



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“PLASTICIDAD DE LOS CORPÚSCULOS GUSTATIVOS EN UN MODELO
DE DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL”**

**TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO
DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**PRESENTA:
P.Q.F.B MARTHA ANGÈLICA SALGADO CHÀVEZ**

**ASESORES:
D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO
D.C. RAFAEL ORTÌZ ALVARADO**

TESIS PARCIALMENTE APOYADA POR CIC-UMSNH-26.2, COECYT-CB07021309

MORELIA, MICHOACÁN NOVIEMBRE 2008



El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, tesis parcialmente apoyada por CIC-UMSNH-26.2, COECYT-CB07021309

DEDICATORIA

A mi Madre Elena por ser el aliento de mi vida, por haberme permitido conocer lo maravilloso que es respirar, por darme su apoyo incondicional, por que me ama desde el día en que nací y que lucho incansable por mi sin importarle nada, por ser mi amiga y compañera de vida.

A mi Papi Silvestre por ser el apoyo y ejemplo de mi vida, por que me ha enseñado a luchar sin esperar nada a cambio, por estar ahí en todos los momentos de mi vida, por que me ama Gracias.

A mi Padre Pedro †. Por haberme dado la vida y hacerme fuerte.

A mi Hermana Marllen. Por ser tan fuerte y darme su apoyo.

A mi Tío Chema. Por ser parte de su vida.

A José Eduardo por creer en mí, por darme siempre su apoyo incondicional y por estar cuando más lo necesito.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores:

D.C. Rosalio Mercado Camargo por haber permitido que llevara a cabo esta experiencia tan maravillosa, que gracias a sus conocimientos, dedicación, consejos y entusiasmo fue posible la realización de este trabajo tesis.

D.C. Rafael Ortíz Alvarado por su apoyo y conocimientos para la realización de este trabajo de tesis.

A mis sinodales:

Q.F.B Armida Sánchez Gallegos

M.C Berenice Yahuaca Juárez

D.C. Hector Flores Martínez.

Por dedicar tiempo para la revisión de este trabajo, por sus críticas y sugerencias para la complementación de este trabajo de tesis.

Al M.C. Omar Guzmán Quevedo por su apoyo y asesoría constante para la realización de este trabajo de tesis

A mis siempre amigos y compañeros de laboratorio: Blanca, Lulu, Susana, Jaime, Gaby, Luis, Beto, Gustavo, por su incondicional apoyo, consejos y colaboración para la realización de este trabajo de tesis.

ÍNDICE

1. RESUMEN	¡Error! Marcador no definido.
2. ABSTRACT	¡Error! Marcador no definido.
3. INTRODUCCIÓN	¡Error! Marcador no definido.
3.1 Diabetes mellitus	¡Error! Marcador no definido.
3.2 Clasificación de la diabetes mellitus	¡Error! Marcador no definido.
3.3 Diabetes mellitus tipo 1	¡Error! Marcador no definido.
3.4 Diabetes mellitus tipo 2	¡Error! Marcador no definido.
3.5 Diabetes mellitus gestacional	¡Error! Marcador no definido.
3.6 Otros tipos específicos de diabetes mellitus	¡Error! Marcador no definido.
3.7 Síntesis, secreción y acción de la insulina	¡Error! Marcador no definido.
3.7.1 Síntesis	¡Error! Marcador no definido.
3.7.2 Secreción	¡Error! Marcador no definido.
3.7.3 Acción	¡Error! Marcador no definido.
3.8 Los transportadores de glucosa	¡Error! Marcador no definido.
3.9 Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus	¡Error! Marcador no definido.
4. SISTEMA GUSTATIVO	¡Error! Marcador no definido.
4.1 Las papilas gustativas	¡Error! Marcador no definido.
4.2 Neuroanatomía del sistema gustativo	¡Error! Marcador no definido.
4.3 Modalidades gustativas	¡Error! Marcador no definido.
4.4 Mecanismos moleculares para la detección del sabor dulce ..	¡Error! Marcador no definido.
4.5 Mecanismos moleculares para la detección del sabor amargo	¡Error! Marcador no definido.
4.6 Mecanismos moleculares para la detección del sabor	¡Error! Marcador no definido.
umami	¡Error! Marcador no definido.
4.7 Mecanismos moleculares para la detección del sabor	¡Error! Marcador no definido.
salado	¡Error! Marcador no definido.
4.8 Mecanismos moleculares para la detección del sabor	¡Error! Marcador no definido.
ácido	¡Error! Marcador no definido.
4.9 Valoración de la función quimiosensorial	¡Error! Marcador no definido.
5. TRASTORNOS QUIMIOSENSORIALES	¡Error! Marcador no definido.
5.1 Alteraciones de la percepción gustativa en la diabetes	¡Error! Marcador no definido.
6. HIPÓTESIS	¡Error! Marcador no definido.
7. OBJETIVO GENERAL	¡Error! Marcador no definido.
8. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	¡Error! Marcador no definido.
9. MATERIALES Y MÉTODOS	¡Error! Marcador no definido.
9.1 Animales	¡Error! Marcador no definido.
9.2 Inducción de diabetes mellitus	¡Error! Marcador no definido.
9.3 Preparación de tejidos	¡Error! Marcador no definido.
9.4 Tinción de hematoxilina-eosina	¡Error! Marcador no definido.
9.5 Ingesta de líquidos	¡Error! Marcador no definido.
9.7 Análisis estadístico	¡Error! Marcador no definido.

10. RESULTADOS ¡Error! Marcador no definido.
 10.1 Ingesta de líquidos **¡Error! Marcador no definido.**
11. DISCUSIÓN..... ¡Error! Marcador no definido.
12. CONCLUSIONES ¡Error! Marcador no definido.
13. BIBLIOGRAFIA ¡Error! Marcador no definido.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Esquema que representa la secreción de insulina **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 2. Organización de las células gustativas en la lengua. **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 3. Representación de un corpúsculo gustativo..... **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 4. Neuroanatomía del sistema gustativo **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 6. Ingesta de líquidos a la primera semana de inducción de la DM1. .. **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 7. Ingesta de líquidos a la segunda semana de inducción de la DM1 ... **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 8. Ingesta de líquidos a la tercera semana de inducción de la DM1. **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 9. Ingesta de líquidos a la cuarta semana de inducción de la DM1. **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 10. Ingesta de líquidos a la Quinta semana de inducción de la DM1 ... **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 11. Ingesta de líquidos a la Sexta semana de inducción de la DM1 **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 12. Ingesta de líquidos a la Séptima semana de inducción de la DM1. **¡Error!**

Marcador no definido.

FIGURA 13. Ingesta de líquidos a la Octava semana de inducción de la DM1... **¡Error!**

Marcador no definido.

FIGURA 14. Ingesta de líquidos a la Novena semana de inducción de la DM1. **¡Error!**

Marcador no definido.

FIGURA 15. Porcentaje de la ingesta de agua **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 16. Porcentaje de la ingesta de solución de sacarosa al 1% **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 17. Número corpúsculos gustativos en la papila caliciforme de ratas. ... **¡Error!**

Marcador no definido.

FIGURA 18. Porcentaje de reducción de los corpúsculos gustativos **¡Error! Marcador no definido.**

FIGURA 19. Morfología de la papila caliciforme de rata **¡Error! Marcador no definido.**

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA	American Diabetes Association
ATP	trifosfato de adenosina
cAMP	adenosin monofosfato cíclico (cAMP).
cGMP	guanosin monofosfato cíclico
CHO	ovario de hámster chino
DAG	diacilglicerol

dl	decilitros
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DMG	Diabetes mellitus gestacional
g	gramo
GAD	Descarboxilasa del ácido glutámico
GTP	Guanosin trifosfato
h	hora
i.p.	Intraperitoneal
IRS	Substrato del Receptor de Insulina
Kg	Kilogramo
mg	miligramos
NDDG	Nacional diabetes Data Group
NTS	Núcleo del tracto solitario
°C	grados Celsius
OMS	Organización mundial de la salud
PAF	Paraformaldehido
PBS	Solución buffer de fosfatos
PDE	fosfodiesterasa
PIP ₂	fosfatidilinositol difosfato
s	segundo
STZ	Estreptozotocina
TA	temperatura ambiente
µm	micrómetro

