



Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**Evaluación de la respuesta nociceptiva en un
modelo murino de diabetes mellitus tipo 2 y
ejercicio aeróbico**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A (N)

López González Karla Fernanda

Director

Dra.

Ana Lilia García Hernández

Dictaminadores

Dr.

Isaac Obed Pérez Martínez

Dr.

Alejandro García Muñoz

PAPIIT

IN223619





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (UNAM-DGAPA-PAPIIT) por el financiamiento para la realización de este trabajo con número de proyecto: IN223619

ÍNDICE

Resumen.....	4
Introducción.....	5
Antecedentes.....	11
Justificación.....	13
Pregunta de investigación.....	13
Hipótesis.....	13
Objetivos generales.....	13
Objetivos particulares.....	13
Estrategia experimental.....	14
Resultados.....	19
Discusión.....	29
Importancia en la odontología.....	31
Conclusión.....	32
Bibliografía.....	33

RESUMEN

Introducción. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un trastorno multifactorial caracterizado por resistencia a la insulina y altas concentraciones de glucosa y tiene como consecuencia complicaciones macro y microvasculares. La neuropatía diabética es la complicación microvascular más frecuente en la diabetes mellitus tipo 2, los síntomas de la neuropatía diabética pueden ir desde dolor evocado hasta pérdida de la sensibilidad lo que resulta en una disminución importante en la calidad de vida. Investigaciones sugieren que el ejercicio aeróbico es eficaz para reducir el dolor en animales y seres humanos con dolor neuropático. El objetivo de este estudio fue investigar que intensidad de ejercicio aeróbico (baja o mediana) aumentaría el umbral de percepción mecánica y térmica en ratones diabéticos de la cepa C57BL/6. **Metodología.** Se dividieron 35 ratones en 2 grupos: control y diabético que a su vez se dividieron en 3 subgrupos, sedentarios, baja intensidad y mediana intensidad. Los ratones realizaron ejercicio aeróbico forzado de baja y mediana intensidad en ruedas automatizadas por 2 meses. Se monitoreo el peso, índice de masa corporal (IMC), perfil glucémico, tolerancia a la glucosa y sensibilidad a la insulina. Para evaluar la sensibilidad térmica y mecánica se realizaron las pruebas de hot plate y Von Frey respectivamente. Las pruebas se realizaron antes, al mes y a los dos meses de entrenamiento.

Resultados. Los ratones diabéticos sedentarios tuvieron concentraciones de glucosa sérica por encima de los 250 mg/dl después de la semana 12; presentaban resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa.

Los ratones diabéticos que realizaron ejercicio de baja y mediana intensidad disminuyeron su glucemia después de 3 semanas de entrenamiento; la disminución fue paulatina hasta los 2 meses cuando tuvieron niveles de normoglucosa; desde el primer mes de entrenamiento, ambas intensidades de ejercicio disminuyeron la intolerancia a la glucosa y la resistencia a la insulina; al termino de los 2 meses de ejercicio fueron capaces de metabolizar la glucosa y disminuir su resistencia al insulina de manera similar a los controles.

Antes de iniciar el entrenamiento, los ratones diabéticos desarrollaron una hiperalgesia térmica y mecánica. Después de 1 mes de entrenamiento, los ratones diabéticos que realizaron ejercicio aeróbico de baja y mediana intensidad aumentaron su latencia de retirada en la prueba de hot plate y disminuyeron su porcentaje de respuesta en la prueba de Von Frey, resultados similares a los del grupo control.

Conclusiones. El ejercicio aeróbico forzado de baja y mediana intensidad en ratones con DM2 disminuye la glucemia y la resistencia a la insulina, y restaura la precepción mecánica y térmica caliente, por lo que disminuye la neuropatía diabética.

INTRODUCCION

Diabetes Mellitus

La diabetes mellitus tipo 2 es un trastorno complejo y multifactorial que se produce como consecuencia de un deterioro combinado de la secreción y acción de la insulina. Esto resulta en resistencia a la insulina y la pérdida de control metabólico, lo que lleva a un aumento de las concentraciones de glucosa y lípidos en la circulación, además de una amplia gama de defectos metabólicos que subyacen a la enfermedad (1).

La diabetes mellitus se clasifica con base en el proceso patógeno que culmina en hiperglucemia y se clasifica en: Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1), Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), Diabetes gestacional y otras formas específicas de la diabetes. (2)

Según la Organización Mundial de la Salud, 422 millones de adultos en todo el mundo viven con diabetes mellitus (DM), de los cuales el 90 a 95 % de los casos reportados pertenecen a DM2 (3).

La obesidad y el sobrepeso son determinantes de la resistencia a la insulina que a su vez se asocia al incremento en los niveles plasmáticos de citocinas proinflamatorias como la IL-6 y el TNF- α , por lo que la DM2 se considera una enfermedad inflamatoria sistémica de bajo grado.

Fisiopatología de la DM2

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad poligénica y multifactorial. Poligénica, debido a que se han identificado diferentes mutaciones genéticas que predisponen a la DM2 y multifactorial porque factores ambientales como la nutrición y la inactividad física también predisponen a la desarrollar la enfermedad. La obesidad, en especial la visceral o central provoca resistencia a la insulina, por lo que es frecuentemente el factor predisponente de la DM2.

La DM2 se caracteriza por 3 alteraciones fisiopatológicas: resistencia periférica a la insulina, trastorno de secreción de insulina y producción hepática excesiva de glucosa.

Resistencia a la insulina: es la capacidad disminuida de la insulina para actuar con eficacia sobre tejidos diana periféricos (en particular muscular y hepático). La resistencia es relativa, porque los niveles supranormales de insulina circulante normalizaran la glucemia plasmática. La resistencia a la acción de la insulina altera la utilización de glucosa por los tejidos sensibles a la insulina y aumenta la producción hepática de glucosa; ambos efectos contribuyen a la hiperglucemia de la diabetes.

Trastorno de secreción de insulina: la secreción de insulina y la sensibilidad a ella están relacionadas entre sí. En la DM2, la secreción de insulina aumenta inicialmente en respuesta a la insulinoresistencia, con el fin de mantener una tolerancia normal a la glucosa. Al principio el defecto de la secreción de insulina es leve y afecta de manera selectiva la secreción de insulina estimulada por la glucosa. Finalmente, el defecto de la secreción de insulina avanza a un estado de secreción de insulina visiblemente inadecuada.

Aumento de producción hepática de glucosa: La resistencia hepática a la insulina refleja la incapacidad de la hiperinsulinemia de suprimir la gluconeogénesis, lo que produce hiperglucemia en ayunas y disminución del almacenamiento de glucosa en el hígado en el periodo postprandial.

Estas tres características en la fisiopatología de la DM2 se resumen en que en fases tempranas del desarrollo de la enfermedad, a pesar de la resistencia a la insulina, la tolerancia a la glucosa parece normal ya que las células beta del páncreas lo compensan aumentando la producción de la insulina, a medida de que la resistencia avanza los islotes pancreáticos se tornan incapaces de mantener el estado hiperinsulinémico, la tolerancia se empieza a alterar, cuando disminuye aún más la secreción de insulina y aumenta cada vez más la producción hepática de glucosa, aparece la diabetes manifiesta con hiperglucemia en ayuno. Finalmente ocurre el fallo de las células beta y un estado crónico de hiperglucemia. La hiperglucemia crónica por su parte es el factor etiológico del desarrollo de complicaciones de la diabetes mellitus. Existen complicaciones agudas y crónicas, las complicaciones crónicas se dividen, por su parte, en macro y microvasculares.

COMPLICACIONES DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2

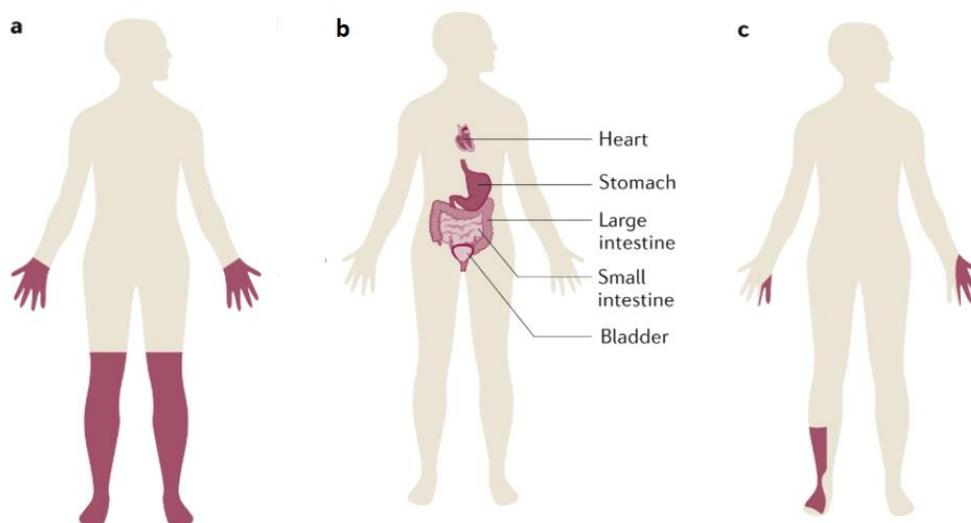
AGUDAS	Cetoacidosis diabética Estado hiperosmolar hiperglucémico	
CRÓNICAS	Macrovasculares	Arteriopatía coronaria Enfermedad vascular periférica Enfermedad cerebrovascular
	Microvasculares	Enfermedades oculares Nefropatías Daños al sistema nervioso periférico

Daños al sistema nervioso periférico

Entre las complicaciones de la diabetes, un grupo de síndromes clínicos causados por daños al sistema nervioso periférico y autónomo son, con mucho, los más prevalentes. Generalmente conocidos como diferentes formas de neuropatía, estos síndromes son causados por daño difuso y focal del sistema nervioso y ocurren en más de la mitad de todas las personas con diabetes (4).

La forma más común de neuropatía diabética, la polineuropatía simétrica distal, se manifiesta con una distribución de 'medias y guantes', por lo que las manos y las extremidades inferiores se ven comúnmente afectadas. **(Esquema 1 a)**

Pueden ocurrir otras neuropatías difusas secundarias a la diabetes e incluyen la constelación de neuropatías autonómicas, como la neuropatía autonómica cardíaca, la dismotilidad gastrointestinal y la cistopatía e impotencia diabética. **(Esquema 1 b)** Las neuropatías focales, aunque menos comunes, incluyen la disfunción de los nervios periféricos individuales que conducen a mono neuropatías aisladas. **(Esquema 1 c)**



Esquema 1. Localizaciones más frecuentes de neuropatía diabética. a) la polineuropatía simétrica distal; b) constelación de neuropatías autonómicas; c) neuropatías focales. Esquema tomado de Feldman EL et al. Diabetic neuropathy. Nature reviews Disease primers. 2019 (5)

La DM2 provoca un trastorno neurodegenerativo único del sistema nervioso periférico que se dirige preferentemente a axones sensoriales, axones autónomos y más tarde, en menor medida, axones motores. La forma en que la diabetes mellitus se dirige a las neuronas sensoriales sigue siendo debatida. Estos daños neuronales pueden implicar la retracción y 'muerte' de los axones sensoriales terminales en la periferia, con una preservación relativa de la perikarya (cuerpos celulares). El patrón de implicación de los daños periféricos en la

DM2 afecta principalmente a manos y piernas y este refleja el daño a los axones sensoriales más largos primero con, por ejemplo, la pérdida de axones epidérmicos de la pierna distal que precede a la pérdida en las extremidades más proximales (5).

