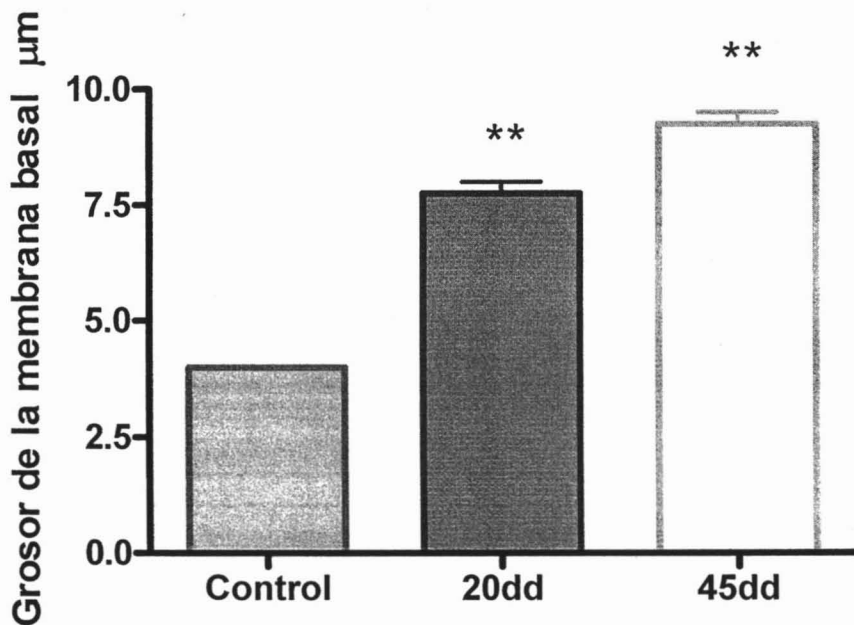


Figura 14. Grosor de la membrana basal en las lenguas de ratas controles y diabéticas tratadas con estreptozotocina a los 20 y 45 días. Los valores expresan la media \pm el error estándar, ** $p \leq .001$ con respecto al grupo control.

Prueba de T no pareada para Columna 2

Grupo variable : Columna:1

Diferencia hipotética = 0

Muestras	Diferencia promedio	No de datos	Valor -T	Valor-P
Control 20dd	-3,850	6	-15,199	< ,0001
Control 45dd	-4,850	6	-19,146	< ,0001
20dd,45dd	-1,000	6	-2,828	,0300

Información grupo para Columna 2

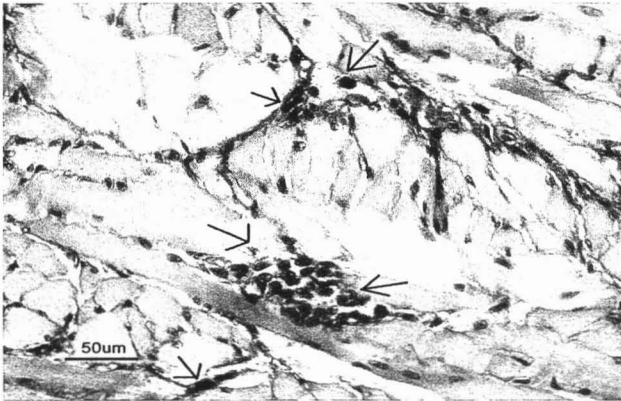
Variable de grupo: Columna 1

Muestras	Cuenta	Promedio	Varianza	Desviación estándar	Error estándar
Control	4	3,900	,007	,082	,041
20dd	4	7,750	,250	,500	,250
45dd	4	8,750	,250	,500	,250

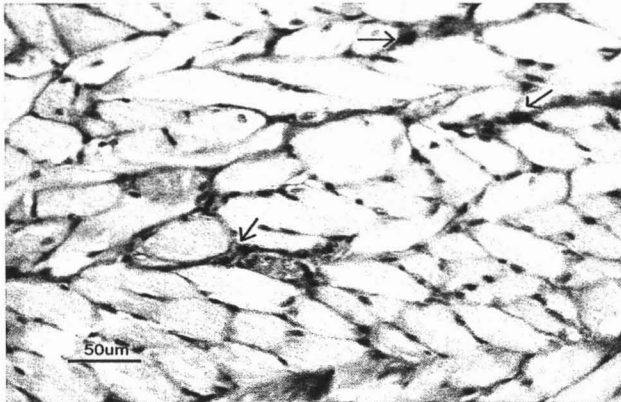
6.3 Células cebadas o mastocitos

Identificadas por sus características morfológicas, las células cebadas o mastocitos se observan relativamente grandes, redondas u ovoides, y contienen numerosos gránulos secretorios esféricos. En el músculo, del grupo control, presentó 10.75 células cebadas por mm^2 . En los animales diabéticos el número de células cebadas disminuyó en un 50% (figura 15)

A



B



En la figura 15. (A) Células cebadas (flechas) presentes en el músculo de la lengua de la rata control y diabéticas de 20 días (B).

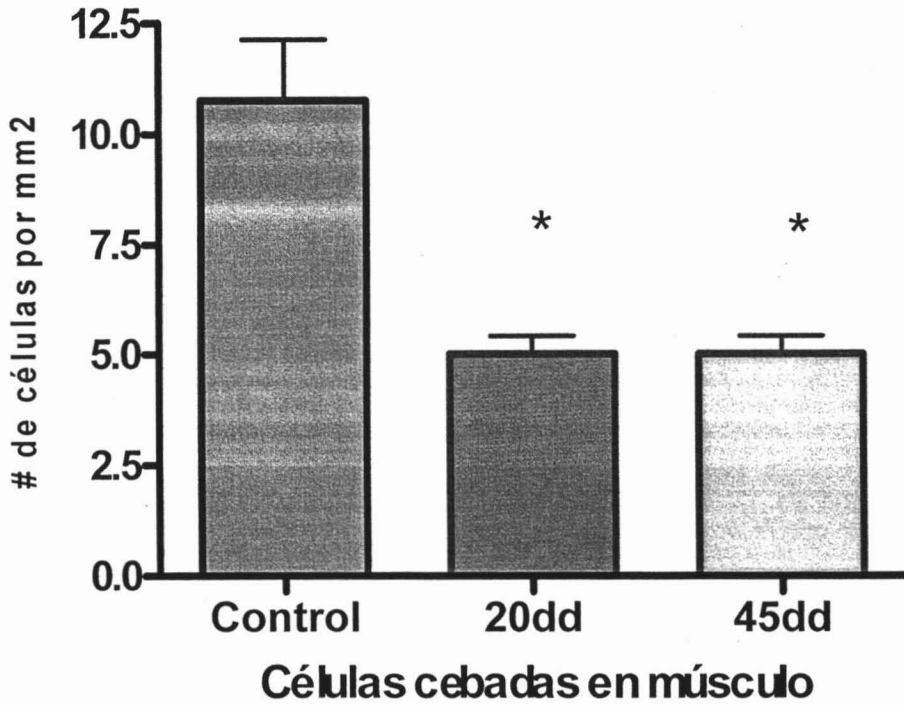


Figura 16. Número de células cebadas por mm² en las lenguas de ratas controles y diabéticas a los 20 y días. Los valores expresan la media ± el error estándar, *p ≤ 0.07 en relación al control.