INDICE

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1 Diabetes mellitus	3
3.2 Clasificación de la diabetes mellitus	3
3.3 Diabetes mellitus tipo 1	4
3.4 Diabetes mellitus tipo 2	4
3.5 Diabetes mellitus gestacional	5
3.6 Otros tipos específicos de diabetes mellitus	5
3.7 Síntesis, secreción y acción de la insulina	6
3.7.1 Síntesis.....	6
3.7.2 Secreción	6
3.7.3 Acción.....	8
3.8 Los transportadores de glucosa	8
3.9 Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus	9
4. SISTEMA GUSTATIVO	12
4.1 Las papilas gustativas	13
4.2 Neuroanatomía del sistema gustativo	15
4.3 Modalidades gustativas.....	16
4.4 Mecanismos moleculares para la detección del sabor dulce	18
4.5 Mecanismos moleculares para la detección del sabor amargo	19
4.6 Mecanismos moleculares para la detección del sabor	20
umami	20
4.7 Mecanismos moleculares para la detección del sabor	21
salado	21
4.8 Mecanismos moleculares para la detección del sabor	22
ácido	22
4.9 Valoración de la función quimiosensorial	22
5. TRASTORNOS QUIMIOSENSORIALES	22
5.1 Alteraciones de la percepción gustativa en la diabetes.....	24
6. HIPÓTESIS	25
7. OBJETIVO GENERAL	25
8. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
9. MATERIALES Y MÉTODOS	26
9.1 Animales	26
9.2 Inducción de diabetes mellitus	26
9.3 Preparación de tejidos.....	26
9.4 Tinción de hematoxilina-eosina.....	27
9.5 Ingesta de líquidos	27
9.7 Análisis estadístico	28
10. RESULTADOS	29
10.1 Ingesta de líquidos	29
11. DISCUSIÓN	43
12. CONCLUSIONES	45
13. BIBLIOGRAFIA	46

1. RESUMEN

La diabetes mellitus es un problema grave de salud pública, ya que es una de las principales causas de morbilidad relacionadas con ceguera, insuficiencia renal neuropatía periférica, enfermedades cardiovasculares y amputaciones. Además es la primera causa de muerte en México. El sentido del gusto trabaja en conjunto con los demás sistemas sensoriales para que tengamos una representación interna del ambiente exterior, sin embargo, el sentido del gusto y del olfato nos brindan especial ayuda para la selección de alimentos, y nos previenen de la ingestión de sustancias potencialmente tóxicas y dañinas. Por otro lado, existen reportes en pacientes con diabetes mellitus de que existe un daño a nivel de la percepción gustativa, ya que el umbral de percepción de las soluciones dulces se encuentra elevado. El hecho de que el aumento en el umbral de detección gustativa en los pacientes diabéticos este correlacionado con la severidad de la neuropatía periférica, sugiere que la ageusia en la diabetes es el resultado de la degeneración de las fibras gustativas.

El objetivo del presente trabajo fue determinar en un modelo experimental de diabetes mellitus tipo 1 (DM1) si existen cambios en el número de corpúsculos gustativos, en la morfología de la papila caliciforme y en la ingesta de solución azucarada. En las ratas con DM1 disminuyó el número de corpúsculos gustativos y se observó un incremento en la ingesta de solución de sacarosa comparada con las ratas control. Estos resultados sugieren que en la DM1 se altera el umbral de la percepción del sabor dulce y disminuye el recambio de los corpúsculos gustativos.

Palabras clave: Diabetes Mellitus tipo 1, Papila caliciforme, corpúsculos gustativos

2. ABSTRACT

Diabetes mellitus is a serious public health problem, it is a major cause of disease-related blindness, renal failure, peripheral neuropathy, cardiovascular disease and amputations. It is the first leading cause of death in Mexico. The sense of taste works in conjunction with other sensory systems to have an internal representation of the external environment, however, the sense of taste and smell give us special aid for the selection of food, and prevent us from ingesting substances potentially toxic and harmful. On the other hand, there are reports in patients with diabetes mellitus that there are changes in the perception level of taste; its threshold for sweet solutions is high. The fact that the increase in the detection threshold taste in diabetic patients this correlated with the severity of peripheral neuropathy, suggests that ageusia in diabetes is the result of the degeneration of the fibers taste. The objective of this study was to determine in an experimental model of diabetes mellitus type 1 (DM1) if there are changes in the number of taste buds and morphology of the papillae circumvallate. We used an experimental model of DM1 and we measured the consumption of sucrose solution and their respective control. The results showed a decrease in the number of taste buds, and an increased intake of sucrose solution in diabetic rats compared with control rats. These results suggest that in DM1 changes the taste perception of sweet and reduced the plasticity of taste buds.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, Papillae circumvallate, taste buds

3. INTRODUCCIÓN

3.1 DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus (DM) comprende un grupo de trastornos metabólicos que se caracteriza por un aumento en las concentraciones de glucosa en sangre. Las causas de la hiperglucemia son por deficiencia en la secreción de insulina ya sea relativa o absoluta y/o resistencia de las células del cuerpo a la acción de esta hormona en los diversos tejidos del organismo. A menudo ocurren, además, alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas, (Powers, 2006).

La insuficiencia en la secreción y la acción periférica de la insulina (resistencia a la insulina) es debida a diversas causas, una de ellas es la destrucción de las células β del páncreas por una reacción inmunitaria, que es mediada por anticuerpos y por reacciones celulares.

Cuando la enfermedad alcanza su pleno desarrollo, se caracteriza por hiperglucemia en ayunas y, en la mayoría de los pacientes con una larga evolución de la enfermedad, por complicaciones microangiopáticas, en especial renales y oculares, así como macroangiopatía con afección de las arterias coronarias, enfermedad vascular periférica y neuropatía (Islas y Revilla, 2004).

La Diabetes Mellitus puede presentar síntomas característicos como la poliuria (aumento de excreción urinaria), polidipsia (necesidad de tomar agua) y polifagia (aumento del apetito), visión borrosa y pérdida de peso.

3.2 CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS

Existen varios tipos de DM debidos a una compleja interacción entre factores ambientales, genéticos y elecciones respecto al modo de vida. (Powers, 2006).

En 1997 la American Diabetes Association (ADA) creó un comité de expertos que estudió los resultados de investigación obtenidos durante los últimos 20 años y propuso algunos cambios en la clasificación de NDDG-OMS, (Harris, 2003).

Diabetes mellitus tipo 1

Diabetes mellitus tipo 2

Diabetes mellitus Gestacional

Otros tipos inespecíficos de diabetes mellitus

3.3 DIABETES MELLITUS TIPO 1

La DM1 corresponde a un 5 y 10% de los casos de este síndrome. Es la variedad más frecuente de DM en niños y adolescentes, y antes se denominaba diabetes mellitus juvenil (o de inicio juvenil).

La DM1 es consecuencia de la destrucción de las células β , con desaparición casi completa de la secreción de insulina y deficiencia insulínica absoluta. Se distinguen dos subclases, una variedad autoinmunitaria y otra idiopática. La variedad autoinmunitaria es una enfermedad crónica con un periodo prodrómico subclínico que se caracteriza por destrucción autoinmunitaria celular de las células β productoras de insulina en los islotes pancreáticos. La velocidad y la magnitud de la destrucción de las células betas son variables. Entre los indicadores de destrucción autoinmunitaria se encuentran anticuerpos contra las células de los islotes y la insulina, contra la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) y la fosfatasa de tirosina IA-2 e IA-2 Beta, (Harris, 2003). A menudo, hasta el 70% de los pacientes recién diagnosticados poseen anticuerpos contra las células de los islotes, a diferencia de solo 3% de los controles de edad y sexo similares, (Harris, 2003).

3.4 DIABETES MELLITUS TIPO 2

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) es un grupo heterogéneo de trastornos que se suelen caracterizar por grados variables de resistencia a la insulina, trastornos de la secreción de ésta y aumento de la producción de glucosa.

Este tipo de diabetes comprende alrededor del 90% de todos los diabéticos del mundo occidental.

Aunque la causa de la DM2 se desconoce, se sabe que tiene una base genética importante por su patrón familiar frecuente, su prevalencia tan alta en determinados grupos étnicos y los estudios de mezclas genéticas. Todavía no se conocen los genes que originan la mayor parte de los casos de DM2, pero se están investigando en forma intensiva. A pesar de que la DM2 se encuentra muy ligada a determinados factores genéticos, no hay duda de que la etiología es heterogénea, puesto que se han identificado una gran variedad de estilos de vida y elementos ambientales que constituyen factores de riesgo de este trastorno. Es muy probable que las causas de la

DM2 sean factores ambientales y del modo de vida que se adicionan a la predisposición genética. Uno de los factores más importantes es la obesidad, puesto que entre 50 y 90% de pacientes con DM2 son obesos. La obesidad cursa además con resistencia a la insulina, un factor importante en la patogenia de la mayoría de los pacientes con este tipo de diabetes. La hiperglucemia en ayunas y la curva de la tolerancia a la glucosa suelen mejorar al corregir el peso. Se ha señalado que numerosos factores ambientales desencadenan el proceso autoinmunitario en sujetos genéticamente vulnerables; sin embargo, no se ha relacionado de manera concluyente ninguno de ellos con la diabetes. Ha resultado difícil identificar un desencadenamiento ambiental porque el factor puede anteceder en varios años al desarrollo de la diabetes. Entre los desencadenantes ambientales hipotéticos se cuentan los virus en especial el virus coxsackie y el de la rubéola, (Powers, 2006).