Signos y Síntomas de neuropatía diabética

El inicio suele ser gradual o insidioso y se anuncia por síntomas sensoriales incluyendo hormigueo incómodo (disestesia), dolor (ardor, disparos o "choque eléctrico"; lancinante o "similar a un cuchillo"), dolor evocado (alodinia, hiperestesia) o sensaciones inusuales (como una sensación de hinchazón de los pies o frío severo de las piernas cuando claramente las extremidades inferiores se ven y se sienten bien, sensaciones extrañas al caminar comparadas con "caminar sobre guijarros" o "caminar sobre arena caliente", etc.)

Como se mencionó anteriormente los síntomas de la neuropatía diabética, comienzan en los dedos de los pies y luego progresan de manera proximal para involucrar los pies y las piernas. Cuando la enfermedad está bien establecida en las extremidades inferiores en los casos más graves, hay afectación de las extremidades superiores, con una progresión similar que comienza proximalmente en los dedos. A medida que la enfermedad avanza, se hacen evidentes manifestaciones motoras, como el desgaste de los músculos pequeños de las manos y la debilidad de las extremidades. En algunos casos, llega a haber pérdida sensorial de la que el paciente puede no ser consciente, hasta la aparición de una úlcera en el pie(6).

Factores de riesgo de la neuropatía diabética

La duración de la diabetes y los niveles de hemoglobina glicosilada_(HbA_{1c}) son predictores importantes de neuropatía diabética. Estos dos predictores comúnmente se asocian con otros factores metabólicos que se correlacionan con la neuropatía diabética, particularmente en la DM2, como la resistencia a la insulina.

Un estudio demostró que aparentemente el género femenino se asocia con más enfermedad sintomática y severidad del dolor.

Un estudio realizado entre 2010 y 2012 en 16 clínicas ambulatorias de diabetes en Japón, donde se incluyeron 298 pacientes, informó que el sobrepeso y la obesidad son factores de riesgo de dolor y entumecimiento en pacientes con neuropatía diabética (7).

Mecanismo de acción de la DM2 sobre los nervios periféricos

El mecanismo de acción de la diabetes sobre los nervios periféricos sigue en investigación sin embargo se han propuesto varias teorías de como la hiperglucemia causa diferentes alteraciones que pueden afectar a los nervios periféricos: dentro de las que están la inflamación, el estrés oxidativo, los AGE's y la disfunción mitocondrial.

La forma en que el sistema nervioso periférico utiliza sustratos para obtener energía, especialmente en la diabetes, es necesaria para comprender la patogénesis de la neuropatía diabética. Para la obtención de energía celular (ATP) es necesario que se den ciertos procesos metabólicos. El metabolismo oxidativo de lípidos se divide en 3 etapas: la beta oxidación, el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa, estos eventos se dan en gran parte en la mitocondria.

Los ácidos grasos de cadena larga se transportan a las células de Schwann para someterse a la β -oxidación, en cada ciclo de β -oxidación se forma una molécula de acetil-CoA, que se transporta al ciclo de Krebs para la formación de NADH y FADH₂. Sin embargo, en la DM2 existe un problema en el sistema de transporte, el sistema de transporte se satura, y las moléculas de acetil-CoA se convierten en acilcarnitinas. La acumulación de acilcarnitinas es tóxica tanto para las células de Schwann como para las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (DRG) y pueden inducir la degeneración axonal.

Así como existe una falla en el transporte de acetil-CoA, también existe una anomalía en la fosforilación oxidativa. Un subproducto de la fosforilación oxidativa es la producción de bajos niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) que se neutralizan fácilmente con antioxidantes celulares innatos, como la superóxido dismutasa, el glutatión y la catalasa. Sin embargo, en la DM2 existe un exceso en la carga de sustrato y la fosforilación oxidativa falla, lo que conduce a la pérdida de la producción de ATP y al aumento de los niveles de ROS, los niveles elevados de ROS ocasionan una lesión mitocondrial, daño metabólico y oxidativo de las células de Schwann y las neuronas DRG. Las mitocondrias disfuncionales producen energía insuficiente y promueven la disrupción axonal y las lesiones neuronales.

El aumento de los niveles de glucosa conduce al metabolismo de la glucosa a través de las vías de poliol y hexosamina, esto da como resultado el aumento de ROS e inflamación, respectivamente, en gran parte debido a la lesión mitocondrial. Todo lo anteriormente mencionado contribuye a la disfunción continua del sistema nervioso. (8).

Otra consecuencia de los niveles elevados de glucosa es la glicación de numerosas proteínas estructurales y funcionales para producir productos finales de glicación avanzada (AGE). Los AGE provocan una alteración o pérdida de la función de la proteína e interactúan con el receptor específico de AGE (RAGE) para modificar la expresión génica y la señalización intracelular y promover la liberación de moléculas proinflamatorias; una de las vías que es activada ante la unión de AGE con su receptor es la NF- κ B que aumenta tanto la expresión de IL-6 como TNF- α así como una mayor expresión de RAGE. La interacción mejorada de AGE-RAGE resultante, la activación de NF- κ B y la producción de ROS contribuyen al desarrollo de inflamación persistente que daña a las neuronas periféricas, causa dolor y activa la microglia; cuando la microglia se activa, libera citocinas

proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β e IL-6), estas citocinas promueven acciones asociadas al dolor neuropático como: daños a las células de Schwann, daño a los axones y aumento de la sensibilidad de los nociceptores (9).

Por su lado, el sistema inmunitario desempeña un papel fundamental en el dolor al liberar mediadores moleculares que sensibilizan las neuronas nociceptores. La lesión tisular y la inflamación están íntimamente unidas al aumento de la sensación de dolor. Las terminales nerviosas periféricas de nociceptor poseen receptores y canales iónicos que detectan mediadores moleculares liberados durante la inflamación. Tras la activación, los potenciales de acción se dirigen a los cuerpos celulares nociceptores dentro de los DRG y se transmiten a la médula espinal y al cerebro para ser procesados como dolor. Durante la inflamación, se reduce el umbral para que las neuronas nociceptoras disparen potenciales de acción, lo que conduce a la sensibilidad al dolor o "hiperalgesia" (10).

Ejercicio en la neuropatía diabética

La mayoría de los casos de neuropatía diabética son difíciles de tratar ya que no se sabe con precisión la causa por la que se ha desarrollado. Por lo tanto, el objetivo principal en el tratamiento de la neuropatía diabética es controlar o mejorar los síntomas problemáticos.

Los cambios en el estilo de vida, incluida una dieta saludable y ejercicio, pueden reducir significativamente la prevalencia de diabetes y complicaciones como la neuropatía. Recientes ensayos controlados aleatorios grandes han establecido que una combinación de ejercicio aeróbico y de resistencia mejora la condición física, el control glucémico y la sensibilidad a la insulina en adultos mayores y en personas con diabetes. El ejercicio se ha reconocido durante mucho tiempo como parte de la terapia en el manejo de la diabetes, sin embargo, el 31% de los pacientes con diabetes tipo 2 no participan en la actividad física básica, y las personas con neuropatía diabética pueden tener dificultades para participar en el ejercicio con pesas debido al dolor o ausente sensación (11).

Comenzando con los componentes más directamente afectados por la neuropatía periférica, se ha demostrado que el ejercicio preserva y promueve la función de los nervios periféricos.

El ejercicio está asociado con una atenuación del dolor experimental en individuos sanos, por lo general, han encontrado que la hipoalgesia (disminución del dolor en respuesta a un estímulo nocivo) ocurre durante y / o después de una sesión de ejercicio. Se han utilizado varios modos de ejercicio, incluido el ejercicio aeróbico, aclarando que este puede influir positivamente en los factores patológicos asociados con la neuropatía al promover la dilatación microvascular, reducir el estrés oxidativo y aumentar los factores neurotróficos (11).

además, el entrenamiento físico se ha propuesto como una estrategia antioxidante y antiinflamatoria natural para prevenir la evolución y las complicaciones de la diabetes tipo 2, disminuyendo los niveles plasmáticos de marcadores inflamatorios (12). Sin embargo, se desconoce qué tipo e intensidad de entrenamiento físico en la DM2 puede modificar la respuesta nociceptiva a fin de prevenir el daño neuropático y si se relaciona con la disminución del estado inflamatorio de la DM2.

ANTECEDENTES

La Asociación Americana de Diabetes ha recomendado el ejercicio aeróbico como tratamiento adyuvante para la DM2, esto debido a que en diferentes estudios clínicos se ha reportado que tiene efectos anti-inflamatorios, por ejemplo en 16 sujetos (entre 55 y 70 años de edad) diagnosticados con DM2 los cuales dividieron aleatoriamente en un grupo sedentario y un grupo que fue sometido a un programa de entrenamiento progresivamente ascendente (aeróbico de intensidad baja a media y de resistencia), con una duración de 16 semanas. Se observó que el grupo que realizó actividad física tuvo una disminución significativa en los niveles de IL-6 y TNF- α , en comparación con el grupo sedentario (13).

Se ha demostrado que el efecto antiinflamatorio del ejercicio en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 depende de la dosis e intensidad de ejercicio, en este estudio concluyen que el ejercicio combinado aeróbico alta intensidad con ejercicio de resistencia tuvo una disminución significativa de citocinas proinflamatoria (IL-1 β , IL-6, TNF- α e IFN- γ) así como un aumento en las citocinas antiinflamatorias (IL-4 e IL-10). (12). En el mismo sentido, se han observado marcadores inflamatorios más bajos, especialmente en adultos mayores que informan que realizan actividad física más frecuente y más intensa (14).

Los efectos del ejercicio aeróbico en la neuropatía diabética han sido también reportados en estudios clínicos en los que se ha observado que el ejercicio aeróbico de intensidad baja a largo plazo podría tener un efecto local benéfico en los nervios periféricos de pacientes con DM2, sin embargo, esta intensidad de ejercicio no fue suficiente para disminuir los niveles de glucosa en sangre ni el IMC (15). Entre aquellos que ya han sufrido daño en los nervios, la evidencia de los estudios con roedores indica que el ejercicio aeróbico de baja a mediana intensidad promueve la regeneración de los nervios periféricos después de una lesión en ratas diabéticas (16).

El beneficio más relevante del ejercicio ha sido sus efectos positivos sobre la sensación y, sobre todo, el dolor neuropático.

Se ha reportado que el ejercicio aeróbico puede retrasar el dolor neuropático en ratas con diabetes tipo 1 inducida por estreptozotocina (STZ), las ratas se dividieron aleatoriamente en 2 grupos: un grupo diabético sedentario y un grupo diabético sometido a ejercicio, el grupo sedentario desarrolló una hipersensibilidad táctil mecánica a las dos semanas

mientras que el grupo de ejercicio mostro hiperalgesia mecánica 4 semanas más tarde que el grupo sedentario (17).

Otros estudios relevantes demostraron que el ejercicio físico en modelos animales de neuropatía diabética dolorosa puede mejorar significativamente los comportamientos relacionados con el dolor, como la alodinia mecánica y la hiperalgesia por calor (hipoalgesia inducida por el ejercicio, EIH).

Por ejemplo, en ratones de la cepa C57Bl/6 divididos en un grupo sedentario con dieta estándar, un grupo sedentario con dieta alta en grasas, un grupo sometido a ejercicio aeróbico voluntario por 12 semanas con dieta estándar y un grupo sometido al mismo ejercicio, pero -con dieta alta en grasas, observaron que los ratones sometidos a una dieta alta en grasas desarrollaron progresivamente una serie de síntomas prediabéticos, que incluyen aumento de peso, glucosa en sangre y niveles de insulina a demás desarrollaron una hiperalgesia cutánea significativa, similar a los ratones que desarrollan neuropatía asociada con la diabetes. Sin embargo, los ratones con dieta alta en grasas que ejercitaron se normalizaron con respecto a su hipersensibilidad conductual. Estos resultados confirman que la hipersensibilidad elevada, puede ser inducida por una dieta alta en grasas y el ejercicio puede aliviar estos síntomas neuropáticos (18).

