

131  
Res.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**INFLUENCIA DE LA DURACION DE LA DIABETES  
MELLITUS SOBRE LAS ALTERACIONES PATOLOGICAS  
EN PANCREAS Y RIÑON DE RATAS INDUCIDAS  
CON ESTREPTOZOTOCINA**

FALLA DE ORIGEN

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A  
ADOLFO HERRERA JUAREZ

ASESORES

M. V. Z. GERARDO ARRELLIN ROSAS

M. V. Z. JOSE RAMIREZ LEZAMA



MEXICO, D. F.

SEPTIEMBRE DE 1995



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **DEDICATORIA**

**En Memoria a mi Padre, Sr. J. Trinidad Herrera Reyes  
A mi Madre, Sinforosa Juárez de Herrera**

**Porque gracias a el esmero, apoyo y cariño de mis padres he podido llegar a la  
culminación de una etapa en mi vida.**

**Gracias a tí, Madre, por el esfuerzo de estos años, que para mi significan el  
mejor aliciente.**

**Con cariño a mi abuelita Soledad Moreno  
y mis hermanos:  
Trino, Lucha, Juan, Soco, Victor, Monica e Isabel.**

**Por su amistad :  
A mis compañeros de generación  
A mis amigos de siempre**

## **AGRADECIMIENTO**

**A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
de la Universidad Nacional Autónoma de México**

**Al Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM**

**Al Departamento de Patología de la FMVZ**

**A mis asesores: MVZ. Gerardo Arrellín Rosas  
MVZ. José Ramírez Lezama**

**Expreso mi gratitud para con Gerardo por su enseñanza, amistad, paciencia y la manera tan profesional de asesorar mi tesis. De igual manera agradezco a José Ramírez por el tiempo dedicado a mi trabajo.**

**Agradezco especialmente a:**

**Al Biol., M. en C. B. B., Ernesto Guerrero por la forma tan amable de permitirme aprender y utilizar, una pequeña parte de su laboratorio.**

**Con significancia estadística al M.V.Z., Marcelino Rosas G. por su gran ayuda en el análisis de mis datos.**

**A la Ht., Guadalupe Juárez Jiménez por su labor en los procesos de corte en microtomo y tinciones histológicas ( H-E, Fucsina Aldehído, PAS y Rojo Congo).**

**y al MVZ. Ciro Lomeli y Flores por las sugerencias y por permitirme imprimir mi trabajo.**

A ti mujer, por tu fuerza,  
a ti Nena por apoyarme tanto en mi tesis,  
por ti Leto,  
mi amor.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
Microangiopatía.....	7
Cambios en los Islotes Pancreáticos .....	7
Nefropatía.....	8
HIPOTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	11
MATERIAL Y METODOS .....	12
RESULTADOS .....	15
DISCUSION .....	18
Importancia del Modelo Animal Experimental .....	18
Histopatología Pancreática en Ratas Diabéticas .....	19
Histopatología Renal en Ratas Diabéticas .....	21
Patogenia de las Alteraciones Renales.....	22
Correlación entre la Diabetes Murina y la Humana .....	24
CONCLUSIONES.....	26
LITERATURA CITADA .....	27
FOTOS.....	32
GRAFICAS.....	40
CUADROS.....	46

## **R E S U M E N**

**HERRERA JUAREZ ADOLFO.** Influencia de la duración de la Diabetes Mellitus sobre las alteraciones patológicas en páncreas y riñón de ratas inducidas con estreptozotocina. (Bajo la dirección de: José Ramírez Lezama y Gerardo Arrellín Rosas).

Con el objeto de encontrar la relación existente entre la Duración de la Condición Diabética (DCD), con la variedad y gravedad de las lesiones histopatológicas que se presentan en páncreas y riñón, se revisaron 50 ratas estreptozotonizadas de dos cepas, agrupadas en cinco rangos de DCD (1=2 a 11 días, 2=12 a 35 días, 3=40 a 53 días, 4=88 y 118 días, 5=223 días). En el páncreas endocrino, la vacuolización y degranulación celular se relacionan en forma positiva con la DCD alcanzando su grado degenerativo máximo hacia el rango 4. El tejido renal a nivel glomerular manifestó engrosamiento de la membrana basal, característica de la microangiopatía diabética, desde el inicio del estado hiperglicémico. Por otro lado, la deposición de amiloide solo se presentó hasta el último rango de DCD. La necrosis de los túbulos renales, así como del tejido pancreático exocrino, son posiblemente el resultado de la microangiopatía, establecida por el estado hiperglicémico de la diabetes. Las diferencias en las alteraciones histopatológicas entre las ratas inducidas con estreptozotocina y las de la diabetes humana quizá se relacionan con el método de inducción utilizado en las primeras. La importancia del modelo animal de Diabetes Mellitus Insulino Dependiente o tipo I, se demuestra por la secuencia patogénica similar con respecto a la desarrollada en la Diabetes Mellitus de los humanos.

# **INFLUENCIA DE LA DURACION DE LA DIABETES MELLITUS SOBRE LAS ALTERACIONES PATOLOGICAS EN PANCREAS Y RIÑON DE RATAS INDUCIDAS CON ESTREPTOZOTOCINA.**

## **INTRODUCCION.**

La Diabetes Mellitus es una enfermedad crónica que afecta el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas, cuya alteración característica es la hiperglicemia, reflejo de la deficiente utilización celular de glucosa por la insuficiente o nula secreción de insulina de las células beta en los islotes de Langerhans del páncreas endocrino.(22)

La Organización Mundial de la Salud, en 1985 afirma que "la intensidad de los síntomas esta determinada por el grado en que la acción insulínica es deficiente" todo ello conlleva "característicamente el riesgo a largo plazo de desarrollar trastornos en la retina y riñones, daño en los nervios periféricos y exacerbación de la enfermedad aterosclerótica del corazón, miembros inferiores y cerebro.(6)

La diabetes mellitus primaria se divide en dos variantes que difieren en su patrón de herencia, respuesta a la insulina y etiología. La primera es la Diabetes Mellitus Insulino Dependiente (DMID), o tipo I, conocida anteriormente como diabetes juvenil con cetosis rápida. La segunda variante, designada como Diabetes

### 3

Mellitus No Insulino Dependiente (DMNID) o tipo II, se conocía como diabetes de adultos, esta se divide en obeso y no obeso y una forma poco conocida que es la denominada Diabetes Juvenil con Inicio en la Madurez (DJIM) que se manifiesta por una moderada hiperglicemia y es transmitida por la expresión de un gen autosómico dominante (8).