3.5 DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

La diabetes mellitus gestacional (DMG) consiste en la presencia de hiperglucemia en ayuno o intolerancia a la glucosa moderada, datos que presentan del 2 al 5 % de las embarazadas. Esta variedad se limita a mujeres grávidas en quienes aparece o se diagnostica DM o intolerancia a la glucosa durante el embarazo. Por tanto, las mujeres diabéticas que se embarazan no se incluyen en esta clase, su frecuencia es mayor conforme avanza la edad, en las mujeres con sobrepeso y en las razas o etnias minoritarias. El factor aislado más compatible con una tolerancia alterada a la glucosa oral durante el embarazo es la edad y, cuando se le toma en cuenta, la frecuencia de la DMG parece ser igual en las mujeres seleccionadas según varios factores potenciales de riesgo, como un recién nacido macrosómico o un aborto previo. Las mujeres con DMG tienen mayor riesgo de desarrollar DM2 después del embarazo, (Harris, 2003).

3.6 OTROS TIPOS ESPECÍFICOS DE DIABETES MELLITUS

Esta variedad comprende un grupo causal heterogéneo que abarca los casos de diabetes en que las causas no se establecen o se conocen parcialmente. Estas causas comprenden defectos genéticos conocidos que alteran el funcionamiento de las células β o la acción insulínica, trastornos del páncreas exocrino, endocrinopatías, cambios pancreáticos medicamentosos o químicos, enfermedades y situaciones en que la

frecuencia de la diabetes se eleva en grado considerable, sin embargo, aún no se ha establecido una causa precisa. Representa entre el 1 y el 2 % de los casos de síndrome diabético (Harris, 2003).

3.7 SÍNTESIS, SECRECIÓN Y ACCIÓN DE LA INSULINA

3.7.1 SÍNTESIS

La insulina es la hormona predominante en el metabolismo de la glucosa, es decir, su mecanismo de acción se da principalmente sobre dicho monosacárido (Flores-Martínez y col, 2004). La insulina es una proteína (5.8 kilodalton) que se sintetiza en el páncreas, este órgano está constituido por aproximadamente un millón de islotes de Langerhans que contienen al menos cuatro tipos celulares diferentes, cada uno de ellos especializados en la síntesis de una hormona. Las células α producen glucagón; las células δ , somatostatina, y las células P, una hormona pancreática, pequeña proteína que facilita los procesos digestivos a través de un mecanismo que no se ha aclarado (Nolte y Karan, 2005). La insulina se sintetiza en las células β que constituyen el 70 al 80% de la población celular de los islotes pancreáticos. El efecto fisiológico de la insulina es de largo alcance, con acciones rápidas intermedias y retardadas. La principal función conocida de la insulina es su efecto hipoglucémico. Es un polipéptido formado por dos cadenas peptídicas; la cadena A (de 21 aminoácidos) y la cadena B (de 30 aminoácidos), unidas por dos puentes disulfuro. Ésta se sintetiza en el retículo endoplásmico de las células β como un polipéptido precursor con una única cadena de 86 aminoácidos, la preproinsulina. El procesamiento proteolítico posterior elimina el péptido señal amino terminal generando la proinsulina, la escisión de un fragmento interno de la proinsulina de 31 residuos genera el péptido C y la cadena A y B de la insulina. La insulina libre tiene una vida media de 5 minutos y la unida a proteínas transportadoras tienen una vida media de 10-15 minutos.

3.7.2 SECRECIÓN

La secreción de insulina por parte de las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas es favorecida por la concentración de glucosa y aminoácidos, por medio de hormonas como el glucagón y la adrenalina y por neurotransmisores como

la acetilcolina, mientras que la noradrenalina y la somatostatina la inhiben, (Flores y col. 2004). Las concentraciones de glucosa que pasan de 3.9 mmol/L (70mg/100ml) estimulan la síntesis de insulina, primordialmente al intensificar la transducción y el procesamiento de la proteína. La glucosa comienza a estimular la secreción de insulina cuando aquella es introducida en las células beta por el transportador de glucosa GLUT2 (**figura 1**). La fosforilación de la glucosa por la glucocinasa es el paso limitante de la velocidad que controla la secreción de insulina regulada por glucosa. El metabolismo ulterior de la glucosa 6-fosfato por la vía de la glucólisis genera trifosfato de adenosina (ATP), que inhibe la actividad de un canal de K^+ sensible a ATP. Este canal consiste en dos proteínas separadas, una es el receptor de ciertos hipoglucemiantes orales y el otro es una proteína de canal de K^+ rectificadora hacia el interior. La inhibición de este canal induce la despolarización de la membrana de la célula beta, lo que abre canales de calcio dependientes de voltaje con entrada consecuente de calcio a la célula y estimula la secreción de insulina, (Powers, 2006).

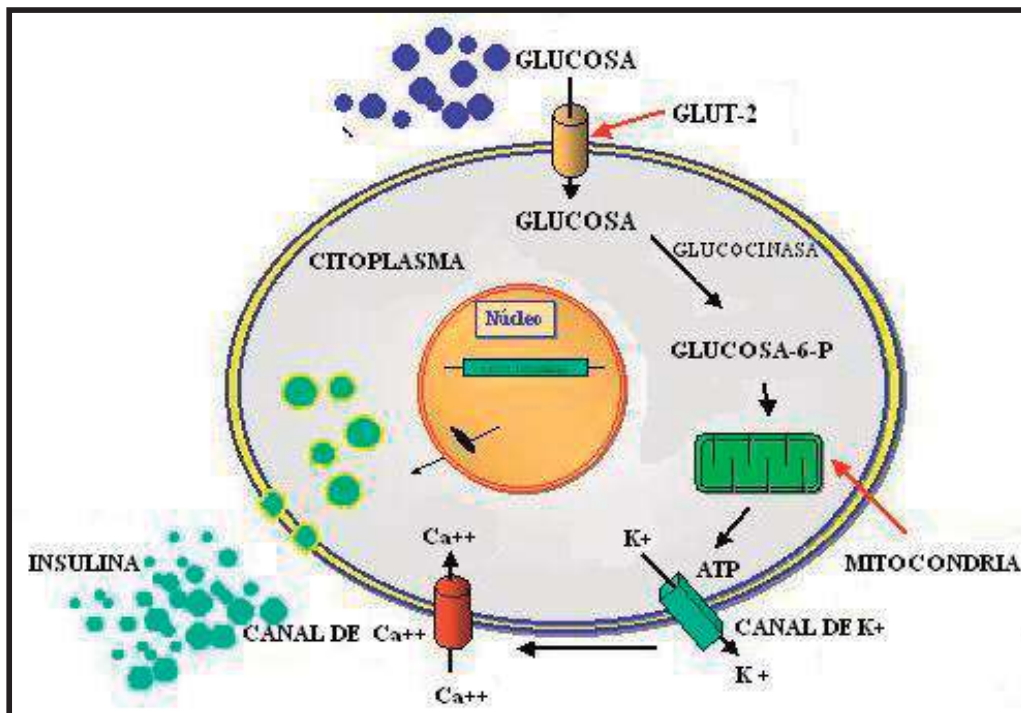


FIGURA 1. Representación de la secreción de insulina por las células del páncreas al ser la glucosa transportada al interior de la célula. Fuente: www.diabetesjuvenil.com

3.7.3 ACCIÓN

Una vez que se secreta la insulina hacia la sangre venosa portal, casi 50% de ella se degrada en el hígado. La insulina que no extrae el hígado llega a la circulación general donde se fija en receptores específicos. El receptor de la insulina consta de 4 subunidades, 2 α localizadas en la parte externa de la membrana y contienen el sitio de unión a la hormona y 2 β transmembranales con actividad tirosina-cinasa (Güven y Kuenzi, 1998). La insulina que se fija a su receptor estimula la actividad intrínseca de cinasa de tirosina, lo que da por resultado autofosforilación del receptor y reclutamiento de moléculas de señalización intracelulares como los sustratos del receptor de insulina. Estas proteínas son adaptadoras y otras inician una cascada compleja de reacciones de fosforilación y defosforilación, que en último término provocan los amplios efectos metabólicos y mitógenicos de la insulina. Por ejemplo, la activación de la vía de la cinasa de fosfatidilinositol-3' (cinasa de PI-3) que estimula la transposición de los transportadores de glucosa (p. ej., GLUT4) a la superficie celular, un suceso crucial para la captación de glucosa por el músculo y el tejido adiposo. La activación de otras vías de señalización del receptor de insulina induce la síntesis de glucógeno, la síntesis de proteínas, la lipogénesis y la regulación de diversas células que reaccionan a la insulina, (Power, 2006).

3.8 LOS TRANSPORTADORES DE GLUCOSA

La insulina activa a los transportadores de glucosa para que le abran un poro y de esta manera ingrese la glucosa a la célula. Cabe señalar que al entrar la glucosa al citoplasma de la célula debe oxidarse a CO_2 y agua. Los transportadores son proteínas formadas por 492 aminoácidos que atraviesan la membrana celular en 12 puntos. Estos transportadores establecen un enlace de hidrógeno (puente de hidrógeno) con la glucosa. Los segmentos de la membrana 3, 5, 7, 8 y 11 contienen aminoácidos que tienen grupos hidróxilos (OH) y amidas (CONH_2), mismos que pueden establecer enlaces de hidrógeno con los grupos hidróxilos de la glucosa. La glucosa debe ser transportada al citoplasma. La glucosa ingresa a la célula enlazándose al transportador en la región extracelular. El transportador abre un poro en la región extracelular, después cierra el poro del lado de la región extracelular y abre otro poro al citoplasma, donde la glucosa

se separa del transportador. La glucosa ya en el interior de la célula, se oxida en el citoplasma hasta ácido pirúvico, el cual se oxida en la mitocondria generando bióxido de carbono (CO₂) y agua.