Los beneficios del ejercicio aeróbico cada vez están mejor documentados y sus efectos en pacientes con diabetes tipo 2 son ampliamente percibidos como benéficos para el control glucémico, la pérdida de peso y el control de lípidos y lipoproteínas. Sin embargo, la literatura muestra resultados contradictorios respecto a sus efectos moduladores de dolor en pacientes con dolor neuropático, esto posiblemente atribuible a los diferentes regímenes de entrenamiento utilizados, por lo que, el punto más interesante que debe abordarse es la intensidad de ejercicio aeróbico necesaria para obtener dichos efectos. Con tal motivo el presente proyecto pretende evaluar los efectos del ejercicio aeróbico en diferentes intensidades (media y baja) sobre el umbral térmico y mecánico en un modelo murino de DM2.

JUSTIFICACIÓN

Más del 50% de la población con DM2 desarrolla alguna alteración en los nervios periféricos, caracterizado por síntomas sensoriales que afectan negativamente la calidad de vida. Cada vez hay más pruebas de que el ejercicio aeróbico mejora la disfunción diabética, así como la sensibilidad periférica, Sin embargo, aún existe la incógnita de que intensidad de ejercicio aeróbico es necesaria para aumentar el umbral de precepción mecánica y térmica en la DM2.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué intensidad de ejercicio aeróbico alterará positivamente el umbral térmico y mecánico en ratones diabéticos tipo 2?

HIPOTESIS

El ejercicio aeróbico de mediana intensidad aumentará el umbral de respuesta mecánica y térmica en un modelo murino de DM2.

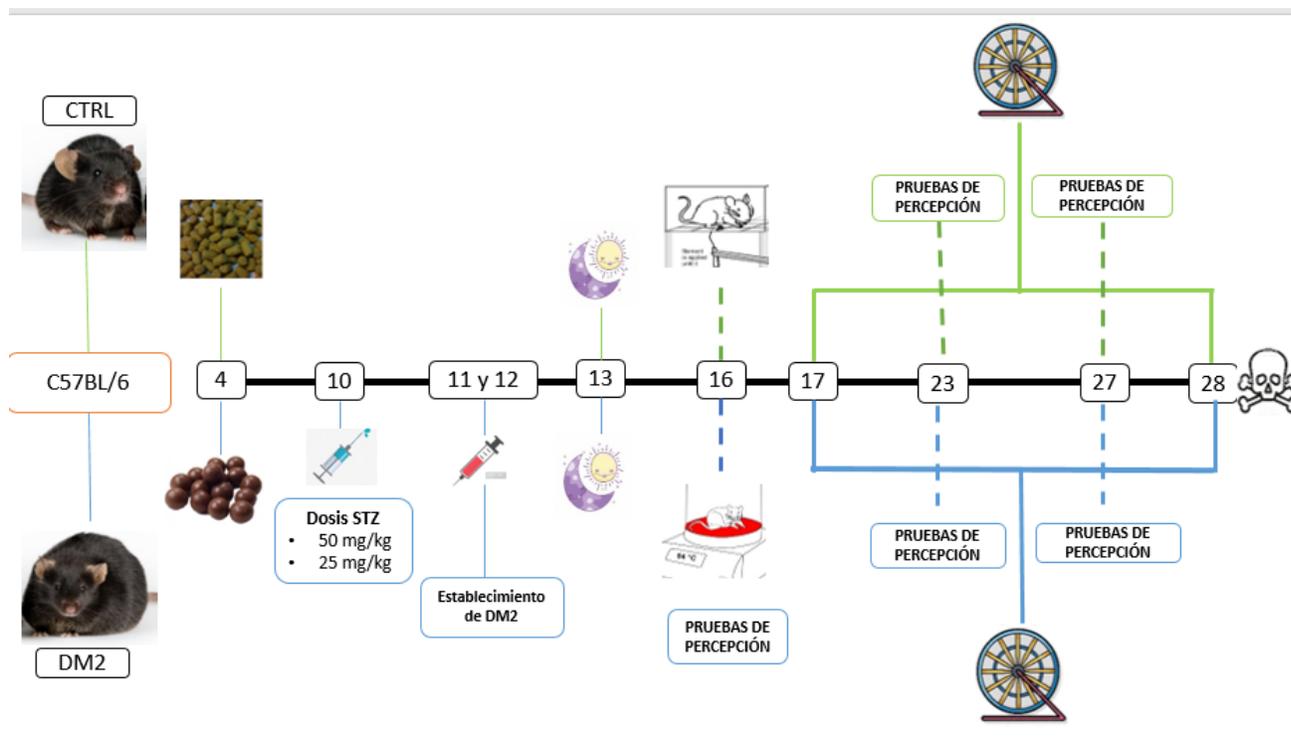
OBJETIVO GENERAL

Evaluar la respuesta nociceptiva mecánica y térmica en ratones con DM2 sometidos a diferentes intensidades de ejercicio aeróbico.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Medir parámetros glucémicos y fisiológicos.
- Evaluar la respuesta nociceptiva al calor en las patas traseras.
- Evaluar la respuesta nociceptiva ante un agente mecánico en las patas traseras

ESQUEMA DE ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



MATERIALES Y MÉTODO.

Modelo de estudio

Se utilizaron 35 ratones de la cepa C57BL/6 de cuatro semanas de edad, obtenidos del Laboratorio de Investigación Odontológica de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

Los 35 ratones fueron divididos en un grupo control y grupo DM2, que a su vez se dividirán en tres subgrupos:

CONTROL	DM2
CTRL-SED: Sedentario	DM2-SED
CTRL-BI: Intensidad Baja	DM2- BI
CTRL-MI: Intensidad Media	DM2-MI

Inducción de diabetes mellitus tipo 2

Posterior al destete a las cuatro semanas de edad, los ratones pertenecientes al grupo DM2 fueron sometidos a una dieta hipercalórica, con el fin de inducir obesidad y resistencia a la insulina (19).

Dieta Hipercalórica Contenido energético: 5.4 Kcal/g			Dieta estándar Contenido energético: 3.8 Kcal/g
Pellets de LabDiet 5010	37.5%	15% Proteína	20% Proteína
Cacahuates	25%	46.5% Grasa	10% Grasa
Chocolate	25%	38.5% Carbohidratos	70% Carbohidratos
Galletas	12.5%		
Leche condensada	25%		
Dieta Líquida			Dieta líquida
Agua con chocolate (50g/L)			Agua embotellada

A las 10 semanas, les fueron administradas dosis intraperitoneales de estreptozotocina durante 7 días; la primera dosis fue de 50mg/kg en el día uno, y las siguientes de 25mg/kg (20).

Al finalizar el tratamiento con estreptozotocina, se realizó una curva de tolerancia a la glucosa, y una semana más tarde una curva de tolerancia a la insulina. Los ratones que alcanzaron niveles de glicemia >250 mg/dL fueron considerados diabéticos.

Una semana después del diagnóstico de DM2 los ratones se sometieron a la inversión de su ciclo luz-oscuridad.

Obtención de muestras de tolerancia a la insulina y glucosa

Las curvas de tolerancia a la glucosa e insulina se realizaron a las 11 y a las 12 semanas de edad respectivamente, 1 semana después del diagnóstico de DM2, a la mitad del protocolo de entrenamiento y antes del sacrificio.

Para la toma de glucosa los ratones se mantuvieron en ayuno durante 4 horas previas a la toma de muestras de sangre.

Se realizó una pequeña incisión en la vena lateral de la cola y se midió la glucosa con un glucómetro One Touch en los minutos 0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90. Después de la administración de glucosa (1g/kg de peso de ratón) o la insulina (0.5 U/kg de peso del ratón).

Por medio de la centrifugación se obtuvo el suero sanguíneo y se midieron los niveles de insulina y hemoglobina glicosilada.

Medición del peso, circunferencia abdominal e índice de masa corporal

Se pesaron a los ratones diariamente. Y cada semana se midió la circunferencia abdominal y la talla bajo los efectos de la anestesia inhalada (isoflurano) obteniendo el índice de masa corporal (IMC) mediante la fórmula peso / talla.

Ciclo luz- oscuridad

En la semana 13 (una semana después del diagnóstico de DM2) su ciclo fue invertido: Luz- 20:00 hrs a 7:59hrs; oscuridad- 8:00 hrs a 19:59 hrs. Esto con el fin de no alterar el periodo de sueño de los ratones ya que es sabido que los ratones son animales nocturnos y sus picos de actividad se dan durante la noche

Entrenamiento aeróbico

Se utilizaron ruedas automatizadas mediante las cuales se pudo controlar la velocidad de acuerdo al grupo perteneciente BI (60%) o MI (85%). El entrenamiento dio inicio en la semana 17 de cada ratón, primeramente, tuvieron una fase de aclimatamiento que constó de tres días en la cual corrieron en las ruedas sin ninguna velocidad durante diez minutos. Posteriormente iniciaron una segunda fase de entrenamiento de la semana 18 a la 24 en la que los ratones corrieron durante 6 días a la semana.

La última fase de entrenamiento duró de la semana 24 a la 27 y la velocidad y el tiempo aumentaron como se muestra en la tabla (21).

	GRUPO		LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SABADO	DOMINGO	
PRIMER ENTRENAMIENTO	CTRL/DM2-SED sedentario	SIN ACTIVIDAD FISICA								
	CTRL/DM2-BI 65% VO2max	Velocidad	8m/min	8m/min	8m/min	8m/min	8m/min	8m/min	8m/min	DESCANSO
		Duración	20 min	20 min	30 min	30 min	40 min	40 min		
	CTRL/DM2-MI 85% VO2max	Velocidad	12m/min	12m/min	15m/min	15m/min	18m/min	18m/min		
		Duración	20 min	20 min	30 min	30 min	40 min	40 min		
SEGUNDO ENTRENAMIENTO	CTRL/DM2-SED sedentario	SIN ACTIVIDAD FISICA								
	CTRL/DM2-BI 65% VO2max	Velocidad	8m/min						DESCANSO	
		Duración	50 min							
	CTRL/DM2-MI 85% VO2max	Velocidad	18m/min							
		Duración	50 min							

Evaluación de respuesta nociceptiva al calor (HOT PLATE-PLACA CALIENTE)

Para determinar la sensibilidad periférica al calor, se realizó una modificación de la prueba dinámica de la placa caliente descrita anteriormente (22).

Los ratones se colocaron dentro de una caja de vidrio (8 X 7 X 10 cm) sobre una superficie metálica (Hotplate stirrer Benchmark) y se aclimataron durante 10 minutos a 28°C. El dispositivo se activó después de que los ratones mostraran un comportamiento cómodo, posteriormente fueron sometidos a 5 temperaturas diferentes (37 °C, 43°C, 46°C, 50 °C y 55°C.)

Los ratones únicamente fueron expuestos a las temperaturas durante 20 segundos cada una, si durante este periodo los ratones no mostraron respuesta positiva se retiraron de la superficie caliente para evitar cualquier daño tisular. El tiempo transcurrido para que cada ratón tuviera una respuesta positiva (lamer la pata trasera o saltar) en cada temperatura, se contó como latencia de retirada.