Prueba de T no pareada para Columna 2

Grupo variable : Columna:1

Diferencia hipotética = 0

Muestras	Diferencia promedio	No de datos	Valor -T	Valor-P
Control 20dd	5,750	6	4,004	,0071
Control 45dd	5,750	6	4,004	,0071
20dd,45dd	0,000	6	0,000	*

Información grupo para Columna 2

Variable de grupo: Columna 1

Muestras	Cuenta	Promedio	Varianza	Desviación estándar	Error estándar
Control	4	10,750	7,583	2,754	1,377
20dd	4	5,000	,667	,816	,408
45dd	4	5,000	,667	,816	,408

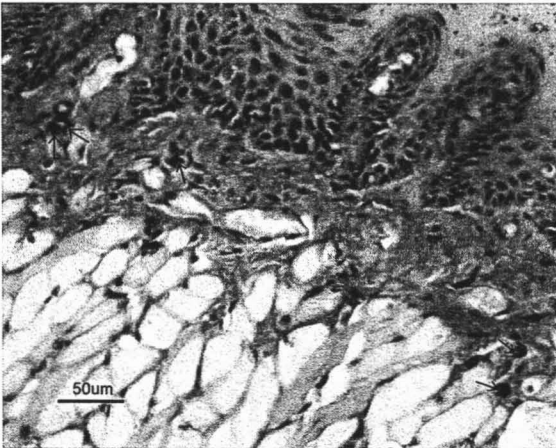
6.4 Tejido conectivo

El tejido conectivo del grupo control presento 1.45 mastocitos/mm²; en los animales diabéticos de 20 y 45 días, en los que se observaron 8.75 y 5 células/mm², respectivamente. (figura 17)

A



B



La figura 17. Muestra células cebadas o mastocitos en tejido conectivo (flechas). (A) Mastocitos en tejido de rata control, (B) mastocitos en tejido de rata diabética de 45días.

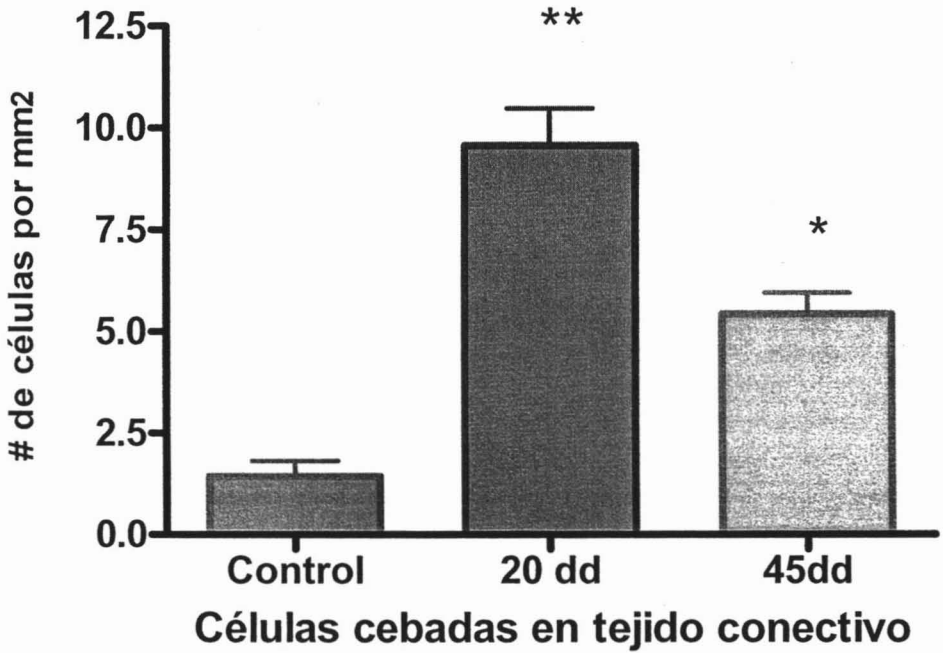


Figura 18. Número de células cebadas por mm² en las lenguas de ratas controles y diabéticas a los 20 y 45 días. Los valores expresan la media \pm el error estándar, ** $p \leq 0.001$, * $p \leq 0.05$ en relación al grupo control.

Prueba de T no pareada para Columna 2

Grupo variable : Columna:1

Diferencia hipotética = 0

Muestras	Diferencia promedio	No de datos	Valor -T	Valor-P
Control 20dd	-7,300	6	-10,705	<,0001
Control 45dd	-3,550	6	-5,596	,0014
20dd,45dd	3,750	6	5,960	,0010

Información grupo para Columna 2

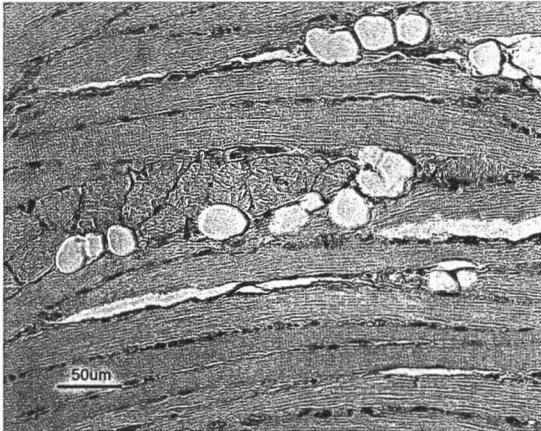
Variable de grupo: Columna 1

Muestras	Cuenta	Promedio	Varianza	Desviación estándar	Error estándar
Control	4	1,450	,943	,971	,486
20dd	4	8,750	,917	,957	,479
45dd	4	5,000	,667	,816	,408

6.5 Tejido adiposo

En el grupo control el tejido adiposo presento $20 \pm$ células por mm^2 , las cuales demostraron 3.5 veces en los animales diabéticos de 20 días, y 2.8 veces en las de 45 días (figura 19)

A



B

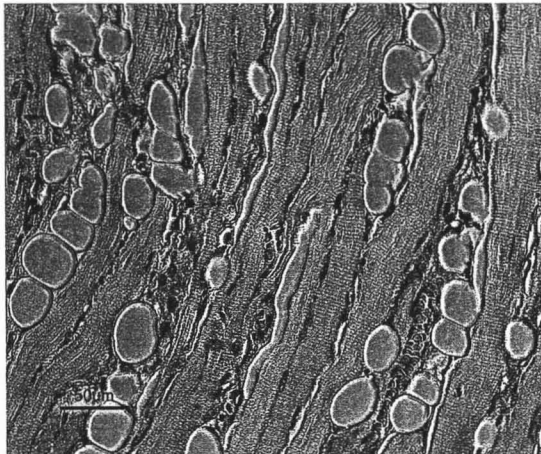


Figura 19. Células adiposas en tejido de rata control (A), y tejido de rata diabética de 20 días (B)