3.9 COMPLICACIONES CRÓNICAS DE LA DIABETES MELLITUS

Las complicaciones crónicas de la Diabetes mellitus pueden afectar muchos sistemas orgánicos y son responsables de gran parte de la morbilidad y mortalidad que acompaña a este trastorno. Las complicaciones crónicas pueden dividirse en vasculares y no vasculares. Las complicaciones vasculares se dividen en microvasculares, cuando se afectan los pequeños vasos (retinopatía, neuropatía, y nefropatía) y macrovasculares, cuando están involucrados capilares, vénulas y arterias (Cardiopatía isquémica, enfermedad vascular periférica y enfermedad cerebro vascular). Las complicaciones no vasculares comprenden problemas como disfunción sexual y afecciones de la piel. El riesgo de las complicaciones crónicas aumenta con la duración de la hiperglucemia; suelen hacerse evidentes en el transcurso del segundo decenio de la hiperglucemia (Powers, 2006). Algunas de estas complicaciones a menudo tienen lugar antes de que existan indicios claros de la hiperglucemia lo que ha dado origen al concepto de prediabetes (Genuth y col., 2003). El estado de prediabetes corresponde a un estado patológico caracterizado por una alteración moderada del metabolismo de glucosa y un riesgo elevado de desarrollar diabetes, complicaciones vasculares y no vasculares. Identificar claramente el estado de prediabetes es importante porque permite determinar cuando se deben efectuar pruebas clínicas para detectar complicaciones patológicas y hacer recomendaciones de cambio de dieta y estilo de vida al paciente.

La neuropatía de origen diabético es un cuadro heterogéneo que incluye muy diversas disfunciones y cuya aparición podría atribuirse a la propia diabetes mellitus o a los factores vinculados con ella (Vinik y col. 2003).

Más del 70% de los pacientes diabéticos presentan neuropatía periférica (Vinik y Mehrabyan, 2004; Argoff y col., 2006). Este tipo de afección generalmente progresa hasta invalidar los nervios cardiacos periféricos y, en consecuencia, es una de las causas más importantes de muerte asociadas a la enfermedad. La neuropatía periférica es también una de las causas más frecuentes de pérdida de la sensibilidad de los miembros inferiores a los estímulos sensoriales (temperatura, presión) y al desarrollo de las ulceraciones traumáticas que conducen en última instancia a la amputación y en 11%

de los pacientes al dolor crónico (Vinik y Milicevic, 1996). A nivel celular, la neuropatía periférica asociada a la diabetes se caracteriza por una disminución de la velocidad de conducción de los nervios periféricos tanto de tipo motor como sensorial. Sin embargo en la mayoría de los casos, sobre la misma región del organismo, la pérdida de sensibilidad a los estímulos sensoriales prevalece sobre la pérdida de la respuesta de los nervios motores. Prácticamente todos los signos de neuropatía periférica que se han observado en diversos modelos animales de diabetes son la consecuencia de las alteraciones metabólicas inducidas por la hiperglucemia a nivel de las neuronas y de las Células gliales del sistema nervioso periférico (Van Dam, 2002; Dobretsov y col., 2007).

4. SISTEMA GUSTATIVO

Los seres humanos disponemos de cinco sistemas sensoriales; el olfato, el gusto, el tacto, el oído y la vista. Los cuales generan una representación interna del ambiente que nos rodea, así como nos previenen de los distintos peligros a los que estamos expuestos. Todos los sentidos son importantes por que gracias a que trabajan en conjunto podemos tener esta representación lo más exacta posible.

El gusto tiene la función de identificar los sabores por medio de la percepción de sus cualidades químicas. El sabor corresponde al ensamblaje de las sensaciones percibidas durante la masticación de los alimentos. En efecto, el sabor engloba la percepción de los olores y los estímulos gustativos (salado, amargo, dulce, ácido y umami) producida durante la masticación, además de las sensaciones producidas por la textura, la temperatura y la astringencia de los alimentos. La comprensión de las bases celulares de la percepción del sabor de un alimento recae, así pues, sobre el conocimiento de los mecanismos fisiológicos de la gustación, del olfato y del tacto. Sin embargo, el estudio de la neurofisiología gustativa y olfativa durante mucho tiempo atrajo poco la atención de los neurobiólogos y de los fisiopatólogos. Esta falta de interés esta ligada a la noción de placer evocado por la olfacción y la gustación en oposición a la visión y la audición considerados como las funciones sensoriales indispensables para la interacción con el ambiente. El gusto y la olfacción contribuyen igualmente a la digestión en el inicio de las secreciones a nivel gastrointestinal (Mattes, 1997), y son íntimamente asociados con la selección y el rechazo de los alimentos dañinos y potencialmente tóxicos.

El sistema gustativo de los mamíferos está formado por células epiteliales especializadas que se localizan en la lengua, el paladar blando, la faringe, la epiglotis, la laringe y el tercio superior del esófago, así como por componentes del sistema nervioso central y periférico que transmiten y descodifican los impulsos eléctricos que se generan en las células gustativas (Mattes, 2002).

El primer elemento de este circuito de transmisión, es un tipo de células epiteliales especializadas denominadas células gustativas, que se agrupan en corpúsculos formando las papilas gustativas (Buck, 2000) (**Figura 2**).

4.1 LAS PAPILAS GUSTATIVAS

Las papilas gustativas (del latín *papilla* = eminencia), son grupos de células conectadas con fibras nerviosas. Las papilas gustativas se dividen en tres clases diferentes en función de su morfología: fungiforme, caliciforme y foliada, cada una de ellas esta constituida de un número variable de corpúsculos gustativos. Las papilas fungiformes (forma de hongo) se localizan sobre los dos tercios anteriores de la lengua y en el paladar, cada papila fungiforme contiene de 1 a 5 corpúsculos gustativos. Las papilas caliciformes o circunvaladas (forma de botón) se encuentran en el tercio posterior de la lengua formando una línea en V, cada una de ellas rodeada de un surco, el número de este tipo de papilas es de 8-12 en humanos y solo una en el caso de roedores; cada papila contienen de 100 a 250 corpúsculos gustativos; aun siendo un número reducido, estas constituyen el 48% del total de corpúsculos gustativos. Las papilas foliadas (forma de crestas) aparecen como 2 a 9 pliegues en los lados de la tercera parte posterior de la lengua, estas papilas contienen el 34% de los corpúsculos gustativos presentes en la lengua (**Figura 2**).

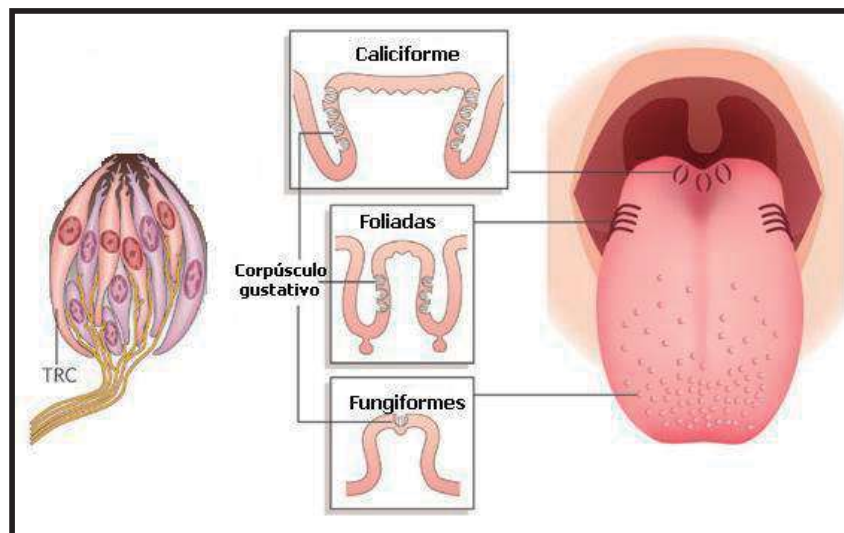


FIGURA 2. Organización de las células gustativas en la lengua. Las células gustativas se agrupan en corpúsculos para formar las papilas gustativas. Existen tres tipos diferentes de papilas gustativas, las cuales tienen una localización específica en la lengua. Además, las papilas caliciformes y foliadas están constituidas por un número superior de corpúsculos gustativos. Fuente: www.nature.com

En el interior de cada corpúsculo gustativo se distinguen cuatro tipos morfológicamente diferentes de células gustativas: las células basales, oscuras (tipo I), claras (tipo II) e intermedias (tipo III) (**Figura 3**). Las células basales son pequeñas y redondas y se encuentran en la base del corpúsculo gustativo; parecen ser las células precursoras de las que derivan los demás tipos de células. La vida de las células gustativas es muy breve y su regeneración es continua 10 a 12 días (Buck, 2000). Las células oscuras, claras e intermedias, en cuanto a ellas, se caracterizan por su forma bipolar, extendiéndose desde la apertura epitelial del corpúsculo gustativo hasta su base. Cada corpúsculo gustativo tiene una pequeña apertura en la superficie del epitelio llamada poro gustativo. Las cien células, aproximadamente, contenidas en cada corpúsculo gustativo extienden sus microvellosidades hacia la cavidad bucal donde interaccionan con las moléculas sápidas presentes en los alimentos y hacia la base del corpúsculo gustativo (**Figuras 2 y 3**) en donde establecen los contactos sinápticos con las fibras que las inervan (Buck, 2000) (**Figura 3**). Las células gustativas de tipo I poseen propiedades similares a las células gliales (Bigiani, 2001), esto es, servir de sostén al corpúsculo gustativo y regular las concentraciones extracelulares de iones al interior del corpúsculo. Las células de tipo II expresan la maquinaria necesaria para la detección y transducción de las señales gustativas, sin embargo, ellas no forman sinapsis. (Defazio y col., 2006).