Evaluación de la respuesta nociceptiva a un estímulo mecánico (VON FREY)

Construcción de filamentos von Frey

La construcción de los filamentos se realizó con dos marcas de nylon de pesca con dos distintos diámetros (0.20mm de diámetro, marca PETITE PÉCHE y -0,35 mm de diámetro, marca SUFIX) para hacer las puntas de los filamentos von Frey. La línea de monofilamento se cortó con tijeras en diferentes longitudes. Los soportes para los filamentos fueron hechos con abatelenguas de madera (marca PROTEC) con dimensiones de 1.8 X 14.2 X 0.2 cm. Los filamentos de nylon y los abatelenguas se pegaron con el adhesivo instantáneo KOLA LOKA (23).

Diseño y calibración de filamentos de Von Frey

Se fabricaron 8 monofilamentos Von Frey con puntas de nylon pegadas perpendicularmente al punto final de los abatelenguas. -Para obtener un rango de fuerzas, se cortó el monofilamento con diferentes longitudes. -Las fuerzas ejercidas por el monofilamento de Von Frey fueron calibradas con una balanza. Se realizaron 20 mediciones de cada monofilamento para obtener su fuerza promedio y su desviación estándar (17).

Evaluación de la sensibilidad mecánica

Los ratones se colocaron individualmente en una caja de vidrio (8 X 7 X 10 cm) cuyo piso se construyó con alambre de malla metálica (cuadrados de 1 X 1 cm) que permitía el acceso completo a las patas.

Se permitió la adaptación conductual del ratón durante 20 minutos, hasta que la exploración de la caja y las actividades de aseo cesaron (24). Posteriormente se les aplicó un estímulo inocuo en la superficie plantar-media trasera (pata derecha e izquierda aleatoriamente) durante 10 minutos (una aplicación por minuto) para que el ratón reconozca el monofilamento esto con el fin de evitar falsos positivos (25).

Después de los 30 minutos de acondicionamiento se comienza la evaluación. Se utilizó el método de "porcentaje de respuesta", en donde varios filamentos de Von Frey de fuerzas variables (0.5, 1.1, 1.6, 2.4, 3.3, 4, 5.1, 6 gf) se aplican en orden ascendente un número igual de veces (5 aplicaciones) independientemente de la respuesta, y el número de respuestas positivas a cada filamento se convierte en un porcentaje respuesta. - Cada filamento de Von Frey se presentó perpendicular a la superficie plantar con fuerza suficiente para causar un ligero pandeo contra la pata. Los estímulos se presentaron a intervalos de 30 segundos, lo que permite la resolución aparente de cualquier respuesta conductual a estímulos previos.

Se observó una respuesta positiva si la pata se retiraba bruscamente, si el ratón lamia o sacudía la pata ya sea durante la aplicación del estímulo o inmediatamente después de retirar el filamento (26). Se anotará un número 1 si la respuesta es positiva y un número 0 si la respuesta es negativa.

**Las evaluaciones se realizaron 3 veces:- a las 16 semanas de inicio de la diabetes a las 23 semanas y a las 28 semanas. Las pruebas siempre se realizaron a la misma hora (8:00 am a 10:00 am) momento en el que comenzaba el ciclo nocturno de los ratones.

RESULTADOS

Cambios somatométricos

Los ratones DM2-SED, DM2-BI y DM2-MI incrementaron su peso (**fig. 1a**) y su índice de masa corporal (**fig. 1b**) en comparación con los grupos controles. A pesar de que el grupo de ratones DM2-MI tuvo una disminución de peso e IMC después de comenzar con el entrenamiento en comparación al grupo DM2-SED y DM2-BI, la diferencia no fue significativa (**fig.1**).

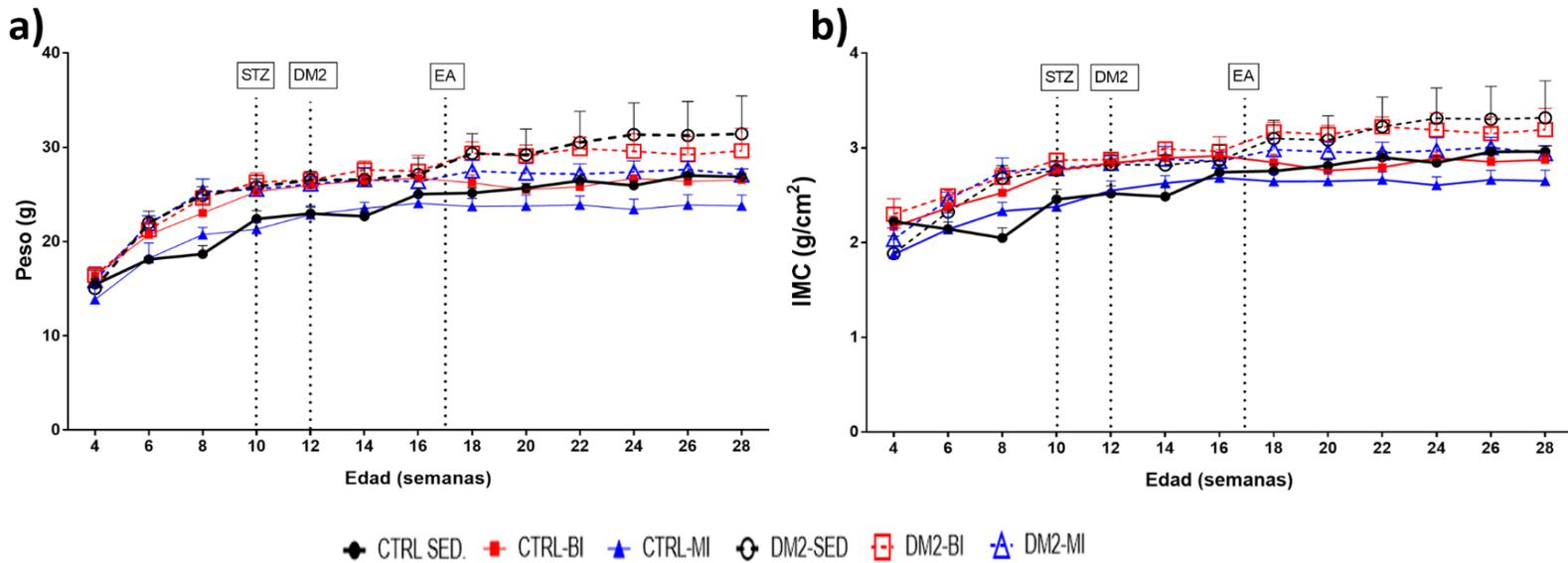


Figura 1. Cambios somatométricos de los ratones diabéticos y controles tanto sedentarios como los sometidos a ejercicio de baja y mediana intensidad a) peso registrado cada semana del experimento b) índice de masa corporal (IMC) registrado cada semana del experimento. CTRL-SED (n=6); DM2-SED (n=5); DM2-BI (n=6); DM2-MI (n=6); CTRL-BI (n=6) CTRL-MI (n=6). Prueba de ANOVA, Tukey post Hoc.

Perfil glucémico

Los ratones controles sometidos o no a entrenamiento aeróbico mantuvieron niveles de glucosa por debajo de los 200mg/dl durante todo el experimento. Los ratones diabéticos después de las 10 semanas de edad en la que se les administro STZ mostraron niveles de glucosa superiores a los 250mg/dL. Mientras que en el grupo DM2-SED incrementaron sus niveles gradual y significativamente hasta la semana 28 en comparación con los grupos control, en el grupo DM2-BI y DM2-MI disminuyeron los niveles de glucosa a partir de la semana 20, 3 semanas después del inicio del entrenamiento aeróbico. El grupo DM2-MI alcanzo niveles de normoglucosa de la semana 22 en adelante, mientras que el grupo DM2-BI en la semana 24. (fig. 2)

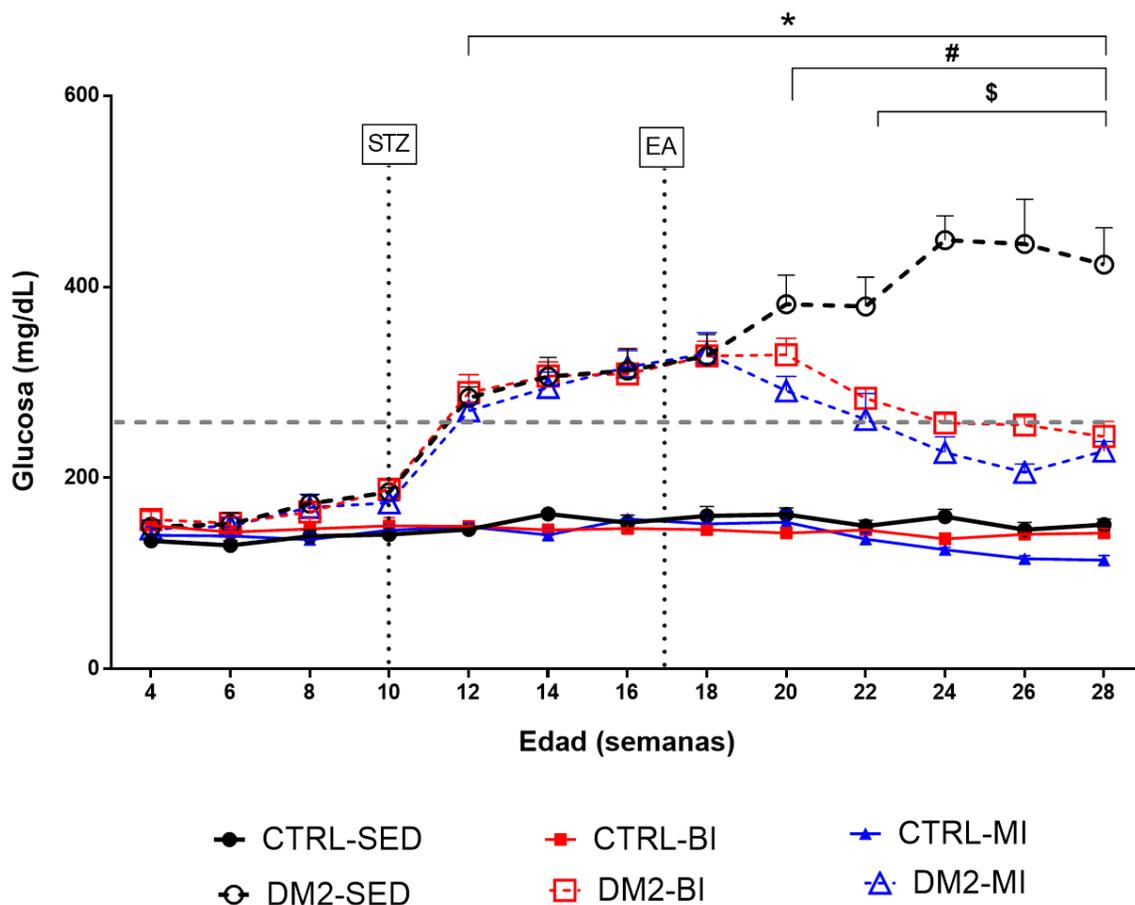


Figura 2. Perfil glucémico de los ratones diabéticos y controles tanto sedentarios como sometidos a ejercicio aeróbico de baja y mediana intensidad registrado quincenalmente. CTRL-SED (n=6); DM2-SED (n=5); DM2-BI (n=6); DM2-MI (n=6); CTRL-BI (n=6) CTRL-MI (n=6) * p<0.05 vs CTRL-SED; # p<0.05 vs DM2-MI; \$p<0.05 vs DM2-BI prueba de ANOVA, Tukey post Hoc.