Se ha establecido que la etiología de la Diabetes Mellitus responde a una multiplicidad de factores genéticos, inmunitarios, locales y ambientales que en cada trastorno en concreto confluyen para generar la hiperglicemia. Los factores genéticos en la Diabetes Mellitus Insulino Dependiente o del Tipo I involucran los genes HLADR3, HLADR4 y HLDQW3.2 (28) localizados en el cromosoma seis (Antígenos de Leucocitos Humanos), estos genes son parte del Complejo Principal de Histocompatibilidad, por lo tanto codifican para expresar moléculas autoantígenas membranales y citoplásmicas en las células beta pancreáticas. Esta predisposición genética interactúa con factores ambientales como los virus para desencadenar el estado diabético. Se ha determinado que estos factores estimulan la hiperexpresión de las moléculas de clase I y la expresión anormal de las moléculas clase II (5), con esto el autoantígeno diabetogénico estimula la respuesta inmunitaria de linfocitos T cooperadores que por medio de linfocinas atraen linfocitos B productores de anticuerpos contra la célula beta, anticuerpos contra insulina y otros, además de la proliferación de linfocitos T supresores y

citotóxicos con la subsiguiente infiltración de células inflamatorias y destrucción celular (insulinitis). (6,20,22)

Los cambios metabólicos agudos de la Diabetes Mellitus son la cetoacidosis y el coma hiperosmolar no cetónico; la primera se presenta exclusivamente en la Diabetes del Tipo I y es estimulada por una grave deficiencia insulínica aunada a un relativo incremento del glucagon. La deficiencia insulínica causa la movilización de Ácidos Grasos Libres (AGL) de las reservas adiposas, se metabolizan en el hígado por la acetil CoA y producen cuerpos cetónicos (ácido acetoacético y betahidroxibutírico). El glucagon es la hormona que acelera la oxidación de AGL y de aminoácidos cetogénicos para agravar el trastorno metabólico de lípidos. La cetogénesis incrementa sus niveles hasta la cetonemia y excreción urinaria de cuerpos cetónicos (cetonuria) acompañada de deshidratación; la concentración del ion hidrógeno en plasma se incrementa y da como resultado la cetoacidosis metabólica sistémica. En la Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente o del Tipo II, la poliuria, polidipsia y polifagia se acompañan de rápida hiperglicemia pero la cetoacidosis es rara, particularmente los adultos con diabetes temprana desarrollan un síndrome de coma hiperosmolar no cetónico engendrado por la severa deshidratación, resultado de la sostenida diuresis hiperglicémica complementada con la insuficiente reposición de agua por bebida, por lo tanto debido a la ausencia de los signos y síntomas de la

cetoacidosis estos pacientes requieren de extrema observación médica para no caer en una severa deshidratación, incluso coma y muerte.(22,24)

La patogénesis de las complicaciones de la diabetes mellitus crónica como la microangiopatía, retinopatía, nefropatía y neuropatía están sujetas a una gran cantidad de investigaciones, las evidencias sugieren que son consecuencia del desorden metabólico caracterizado por la hiperglicemia. Se han postulado dos mecanismos fisiopatológicos: la glicosilación no enzimática y la elevada concentración de glucosa intracelular con ruta metabólica hacia polioles (4,12,30). La glicosilación se refiere al proceso por el cual la glucosa afecta químicamente al grupo amino de proteínas sin ayuda de enzimas, pero relacionado directamente con el nivel elevado de glucosa sanguínea; los productos irreversibles finales de la glicosilación unidos fuertemente con proteínas de larga vida en la pared vascular como el colágeno, se relacionan con la gravedad de las complicaciones diabéticas. Estos productos unidos al colágeno de la pared vascular se unen a proteínas de baja densidad como las lipoproteínas, retardan el flujo sanguíneo y estimulan la deposición de colesterol en la capa íntima. Las proteínas plasmáticas como la hemoglobina pueden unirse a la membrana basal glicosilada, contribuyendo para el Engrosamiento de la Membrana Basal (EMB) característica de la microangiopatía. La unión de estos productos con receptores específicos de macrófagos estimulan la secreción de interleucina I y el Factor de Necrosis Tumoral, estas dos monocinas tienen una profunda influencia en células

endoteliales y fibroblastos, por lo tanto contribuyen con la microangiopatía diabética.

La elevada concentración de glucosa intracelular con ruta metabólica hacia polioles, se refiere a la característica de algunos tejidos (fibras nerviosas, cristalino, riñón y vasos sanguíneos) de no requerir insulina para el transporte de glucosa, la hiperglicemia incrementa los niveles de glucosa intracelular, el exceso es metabolizado enzimáticamente a sorbitol y fructosa (4), su acúmulo aumenta la osmolaridad intracelular provocando daño por entrada de agua, este mecanismo puede ser el responsable del daño a las células de Schwann y pericitos capilares retinianos, expresados en la neuropatía periférica y microaneurismas retinianos; en el cristalino se promueve la entrada de agua por ósmosis causando hinchazón y opacidad.(1,22)

La importancia de los cambios morfológicos en la Diabetes Mellitus se relaciona en mucho con la duración de las complicaciones sistémicas, éstas son la mayor causa de mortalidad en humanos, la severidad de las complicaciones y los órganos particularmente afectados tienen su origen en la membrana basal de los capilares (microangiopatía), arterias (ateroesclerosis), arteriolas (arterioesclerosis), riñones (nefropatía), retina (retinopatía), nervios (neuropatía) y otros tejidos.(6,20,22)

En el presente trabajo nos referiremos al estudio de las alteraciones en el páncreas y en el riñón, ya que la fisiología y morfología de estos órganos es alterada primariamente en un paciente con Diabetes Mellitus.

### **MICROANGIOPATIA**

Una de las alteraciones más consistentes en este padecimiento es el engrosamiento difuso de la membrana basal, es más evidente en capilares de la piel, músculo estriado, retina y glomérulo, incluyendo tejido no vascular como túbulos renales, cápsula de Bowman y nervios periféricos. Con microscopía de luz, la membrana basal aparece engrosada por una sustancia homogénea hialina fuertemente positiva a la tinción de PAS. Dicho engrosamiento con el tiempo evoluciona en aterosclerosis y arterioesclerosis hialina.(1,11,22)

### **CAMBIOS EN LOS ISLOTES PANCREATICOS**

Las alteraciones patológicas iniciales en los islotes pancreáticos de pacientes con Diabetes Mellitus del Tipo I son: reducción en el tamaño y número de islotes, degranulación de las células beta y degeneración posterior a fibrosis ó deposición de amiloide. En algunas ocasiones se observa infiltración linfóide. (20,22)

## NEFROPATIA

El término es aplicado al conjunto de lesiones que ocurren corrientemente en el riñón diabético, el cual es el órgano más gravemente afectado, la proteinuria es resultado de la falla renal crónica que culmina con la muerte del paciente. La complicación glomerular cursa con distintos patrones de alteración: Glomeruloesclerosis difusa, Glomeruloesclerosis nodular y lesiones exudativas, la arterioesclerosis incluyendo nefrosclerosis benigna asociada a hipertensión y la infección bacteriana del tracto urinario con pielonefritis y algunas veces papilitis necrosante son alteraciones frecuentes.

Como consecuencia de las lesiones glomerulares y arteriales el riñón sufre isquemia, la cual ocasiona atrofia tubular con fibrosis intersticial y contracción del tejido renal (compactación).

Es común encontrar en pacientes en estado terminal amiloidosis renal, conformada por el típico amiloide fibrilar, el cual se encuentra dentro del mesangio subendotelial y ocasionalmente en el espacio subepitelial, eventualmente el glomérulo se ve obliterado completamente junto con la invasión del intersticio renal y la pared de vasos sanguíneos, lo cual se detecta con tinciones especiales (Rojo Congo). Los pacientes con amiloidosis cursan con fuerte proteinuria o síndrome nefrótico, hasta llegar a la destrucción glomerular y

muerte por uremia, como característica el riñón no se ve alterado en su tamaño o solo en forma muy ligera.(1,7,11,14,22)

La inducción de la enfermedad en el hombre es éticamente reprobable, nuevas terapias de prevención o regresión de la enfermedad, son probadas inicialmente en animales, la diabetes es también una enfermedad crónica con secuelas distintas al síndrome agudo. Para comprender la patología diabética en humanos se requiere una vida de estudios consecutivos, obteniéndose poca información de un sólo paciente, la longevidad del hombre es el impedimento, el uso de modelos animales evita estos problemas.