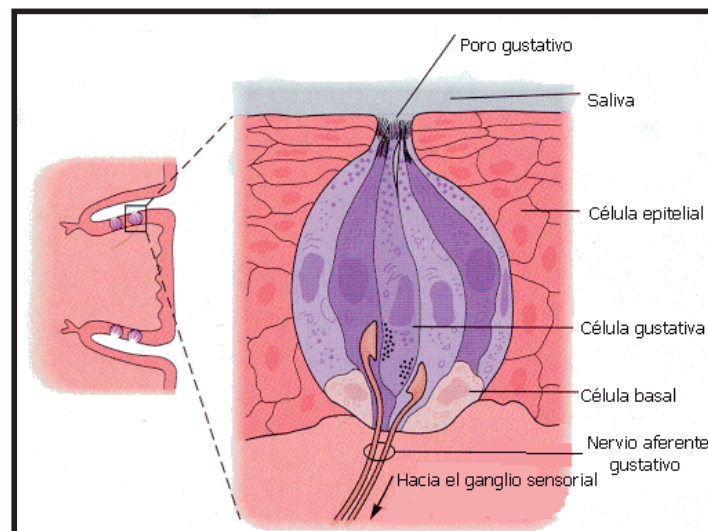


FIGURA 3. Representación de un corpúsculo gustativo, este contiene de 50 a 150 células gustativas, que se extienden desde la base del corpúsculo al poro gustativo. En cada corpúsculo existen tres tipos de células (claras, intermedias y oscuras). Fuente: Kandel, Schwartz & Jessell, principios de Neurociencias, 4th Edn.

4.2 NEUROANATOMÍA DEL SISTEMA GUSTATIVO

Existen datos según los cuales las distintas células gustativas responden a estímulos diferentes. Sin embargo, no se sabe si cada célula responde a una sola sustancia gustativa o a una combinación de ellas. Cada célula gustativa está inervada en su base por las ramas periféricas de las fibras gustativas primarias (**figura 4**) cada fibra sensitiva se ramifica muchas veces e inerva numerosos corpúsculos gustativos y dentro de cada corpúsculo, varias células gustativas. La liberación de un neurotransmisor por las células gustativas sobre las fibras sensitivas induce la aparición de potenciales de acción en esas fibras y la transmisión de señales hacia el encéfalo (Buck, 2000).

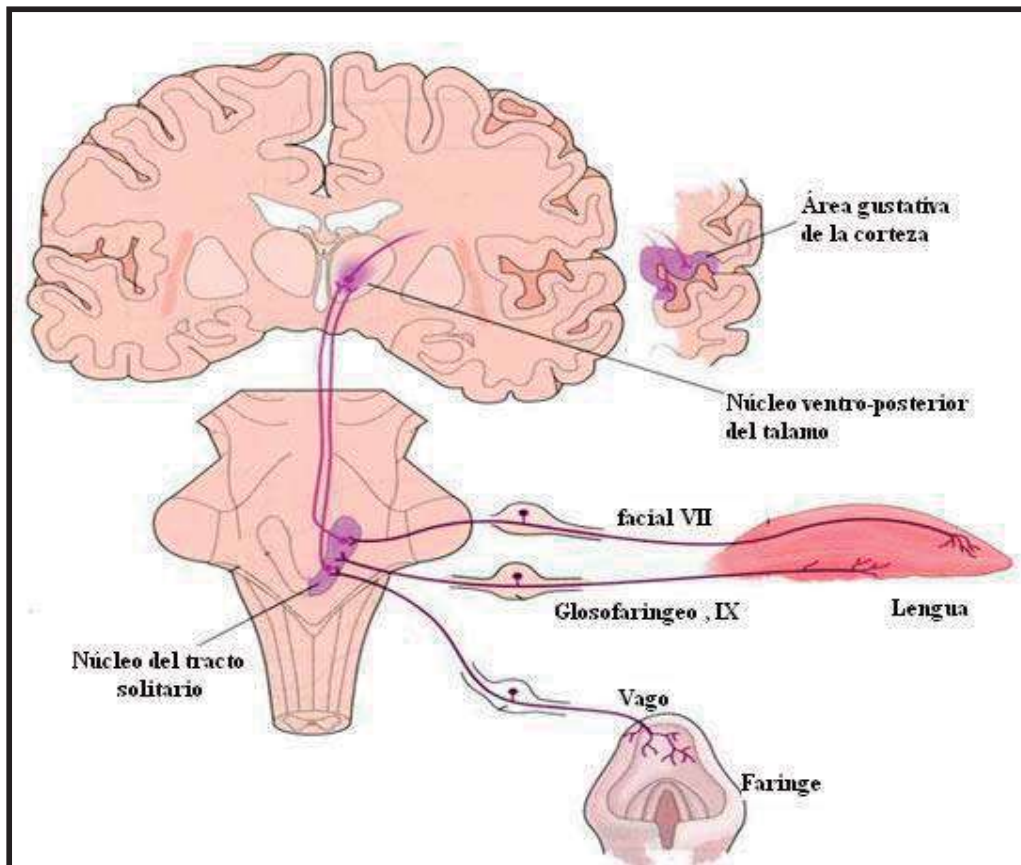


FIGURA 4. Neuroanatomía del sistema gustativo. La información gustativa se transmite desde los corpúsculos gustativos a la corteza cerebral a través de la sinapsis en el tronco encefálico y en el tálamo. Fuente: Kandel, Schwartz & Jessell, principios de Neurociencias, 4th Edn

Las papilas gustativas son inervadas por los nervios craneanos: facial (VII), glossofaríngeo (IX) y vago (X) (**Figura 4**). Las fibras sensoriales del nervio facial, a través de la cuerda del tímpano, transporta la información gustativa a la corteza cerebral proveniente de las papilas fungiformes, mientras que la información proveniente de las papilas caliciformes y foliadas es transportada al cerebro vía nervio glossofaríngeo. Finalmente, el nervio vago es el encargado de trasladar al cerebro la información proveniente de la faringe. Todos los nervios que establecen contacto sináptico con las células gustativas convergen a nivel de la región rostral del núcleo del tracto solitario (NTS) localizado en el tronco cerebral (Buck, 2000). Las proyecciones de segundo orden son luego conectadas con el núcleo medial posterior ventral del tálamo. Las neuronas del núcleo medial posterior ventral se proyectan hacia la parte anterior de la ínsula en el lóbulo cortical temporal (**Figura 4**) y hacia el opérculo en el lóbulo cortical frontal. Estas regiones son consideradas como las áreas cerebrales gustativas donde toma lugar la percepción conciente del gusto. Ciertos nervios implicados en la transmisión de las señales gustativas contienen igualmente fibras somatosensoriales que establecen contacto sináptico con el epitelio lingual y el tejido muscular que rodea a los corpúsculos gustativos (Buck, 2000). Estas fibras, denominadas fibras perigemales en oposición a las fibras intragemales que inervan las células gustativas, se proyectan también al área gustativa del NTS. Además, también existe un área cortical al nivel de la corteza orbito-frontal donde las neuronas responden a diferentes combinaciones de estímulos gustativos/visuales y olfativos/somato-sensoriales. Esta región podría representar el centro cerebral del sabor.

4.3 MODALIDADES GUSTATIVAS

El sistema gustativo distingue cuatro estímulos básicos: amargo, salado ácido y dulce. El monoglutamato sódico representa una quinta categoría de estímulo denominado umami. Se ha comprobado que cada tipo de estímulo gustativo se transforma mediante un mecanismo distinto. Los mecanismos moleculares utilizados por las distintas especies de vertebrados para percibir el mismo sabor podrían ser distintos (Buck, 2000). A nivel molecular, la detección y traducción de los sabores es efectuada por receptores localizados en la superficie de las microvellosidades de la membrana apical de las células gustativas. En función de la naturaleza del sabor, el receptor activado pertenecerá, ya sea, a la familia de receptores de tipo canal, en los

cuales el sitio de unión para el ligando y un canal iónico forman parte de un mismo complejo macromolecular, o bien al tipo de receptores acoplados a proteínas G. En el último caso, la estimulación del receptor activa una proteína que tiene la particularidad de fijar el GTP (Guanosin trifosfato), de allí su nombre de proteína G. Esta proteína esta constituida de tres subunidades (α , β y γ) capaces de activar diversos sistemas de señalización intracelulares. La detección y traducción de los sabores salados y ácidos es efectuada por receptores de tipo canal mientras que los receptores acoplados a proteínas G intervienen en la detección de los sabores dulce, amargo y umami.