Tolerancia a la glucosa

Con el objetivo de determinar el efecto de la intensidad de ejercicio en la capacidad de captación e ingreso de la glucosa a los tejidos, realizamos una curva de tolerancia a la glucosa previo a la actividad física y a los 2 meses del entrenamiento correspondiente.

Observamos que a la semana 11, previo al entrenamiento los ratones diabéticos no fueron capaces de internalizar la glucosa administrada, esto evidenciado por la incapacidad de disminuir la glucemia tras 90 minutos en comparación con los ratones controles los cuales disminuyen su glucemia de forma gradual. (**fig. 3a**)

A la semana 26, dos meses posteriores al entrenamiento físico, observamos que los ratones DM2-BI y DM2-MI fueron capaces de captar e internalizar la glucosa administrada en comparación con los ratones DM2-SED. La glucemia de los ratones DM2-MI en la prueba fue prácticamente igual que los ratones control. Esto refleja que el ejercicio disminuye la intolerancia a la glucosa siendo mejor la intensidad media aeróbica. (**fig. 3b**)

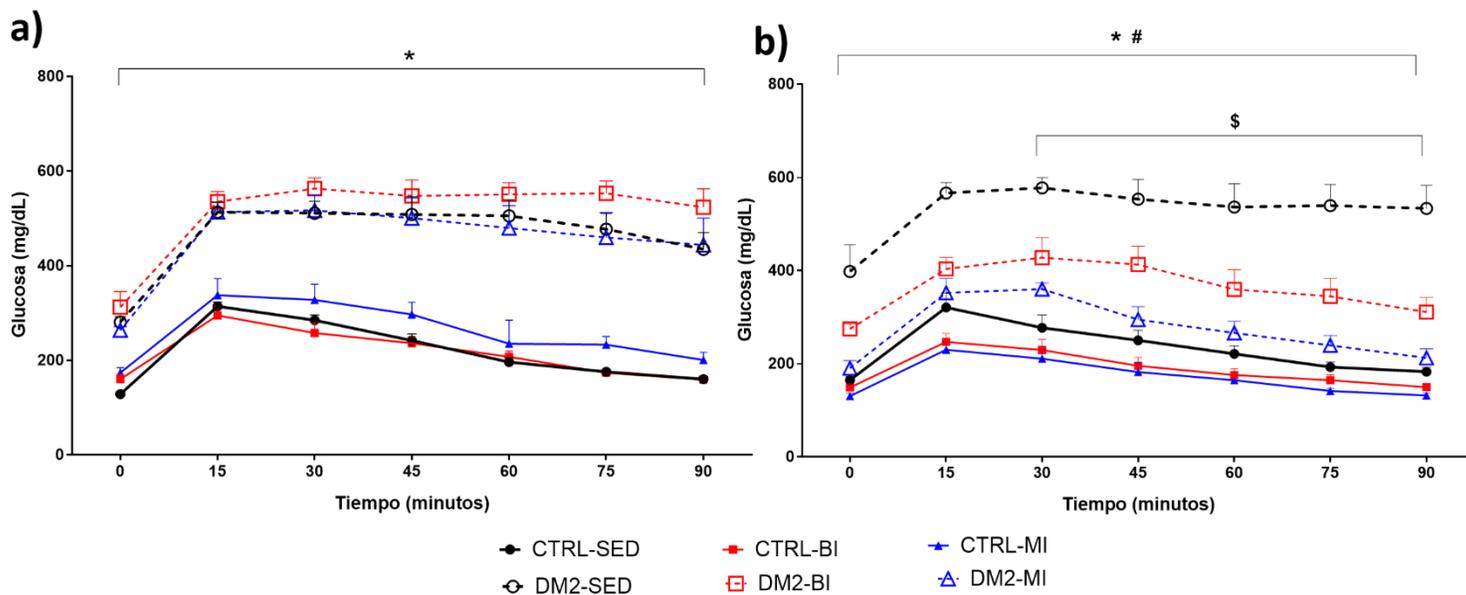


Figura 3. Tolerancia a la glucosa de los ratones diabéticos y controles tanto sedentarios como los sometidos a ejercicio aeróbico de baja y mediana intensidad. a) Previo al entrenamiento aeróbico, semana 11. b) Después de dos meses de entrenamiento, semana 26. CTRL-SED (n=6); DM2-SED (n=5); DM2-BI (n=6); DM2-MI (n=6); CTRL-BI (n=6) CTRL-MI (n=6) * p<0.05 vs CTRL-SED; # p<0.05 vs DM2-MI; \$p<0.05 vs DM2-BI prueba de ANOVA, Tukey post Hoc.

Sensibilidad a la insulina

Para saber si el aumento de la tolerancia a la glucosa provocada por el ejercicio aeróbico se debía a un aumento en la sensibilidad periférica a la insulina, realizamos una curva de tolerancia a la insulina previo a la actividad física y a los 2 meses del entrenamiento correspondiente.

A las 12 semanas, antes de iniciar el ejercicio aeróbico, observamos que los grupos de DM2 presenta resistencia a la insulina, lo que nos habla de una disminución en la sensibilidad a la insulina para la captación de la glucosa, contrario a lo observado en el grupo CTRL, el cual disminuye y mantiene sus niveles de glucosa. (**fig.4a**)

En la semana 27, después de dos meses de entrenamiento, observamos que tanto el grupo DM2-BI como DM2-MI presentan una disminución en los niveles de glucosa ante el estímulo de insulina, y al finalizar la prueba alcanzan niveles parecidos a los del grupo CTRL, lo que quiere decir que hay una disminución en la resistencia a la insulina contrario a los observado en el grupo DM2-SED, el cual presenta niveles elevados de glucosa incluso después de la administración de insulina. (**fig. 4b**)

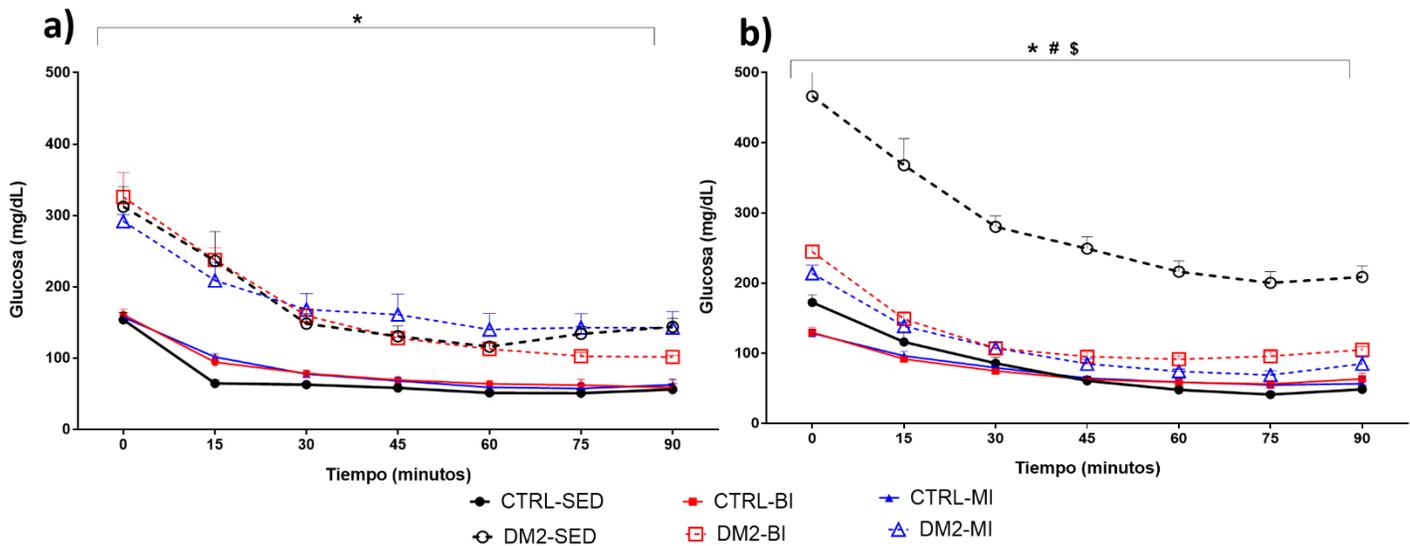


Figura 4. Sensibilidad a la insulina de los ratones diabéticos y controles tanto sedentarios como los sometidos a ejercicio aeróbico de baja y mediana intensidad. a) Previo al entrenamiento aeróbico, semana 12. b) Después de dos meses de entrenamiento, semana 27. CTRL-SED (n=6); DM2-SED (n=5); DM2-BI (n=6); DM2-MI (n=6); CTRL-BI (n=6) CTRL-MI (n=6) * $p < 0.05$ vs CTRL-SED; # $p < 0.05$ vs DM2-MI; \$ $p < 0.05$ vs DM2-BI prueba de ANOVA, Tukey post Hoc.

Percepción térmica periférica al calor nociceptivo

Con el objetivo de determinar los efectos del ejercicio en sus diferentes intensidades sobre la percepción térmica caliente, se realizó el ensayo de “hot plate” como se describe en materiales y métodos antes del ejercicio, al mes del entrenamiento y a los dos meses.

A la semana 16, previo al entrenamiento, observamos que los ratones diabéticos tuvieron una latencia de respuesta significativamente menor a los 46°C y 50 °C comparado con los ratones controles. **(fig. 5a)**

Al mes de entrenamiento los ratones diabéticos que tuvieron entrenamiento de baja y mediana intensidad incrementaron significativamente la latencia de respuesta a los 46°C. De manera interesante, los ratones que realizaron ejercicio de mediana intensidad tuvieron una latencia de respuesta significativamente mayor que los ratones diabéticos sedentarios y los que realizaron ejercicio de baja intensidad. **(fig. 5b)**

A los dos meses de entrenamiento, el grupo de ratones DM2-BI y DM2-MI incrementaron significativamente la latencia de respuesta a los 46°C y 50 °C en comparación con los ratones diabéticos sedentarios y responden una latencia igual a los controles. **(fig. 5c)**