La diabetes espontánea se presenta comúnmente en muchas especies animales, además se puede inducir la condición diabética por una amplia variedad de procedimientos experimentales (cirugía, infección viral o la administración de hormonas y agentes químicos), estos animales pueden considerarse modelos de la enfermedad en humanos, sin embargo muchos de éstos manifiestan gran diversidad en su patofisiología y es un hecho que el síndrome animal no corresponde precisamente a algún tipo de diabetes en humanos.(10,11,18,27)

La estreptozotocina (N[Metilnitrosocarbamoil]-D-glucosamina) es una sustancia que fué aislada de Streptomyces achromogenes en 1959-1960, en un principio se utilizó como antibiótico y como un agente antitumoral, pero ahora debido a sus

propiedades diabetogénicas se utiliza con el fin de ejercer un efecto de necrosis selectiva sobre las células beta de los islotes pancreáticos.(21)

La extrapolación directa de los conocimientos de la Diabetes Mellitus en animales al padecimiento en el ser humano no es factible, particularmente cuando se estudia al individuo, sin embargo si la enfermedad es observada en el contexto de una población animal específica, los beneficios en la aportación de conocimientos y la aplicación de éstos, es invaluable.

## **HIPOTESIS**

**La variedad y gravedad de las alteraciones patológicas observadas en páncreas y riñón de ratas diabéticas inducidas farmacológicamente, están en relación directa con la duración de la condición diabética.**

## **OBJETIVOS**

- **Estudiar si las alteraciones producidas en el páncreas y en el riñón de ratas diabéticas inducidas farmacológicamente son similares a las descritas en la presentación natural de la enfermedad en el hombre.**
- **Correlacionar el grado de severidad de las alteraciones patológicas en páncreas y riñón con la duración de la condición diabética en ratas.**

## **MATERIAL Y METODOS**

**Este trabajo se realizó en el Bioterio "A" del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.**

**Se utilizaron un total de 50 ratas de las cepas Sprague Dawley y Wistar, de ambos sexos y de 4 a 42 semanas de edad, con inducción farmacológica de Diabetes Mellitus, por inyección intravenosa de estreptozotocina (STZ) a una dosis única de 60 mg/kg de peso vivo, las edades a las cuales se realizó la inducción fueron de 28, 42, 56, 77 y 84 días.**

**Los animales fueron alojados en jaulas de polipropileno con cama de aserrín, la temperatura ambiental se mantiene de 21 a 23°C, con humedad relativa de 45 a 55% y un fotoperíodo de 12 horas de luz por 12 de oscuridad, se proporcionó alimento concentrado(\*) ad libitum y el agua de bebida suministrada es destilada por filtros de ósmosis reversible.**

**La condición diabética se determinó midiendo los niveles de glucosa en sangre, debiendo ser superiores a 195.55 mg/dl para considerarlos dentro del experimento.(8)**

---

\*Laboratory Rodent Diet, 5001 Feeds, Inc

Los animales fueron agrupados de acuerdo al tiempo de duración de la condición diabética (independientemente de la cepa, sexo y edad); la distribución de los animales se muestra en el Cuadro No.1.

Los animales se sacrificaron mediante la técnica de inhalación con éter, cuando hubieron alcanzado la duración de la condición diabética determinada. El procedimiento de la necropsia se condujo de acuerdo al protocolo propuesto por Schunemann.(23)

La toma de muestras involucró los principales órganos que afecta la enfermedad (páncreas y riñón) aunque no presenten alteraciones macroscópicas. Para conservar las muestras, se utilizó la fijación con formalina amortiguada al 10%. Una vez fijadas, se procesaron con el método de Inclusión en Parafina y se cortaron en microtomo manual a 5 micras de grosor. Las técnicas de tinción histológica utilizadas fueron la de Hematoxilina y Eosina (H-E), Fucsina Aldehido (F.A.) la cual pone de manifiesto las células beta de los islotes pancreáticos al teñir sus gránulos citoplásmicos; la tinción de Acido Periódico de Schiff (PAS) para demostrar la alteración de la membrana basal y la técnica de Rojo Congo (R.C.) para detectar la presencia de amiloide.(16)

Las lesiones histopatológicas observadas fueron clasificadas de acuerdo al órgano donde se localizaron, a la variedad y severidad de éstas (Cuadro No. 2). El registro microscópico de estas alteraciones, así como la historia clínica de

cada caso, se capturó en la hoja de cálculo Lotus 123, para su posterior análisis estadístico. En las variables cuantitativas (células vacuoladas por islote y células beta granuladas por islote) se utilizó el Procedimiento General de Modelos Lineales (PGML) para análisis de varianzas; en las variables categóricas (necrosis pancreática exocrina, engrosamiento de membrana basal glomerular, amiloidosis glomerular, necrosis tubular renal y congestión renal) el análisis se realizó mediante la aplicación de la prueba de Xi Cuadrada complementada con la prueba exacta de Fisher, estas tres pruebas se incluyen en el Sistema de Análisis Estadístico (SAS).

## **RESULTADOS**

**Las diferentes lesiones histopatológicas observadas en los cortes de páncreas y riñón se analizaron individualmente tomando en cuenta el promedio de la frecuencia, su frecuencia relativa, su porcentaje de incidencia y la gravedad de la lesión, determinada por su localización dentro del órgano y por el grado de severidad alcanzado (Cuadro No. 2). Cabe mencionar que la Duración de la Condición Diabética (DCD) en días se dividió en 5 rangos (Cuadro No. 1).**

**La vacuolización celular en los islotes de Langerhans del páncreas endocrino, se ve incrementada conforme avanza la duración de la condición diabética, cuando se relacionó esta lesión con la edad específica a la que se indujo la diabetes, se encontró el mayor promedio de células vacuoladas por islote ( $31.85 \pm 5.54$ ) en el día 56, con una DCD de 88-118 días (Gráfica No. 1), estos resultados presentaron alta significancia estadística ( $p < 0.05$ ). Por otro lado, en el rango de 223 días de DCD se observó menor cantidad de células vacuoladas por islote ( $12.75 \pm 4.57$ ), a pesar de no disminuir la cantidad de islotes en el páncreas observado, sí se encontró pérdida del contenido celular (Foto No. 1).**

**Cuando se analiza la vacuolización celular en relación con la presencia de granulación propia de las células pancreáticas endocrinas (Foto No. 2), se observa una correlación negativa; donde a mayor frecuencia de células**

vacuoladas por islote (25.02 +/- 4.5) se presenta la menor frecuencia de granulación celular por islote (2.14 +/- 2.41). (Gráfica No. 2)

El páncreas exocrino se vio alterado por una necrosis acinar en el 30% de los casos (Foto No. 3), significativamente ( $P \leq 0.05$ ) en aquellos con una DCD mínima de 2-11 días (10 casos); esta necrosis mostró su mayor grado de severidad en forma difusa moderada. (Gráfica No. 3)

Las alteraciones del glomérulo renal aparecen rápidamente. Cuarenta y ocho horas después realizada la inducción, se presenta el Engrosamiento de la Membrana Basal Glomerular (EMBG) (Foto No. 4) en el 90% de los casos analizados, en contraposición la incidencia de amiloidosis fué muy baja, sólo el 10%. En la gráfica 4 se analiza la correlación entre la duración de la condición diabética contra la gravedad de estas alteraciones, observándose el mayor porcentaje ( $P \leq 0.05$ ) de incidencia del EMBG segmental general ligera en el primer rango de DCD; cuando las ratas permanecen más tiempo con la condición diabética (223 días) la incidencia de amiloidosis difusa general moderada (Foto No. 5) llega al 100%.