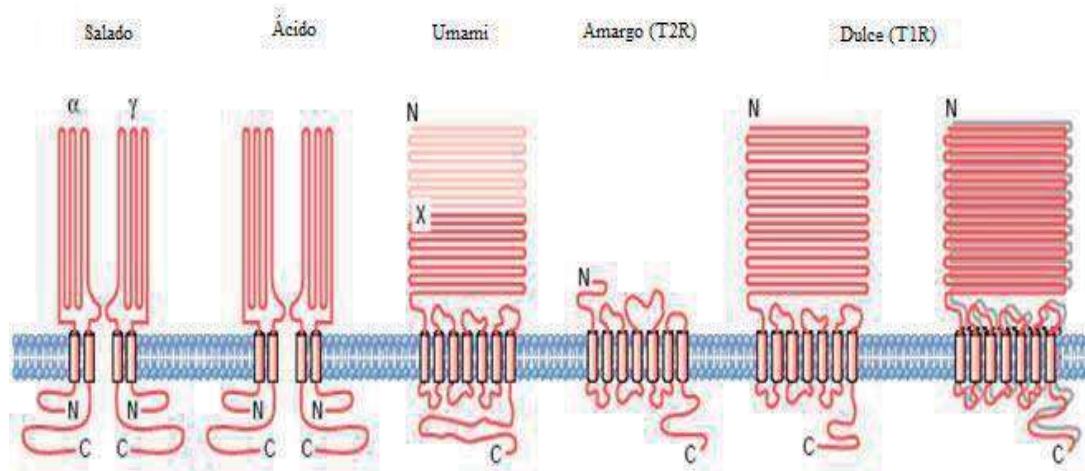


Figura 5. Receptores moleculares que participan en la integración de las señales gustativas.

4.4 MECANISMOS MOLECULARES PARA LA DETECCIÓN DEL SABOR DULCE

El sabor dulce parece depender de la captación de las sustancias dulces por receptores específicos acoplados a proteínas G existentes en la membrana apical de las células gustativas (Buck, 2000). Los receptores del sabor dulce pertenecen a la familia T1R que comprende tres miembros: T1R1, T1R2 y T1R3 (Hoon y col., 1999; Max y col., 2001; Montmayeur y col., 2001). Los tres subtipos de receptores T1R identificados a la fecha se caracterizan por tener un dominio amino-Terminal extracelular de talla grande (400-600 residuos), que constituye el sitio de unión para el ligando. Los receptores T1R están presentes principalmente en células de las papilas fungiformes (Hoon y col., 1999). Estas papilas son particularmente sensibles al sabor dulce, mientras que las papilas caliciformes son más sensibles al sabor amargo.

El receptor del sabor dulce funciona como heterodimero donde las interacciones entre sus unidades son esenciales para su actividad. Así, la asociación de T1R2 y T1R3 forman un complejo macromolecular capaz de reconocer los compuestos dulces como sacarina, sacarosa, aminoácidos y algunas proteínas dulces (Nelson y col., 2001, 2002; Li y col., 2002).

A nivel intracelular, todas las vías de transducción de los receptores de los sabores dulce conducen a un aumento de calcio (Ca^{2+}) intracelular seguido de la liberación de un neurotransmisor. En el caso particular de los edulcorantes artificiales y azúcares, el aumento del Ca^{2+} intracelular es consecuencia de la activación de la enzima fosfolipasa C de tipo β_2 ($\text{PLC}\beta_2$). Como parte de su actividad enzimática, esta enzima cataliza la formación de diacilglicerol (DAG) y de inositol trifosfato (IP_3) a partir de fosfatidilinositol difosfato (PIP_2). El aumento de la concentración de IP_3 provoca la liberación de iones Ca^{2+} del retículo endoplásmico generando una despolarización de la célula y la liberación del neurotransmisor. Una segunda vía, activada por algunos azúcares, involucra el sistema enzimático de la adenilato ciclasa (AC), quien cataliza la formación de pirofosfato y adenosin monofosfato cíclico (cAMP). Este último, bloquea los canales basolaterales de K^+ , vía la activación de una cinasa dependiente de cAMP provocando la despolarización de la célula. En papilas caliciformes de rata, se ha demostrado recientemente que la sacarosa induce un aumento de la concentración

intracelular de guanosin monofosfato cíclico (cGMP), sugiriendo la existencia de una tercera vía de transducción intracelular de señales dulces (Krizhanovsky y col., 2000).

4.5 MECANISMOS MOLECULARES PARA LA DETECCIÓN DEL SABOR AMARGO

El sabor amargo suele asociarse con productos tóxicos y parece haber evolucionado como medio para prevenir la ingestión de estas moléculas.

Varias sustancias, entre ellas los cationes divalentes, algunos aminoácidos, los alcaloides y el denatonio, el compuesto de sabor más amargo que se conoce, despiertan sensaciones amargas (Buck, 2000).

La detección y traducción de las señales gustativas de sabor de tipo amargo es efectuado por receptores acoplados a proteínas G. Estos receptores pertenecen a la familia T2R compuesta por 40-80 miembros diferentes en el humano (Adler y col., 2000; Meyerhof, 2005). Los receptores T2R se expresan preferencialmente en células gustativas de las papilas caliciformes y foliadas, raramente en células de las papilas fungiformes (Adler y col., 2000; Meyerhof, 2005; Behrens y Meyerhof 2006). Los receptores T2R tienen una región amino-terminal extracelular mucho más corta y su sitio de unión se localiza en un dominio transmembranal del receptor. Además, los receptores del sabor amargo funcionan como proteínas alostéricas monoméricas, en las cuales la fijación del ligando induce un cambio de conformación capaz de activar las proteínas G. Mientras que el receptor del sabor dulce funciona como heterodímero donde las interacciones entre sus unidades son esenciales para su actividad (Nelson y col., 2001, 2002; Li y col., 2002).

A nivel intracelular, todas las vías de transducción de los receptores de los sabores amargo y dulce conducen a un aumento de calcio (Ca^{2+}) intracelular seguido de la liberación de un neurotransmisor. La transducción de las señales amargas, implica la activación de una fosfodiesterasa (PDE) y de la $\text{PLC}\beta_2$ (Yan y col., 2001; Zhang y col., 2003; Scott, 2004). La activación de la PDE involucra una disminución de la concentración de nucleótidos cíclicos cAMP y cGMP en la célula. Esto lleva a una apertura de canales de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ generando una despolarización celular. La activación de la $\text{PLC}\beta_2$ involucra, como en el caso de la activación por compuestos dulces, la síntesis de IP_3 que induce la liberación de calcio intracelular.

4.6 MECANISMOS MOLECULARES PARA LA DETECCIÓN DEL SABOR

UMAMI

Algunos autores consideran que el sabor del glutamato monosódico representa una quinta categoría de estímulo gustativo el umami. El termino japonés “umami” (sabor delicioso) es utilizado para designar una sensación gustativa diferente de la salada, ácida, amarga y dulce. Fue en 1908 que el profesor de química japonés, Kikunae Ikeda, identifica este novedoso sabor, al degustar un caldo de alga marina denominada “kombu”. El no reconoció ninguno de los cuatro sabores básicos descritos: dulce, salado, ácido y amargo y le llamó a este novedoso sabor “umami”. Después de los años 80’s, los defensores de la teoría de los cuatro sabores añadieron este quinto sabor a los ya existentes, conservando el nombre de umami. El sabor umami es distintivo de los espárragos, los tomates, el queso, el consomé de pollo y el extracto de carne. Este sabor es generado por las sales glutámicas, principalmente por el L-glutamato monosódico que se encuentra naturalmente en muchos alimentos, además de otros aminoácidos y péptidos.

El sabor umami podría transformarse a través de un tipo específico de receptor metabotrópico del glutamato que también se expresa en determinadas regiones del encéfalo. Este receptor es una forma truncada en la parte N-terminal del receptor metabotrópico del glutamato del tipo 4 (mGluR4t), en la percepción gustativa del L-glutamato. Se mostró que este receptor esta presente en las células gustativas (Chaudhari y col., 1996; Toyono y col., 2002), y que cuando es expresado en células ovario de hámster chino (CHO) estas responden al L-glutamato en una gama de concentraciones correspondientes a las observadas en los estudios de percepción gustativa *in vivo* (Chaudhari y col., 2000).