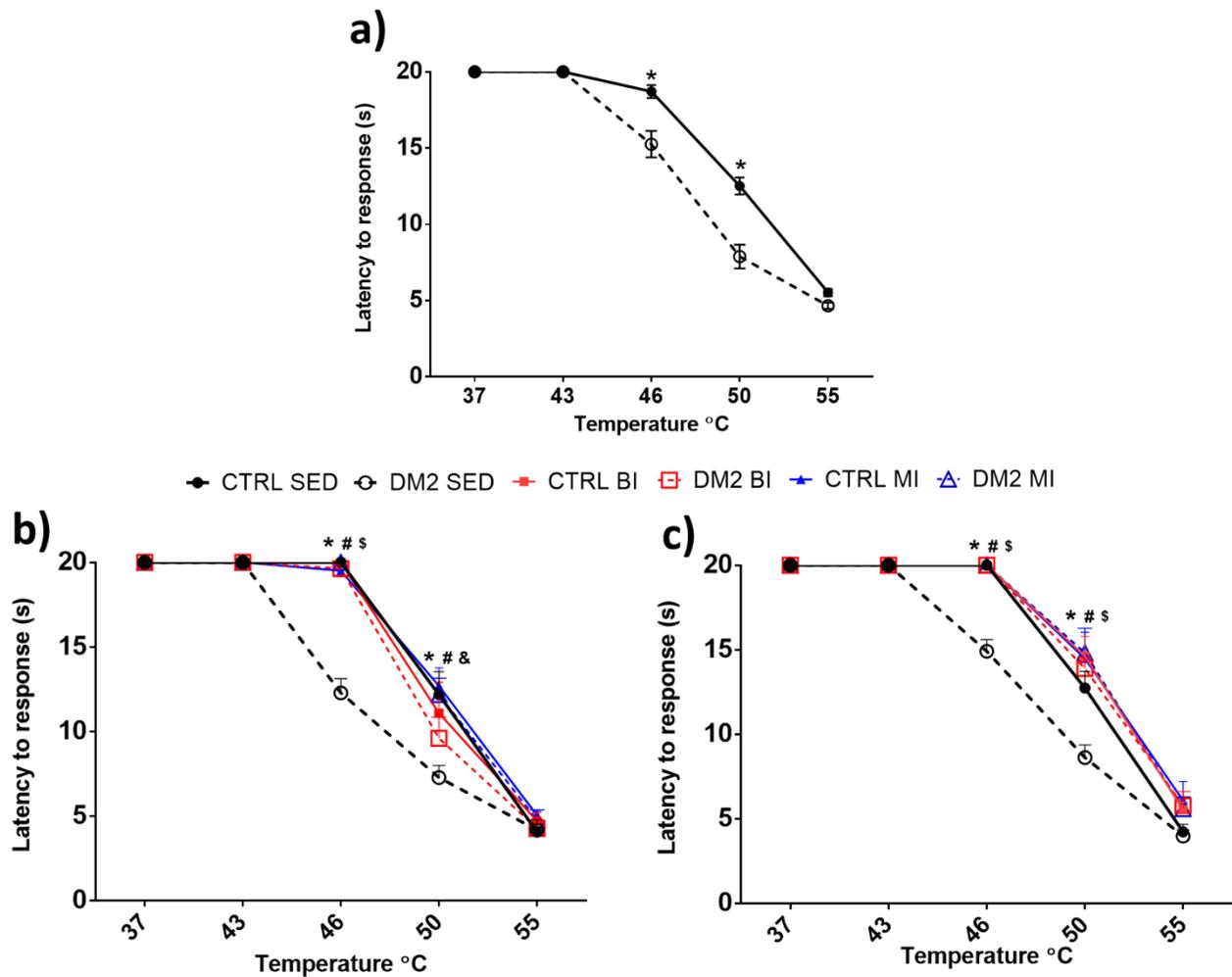


Figura 5. Sensibilidad térmica periférica de los ratones diabéticos y controles tanto sedentarios como los sometidos a ejercicio aeróbico de baja y mediana intensidad. a) Previo al entrenamiento aeróbico, semana 16. b) Al cumplir un mes de entrenamiento, semana 23. c) Al cumplir dos meses de entrenamiento, semana 27. CTRL-SED (n=6); DM2-SED (n=5); DM2-BI (n=6); DM2-MI (n=6); CTRL-BI (n=6) CTRL-MI (n=6) * $p < 0.05$ vs CTRL-SED; # $p < 0.05$ vs DM2-MI; \$ $p < 0.05$ vs DM2-BI; & $p < 0.05$ DM-BI vs DM2-MI, prueba de ANOVA, Tukey post Hoc.

Percepción mecánica nociceptiva

Con el objetivo de determinar los efectos del ejercicio en sus diferentes intensidades sobre la percepción mecánica, se realizó el ensayo de “Von Frey” como se describe en materiales y métodos antes del ejercicio, al mes del entrenamiento y a los dos meses de entrenamiento.

A la semana 16, previo al entrenamiento, no se observaron diferencias significativas entre los ratones diabéticos y controles, muy probablemente no habían desarrollado hiperalgesia mecánica. (**fig. 6a**)

Al cumplir un mes de entrenamiento, el grupo de ratones diabéticos sedentarios había aumentado su porcentaje de respuesta, mientras que los ratones diabéticos que realizaron ejercicio de baja y mediana intensidad tuvieron porcentajes de respuesta significativamente más bajos que los ratones diabéticos sedentarios, los porcentajes de respuesta de los ratones diabéticos que realizaron ejercicio de baja y mediana intensidad era semejante al de los ratones control. (**fig. 6b**)

Al finalizar los dos meses de entrenamiento, los ratones diabéticos que realizaron ejercicio de baja y mediana intensidad seguían teniendo porcentajes de respuesta significativamente menores a los del grupo DM2-SED. Lo que indica que el ejercicio en ambas intensidades devuelve la sensibilidad mecánica normal (**fig. 6c**)

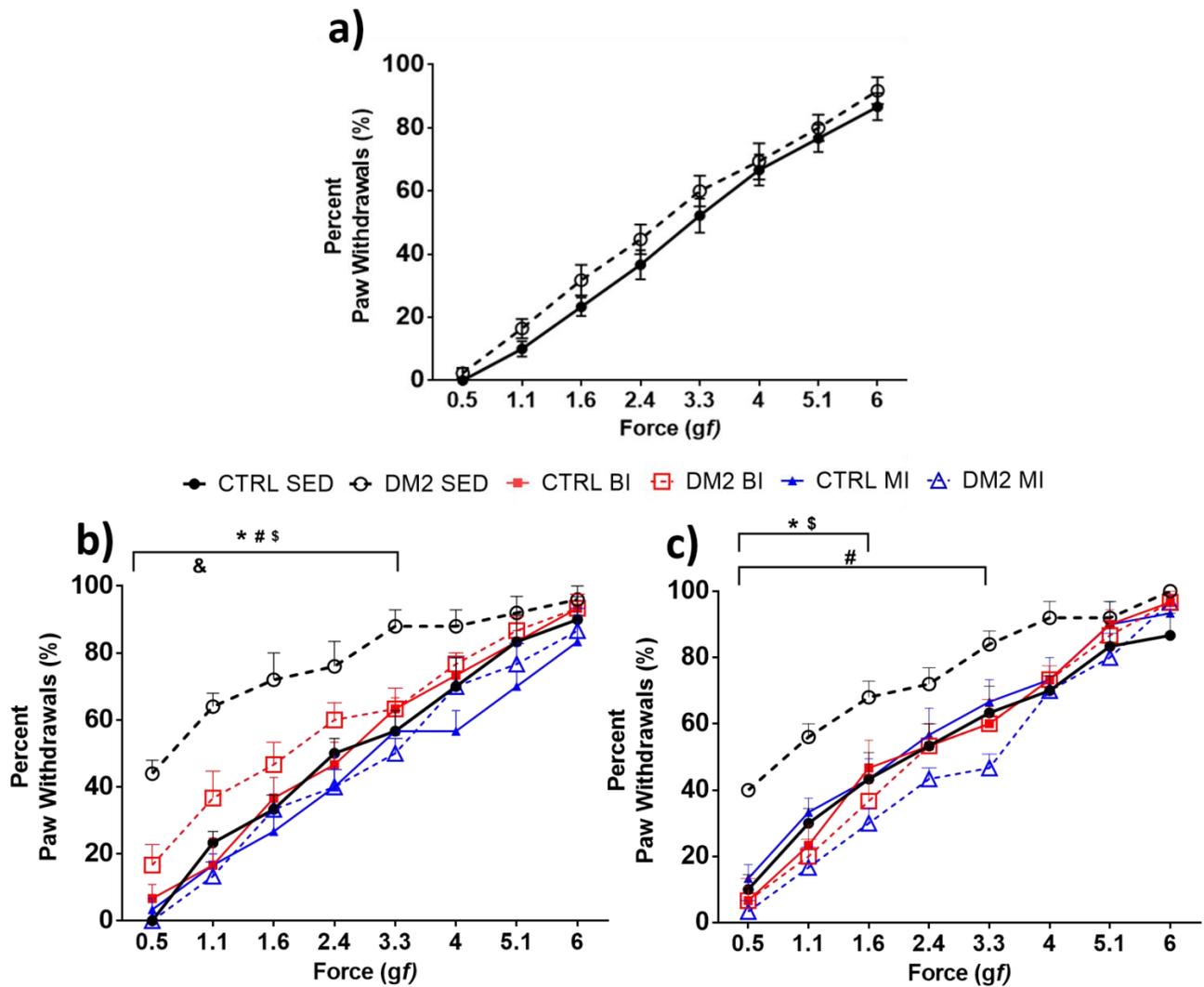


Figura 6. Sensibilidad mecánica periférica de los ratones diabéticos y controles tanto sedentarios como los sometidos a ejercicio aeróbico de baja y mediana intensidad. a) Previo al entrenamiento aeróbico, semana 16. b) Al cumplir un mes de entrenamiento aeróbico, semana 23. c) Después de dos meses de entrenamiento, semana 27. CTRL-SED (n=6); DM2-SED (n=5); DM2-BI (n=6); DM2-MI (n=6); CTRL-BI (n=6) CTRL-MI (n=6) * p<0.05 vs CTRL-SED; # p<0.05 vs DM2-MI; &p<0.05 vs DM2-BI; &p<0.05 DM-BI vs DM2-MI, prueba de ANOVA, Tukey post Hoc.

Correlación entre la percepción térmica caliente y la glucosa en suero.

Con el objetivo de determinar si existía una correlación entre la restitución de la percepción térmica y la disminución de la glucosa en suero en los ratones diabéticos que hicieron ejercicio por 2 meses, realizamos un análisis de correlación de Pearson. De forma interesante sólo existe una correlación negativa en la mejora de la percepción térmica de 50° C y la disminución de la glucosa en suero en los ratones diabéticos que hicieron ejercicio de baja intensidad ($r^2:0.673$).

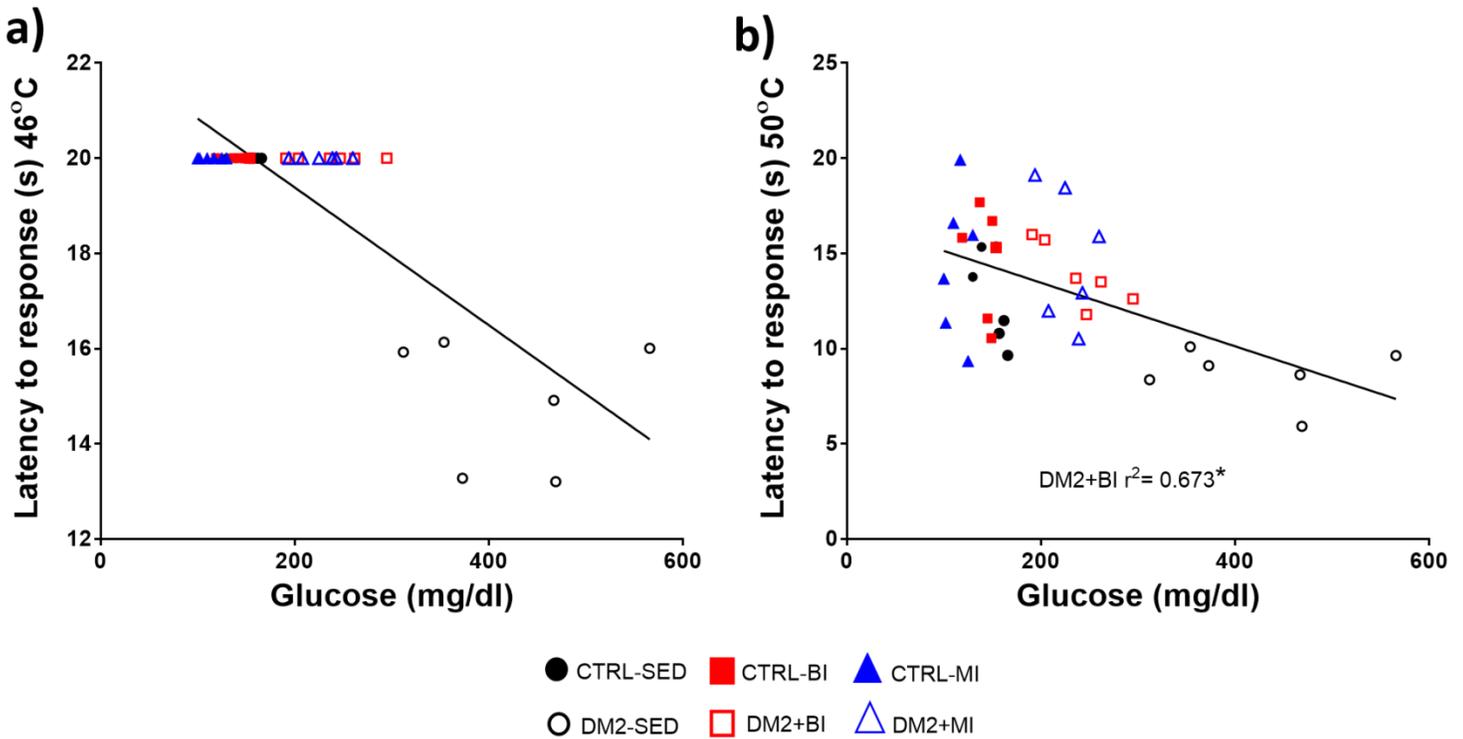


Figura 7. Análisis de la correlación entre la percepción térmica y la glucosa sérica en ratones diabéticos y controles tanto sedentarios como los sometidos a ejercicio aeróbico de baja y mediana intensidad por dos meses. a) Respuesta a la latencia a 46°C vs glucosa. b) Respuesta a la latencia a 50°C vs glucosa. prueba de correlación de PEARSON

Correlación entre la percepción mecánica y la glucosa en suero.