Otra lesión observada a nivel renal fue la necrosis tubular (Foto No. 6), que se presentó en el 98% de los casos; de éstos el 77.5% fue licuefactiva y el resto coagulativa. Al analizar la gravedad de esta lesión se detectó que el primer rango de edad presenta toda la gama de necrosis tubular, por otro lado los animales con

mayor DCD tuvieron altos porcentajes de incidencia en los grados de alteración más severos (Gráfica No. 5).

De las 50 ratas diabéticas estudiadas, el 68% desarrolló congestión renal. El grado difuso moderado figura como el de mayor porcentaje de incidencia en los rangos de DCD ( $P=0.05$ ), creciendo conforme la condición diabética aumenta hasta manifestarse en un 100% en el rango de 223 días (Gráfica No. 6, Foto No. 7).

## **DISCUSION**

### **IMPORTANCIA DEL MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL**

Los modelos animales experimentales de diabetes mellitus han permitido conocer el papel fundamental de factores ambientales para el desencadenamiento de la respuesta autoinmune celular y humoral en aquellos animales genéticamente predispuestos (2), principalmente ejercido por algunos virus como el de la Coriomeningitis Linfocítica de la rata, el de la Encefalomiocarditis Murina y los virus Coxsackie, de estos existen variantes humanas como el de la Pancreatitis Virica de los Lactantes, el cual destruye las células insulares.(6)

Los avances recientes en el estudio de la diabetes en animales proporcionan un acercamiento en el entendimiento de su contraparte en los humanos; a través del uso de la rata BB (2) y la insulitis producida por la estreptozotocina (9,15) se ha propuesto la teoría inmune del desencadenamiento de la Diabetes Tipo I o Insulino Dependiente en el ser humano. Con las investigaciones en los roedores obesos, se vislumbran a corto plazo tratamientos para la Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente o del Tipo II (18).

La mayoría de los grupos de investigación que utilizan modelos diabéticos, se han abocado a la generación de conocimiento en la patogenia, la etiología y la

terapéutica, sin embargo no existen estudios completos acerca del comportamiento patológico de la diabetes animal y su relación con las alteraciones en el ser humano. El presente trabajo pretende llenar este vacío, al menos en lo que se refiere a las lesiones observadas en dos de los principales órganos blanco de este padecimiento (páncreas y riñón).

### **HISTOPATOLOGIA PANCREATICA EN RATAS DIABÉTICAS**

La vacuolización de las células beta en animales que padecen Diabetes Mellitus Insulino Dependiente, ha sido reportado en perros por Jubb, Kennedy y Palmer en 1984, estos autores proponen al acúmulo de glicógeno como el material contenido en dichas vacuolas, además de observarlas ocasionalmente en células epiteliales de los conductos pancreáticos. En el presente estudio se observó la misma lesión en el islote y se encontró la correlación positiva entre ésta y la DCD hasta los 88 a 118 días (rango 4), la disminución posterior de este daño se explica por el hecho de que la vacuolización es una etapa inicial de necrosis, por lo que en las ratas agrupadas en el último rango de DCD se observaron los islotes atrofiados.

La degranulación de células beta, es producida por la pérdida de los gránulos citoplásmicos de insulina, debido a un efecto diabetogénico selectivo directo de la estreptozotocina sobre la célula beta (18), esta pérdida es observada cuando

cuantificamos las células beta sobrevivientes, detectadas por sus gránulos remanentes teñidos con fucsina aldehído. Los resultados obtenidos sugieren que la vacuolización es el efecto directo de la degranulación y el ambiente hiperglicémico en el que sobrevive la célula beta del islote pancreático.

Hasta este momento, no se había generado ninguna metodología estadística para cuantificar el daño insular pancreático, ya que el hecho de observar islotes en un corte de tejido es un evento aleatorio, en el presente trabajo se propone como índice de daño insular el número de células vacuoladas y granuladas por islote observado, el cual reduce el error de muestreo y nos permite sujetar los valores a una prueba estadística con alto grado de confiabilidad.

La necrosis de los acinis pancreáticos observados en el 30% de los casos, no ha sido reportada como un efecto directo del aumento de la glucosa sanguínea, esta alteración tal vez se debe a la microangiopatía diabética (22), ya que se observó, aunque no se cuantificó, el engrosamiento de la membrana basal en los vasos sanguíneos del parénquima pancreático. (Foto No. 8)

## HISTOPATOLOGIA RENAL EN RATAS DIABETICAS

El engrosamiento de la membrana basal glomerular es una alteración constante desde los primeros días de establecerse la hiperglicemia, sin embargo la gravedad, medida esta por el grado de involucramiento del glomérulo, se ve incrementada por la duración de la condición diabética, incluso en el último rango ésta se acompaña de la acumulación de material amiloide en el interior del glomérulo. Estos resultados son compatibles con la condición humana, en donde es bien conocido que la nefropatía diabética constituye el mayor problema médico, conduce a un estado final de enfermedad renal en cerca de un 40% de los pacientes con necesidad de diálisis primaria, cerca de 2 billones de dólares en recursos médicos son utilizados en su cuidado, esto pone de relevancia la importancia de enfocar todas las medidas en disminuir o parar la progresión de la nefropatía diabética.

Se ha reportado la necrosis epitelial de los túbulos renales como una lesión inespecífica de diabetes mellitus. A través del análisis de las alteraciones encontradas en ratas estreptozotinizadas se deduce que mientras mayor sea la DCD, mayor será la gravedad de la necrosis, la fisiopatogenia que explicaría este daño podría ser similar a la presentada en el tejido pancreático exocrino.(11,22)

**PATOGENIA DE LAS ALTERACIONES RENALES**

La patogenia de las múltiples lesiones estructurales de la nefropatía diabética, se mantiene todavía en debate y son tratadas en el plano de la multifactoriedad. (30)

La nefropatía diabética es el resultado de una compleja serie de eventos cuyo inicio se encuentra en la alta concentración de glucosa sanguínea. Una de las consecuencias fisiopatológicas de la hiperglicemia relacionada con la microangiopatía de la nefropatía diabética, es la excesiva interacción química de la glucosa con distintas proteínas incluyendo hemoglobina, albúmina, lipoproteínas, colágeno, proteínas membranales de eritrocitos y proteínas mesangiales de la matriz extracelular glomerular como fibronectina, laminina y colágeno tipo IV (12), aunado al hecho de que la glucosa se transporta por difusión facilitada sin ayuda de insulina. Se ha reportado que las células mesangiales cultivadas en medios conteniendo una cantidad elevada de glucosa (30 mm) durante periodos de 4 semanas, proliferan e incrementan hasta de un 50-60% la cantidad de estas proteínas (14,25,26,30), las cuales al conjugarse en los productos irreversibles finales de la glicosilación, adquieren la característica de resistencia a los sistemas enzimáticos locales de degradación (26). Otra posible función de las células mesangiales que se ve afectada en cultivos enriquecidos, es la contractibilidad celular, la cual ejerce un efecto regulador sobre el flujo sanguíneo del glomérulo.(13)