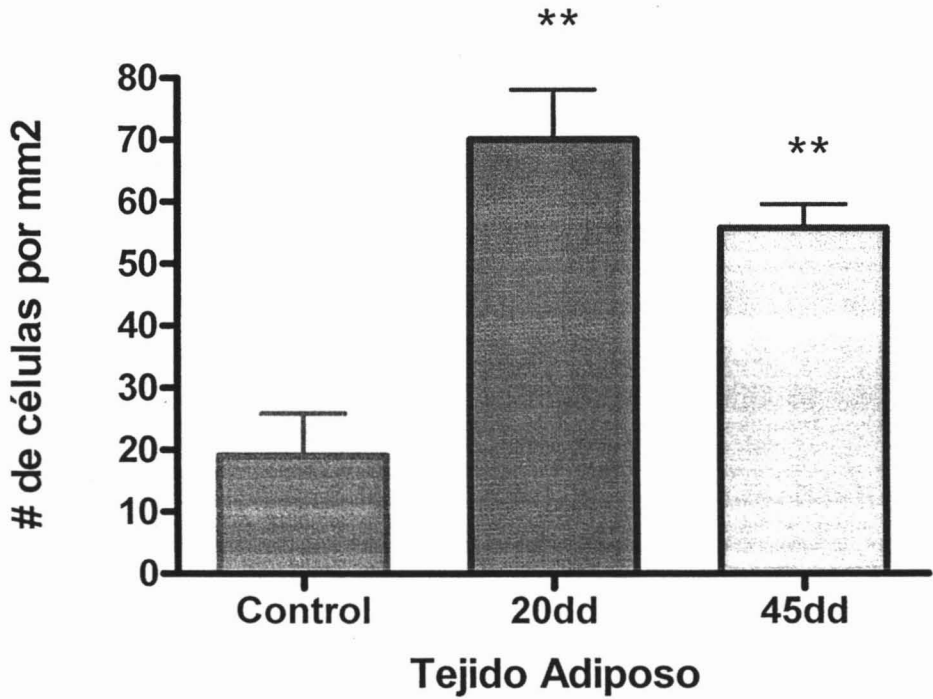


Figura 20. Número de células en el tejido adiposo de las lenguas de ratas control y diabéticas. Los valores expresan la media \pm el error estándar, ** $p \leq 0.003$ en relación al grupo control.

Prueba de T no pareada para Columna 2

Grupo variable : Columna:1

Diferencia hipotética = 0

Muestras	Cuenta	Promedio	Varianza	Desviación estándar	Error estándar
Control	4	19,000	188,667	13,736	6,868
20dd	4	70,000	263,333	16,228	8,114
45dd	4	55,750	58,250	7,632	3,816

Información grupo para Columna 2

Variable de grupo: Columna 1

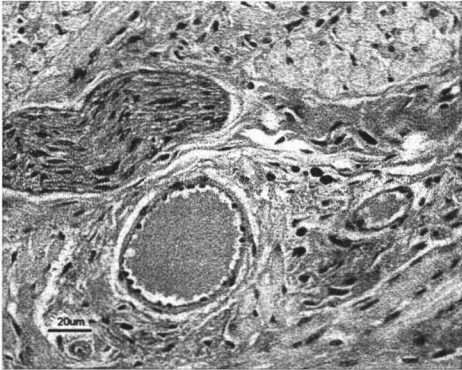
Muestras	Diferencia promedio	No de datos	Valor -T	Valor-P
Control 20dd	-51,000	6	-4798	,0030
Control 45dd	-36,750	6	-4677	,0034

20dd,45dd	14,250	6	1,589	,1631
-----------	--------	---	-------	-------

6.6 Endotelio

El grosor del endotelio de los vasos en el grupo control es de $3.25\mu\text{m} \pm .03$ mientras que en los animales diabéticos aumento un $5.5\mu\text{m}$ (figura21)

A



B

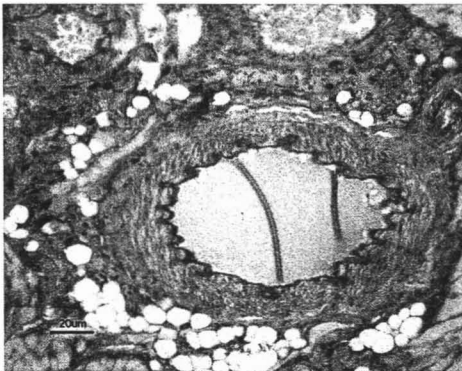


Figura 21. Corte histológico de lengua de rata control donde se muestra el grosor del endotelio del vaso (A). Endotelio de rata de 45 días diabética.

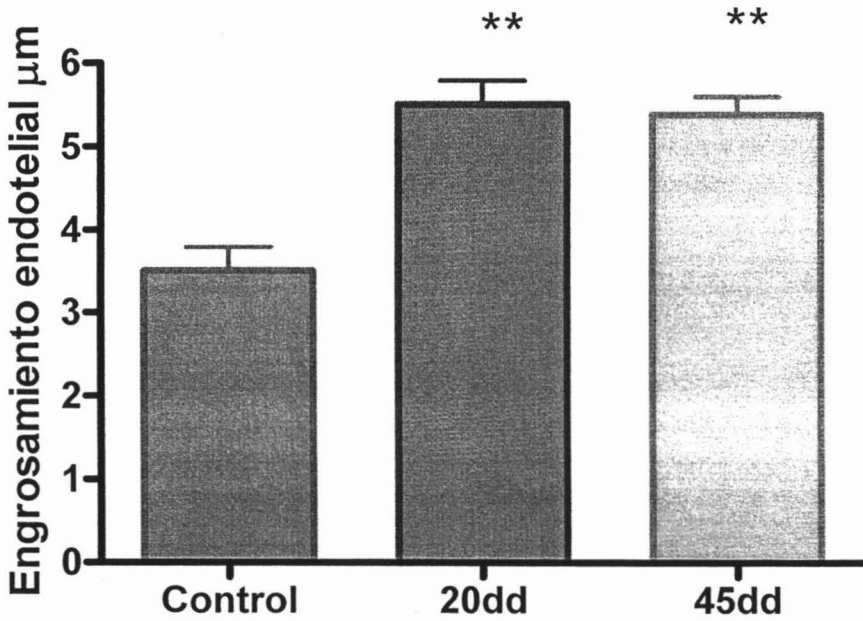


Figura 22. Engrosamiento endotelial en las lenguas de ratas controles y diabéticas. Los valores expresan la media \pm el error estándar, ** $p \leq 0.001$ en relación al grupo control.

Prueba de T no pareada para Columna 2

Grupo variable : Columna:1

Diferencia hipotética = 0

Muestras	Diferencia promedio	No de datos	Valor -T	Valor-P
Control 20dd	-2,250	6	-5,892	,0011
Control 45dd	-2,000	6	-5,657	,0013
20dd,45dd	,250	6	,655	,5370

Información grupo para Columna 2

Variable de grupo: Columna 1

Muestras	Cuenta	Promedio	Varianza	Desviación estándar	Error estándar
Control	4	3,250	,250	,500	,250
20dd	4	5,500	,333	,577	,289
45dd	4	5,250	,250	,500	,250

6.7 Histoquímica de las colinesterasas



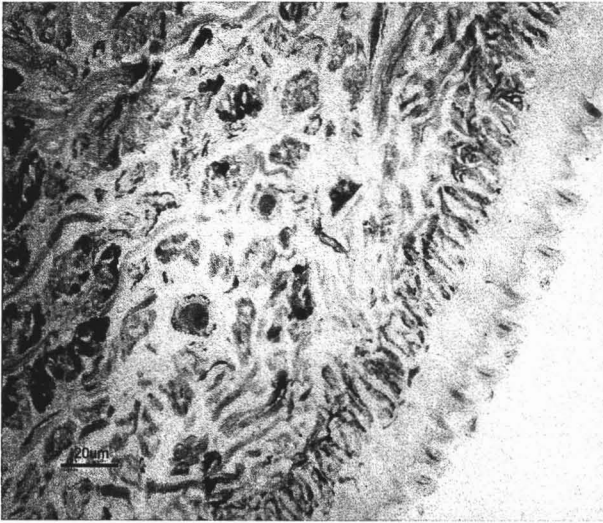
Figura 23. Tejido de rata control, papila circunvalada (A) sin sustrato, (B) con sustrato, (C) sustrato +inhibidor. Acetilcolinesterasa.