Sin embargo, al utilizar un sistema de expresión *in vitro*, se mostró que las células que expresan la combinación de los receptores T1R1+T1R3 responden a la estimulación con L-glutamato (Nelson y col., 2002; Li y col., 2002), y que la doble inactivación de la expresión de estos receptores *in vivo*, abate completamente las respuestas celulares y de comportamiento al umami (Zhao y col., 2005). Estos resultados sugieren que la percepción gustativa del umami recae únicamente en la combinación de los receptores T1R1+T1R3. La activación del receptor T1R1+T1R3 por

el glutamato monosódico conduce a un aumento en la concentración intracelular de calcio y a la liberación del neurotransmisor hacia las fibras sensoriales. La activación del receptor metabotrópico del tipo del glutamato, es seguida de una disminución de la concentración de cAMP intracelular involucrando una elevación de la concentración de Ca^{2+} , conduciendo ésta, a la generación de un impulso nervioso transmitido al sistema nervioso aferente. Por otro lado, un mecanismo adicional de transducción intracelular del sabor umami depende de la apertura o bloqueo de canales iónicos. Los receptores ionotrópicos al L-glutamato (iGluR) son expresados en el tejido gustativo. Datos electrofisiológicos utilizando un inhibidor de los iGluR, el N-metil D-aspartato (NMDA), han confirmado que estos receptores están igualmente implicados en la percepción del umami (Lin y Kinnamon, 1999). Estos receptores son similares a los de canales catiónicos que, cuando son abiertos, permiten la entrada a la célula de iones de Na^+ y Ca^{2+} . Este influjo induce una despolarización de las células gustativas conduciendo a la transmisión de una señal eléctrica al nervio aferente primario.

4.7 MECANISMOS MOLECULARES PARA LA DETECCIÓN DEL SABOR SALADO

La transformación de los estímulos salados, como el NaCl, se hace al menos en parte, por difusión de los iones de Na^+ según un gradiente electroquímico hacia los canales de Na^+ apicales sensibles a la amilorida un guanidinio heterocíclico que bloquea reversiblemente los canales epiteliales al Na^+ , (Boughter, 1997). Esta entrada de Na^+ altera directamente el potencial de membrana de las células gustativas y esto origina cambios en la detección del sabor de las sales de Na^+ . La transformación del estímulo provocado por las sales de K^+ también consiste en la entrada de de iones K^+ a través de los canales apicales para dicho ion. Las diferencias percibidas de la calidad de las distintas sales de Na^+ podrían deberse a la distinta capacidad de los iones de estas sales para penetrar a través de las uniones intercelulares herméticas existentes entre las células gustativas y afectar a los canales iónicos de sus membranas basolaterales (Buck, 2000).

4.8 MECANISMOS MOLECULARES PARA LA DETECCIÓN DEL SABOR ÁCIDO

Parece que en la transformación de los estímulos creados por las sustancias ácidas intervienen la penetración o el bloqueo de los canales iónicos apicales por los protones. Se ha reportado que los iones hidrógeno (H^+) son los responsables de la percepción del estímulo ácido, la intensidad del sabor ácido de un alimento es proporcional a la concentración de protones H^+ , los protones H^+ son capaces de bloquear los canales de K^+ (Cummings and Kinnamon, 1992), impidiendo la salida de este protón lo cual provoca una despolarización de la membrana y la generación de potenciales de acción por la activación de canales Ca^{+2} sensibles a voltaje, produciendo la liberación de un neurotransmisor sobre las fibras gustativas aferentes.

4.9 VALORACIÓN DE LA FUNCIÓN QUIMIOSENSORIAL

Los sentidos del gusto y el olfato conducen la intensidad y la calidad de la información de un estímulo adecuado. La medida más racional de la función es el umbral de sensibilidad que puede definirse como umbral de detección o reconocimiento. El umbral de detección es la concentración mínima de un estímulo que puede detectarse en un medio determinado y el umbral de reconocimiento es la concentración mínima que puede reconocerse con respecto a sus características cualitativas (Mattes, 2002).

5. TRASTORNOS QUIMIOSENSORIALES

Dado que los trastornos del olfato y del gusto rara vez constituyen una amenaza para la vida, no recibe la atención adecuada, sin embargo, estos trastornos pueden llegar a ser frustrantes ya que afecta las facultades para disfrutar la comida, bebida y aromas, también representa un riesgo para la salud ya que la capacidad de percibir sustancias químicas y gases potencialmente nocivos, esta alterada.

Las alteraciones quimiosensoriales pueden manifestarse como pérdida, disminución, distorsión o, rara vez incremento de la sensibilidad. La pérdida se

denomina ageusia (gusto) o anosmia (olfato) y puede ser completa o específica para algún tipo de sabor u olor (Mattes, 2002). La hipogeusia y la hiposmia consisten en disminución de la sensibilidad que puede ser generalizada o específica. La disgeusia gusto y la disosmia son alteraciones del gusto y del olfato en las que los individuos perciben de manera distorsionada los estímulos habituales. La hiperosmia y la hipergeusia indican un aumento en la sensibilidad y se observa en muy pocos casos. Estos trastornos pueden presentarse aislados o en combinación. Los trastornos quimiosensoriales tienen múltiples causas. Más de la mitad de los pacientes que solicitan atención por problemas del gusto o del olfato presentan trastornos que se debe a una de las tres causas siguientes: El hallazgo más frecuente es la relación con una infección de las vías respiratorias superiores, es probable que esto conduzca a una invasión viral de los nervios periféricos, aunque también es factible la lesión de estructuras centrales.

El daño de estructuras periféricas, centrales o ambas, después de traumatismos craneoencefálicos constituye cerca de 15 a 20% de las causas de consulta, por pérdida del gusto o del olfato, los padecimientos de la nariz o los senos que obstruyen el acceso de las sustancias olorosas al epitelio olfatorio, explican otro 15 a 20% de los casos y 15 a 20 % de los pacientes se clasifica como idiopático.

Casi todas las alteraciones quimiosensoriales secundarias a patologías y medicamentos desaparecen cuando la enfermedad subyacente se trata de manera efectiva o el medicamento desencadenante se suspende (Mattes, 2002).

La pérdida de la sensibilidad gustativa (ageusia) y/o olfativa (anosmia), se asocian con disminución de peso, desnutrición, desórdenes inmunitarios y a la degradación del estado de salud general de personas mayores (Mattes and Coward, 1994; Winkler y col., 1999). Por otro lado, las personas que sufren de hipertensión arterial muestran un umbral elevado para las sustancias saladas pudiendo explicar, de esta manera, un sobreconsumo de sal en estos individuos (Sahagún-Flores y col., 2000). En el área nutricional, una correlación negativa se observa entre la severidad de la pérdida de la sensibilidad gustativa (disgeusia) y los aportes calóricos (Kettaneh y col., 2002). Por otro lado, ciertas formas de obesidad, debido a un consumo anárquico de alimentos con alto contenido energético, al parecer se asocian a una disfunción de la percepción gustativa (Stolbova y col., 1999). También existe una asociación entre los desórdenes del gusto y la depresión, por una parte, los pacientes depresivos señalan

frecuentemente sensaciones gustativas desagradables (Miller y col., 1989) y, por otra, un estado depresivo es frecuente en los pacientes disgeúsicos (Deems y col., 1991). Además, ciertas patologías son acompañadas de ageusia y de anosmia en particular la esquizofrenia, la enfermedad de Alzheimer y la anorexia, donde la disgeusia se vincula a una carencia de zinc que afecta el gusto (Casper y col., 1980).

Las alteraciones del gusto y del olfato son características de los pacientes diabéticos y puede afectar a más del 60% de ellos. El cambio sensorial más constante incluye alteraciones en el umbral del sabor de la glucosa entre los pacientes diabéticos no insulino dependientes. Esto indica una alteración general de los receptores de la glucosa. Sin embargo, las complicaciones de la hiperglucemia tal vez contribuyan porque la gravedad de la hipogeusia aumenta conforme la neuropatía avanza (Mattes 2002).

5.1 ALTERACIONES DE LA PERCEPCIÓN GUSTATIVA EN LA DIABETES

Dentro de las manifestaciones clínicas de la diabetes, se ha reportado una pérdida de sensibilidad a los estímulos gustativos. Concretamente, los niveles umbrales de percepción gustativa por las soluciones dulces se encuentran elevados en los pacientes diabéticos (Schelling y col., 1965; Lawson y col., 1979; Abbasi, 1981). El hecho de que el aumento en los niveles umbrales de detección del gusto azucarado en los pacientes diabéticos este correlacionado con la severidad de la neuropatía periférica sugiere que la ageusia en la diabetes podría ser el resultado de la degeneración de las fibras gustativas y/o a la atrofia de las papilas gustativas (Le Floch y col., 1992; Stolbova y col., 1999). Sin embargo, los mecanismos mediante los cuales se presentan alteraciones en la percepción gustativa no se conocen, una posibilidad es que existan cambios en la plasticidad de los corpúsculos gustativos.

6. HIPÓTESIS

“Existe cambios en el número de corpúsculos gustativos y en la morfología de la papila caliciforme en ratas con Diabetes Mellitus tipo 1”

7. OBJETIVO GENERAL

En un modelo experimental de DM1 determinar el efecto de la DM1 sobre la plasticidad de los corpúsculos gustativos en la papila caliciforme.

8. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Inducir Diabetes Mellitus tipo 1 en ratas.
2. Determinar el efecto de la DM1 sobre la morfología y número de los corpúsculos de la papila caliciforme.
3. Determinar el efecto de la DM1 sobre la ingesta de solución de sacarosa.