Una vez establecido el daño microangiopático por mecanismos no enzimáticos (detectado por la microalbuminuria (1), se inducen alteraciones hemodinámicas en el glomérulo. Un importante hallazgo en los pacientes diabéticos es la marcada elevación de la presión intraglomerular, separada de elevaciones sistémicas de la presión arterial. Los cambios en la diabetes son en gran medida el resultado de: la acentuada dilatación arteriolar aferente que conduce a un incremento elevado en el flujo sanguíneo renal y a una acentuada respuesta de arteriolas eferentes a vasoconstrictores (Angiotensina II, Endotelina y Vasopresina), los cuales complementan el incremento de la presión intraglomerular, en este sentido Bakris, ha propuesto como fármacos ideales para el tratamiento temprano de la diabetes, el uso de inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, los cuales reducen dramáticamente la presión intraglomerular.(3,19,29)

Recientes estudios exhiben que algunos vasoconstrictores conocidos también como factores de crecimiento, quizá se involucren con la expansión de la matriz mesangial. La interacción de estos vasoconstrictores con otros factores reguladores, como lo es el factor beta de transformación de crecimiento, alteran las células mesangiales cultivadas en medios enriquecidos con glucosa.

El mayor tipo de cambio histológico correlacionado con la progresión de la enfermedad es la expansión de la matriz mesangial, la cual conduce finalmente a la glomeruloesclerosis, esta es la lesión estructural más asociada con las manifestaciones clínicas de la nefropatía diabética (disminución de la filtración

glomerular, glucosuria, proteinuria e hipertensión); después de un período de 15 a 20 años éstas pueden ser medidas en aproximadamente un 25 a 40% de los pacientes con diabetes mellitus tipo I, los análisis histológicos semicuantitativos por microscopía de luz de biopsias renales demostraron una correlación entre la severidad de la glomeruloesclerosis y la pérdida de la función renal, hasta ahora los mecanismos por los cuales ejerce su efecto dañino se mantienen desconocidos (3,25).

#### **CORRELACION ENTRE LA DIABETES MURINA Y LA HUMANA.**

Se requiere un modelo animal apropiado de nefropatía diabética para la evaluación de un gran número de maniobras terapéuticas, así como el estudio de la fisiopatología de las alteraciones inherentes a la enfermedad. Como modelo es necesario que exhiba en forma temprana, hipertrofia e hipertensión y un subsecuente desarrollo del engrosamiento de la membrana basal, posteriormente glomeruloesclerosis con marcada proteinuria, hipertensión, e hipofunción renal. La rata estreptozotonizada mimetiza el curso temprano con hipertrofia y un posterior engrosamiento de la membrana basal. (17) Es importante mencionar el período tan corto de tiempo en el que la rata desarrolla alteraciones patológicas iguales a las del ser humano.

**Cuando analizamos la diabetes mellitus insulino dependiente en ratas estreptozotonizadas y el hombre, en el contexto de las alteraciones patológicas en páncreas y riñón (Cuadro No. 3), encontramos muchas semejanzas, quizá las únicas diferencias estén relacionadas con el mecanismo de inducción del estado hiperglicémico en las ratas.**

## **CONCLUSIONES**

- **La variedad y gravedad de las alteraciones observadas en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina se encuentran estrechamente relacionadas con la duración de la condición diabética.**
- **La histopatología observada en el riñón de la rata diabética, corresponde en su secuencia fisiopatológica, a las lesiones presentadas por el ser humano.**
- **Las diferencias histopatológicas entre el modelo murino diabético y el padecimiento en el ser humano, pueden ser debidas al método de inducción de la Diabetes Mellitus.**
- **Al analizar en conjunto el comportamiento patológico pancreático y renal de la diabetes inducida con estreptozotocina, se establece como un excelente modelo animal a la rata para el estudio de la Diabetes Mellitus Insulino Dependiente en el hombre.**

## LITERATURA CITADA

- 1- Adler, S. and Nast, C.: Diabetic Nephropathy: Pathogenesis and treatment. Annu. Rev. Med., 44:303-315 (1993)
  
- 2.- Badia, Y., Yale, J. and Thomas, A. S.: Major Histocompatibility Complex Gene Product Expression on Pancreatic Beta Cells in Acutely Diabetic BB Rats. Am. J. of Pathol. 130:156-162 (1988).
  
- 3.-Bakris, G. L.: Diabetic nephropaty. Postgrad. Med. 93(5):89-100 (1993).
  
- 4.-Beyer-Mears, A., Ling, K. and Cohen, M.P.: Glomerular Polyol Accumulation in Diabetes and its Prevention by Oral Sorbinil. Diabetes, 33:604-607 (1984).
  
- 5.- Bottazo, G.f. and Bosi, E.: Pathogenesis of type I (insulin dependent) diabetes: Possible mechanisms of autoimmune damage. Brit. Med. Bull., 45:37-57 (1989).
  
- 6.- De Santiago,M.: Diabetes Mellitus en la Practica Médica. Grupo Arán, Madrid, España, 1992.

7.- Evans, D. J.: The Kidney, Diseases Metabolic. In: Oxford Textbook of Pathology. Pathology of Systems, Edited by: McGee, J. O., Isaacson, P. G. and Wright, N. A., Vol. 2a, 1492-1494. Oxford University Press, Oxford, 1992.

8.- Flores, S. M. L. O.: Análisis comparativo de dos métodos farmacológicos para la inducción de diabetes mellitus en ratas. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 1995.

9.- Ganda, O. P., Rossini, A. A. and Like, A. A.: Studies on Streptozotocin Diabetes. Diabetes 25:595-603 (1976).

10.- Jones, T. C. and Hunt, D. R.: Veterinary Pathology. 5th Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1983.

11.- Jubb, V.F.K. and Kennedy C.P.: Pathology of Domestic Animals. 3d Ed. Academic Press Inc., California, 1985.

12.- Kaneshige, H.: Nonenzymatic Glycosylation of Serum IgG and its Effect on Antibody Activity in Patients With Diabetes Mellitus. Diabetes, 36:822-828 (1987).

- 13.-Kreisberg, J. I.: Insulin requirement for contraction of cultured rat glomerular mesangial cells in response to angiotensin II: Possible role for insulin in modulating glomerular hemodynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. **79**:4190-4192 (1982).
- 14.- Kreisberg, J. I. and Ayo, G. H.: The glomerular mesangium in diabetes mellitus. Kidney Int. **43**:109-115 (1993).
- 15.-Like, A. A. and Rossini, A. A.: Streptozotocin-Induced Pancreatic Insulinitis: New Model of Diabetes Mellitus. Scienc. **415**-417 (1976).
- 16.- Luna, L. G.: Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3d Ed. Mcgraw-Hill Book Company, New York, 1968.
- 17.-Mogensen, C.E.: Diabetes mellitus and the kidney, Kidney Int. **21**:673-675 (1982).
- 18.-Mordes, J. P. and Rossini, A. A.: Animal models of diabetes. Am. J. Med. **70**:353-360 (1981).
- 19.-O'donnell, M. P., Kasike, B. I., Daniels, F. X. and Keane, W. F.: Effects of Nephron Loss on Glomerular Hemodynamics and Morphology in Diabetic Rats. Diabetes. **35**:1011-1014 (1986).