En las lenguas de animales control se observó una tinción positiva para la actividad de AChE, en el músculo y la membrana basal del epitelio. (figura 24). En las papilas fungiformes la tinción fue mas intensa en la base del receptor gustativo (figura25). Las papilas circunvaladas mostraron una línea densa a lo largo del epitelio basal de cada receptor gustativo. (figura 26). La distribución de la actividad de la AChE en las lenguas de animales tratados con estreptozotocina fue semejante al observado en el tejido normal, aunque a los 20 días después del tratamiento la tinción fue de mayor intensidad (figura 27) y a los 45 días la intensidad de la tinción fue semejante a la observada en las ratas control (figura 28).

Las muestras incubadas en ausencia o en presencia del sustrato con iso-ompa, no presentaron la tinción, indicando que la reacción observada corresponde efectivamente a la AChE.

Determinación de Butirilcolinesterasa.

La actividad de la BChE no se detecto en el tejido de ratas control. (figura 29) Por el contrario en animales 20 y 45 días después del tratamiento con estreptozotocina se identificó una ligera tinción en todo el tejido (Figura 29).



.Figura 24. Localización de AChE en la lengua de rata control (café).

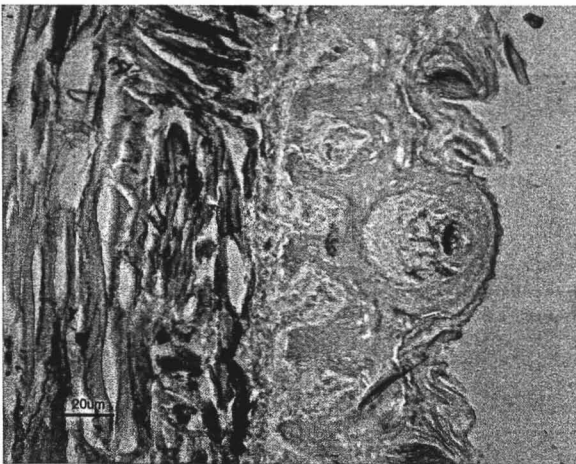


Figura 25. Localización de acetilcolinesterasa (café). Notese la tinción en el receptor de la papila fungiforme.

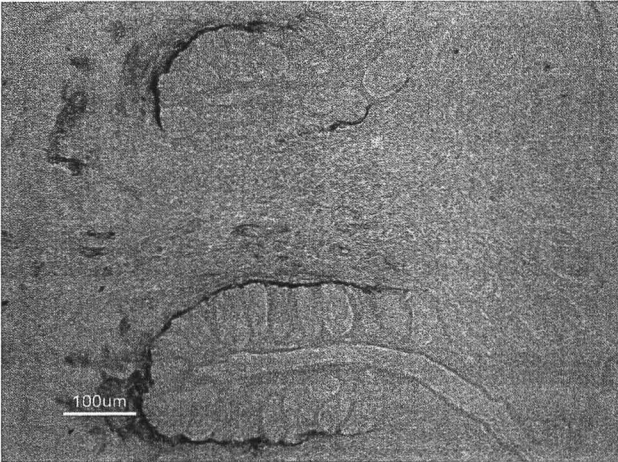


Figura 26. Localización de AChE en la papila circunvalada de rata control.

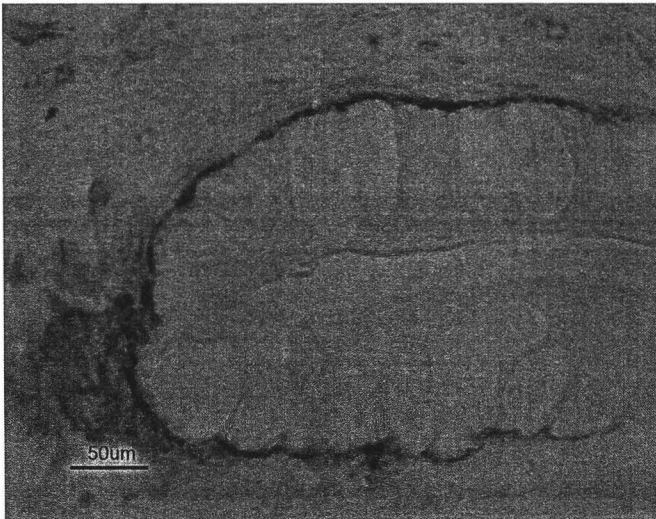


Fig. 26-1. Mayor aumento.

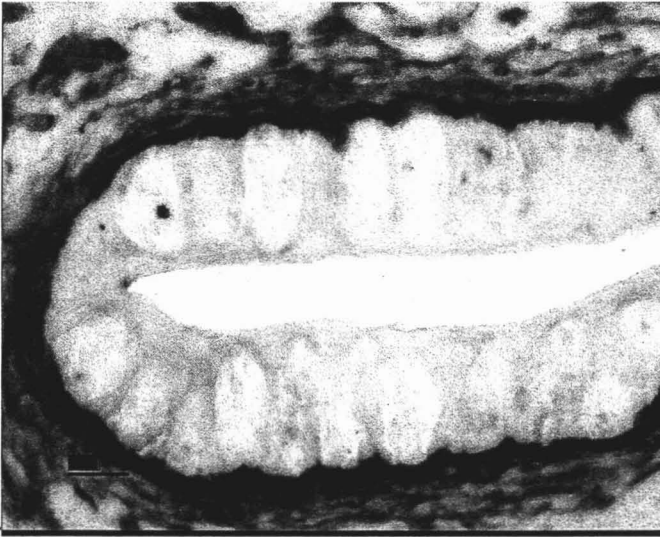


Figura 27. localización de AChE en la papila circunvalada de ratas diabéticas de 20 días.