Con el objetivo de determinar si existía una correlación entre la restitución de la percepción mecánica y la disminución de la glucosa en suero en los ratones diabéticos que hicieron ejercicio por 2 meses, realizamos un análisis de correlación de Pearson. De forma interesante existe una correlación positiva en la mejora de la percepción mecánica a 3.3 y 4 gf y la disminución de la glucosa en suero en los ratones diabéticos que hicieron ejercicio de baja intensidad; $r^2:0.7047$ y $r^2: 0.7167$ respectivamente.

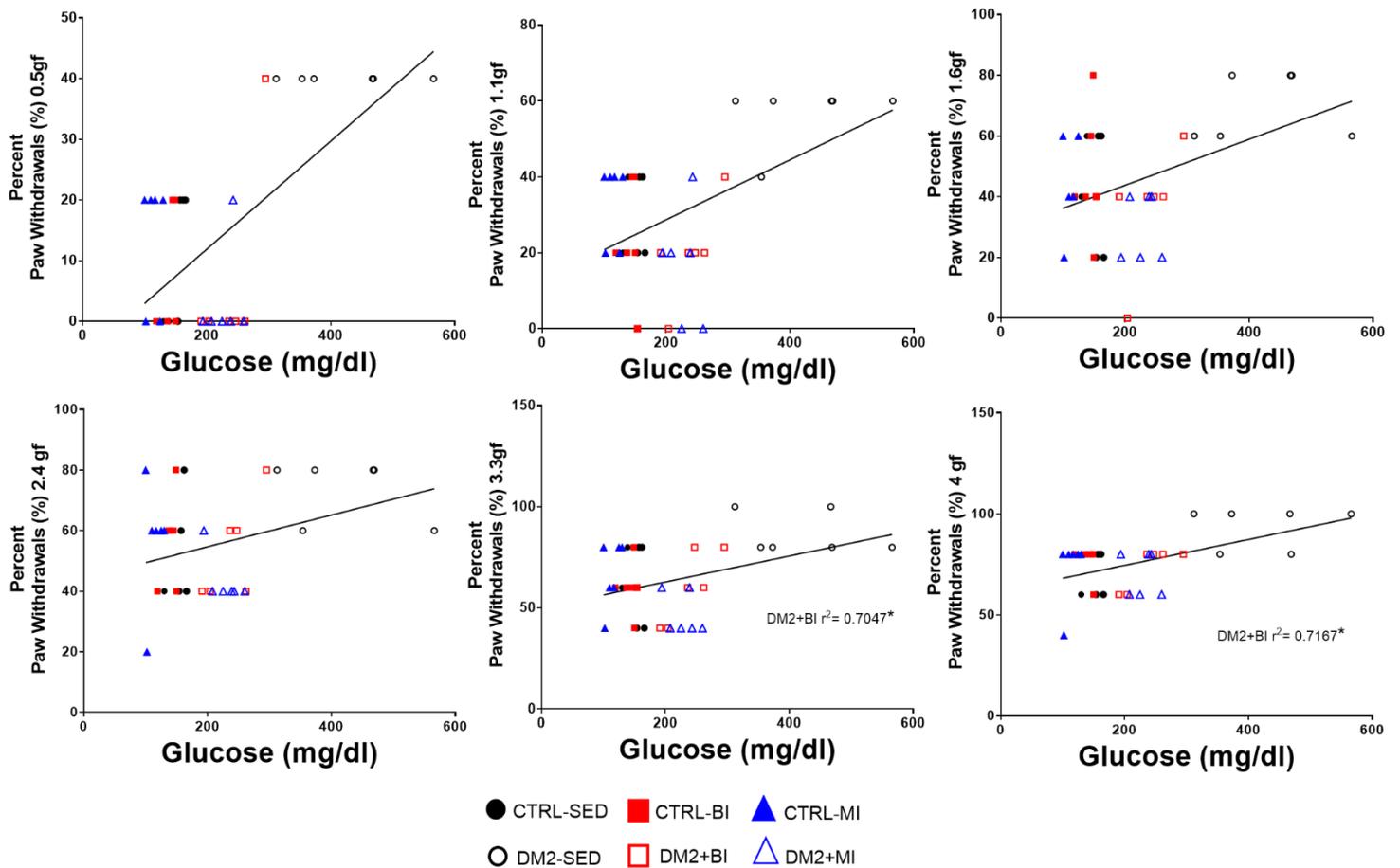


Figura 8. Análisis de la correlación entre la percepción mecánica de 0.5; 1.1; 1.6; 2.5; 3.3 y 4 gf vs la glucosa sérica en ratones diabéticos y controles tanto sedentarios como los sometidos a ejercicio aeróbico de baja y mediana intensidad por dos meses. Prueba de correlación de PEARSON

DISCUSIÓN

La neuropatía periférica diabética es la complicación microvascular más común en la diabetes mellitus tipo 2. Hay muchos mecanismos diferentes implicados en el daño de los nervios periféricos en la neuropatía periférica diabética, de los cuales el papel clave es el estrés oxidativo, la inflamación y la disfunción mitocondrial que se dan como consecuencia de la hiperglucemia. La percepción del dolor es un mecanismo muy amplio y complejo de estudiar, que tiene múltiples orígenes, incluido el daño a los nervios, las enfermedades metabólicas y muchos otros. Cada forma de dolor puede ser única no solo en su desarrollo, sino también en los tratamientos necesarios para proporcionar alivio. Algunos estudios se han centrado en la capacidad del ejercicio para aliviar el dolor neuropático asociado con la diabetes, ya que es la forma más prevalente de dolor neuropático que se investiga con la esperanza de mejorar la neuropatía diabética. El ejercicio se ha utilizado como una intervención que puede activar un mecanismo antiinflamatorio natural que provoca que las células secreten citocinas antiinflamatorias que suprimen el dolor inducido por citocinas proinflamatorias.

Utilizando una dieta hipercalórica y la administración de estreptozotocina para inducir el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2, demostramos que los ratones C57Bl / 6, desarrollan un aumento de peso, hiperglucemia, intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina, así como hiperalgesia mecánica y térmica por calor en las extremidades posteriores. Los ratones se sometieron a un régimen de ejercicio aeróbico de baja y de mediana intensidad. Ambas intensidades disminuyeron los niveles de glucosa en sangre de manera significativa, aunque solo el ejercicio de mediana intensidad alcanzó niveles de normoglucemia.

El ejercicio aeróbico de mediana intensidad disminuyó características metabólicas como la intolerancia a la glucosa y aumento a la sensibilidad a la insulina además de mejorar la sensibilidad mecánica y térmica, disminuyendo el porcentaje de respuesta y aumentando el tiempo de latencia respectivamente.

Cambios en la sensibilidad mecánica y térmica

El objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos del ejercicio aeróbico de baja y mediana intensidad sobre la sensibilidad térmica y mecánica en ratones macho diabéticos inducidas por STZ y una dieta hipercalórica.

Nuestros resultados sobre el incremento de los umbrales mecánicos producidos por el ejercicio son parecidos a los de Groover *et. al.* ellos observaron que una dieta alta en grasas produjo hiperalgesia cutánea en las patas traseras de ratones C57BL/6 y el ejercicio aeróbico disminuyó la percepción dolorosa mecánica. Ellos proponen que la hiperalgesia cutánea es desarrollada debido a un cambio fenotípico axonal y que ese cambio fenotípico es invertido por el ejercicio. Contrario a estos resultados, otro estudio demostró que el ejercicio en cinta rodante no inhibió la alodinia mecánica, pero sí retrasó 3 semanas su desarrollo en ratas diabéticas, además de aumentar Hsp72 factor que está relacionado con la

mejora en el dolor neuropático, aunque no encontraron correlación entre estos dos resultados (27).

Como es bien sabido, los síntomas sensoriales son variables. Se han descrito tanto hiperalgesia como hipoalgesia térmica en ratas y ratones que desarrollaron diabetes por medio de estreptozotocina (28). Un estudio demostró que 15 ratones de la cepa C57BL/6 con 12 semanas de edad al inicio del estudio, después de 12 semanas de diabetes no tratada desarrollaron hipoalgesia térmica caliente provocada por la disminución de la conducción de velocidad nerviosa (29).

Nuestros estudios están de acuerdo con un informe anterior (30) en el cual 51 ratas con diabetes inducidas por estreptozotocina desarrollaron una hiperalgesia térmica, sus resultados sugieren que realizar natación de baja y mediana intensidad reduce la hiperalgesia térmica caliente. Ellos proponen diversas teorías sobre los efectos benéficos del ejercicio sobre la sensibilidad térmica, dentro de los que están la concentración de opioides endógenos, y el aumento de la actividad enzimática antioxidante.

En nuestro estudio desarrollamos un modelo de DM2 inducido con STZ y una dieta hipercalórica, estudios anteriores han demostrado que la obesidad producida con dieta hipercalórica provoca una alteración en la sensibilidad nociceptiva per se (31). Tanto la obesidad como la DM2 se han asociado a niveles bajos de adiponectina, un estudio demostró la correlación entre los niveles bajos de adiponectina y un desarrollo de hiperalgesia y alodinia mecánica y térmica en ratones KO (32). En relación a lo antes mencionado, un estudio demostró que el ejercicio aeróbico aumentaba los niveles de adiponectina en humanos con DM2, lo que podría sugerir el aumento en los umbrales nociceptivos de los ratones sometidos a ejercicio aeróbico.

Existe evidencia contradictoria sobre la correlación de los niveles de glucosa y la nocicepción en estudios con roedores. Algunos estudios han demostrado que el ejercicio físico puede mejorar los síntomas sensoriales, sin influir en los niveles de glucosa en sangre (30) (18). Sin embargo existen otros estudios que demuestran lo contrario (27). Es importante destacar que, en el presente estudio, se encontró una correlación negativa en la mejora de la percepción térmica de 50° C y la disminución de la glucosa en suero en los ratones diabéticos que hicieron ejercicio de baja intensidad, así como una correlación positiva en la mejora de la percepción mecánica a 3.3 y 4 gf y la disminución de la glucosa en suero en los ratones diabéticos que hicieron ejercicio de baja intensidad.