13.-Kreisberg, J. I.: Insulin requirement for contraction of cultured rat glomerular mesangial cells in response to angiotensin II: Possible role for insulin in modulating glomerular hemodynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. 79:4190-4192 (1982).

14.- Kreisberg, J. I. and Ayo, G. H.: The glomerular mesangium in diabetes mellitus. Kidney Int. 43:109-115 (1993).

15.-Like, A. A. and Rossini, A. A.: Streptozotocin-Induced Pancreatic Insulinitis: New Model of Diabetes Mellitus. Scienc. 415-417 (1976).

16.- Luna, L. G.: Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3d Ed. Mcgraw-Hill Book Company, New York, 1968.

17.-Mogensen, C.E.: Diabetes mellitus and the kidney, Kidney Int. 21:673-675 (1982).

18.-Mordes, J. P. and Rossini, A. A.: Animal models of diabetes. Am. J. Med. 70:353-360 (1981).

19.-O'donnell, M. P., Kasike, B. I., Daniels, F. X. and Keane, W. F.: Effects of Nephron Loss on Glomerular Hemodynamics and Morphology in Diabetic Rats. Diabetes. 35:1011-1014 (1986).

20.-Polak, J.M. and Bloom S. R.: **The Endocrine Pancreas**. In: **Oxford Textbook of Pathology. Pathology of Systems**. Edited by: McGee, J. O., Isaacson, P. G. and Wright, N. A., Vol 2b, 2000-2001. Oxford University Press, Oxford, 1992.

21.-Rerup, C. C.: **Drugs producing diabetes through damage of the insulin secretion cells**. Pharmacol. Rev., **22**: 485-519 (1970).

22.-Robbins,S.L.: **Pathologic Basis of Disease**. 4th Ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1989.

23.-Shunneman De A, A.: **Necropsias en Animales Domesticos**. 1a Ed. Compañía Editorial Continental, México, 1985.

24.-Sodeman, W.A.:**Pathologic Physiology**. 6th Ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1979.

25.-Suzanne H. A., Garoni, J. A., Glas II, W. F. and Kreisberg, J. I.: **High Glucose Causes an Increase in Extracellular Matrix Proteins in Cultured Mesangial Cells**. Am., J. Pathol. **136**(6):i339-i348 (1990).

26.-Suzanne, H. A., Radnik, R. A. and Kreisberg, J. Y.: **Increased extracellular matrix synthesis and mRNA in mesangial cells grown in high-glucose medium**. Am. J. Physiol. **260**(29):F185-F191 (1991).

- 27.-Thompson, R.: Special Veterinary Pathology. B. C. Decker Inc., Philadelphia, 1988.
- 28.-Tood, A.J. and Bell, J.I., Mcdevitt, H.O.: HLA-DQ beta gene contribute to susceptibility and resistance to insulin dependent diabetes mellitus. Nature. 324:599-604 (1987).
- 29.-Wilkest, B. M.: Reduced Glomerular Angiotensin II Receptor Density in Diabetes Mellitus in the Rat: Time Course and Mechanism. Endocrinology. 120:1291-1298 (1987).
- 30.-Ziyadeh, F. N.: Renal tubular basement membrane and collagen type IV in diabetes mellitus. Kidney Int. 43:114-120 (1993).

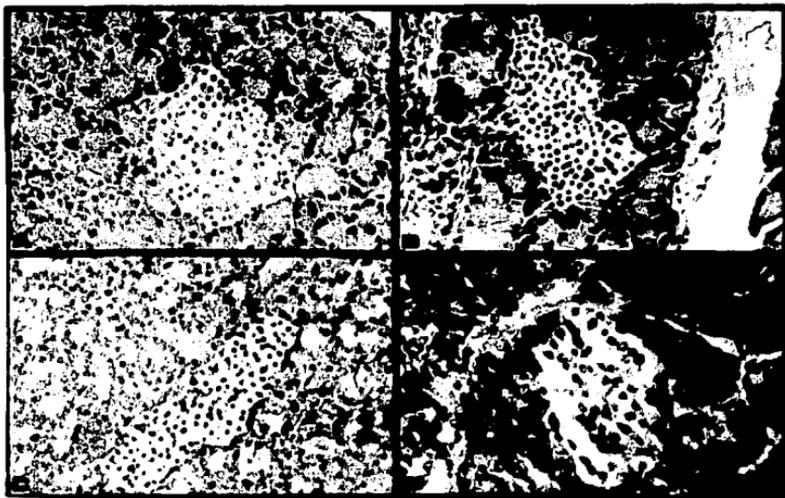


Foto 1. Islotes pancreáticos en ratas estreptozotocinizadas. A) Vacuolización, DCD rango 1. B). Vacuolización, DCD rango 3. C) Vacuolización, DCD rango 4. D) Atrofia celular, DCD rango 5. Tinción H-E. 25X.

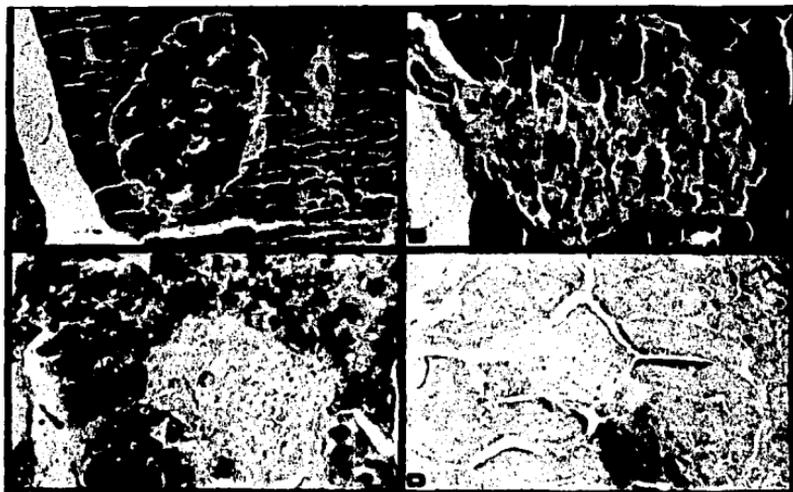


Foto 2. Degranulación de células beta. A) DCD rango 2. 25X. B) DCD rango 3. 40X. C) DCD rango 4. 40X. D) DCD rango 4, 25X. Islote de Langerhans, tinción Fucsina-Aldehído.

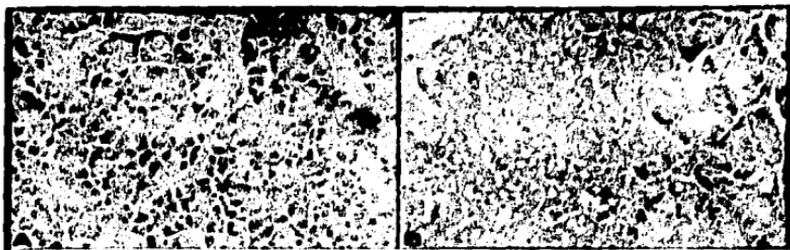


Foto 3. Necrosis de páncreas exócrino. A) Acinis de páncreas normal, 25X. B) Necrosis exócrina difusa moderada, DCD rango 1, 40X. Tinción H-E.