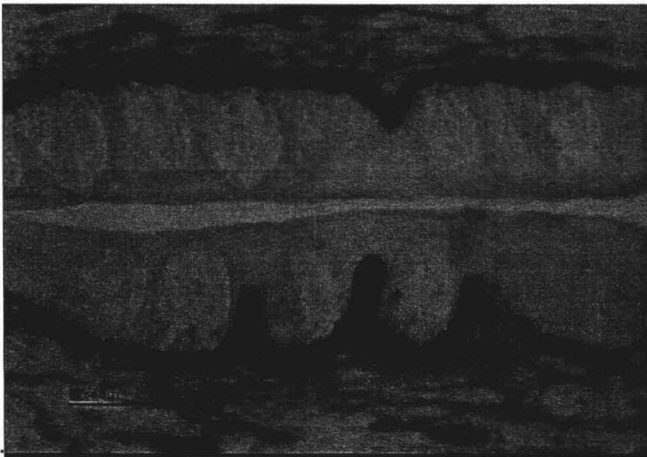
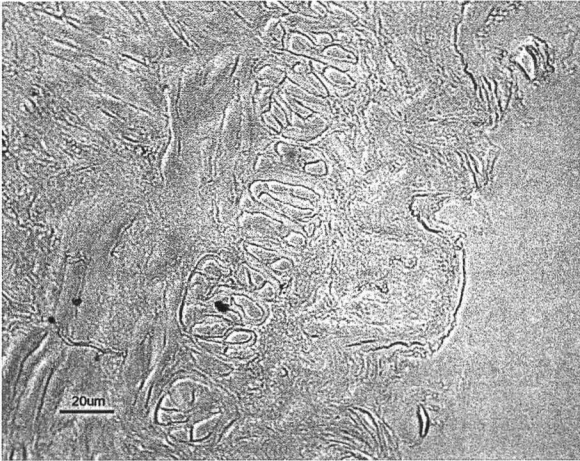


Figura 28. Localización de AChE en la papila circunvalada de rata de 45 días diabética, obsérvese la actividad alrededor de los receptores gustativos.

A



B

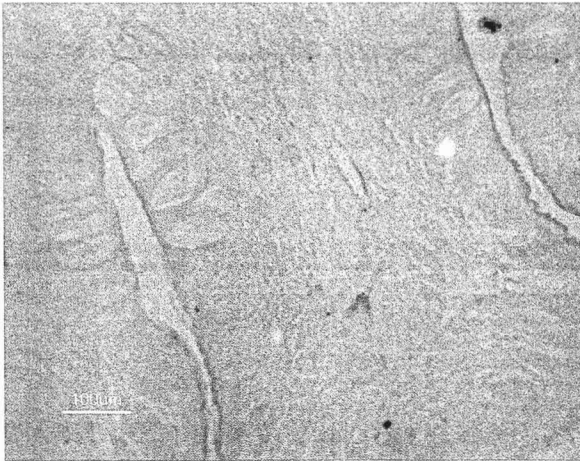
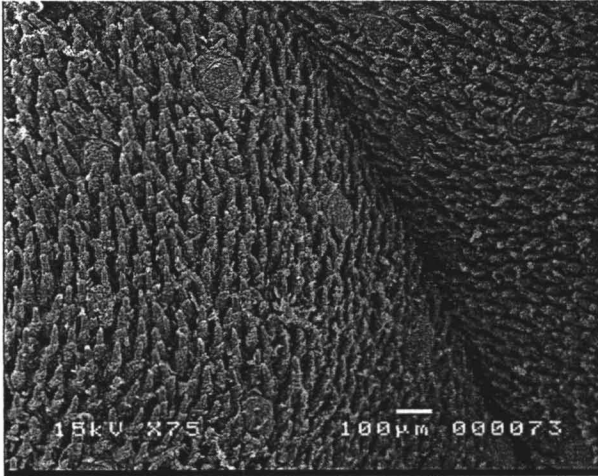


Figura 29. Corte histológico de la papila de la rata control, tinción para BChE. (A) control, (B) diabética de 20 días. Notese la falta de reacción en A y una reacción homogénea en B

6.8 Microscopía electrónica

A



B

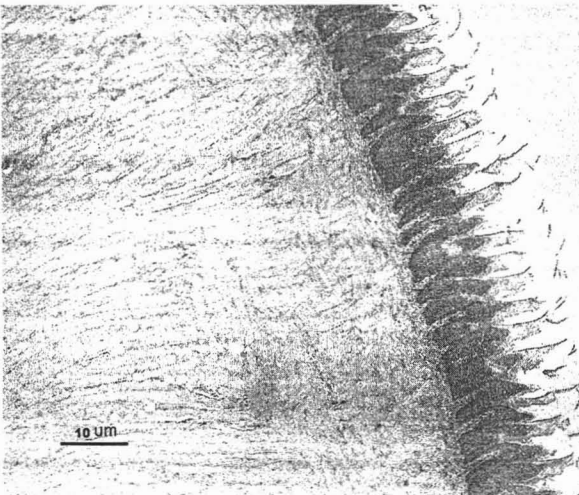
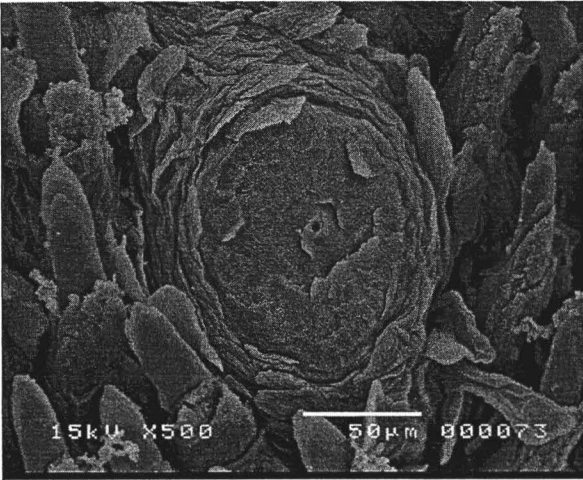


Figura 30. (A) microscopía de barrido que muestra la estructura de las papilas filiformes, (B) fotografía de corte transversal de la lengua donde se muestra las papilas filiformes.

A



B

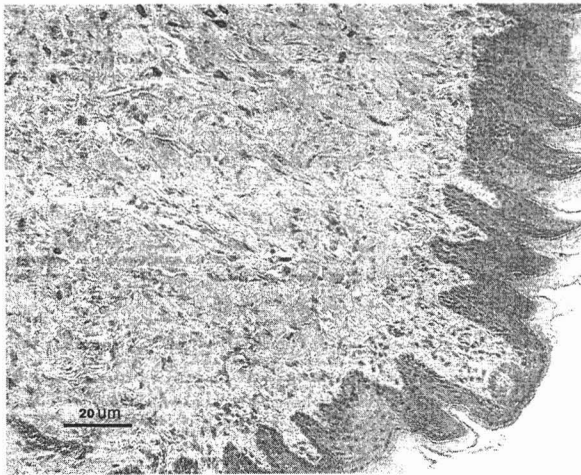
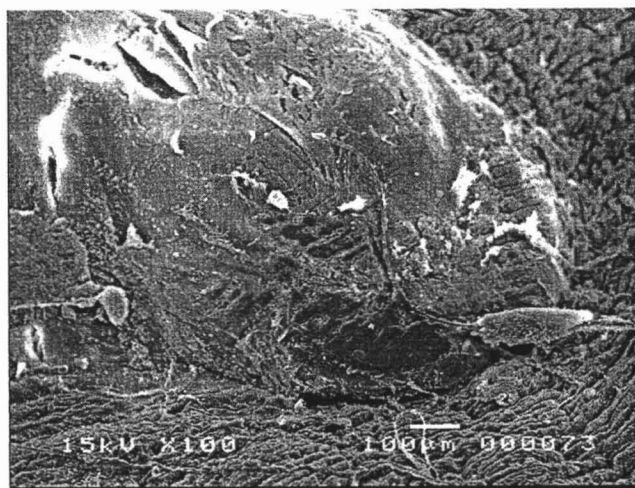


Figura 31. (A) fotografía al microscopio de barrido en donde se muestra la estructura de una papila fungiforme, nótese el poro gustativo en el centro de la papila. (B) fotografía al microscopio óptico de una papila fungiforme, tinción H&E.