Los distintos resultados entre un estudio y otro pueden deberse principalmente a la duración de la dieta, la dosis de estreptozotocina, la edad de los roedores y a la diferencia de cepas, como anteriormente había sido reportado (33).

Las opciones de tratamiento actuales para los pacientes con neuropatía diabética rara vez son eficaces y menos del 30% de los pacientes logran un alivio satisfactorio del dolor, existen muchas vías que pueden servir como blanco de tratamiento dentro de la DM2, sin embargo, en el presente estudio se propone que el ejercicio aeróbico de baja y de mediana intensidad es eficaz como terapia no farmacológica en el manejo de la DM2 y la disminución de los síntomas sensoriales en la neuropatía diabética.

IMPORTANCIA EN ODONTOLOGÍA

La neuropatía periférica es una complicación bien conocida de la DM2 ya que es la complicación microvascular más prevalente. Sin embargo, a diferencia de las manifestaciones en las partes distales, especialmente de las extremidades inferiores, las posibles consecuencias neurofisiológicas orofaciales no se exploran de manera adecuada. La anterior falta de atención a las complicaciones orofaciales de la diabetes posiblemente se deba a las demarcaciones profesionales entre la odontología y la medicina. Existe evidencia que describe, principalmente la relación bidireccional entre la DM2 y la salud periodontal, (34) mas no se pueden dejar de lado que existen otros signos y síntomas que no por ser poco conocidos dejan de tener seria importancia.

Un estudio demostró a través de una serie de pruebas de sensibilidad térmica y mecánica que los pacientes con neuropatía diabética tuvieron una mayor sensibilidad intraoral para la detección de sensación de calor y una tendencia a la hipoestesia mecánica en comparación a los pacientes control. Así mismo hubo una valoración estructural de las fibras nerviosas intraorales y encontraron que los pacientes con neuropatía diabética tuvieron una reducción de la densidad de longitud en la mucosa oral (35).

En otro estudio evaluaron el dolor orofacial en pacientes con neuropatía diabética y sanos, ellos encontraron que los pacientes con NP tenían una alta prevalencia de dolor orofacial, el ardor en boca fue el más común seguido de dolor masticatorio miofacial. También encontraron un dolor anormal en la rama maxilar ante pruebas sensoriales en pacientes con NP (36).

Los cambios en la sensibilidad térmica o mecánica a nivel orofacial provocados por la neuropatía diabética, son síntomas que se pueden pasar por alto y llevar al odontólogo a un diagnostico o tratamiento inadecuado debido a un dolor no especificado. Es por eso que se necesitan más investigaciones actuales y contundentes sobre las alteraciones somatosensoriales a nivel orofacial, para ampliar las evidencias y recursos, y de este modo proporcionar un manejo adecuado a los pacientes diabéticos a nivel odontológico.

CONCLUSIÓN

- El modelo murino de diabetes tipo 2 usado en este estudio nos sirve para estudiar el desarrollo de hiperalgesia mecánica y térmica diabética.
- El ejercicio aeróbico forzado de baja y mediana intensidad en ratones con DM2:
 - Disminuyen la glucemia y la resistencia a la insulina
 - Devuelven la precepción mecánica y térmica caliente normal, por lo que disminuye la neuropatía diabética.
- El restablecimiento de percepción térmica a 50°C se relaciona con la disminución de la glucosa sanguínea en ratones diabéticos que realizaron ejercicio aeróbico de baja intensidad
- El restablecimiento de percepción mecánica a 3.3 y 4 gf se relaciona con la disminución de la glucosa sanguínea en ratones diabéticos que realizaron ejercicio aeróbico de baja intensidad

Bibliografía

1. Bouche C, Serdy S, Kahn CR, Goldfine AB. The cellular fate of glucose and its relevance in type 2 diabetes. *Endocrine reviews*. 2004;25(5):807-30.
2. Harreiter J, Roden M. [Diabetes mellitus-Definition, classification, diagnosis, screening and prevention (Update 2019)]. *Wiener klinische Wochenschrift*. 2019;131(Suppl 1):6-15.
3. Ojha A, Ojha U, Mohammed R, Chandrashekar A, Ojha H. Current perspective on the role of insulin and glucagon in the pathogenesis and treatment of type 2 diabetes mellitus. *Clinical pharmacology : advances and applications*. 2019;11:57-65.
4. Kluding PM, Bareiss SK, Hastings M, Marcus RL, Sinacore DR, Mueller MJ. Physical Training and Activity in People With Diabetic Peripheral Neuropathy: Paradigm Shift. *Physical therapy*. 2017;97(1):31-43.
5. Feldman EL, Callaghan BC, Pop-Busui R, Zochodne DW, Wright DE, Bennett DL, et al. Diabetic neuropathy. *Nature reviews Disease primers*. 2019;5(1):41.
6. Tesfaye S, Boulton AJ, Dickenson AH. Mechanisms and management of diabetic painful distal symmetrical polyneuropathy. *Diabetes care*. 2013;36(9):2456-65.
7. Roman-Pintos LM, Villegas-Rivera G, Rodriguez-Carrizalez AD, Miranda-Diaz AG, Cardona-Munoz EG. Diabetic Polyneuropathy in Type 2 Diabetes Mellitus: Inflammation, Oxidative Stress, and Mitochondrial Function. *Journal of diabetes research*. 2016;2016:3425617.
8. Callaghan BC, Gallagher G, Fridman V, Feldman EL. Diabetic neuropathy: what does the future hold? *Diabetologia*. 2020.
9. Dobson JL, McMillan J, Li L. Benefits of exercise intervention in reducing neuropathic pain. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2014;8:102.
10. Pinho-Ribeiro FA, Verri WA, Jr., Chiu IM. Nociceptor Sensory Neuron-Immune Interactions in Pain and Inflammation. *Trends in immunology*. 2017;38(1):5-19.
11. Kluding PM, Pasnoor M, Singh R, Jernigan S, Farmer K, Rucker J, et al. The effect of exercise on neuropathic symptoms, nerve function, and cutaneous innervation in people with diabetic peripheral neuropathy. *Journal of diabetes and its complications*. 2012;26(5):424-9.
12. Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, et al. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2010;20(8):608-17.
13. Annibalini G, Lucertini F, Agostini D, Vallorani L, Gioacchini A, Barbieri E, et al. Concurrent Aerobic and Resistance Training Has Anti-Inflammatory Effects and Increases Both Plasma and Leukocyte Levels of IGF-1 in Late Middle-Aged Type 2 Diabetic Patients. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2017;2017:3937842.
14. Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ. Effect of exercise training on chronic inflammation. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2010;411(11-12):785-93.
15. Balducci S, Iacobellis G, Parisi L, Di Biase N, Calandriello E, Leonetti F, et al. Exercise training can modify the natural history of diabetic peripheral neuropathy. *Journal of diabetes and its complications*. 2006;20(4):216-23.
16. Malysz T, Ilha J, Nascimento PS, De Angelis K, Schaan BD, Achaval M. Beneficial effects of treadmill training in experimental diabetic nerve regeneration. *Clinics*. 2010;65(12):1329-37.
17. Shankarappa SA, Piedras-Renteria ES, Stubbs EB, Jr. Forced-exercise delays neuropathic pain in experimental diabetes: effects on voltage-activated calcium channels. *Journal of neurochemistry*. 2011;118(2):224-36.
18. Groover AL, Ryals JM, Guilford BL, Wilson NM, Christianson JA, Wright DE. Exercise-mediated improvements in painful neuropathy associated with prediabetes in mice. *Pain*. 2013;154(12):2658-67.

19. do Nascimento CM, Cassol T, da Silva FS, Bonfleur ML, Nassar CA, Nassar PO. Radiographic evaluation of the effect of obesity on alveolar bone in rats with ligature-induced periodontal disease. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*. 2013;6:365-70.
20. Yu T, Sungelo MJ, Goldberg IJ, Wang H, Eckel RH. Streptozotocin-Treated High Fat Fed Mice: A New Type 2 Diabetes Model Used to Study Canagliflozin-Induced Alterations in Lipids and Lipoproteins. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*. 2017;49(5):400-6.
21. Zhang L, Chen X, Wu J, Yuan Y, Guo J, Biswas S, et al. The effects of different intensities of exercise and active vitamin D on mouse bone mass and bone strength. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2017;35(3):265-77.
22. Ogren SO, Berge OG. Test-dependent variations in the antinociceptive effect of p-chloroamphetamine-induced release of 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology*. 1984;23(8):915-24.
23. de Sousa MV, Ferraresi C, de Magalhaes AC, Yoshimura EM, Hamblin MR. Building, testing and validating a set of home-made von Frey filaments: a precise, accurate and cost effective alternative for nociception assessment. *Journal of neuroscience methods*. 2014;232:1-5.
24. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *Journal of neuroscience methods*. 1994;53(1):55-63.
25. Detloff MR, Fisher LC, Deibert RJ, Basso DM. Acute and chronic tactile sensory testing after spinal cord injury in rats. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2012(62):e3247.
26. Deuis JR, Dvorakova LS, Vetter I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2017;10:284.
27. Chen YW, Hsieh PL, Chen YC, Hung CH, Cheng JT. Physical exercise induces excess hsp72 expression and delays the development of hyperalgesia and allodynia in painful diabetic neuropathy rats. *Anesthesia and analgesia*. 2013;116(2):482-90.
28. Al-Rejaie SS, Abuhashish HM, Ahmed MM, Arrejaie AS, Aleisa AM, AlSharari SD. Telmisartan inhibits hyperalgesia and inflammatory progression in a diabetic neuropathic pain model of Wistar rats. *Neurosciences*. 2015;20(2):115-23.
29. Davidson E, Coppey L, Lu B, Arballo V, Calcutt NA, Gerard C, et al. The roles of streptozotocin neurotoxicity and neutral endopeptidase in murine experimental diabetic neuropathy. *Experimental diabetes research*. 2009;2009:431980.
30. Rossi DM, Valenti VE, Navega MT. Exercise training attenuates acute hyperalgesia in streptozotocin-induced diabetic female rats. *Clinics*. 2011;66(9):1615-9.
31. Guo X, Tao X, Tong Q, Li T, Dong D, Zhang B, et al. Impaired AMPK/GRP signaling in the central nervous system contributes to enhanced neuropathic pain in highfat diet-induced obese rats, with or without nerve injury. *Molecular medicine reports*. 2019;20(2):1279-87.
32. Sun L, Li H, Tai LW, Gu P, Cheung CW. Adiponectin regulates thermal nociception in a mouse model of neuropathic pain. *British journal of anaesthesia*. 2018;120(6):1356-67.
33. Yorek MA. Alternatives to the Streptozotocin-Diabetic Rodent. *International review of neurobiology*. 2016;127:89-112.
34. Borgnakke WS, Anderson PF, Shannon C, Jivanescu A. Is there a relationship between oral health and diabetic neuropathy? *Current diabetes reports*. 2015;15(11):93.
35. Costa YM, Karlsson P, Bonjardim LR, Conti PCR, Tankisi H, Jensen TS, et al. Trigeminal nociceptive function and oral somatosensory functional and structural assessment in patients with diabetic peripheral neuropathy. *Scientific reports*. 2019;9(1):169.
36. Arap A, Siqueira SR, Silva CB, Teixeira MJ, Siqueira JT. Trigeminal pain and quantitative sensory testing in painful peripheral diabetic neuropathy. *Archives of oral biology*. 2010;55(7):486-93.