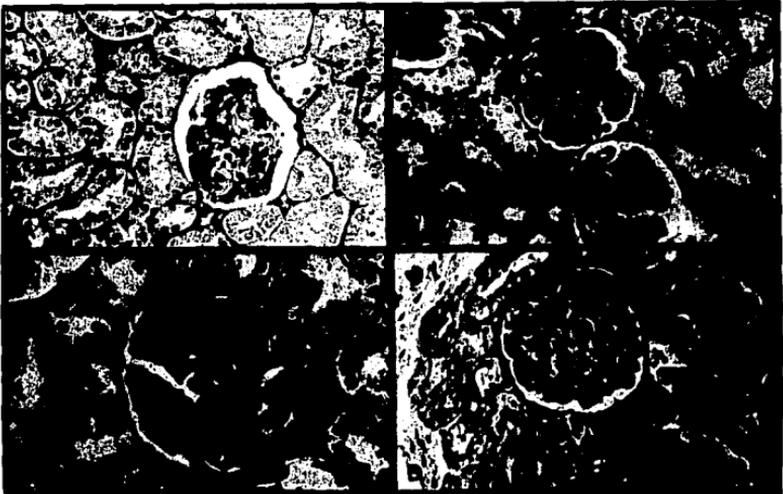


Foto 4. Engrosamiento de la Membrana Basal Glomerular (EMBG). A) EMBG segmental general ligera, DCD rango 1. B) EMBG difusa general ligera, DCD rango 2. C) EMBG difusa general moderada, DCD rango 3. D) EMBG difusa general severa, DCD rango 3. Tinción ácido periódico de Shift (P. A. S.), 25 X.

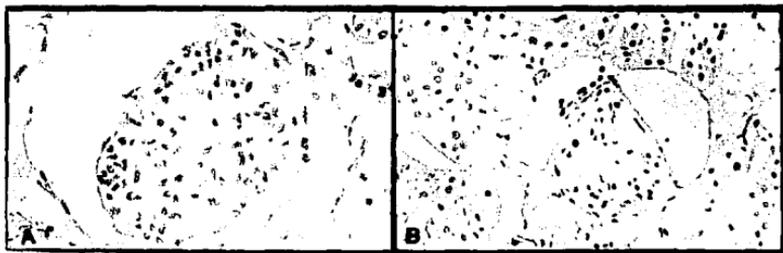


Foto 5. Amiloidosis glomerular. A) Amiloide glomerular difuso focal ligero, DCD rango 4.  
B) Amiloide difuso general moderado, DCD rango 5. tinción de Rojo Congo (R. C.).

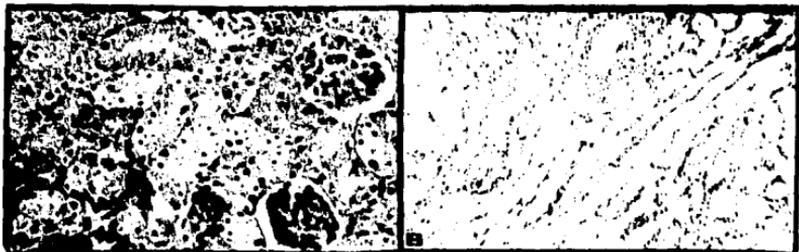


Foto 6. Necrosis tubular renal. A) Necrosis tubular renal cortical focal ligera , DCD rango 1.  
B) Necrosis tubular cortical y medular difusa severa, DCD rango 5. Tinción H-E. 25x.

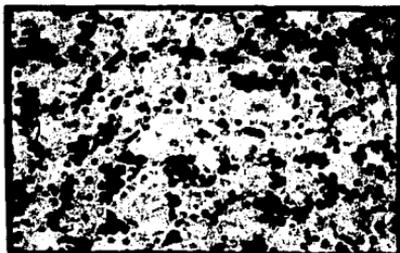


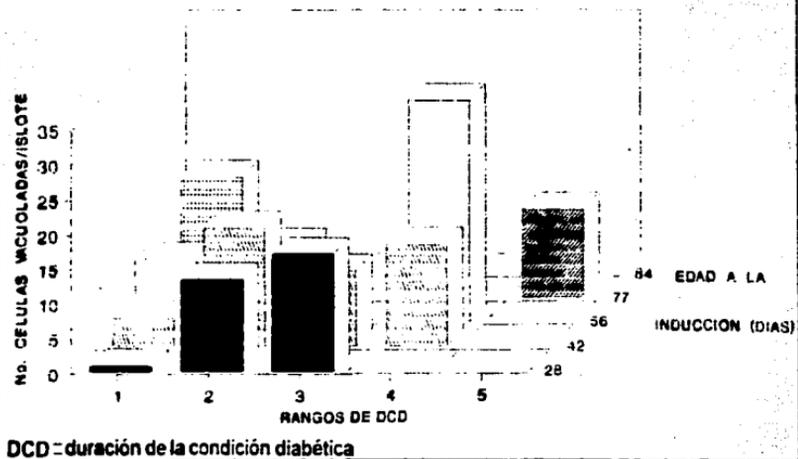
Foto 7. Congestión de parenquima renal en forma difusa moderada. Tinción H-E. 40X.



foto 8. Engrosamiento de la Membrana Basal (EMB) en arteriola de páncreas, DCD ;  
Tinción de P. A. S. 40X.

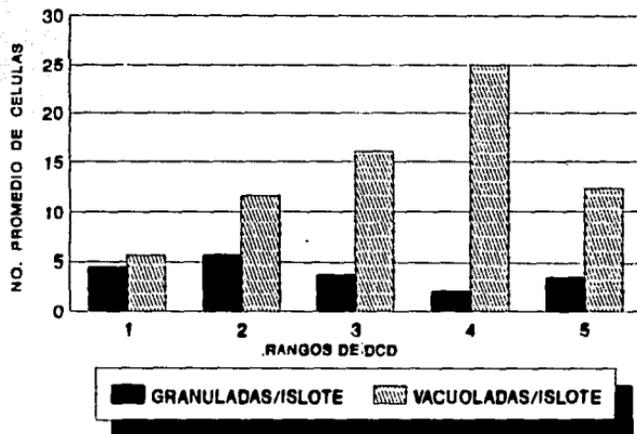
ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

**VACUOLIZACION EN CELULAS BETA  
PANCREATICAS DE RATAS DIABETICAS  
INDUCIDAS CON STZ.**



GRAFICA 1

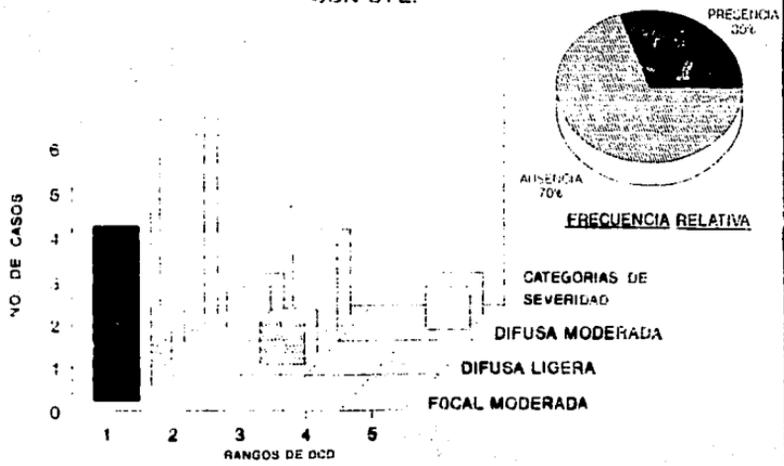
**LESIONES EN CELULAS BETA PANCREATICAS  
DE RATAS DIABETICAS INDUCIDAS  
CON STZ.**