A



B

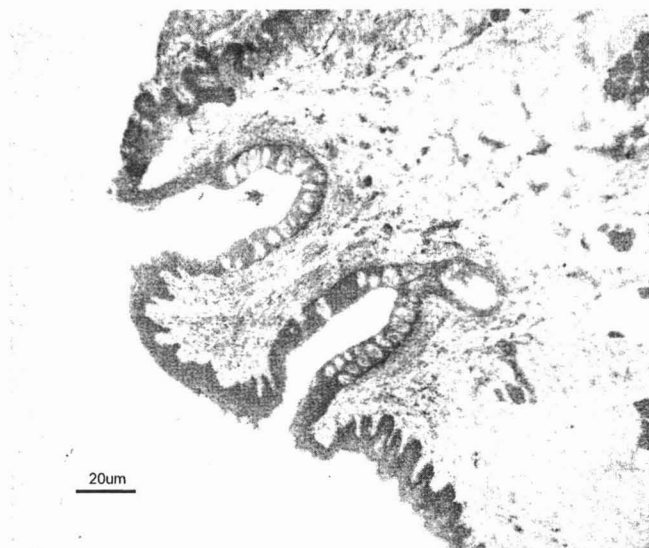


Figura 32. (A) Fotografía al microscopio de barrido donde se muestra una papilla circunvalada vista desde su superficie, (B) papilla circunvalada, corte transversal , microscopio óptico. Tinción H&E.

8. DISCUSION

La DM es una enfermedad metabólica que se caracteriza por la presencia de niveles elevados de glucosa en sangre, también llamada hiperglucemia, que puede estar producida por una deficiente secreción de insulina, resistencia a la acción de la misma, o una mezcla de ambas.

La insulina es una de las principales hormonas anabólicas del organismo; la deficiencia de insulina afecta no sólo el metabolismo de la glucosa, sino también el de las grasas y las proteínas, lo que lleva a múltiples condiciones fisiopatológicas características de la DM, como son la retinopatía, nefropatía, neuropatía.⁵³⁻⁵⁵

Aunque una variedad de complicaciones orales asociadas a la DM han sido reportadas en la lengua, (glositis, alteraciones en la secreción salivar, alteraciones sensoriales, [incluida la del gusto,] leucoplasia, liquen plano y tumores);⁵³ se desconoce si existe una asociación directa entre la DM y alteraciones en la morfofisiología de este órgano.

Con el objeto de identificar si existe esta relación, estudiamos los posibles cambios morfológicos en la lengua de ratas diabéticas comparadas con ratas control.

La estreptozotocina es un antibiótico derivado de *Streptomyces achromogenes*. Es un agente diabético y se ha empleado en el tratamiento de metástasis de tumores pancreáticos y carcinomas.^{54,56} La estreptozotocina, análogo de la 2-deoxi-D-glucosa, provoca específicamente la destrucción de los islotes β del páncreas, que producen la insulina, por lo que su administración es considerada como un modelo experimental de diabetes tipo 1. De acuerdo con resultados anteriores,⁵⁵ las ratas tratadas con estreptozotocina presentaron hiperglucemia desde las 24 horas de su administración, así como poliuria y pérdida en la ganancia de peso corporal.

Los resultados de esta investigación demostraron que la DM causa cambios morfológicos en el epitelio, el músculo, el tejido conectivo, la membrana basal y endotelio de los vasos de la lengua, los cuales pueden llevar a alteraciones funcionales.

En pacientes diabéticos ocurre una disminución en el diámetro de los vasos sanguíneos con pérdida de células endoteliales y pericitos lo que produce hipoxia y microangiopatía en diversos tejidos;⁵⁷ lo que induce cambios atróficos en los tejidos. Adicionalmente se presenta un incremento en el grosor de la membrana basal de su endotelio. La membrana basal es un componente especializado de la matriz extracelular y está formada por glucoproteínas adhesivas y proteoglicanos.

De acuerdo con estos resultados, la tinción de PAS (figura 21) demostró un incremento en el grosor de la pared de los vasos en las lenguas de animales diabéticos de 20 y 45 días. Este engrosamiento se debe a la desintegración desigual de la membrana basal de los vasos, acompañándose de depósitos PAS- positivo ricos en mucopolisacáridos (hialinización amorfa de la pared del vaso); resultados semejantes reportó Akiya⁵⁸ en la lengua de la rata.

El grosor de la membrana basal del epitelio dorsal también se observó aumentado en las ratas diabéticas de 20 y 45 días, indicando un incremento del tejido conectivo y sus componentes, característica constante observada en diferentes tejidos durante la DM.^{1,58} Dicho engrosamiento es más evidente en los capilares de la piel, el músculo esquelético, la retina, los glomérulos renales y la médula renal. El incremento en el grosor de la matriz extracelular sugiere un cambio en la síntesis y/o recambio de la misma.

Otra alteración observada en el tejido lingual de los animales diabéticos fué el incremento en el número de adipocitos en el tejido muscular, esto puede deberse a que durante la diabetes el metabolismo de los lípidos se incrementa; el déficit de insulina en los tejidos provoca una disminución en la síntesis de de la lipasa lipoproteica (misma que hidroliza los triglicéridos de las lipoproteínas de muy baja densidad) llevando así a un incremento en los niveles de triglicéridos.^{59,60}

El incremento observado en el número de células cebadas en tejido conectivo y disminución en músculo de la lengua de animales diabéticos sugiere que en este tejido existe un proceso inflamatorio. Es interesante que el número de estas células también incrementó en los nervios de la lengua de ratas diabéticas.⁶¹ Las células cebadas participan en los procesos inflamatorios,⁶² los gránulos de las células cebadas o mastocitos contienen heparina, glucosaminoglicanos sulfatados e histamina, que son mediadores de la respuesta inmune y por tanto asociada a procesos de inflamación.⁶² Estos resultados en conjunto indican un daño en el tejido lingual y sugieren que el sentido del gusto puede estar alterado en la diabetes.⁶¹ Una observación interesante es que el número de capas celulares del epitelio dorsal de la lengua que da origen a las papilas gustativas disminuyó significativamente en los

animales diabéticos, lo cual sugiere una alteración en la proliferación y/o muerte de las células de este tejido

En un intento por identificar, posibles alteraciones a nivel funcional en los receptores gustativos de los animales diabéticos, estudiamos la presencia de AChE, enzima que lleva a cabo la hidrólisis de ACh, convirtiéndolo en acetato y colina.