DCD = duración de la condición diabética

GRAFIC. 2

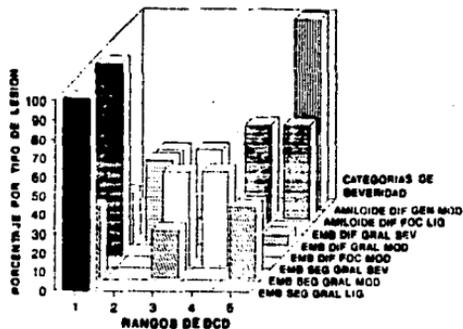
**NECROSIS PANCREATICA EXOCRINA  
EN RATAS DIABETICAS INDUCIDAS  
CON STZ.**



**DCD = duración de la condición diabética**

**GRAFICA 3**

**LESIONES GLOMERULARES EN RATAS  
DIABETICAS INDUCIDAS CON STZ.**



PRESENCIA 14  
100%



**FRECUENCIA RELATIVA DE ENGROSAMIENTO  
DE LA MEMBRANA BASAL**

PRESENCIA  
10%

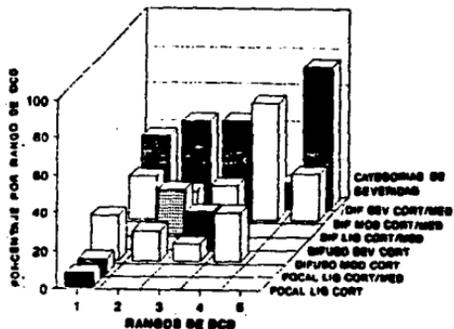


**FRECUENCIA RELATIVA DE AMILOIDOSIS**

**DCD: duración de la condición diabética**

**GRAFICA 4**

**NECROSIS TUBULAR RENAL EN RATAS  
DIABETICAS INDUCIDAS CON STZ.**



PRESENCIA  
98%



FRECUENCIA RELATIVA

NEC LIQUEFACTIVA  
76%

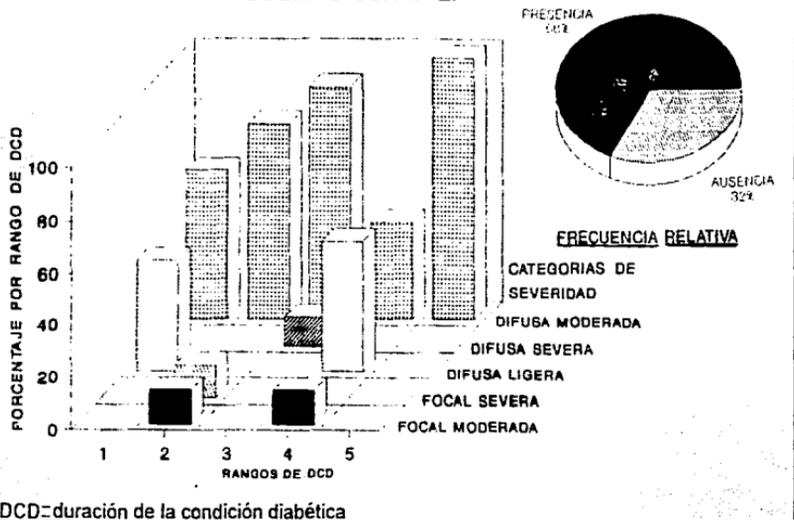


FRECUENCIA RELATIVA DE TIPOS DE  
NECROSIS TUBULAR RENAL

DCQ= duración de la condición diabética

GRAFICA 5

### CONGESTION RENAL EN RATAS DIABETICAS INDUCIDAS CON STZ.



GRAFICA 6

**DISTRIBUCION DE LOS ANIMALES CON BASE EN  
LA DURACION DE LA CONDICION DIABETICA**

<b>RANGOS</b>	<b>No. DE ANIMALES</b>	<b>DURACION DE LA CONDICION DIABETICA (DIAS)</b>
1	13	2 - 11
2	14	12 - 35
3	11	40 - 53
4	8	88 - 118
5	4	223

CUADRO 1

**CLASIFICACION DE LAS LESIONES HISTOPATOLOGICAS EN RATAS  
DIABETICAS INDUCIDAS CON ESTREPTOZOTOCINA**

ORGANO	TEJIDO	LESION	TINCION	GRADO DE SEVERIDAD
PANCREAS	ENDOCRINO	VACUOLIZACION DEGRANULACION	H - E F . A .	CEL VAC/SL CEL GRAN/SL
	EXOCRINO	NECROSIS	H - E	F I, II, III, IV D I, II, III, IV
RIÑON	GLOMERULAR	E. M. B.	P. A. S.	SF I, II, III, IV SG I, II, III, IV DF I, II, III, IV DG, I, II, III, IV
		AMILOIDOSIS	R. C.	SF I, II, III, IV SG I, II, III, IV DF I, II, III, IV DG I, II, III, IV
	TUBULAR	NECROSIS	H - E	FC I, II, III, IV FM I, II, III, IV DC I, III, III, IV DM I, II, III, IV FCM I, II, III, IV DCM I, II, III, IV
	PARENQUIMA	CONGESTION	H - E	F I, II, III, IV D I, II, III, IV
H - E = HEMATOXILINA Y EOSINA F . A . = FUCSINA ALDEHIDO P . A . S . = ACIDO PERIODICO DE SHIFF R . C . = ROJO CONGO F = FOCAL D = DIFUSO G = GENERAL C = CORTEZA M = MEDULA CM = CORTEZA Y MEDULA I = LIGERO II = MODERADO III = GRAVE IV = INTENSO				

CUADRO 2

**ANALISIS COMPARATIVO DE LAS ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS DE PANCREAS Y RIÑON ENTRE RATAS ESTREPTOZOTONIZADAS Y EL SER HUMANO**

ORGANO	TEJIDO	LESION	NOMBRE	RATAS STZ	
P A N C R E A S	E N D O C R I N O	Reducción del tamaño y número de islotes	DMID de rápido desarrollo	Debido a necrosis	
		Incremento de tamaño y número de islotes	Recién nacidos diabéticos o normales de madres con diabetes	no	
		Degranulación de la célula beta	La más frecuente en la diabetes tipo I	si	
		Vacuolización de las células del islote	no	si	
		Fibrosis de islotes	si	no	
		Depósito amiloide	si	no	
	E X O C R I N O	E X O C R I N O	Infiltración de linfocitos	En pacientes jóvenes con historia creciente de diabetes mellitus	no
			Necrosis	no	si
			Engrosamiento de la membrana basal de los acinis	si	no
R I Ñ O N	G L O M E R U L A R	Engrosamiento de la membrana basal de capilares	A partir de los 2 años de iniciada la diabetes juvenil	Desde las 48 horas de establecida la condición diabética	
		Glomeruloesclerosis difusa	Aparece a partir de los 20 años de padecer la diabetes	A partir de los 40-53 días de DCD	
		Glomeruloesclerosis nodular	No se presenta antes de los 10 años de padecer diabetes	Aparece desde los 40-118 días de DCD	
		Depósito amiloide	Pacientes en estado terminal con proteinuria y síndrome nefrótico	Hasta los 223 días de DCD	
	T U B U L A R	T U B U L A R	Necrosis	no	si
			Congestión	no	si