La presencia de AChE se demostró con estudios histoquímicos en las células tipo III y espacios intercelulares de los receptores gustativos y fibras nerviosas del ratón.³⁶ Asimismo, estudios bioquímicos mostraron que la ACh presenta una concentración 3 veces mayor en las papilas foliadas del conejo, comparada con otras áreas no gustativas del epitelio lingual. La AChE está presente en altas concentraciones en el receptor gustativo del conejo y de la rata.⁴⁷ Las fibras que inervan los receptores gustativos de la rana contienen vesículas con inmunoreactividad positiva a la AChE.⁴⁷

En este estudio se demostró la presencia de AChE en el receptor gustativo de la papila fungiforme, posiblemente asociada a las células tipo III así como en el espacio extracelular de la papila circunvalada, sin que podamos definir si se localiza en la célula receptora o en la terminal aferente; es interesante que la actividad de AChE fue mayor en los animales diabéticos de 20 días y aparentemente disminuyó a los 45 días. Con el objeto de dilucidar si esta disminución a los 45 días es significativa, intentamos determinar la actividad de la AChE con una técnica bioquímica; si bien determinamos la actividad de la AChE en una preparación del tejido dorsal de la lengua, los resultados no son concluyentes, debido a la dificultad en la separación y aislamiento del epitelio dorsal de la lengua con el músculo, el cual se sabe contiene cantidades elevadas de AChE.⁶⁴ La presencia de AChE posiblemente indica un incremento en la síntesis de esta enzima. Cambios en la actividad de AChE se reportó en tejido nervioso de animales diabéticos.^{64,65}

El aumento de AChE puede llevar a una disminución en la percepción gustativa.

La actividad de BchE se ha demostrado en diferentes tejidos, aunque su función es poco conocida. La determinación histoquímica de esta enzima no demostró su actividad en la lengua de los animales control, sin embargo una muy leve reacción pudo detectarse en la lengua de animales diabéticos. Este resultado puede sugerir una respuesta del tejido al daño general causado por la diabetes, ya que la actividad de la enzima se ha asociado a procesos de desintoxicación.⁶⁴

En conjunto los resultados indican que durante la diabetes se producen alteraciones morfofuncionales en la lengua, que se reflejan en la xerostomia observada en pacientes diabéticos y que favorecen la susceptibilidad a infecciones oportunistas. Las alteraciones en el sentido del gusto pueden afectar de manera directa la ingesta de alimentos y llevar a un desequilibrio nutricional que puede exacerbar la enfermedad.

De lo que resulta obvio que el estudio de los mecanismos que llevan a estas alteraciones favorecerá la utilización de nuevos tratamientos que mejoren la calidad de vida y bienestar de los pacientes.

9. CONCLUSIONES

- La hiperglucemia causada por la administración de estreptozotocina indujo cambios morfológicos en la lengua de la rata:
- Disminución del número de capas celulares del epitelio dorsal.
- Aumento en la actividad de AChE en las papilas gustativas.
- Aumento en el grosor de la membrana basal del epitelio.
- Aumento en el grosor de la pared de los vasos.
- Aumento en el número de células cebadas.
- Aumento en el tejido adiposo.
- Los resultados sugieren una alteración en la fisiología de los receptores gustativos.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Robbins y Cotran- Kumar, Abbas, fausto,(2005). Patología estructural y funcional, 7ª edición, Ed. Saunders Elsevier. Capitulo 24 pp 1193-1209
2. Leonardo G. Mancillas Adame, (2002). Diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus, conceptos actuales. Revista de Endocrinología y Nutrición . Abril-Junio; 10(2):63-68
3. Crispan David, Enfermedades de la boca. (1983) Tomo V. Ed. Mundi 2207-2236
4. Aguilar S. Carlos , (2002). Avances en el tratamiento de la diabetes Tipo 2; Revista de la Academia Mexicana de Ciencia, 53(3):63-71
5. Sheppard IM, (1942). Oral manifestation of diabetes mellitus., J Am Dent Assoc. 29:1188-1192
6. Newrick PG, Bowman C, Gree D. et al, (1991). Parotid salivary secretion in diabetic autonomic neuropathy. J Diabet Complications 5:35-37
7. Rees TD, (1994). The diabetic dental patient. Dent Clin Nort Am 38:447-463
8. Finney LS, Finney MO, (1997). What the mouth has to say about diabetes. Careful examinations can avert serious complications Postgrad Med, Dec, 102: (6) 117-126
9. Meurman JDH, Collin HL, Niskanen L. et al, (1998). Saliva in non-insulin-dependent diabetic patients and control subjects: the role of the autonomic nervous system . Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 86:69-76
10. Kjellman O, (1970). The presence of glucose in gingival exudates and resting saliva of subjects with insulin- treated diabetes mellitus Sven Tandlak Tidskr 63:11-19
11. Karjalainen KM, Knouttila ML, Kaar ML, (1997). Reallationship between caries and level of metabolic balance in children and adolescents with insulin.dependent diabetes mellitus Caries Res 31: 13-18
12. Bartolucci EG, Parkes RB, (1981). Accelerated periodontal breakdown in uncontrolled diabetes. Pathogenesis and treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 52:387-390

13. Thorstensson H, Dahlen G, Hugoson A, (1995). Some suspected periodonto-pathogens and serum antibody response in adult long-duration insulin-dependent diabetics. *J Clin Periodontol* 22:449-458.
14. Lalla RV, D'Ambrosio JA, (2001). Dental management considerations for the patient with diabetes mellitus. *J AM Dent Assoc* 132:1425-1432.
15. Shlossman M, Knowler WC, Pettitt DJ. et al, (1990). Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. *J Am Dent Assoc* 121:532-536
16. Zambon JJ, Reynolds H, Fisher JG et al, . (1998). Microbiological and immunological studies of adult periodontitis in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus *J Periodontol* 59:23-31
17. Golub LM, Schneir M, Ramamurthy NS, (1978). Enhanced collagenase activity in diabetic rat gingival: in vitro evidence. *J Dent Res* 57:520-525
18. Lien YH, Stern R, Fu JC; (1984). Inhibition of collagen fibril formation in vitro and subsequent cross-linking by glucose. *Science* Sep 28;225(4669):1489-91.
19. Darwazeh Am, Lamey PJ, Samaranayake LP et al, (1990). The relationship between colonisation, secretor status and in vitro adhesion of *Candida albicans* to buccal epithelial cells from diabetics. *J Med Microbiol* 33:43-49
20. Samaranayake LP, Mac Farlane TW, (1982). The effect of dietary carbohydrates on the in vitro adhesion of *Candida albicans* to epithelial cells. *J Med Microbiol* 15:511-517
21. Knight L, Fletcher J , (1971). Growth of *Candida albicans* in saliva: stimulation by glucose associated with antibiotics, corticosteroids, and diabetes mellitus. *J infect Dis* 123:371-377
22. Lundstrom IM, (1983). Incidence of diabetes mellitus in patients with oral lichen planus. *Int J Oral Surg* 12:147-152
23. Ueta E, Osaki T, Yonoda K et al , (1993). Prevalence of diabetes mellitus in odontogenic infections and oral candidiasis : an analysis of neutrophil suppression *J Oral Pathol Med* 22:168-174
24. Guggenheimer J, Moore PA, Rossie K et al , (2000). Insulin dependent diabetes mellitus and oral soft tissue pathologies: II. Prevalence and characteristics of *Candida* and candidal lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 89:570-576
25. Darwazeh AM, Lamey PJ, Samaranayake LP, Mac Farlane TW, et al. (1990), The relationship between colonisation, secretor status and in vitro adhesion of *Candida Albicans* to buccal epithelial cells from diabetics. *J. Med. Microbiol. Sep;33(1):43-9*
26. Manfredi M, McCullough MJ, AL Karaawi ZM et al, (2002). The isolation , identification and molecular analysis of *Candida* spp. Isolated from the oral cavities of patients with diabetes mellitus. *Oral Microbiol Immunol* 17:181-185

27. Mann Norman M. Md, (2003). Management of Smell and Taste Problems, *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, April 659(4):329-336
28. Bromley Steven M. , M.D, (2000). Smell and taste disorders: A Primary Care Approach *American Fam Physician*. Jan 15; 61 (2) : 427-36,438
29. Thomas V, Getchel et al, (1993). Smell and taste in health and disease. New York Raven Press. Jan14; 328(2):883
30. Perros Petros, Carl Counsell, (1996). Altered Taste Sensation In Newly-Diagnosed NIDDM. *Diabetes Care*. July, 19(7):768-770
31. Rudiger Becker, (1982). *Patología de la cavidad bucal*; Salvat Editores, pp 220-21
32. Mattes Rd, (1997). Physiologic responses to sensory stimulation by food, *Nutritional Implications*. J A diet Assoc 97:406-13
33. Bergamasco NH, Beraldo KE, (1990). Facial Expressions of neonate infants in response to gustatory stimuli. *Braz J Med Biol Res*; 23(3-4):245-9
34. Schiffman Susan S., (1997). Taste and smell losses in normal aging disease. *Jama*. Chicago: Oct 22-Oct , 29; Vol. 278, Iss. 16; Pg. 1357, 6 Pgs
35. Akerman, Bh, Kasbekar N, (1997). Disturbances of taste and smell Induced by drugs. *Pharmacotherapy*; 17:482-96
36. Lindemann Bern, (1996). Taste reception. *Neurochemical reviews* ; 76(2):719-766
37. Rapuzzi G, Casella C, (1965). Inervation of the fungiform papillae in the frog tongue. *J Neurophysiology*. 28:154-165,
38. Royer, S.M. and J. C. Kinnamon ,(1991). HVEM serial sections analysis of rabbit foliate taste buds. I. Type III cells and synapses. *J. comp. neurol*. 306: 49-72,
39. Guyton Arthur C., (1996). *Fisiología Médica*, 9a.Ed, Mc Graw Hill; pp.1063-1077
40. Delay, R., J. Kinnamon, (1986). Ultrastructure of mouse vallate taste buds II cell types and cell lineage. *J.Comp. Neurol*. 253:242-252
41. Kinnamon, J.C., D.M. Henzler, (1993). Ultrastructural analysis of mouse fungiform taste buds, cell types, and associated synapses.. *Microsc. Res.tech* 26:142-156,
42. Murray, R.G, (1993). Cellular relations in mouse circumvalate taste buds *Microsc. Res.tech*. 26:209-224,

43. Seta, Y., and K. Toyoshima, (1995). Three dimensional structure of the gustatory cell in the mouse fungiform taste buds: a computer assisted reconstruction from serial ultrathin sections. *Anat. Embryol.* 191: 83-88,
44. Moore Keith L., (2003). *Embriología Clínica* Ed. Mc Graww Hill, 6a edición, p 247
45. Sperber GH, (2003). Fabricating a face: the essence of embryology in the dental curriculum. *J Dent Educ.* Mar; 67(3):370-4.
46. Cormarck David H. , (1987). *Histología De Ham*, 9a Ed, , Ed. Harla; pp 589-593
47. Yamamoto Takashi, takatoshi Nagai et al, (1998). Roles of Chemical Mediators in the Taste System. *Japan Journal Pharmacology.* 76,325-348
48. Ganong William F., (1998). *Fisiología Médica*, 16ª. Ed.,, Manual Moderno; pp. 213-216
49. Kinammon Sue, (1995). Mecanismos de tansducción en la célula gustativa.: *Neurobiología de los Sistemas Sensoriales.* Universidad Nacional Autónoma de México; pp.149-167
50. Mc Manus, (1948). Histological and histochemical uses of periodic acid. *JFA. Stain Technol.*; 23:99
51. Masson PJ, (1929). Trichrome stainings and their preliminary techniques., *J tech Met*; 12:75
52. Karnovsky and Roots, (1964). "Direct coloring" tiocholine method for cholinesterases", *Journal of Histochemistry and Citochemistry* 12839:219-221
53. Bayarchimeg Batbayar, Tivadar Zelles et al. (2004). Plasticity of the different neuropeptide-containing nerve fibres in the tongue of the diabetic rat. *Journal of the Peripheral Nervous System*; 9(4):215:223
54. Mahay, E Adeghate, M. Z. Lindley et al. (2004). Streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus alters the morphology, secretory function and acyl lipid contents in the isolated rat parotid salivary gland. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 261:175-181
55. Streptozotocin, (1981) Cas No. 18883-66-4 Substance profiles. Report and carcinogens, 11 th edition.
56. Gyorfi A, Fazekas A, Feher E, Ender F, Rosivall L. (1996) Effects of sreptozotocin induced diabetes on neurogenic inflammation of gingivomucosal tissue in rat. *J. Periodontal Res.* May; 31 (4) :249-55
57. Rangasamy Sampathkumar, Muthuswamy Balasubramanyam et al. (2005). A novel advanced glycation index and its association with diabetes and microangiopathy. August; 54(8):1002-1007
58. Akiya O, Serizawa N, Sugihara , katagari S, Kawashima Y. (1992) . A histological study of changes in the lingual papillae of estreptozotocin- induced diabeticas rats. *Bull Tokyo Dent Coll.* Feb; 33 (1): 13-24

59. Bret H. Goodpaster, Shanthi krishnaswami et al. (2003). Association between regional adipose tissue distribution and both type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in elderly men and women. *Diabetes Care* 26:372-379.
60. Kirsi A. Virtanen, Patricia Lozzo et al. (2005). Increased fat mass compensates for insulin resistance in abdominal obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*. 54: 2720-2726 (1998).
61. Walsh Laurence J.. (2003). Mast cells and oral inflammation. *Crit Rev Oral Biol Med* 14(3): 188-198
62. Leon, A. Buriani, R. Dal toso et al. (1994). Mast cells synthesize , store, and release nerve growth factor. *Neurobiology* . April; 91:3739-3743
63. Ellman, G. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7: 88-95
64. Sánchez Chávez Gustavo and Salceda Rocío, (2001). Acetyl and Butyrylcholinesterase in normal and diabetic rat retina. *Neurochemical research*. 26 (2):153-159.
65. Sánchez Chávez Gustavo and Salceda Rocío, (2000). Effect of streptozotocin-induced diabetes on activities of cholinesterases in the rat retina. *IUBMB Life*, 49:283-287
66. Netter Frank H. ,(1994). *Atlas of human anatomy*, Ciba Geygy corporation. Lamina 52
67. Mombaerts Meter , (2001). Better taste through chemistry. *Nature Genetics*.25: 130-32
68. Freeman & Bracedirdle, (1975). *Atlas de histología* Ed. Paraninfo. pag.34
69. Yee CL. Yang Rubiao et al, (2001). Type III cells of rat taste buds : immunohistochemical and ultrastructural studies of neuron-specific enolase, protein gene product 9.5, and serotonin. *The journal of comparative neurology* 440:97-108.