9. MATERIALES Y MÉTODOS

9.1 ANIMALES

Para nuestro estudio se utilizaron ratas macho adultas de la Cepa Wistar de 8 semanas de edad con un peso de 200 ± 10 g. Los animales fueron mantenidos en condiciones ambientales estándar: ciclos de luz–oscuridad de 12 h cada uno, humedad relativa de 80% y temperatura de 20- 24°C, con alimentación y agua *ad libitum*.

9.2 INDUCCIÓN DE DIABETES MELLITUS

Para la inducción de la DM1 se inyectó al grupo experimental estreptozotocina (STZ) en dosis única 55 mg/Kg de peso vía intraperitoneal (i.p.), disuelta en solución amortiguadora de citratos de pH 4.5, a otro grupo de ratas se les administró simultáneamente un volumen equivalente del vehículo constituyendo el grupo control.

A las 48 horas posteriores al tratamiento con STZ se les realizó la determinación de la glucosa sanguínea con un glucómetro (One Touch Ultra). Cada semana posterior a la administración de STZ se realizó la determinación de glucosa.

9.3 PREPARACIÓN DE TEJIDOS

Se procedió al Sacrificio de los animales mediante fractura cervical, se les practicó una incisión media torácico exponiendo el corazón y realizando una perfusión en el ventrículo izquierdo con solución salina isotónica fría al 0.9%, para remover la sangre de la lengua. Las ratas se decapitaron y de inmediato se les extrajo la lengua, la cual fue fijada con para-formaldehído (PAF) al 4% en solución amortiguadora salina de fosfatos (PBS) durante 24 horas a 4°C., posteriormente el tejido se trató para su crioprotección en PBS con sacarosa al 10, 20 y 30 % de manera secuencial por un periodo de 24 horas a 4°C., para obtener por micro-disección la papila caliciforme, para su posterior orientación en OCT a -20 °C., posteriormente se realizaron cortes de 16 micrómetros de espesor en un criostato y se colocaron en laminillas gelatinizadas. Los

cortes histológicos se tiñeron con hematoxilina-eosina. Los cortes se realizaron en ratas con DM1, a partir de la primera semana hasta la novena semana de inducción de la DM1, con sus respectivos controles.

9.4 TINCIÓN DE HEMATOXILINA-EOSINA

Para realizar el conteo de los corpúsculos gustativos de la papila caliciforme la técnica utilizada fue la tinción de Hematoxilina-Eosina, para ello se obtuvieron cortes de 16 µm en laminillas gelatinizadas, los cuales fueron fijados con etanol al 96% por 5 minutos a TA. Los cortes se lavaron con agua corriente por 10 s y se sumergieron en una solución de colorante hematoxilina por 1 minuto a TA. Posteriormente, los cortes se lavaron con agua corriente por 10 s y se sumergieron a una solución de etanol ácido (0.5% de HCl en Etanol). Después, los tejidos se lavaron con agua corriente por 10 s y se expusieron a una solución de colorante eosina por 1 minuto a TA. Los cortes se lavaron y se deshidrataron en etanol a concentraciones crecientes (96% y absoluto). Las muestras fueron montadas en resina para su documentación, en un microscopio óptico Carl Zeiss.

9.5 INGESTA DE LÍQUIDOS

Se realizó la medición de la ingesta de solución de sacarosa al 1% y de agua, en los animales tratados con STZ y sus respectivos controles.

Previo a la medición de la ingesta de líquidos se les colocaron dos bebederos con agua para que los animales se adaptaran a tomar indistintamente de las dos botellas. Posterior a la adaptación de los animales y después de cumplida una semana de la inducción de la diabetes se colocaron sobre la jaula dos botellas, la primera con solución de sacarosa al 1% y la segunda botella con agua la medición se realizó a las 24 horas posteriores a la colocación de las botellas.

9.6 ANÁLISIS DE LAS PAPILAS

El número de corpúsculos gustativos en cada papila caliciforme fue contado usando el método modificado de Bradley (1980): se revisó cada corte en forma secuencial y se contaron por triplicado, es decir, a cada laminilla se le realizó el conteo en forma independiente por tres individuos.

9.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los resultados se utilizó el programa Graph Pad Prisma 4.0 con el cual se calculó el promedio y la desviación estándar de los datos experimentales y se empleó la “t” de student para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos estudiados.

10. RESULTADOS

10.1 INGESTA DE LÍQUIDOS

En la **Figura 6** se observa que en la primera semana de inducción de la diabetes, tanto en el primer día como en el segundo día de medición, las ratas con DM1 ingirieron mayor cantidad de agua (Fig. 6B) y de solución de sacarosa (Fig. 6A) y por lo tanto de líquidos totales (Fig. 6C). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($P < 0.0001$) comparada con su grupo control.

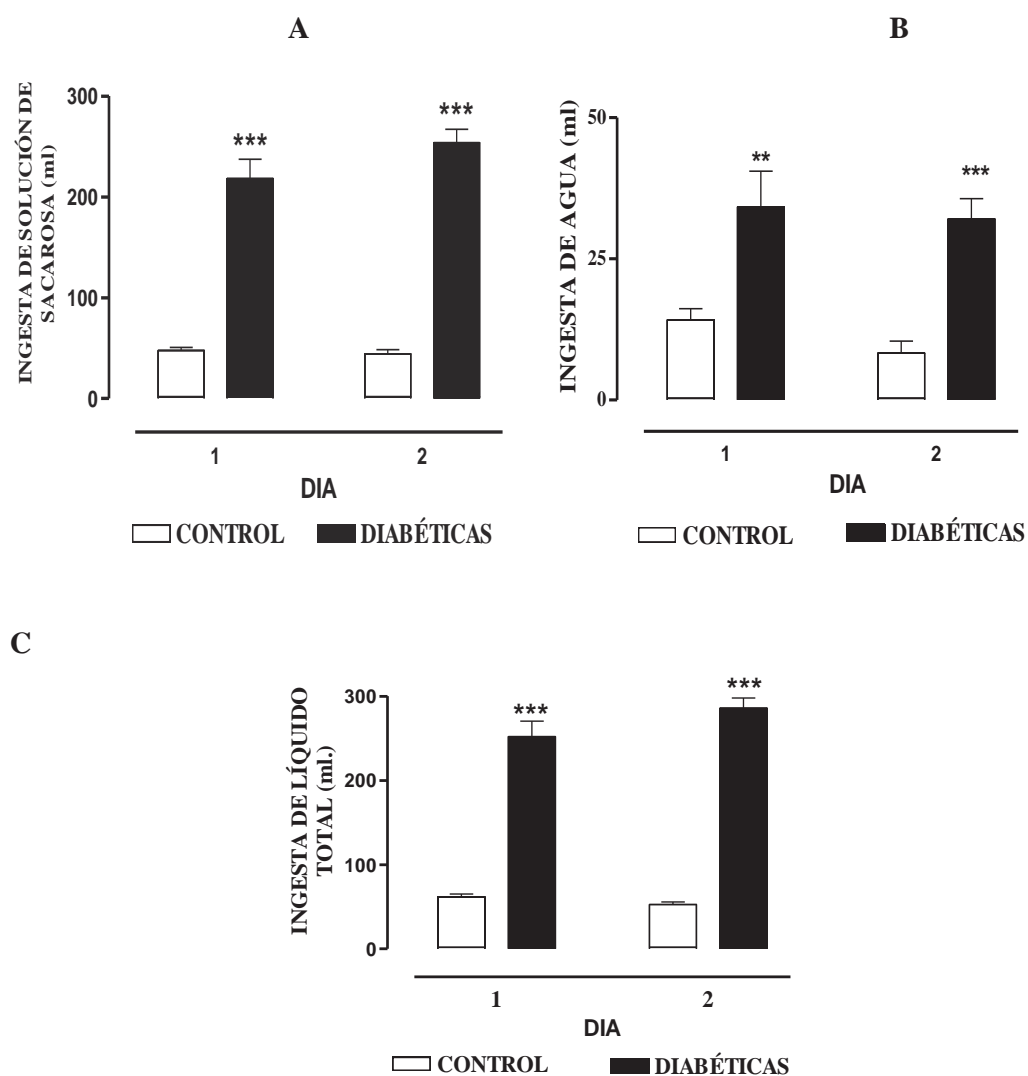


FIGURA 6 Ingesta de líquidos a la primera semana de inducción de la DM1. (A) Consumo de solución de sacarosa al 1 % (B) consumo de agua (C) Consumo de líquidos totales agua y sacarosa. $\bar{X} \pm$ D.E. de 3 ratas de cada grupo. ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

En la **Figura 7** se observa la ingesta de líquidos en las ratas de la segunda semana de inducción de DM1. Las ratas con DM1 ingirieron mayor cantidad de líquidos respecto al grupo control. Comparando con la primera semana las ratas del grupo con DM1 disminuyeron en un 30% su ingesta de solución de sacarosa (Fig. 7A) y aumentaron en un 47% ingesta de agua (Fig. 7B) por lo tanto en la segunda semana de la inducción, las ratas con DM1 bajaron su consumo de líquidos totales un 14% (Fig. 7C).

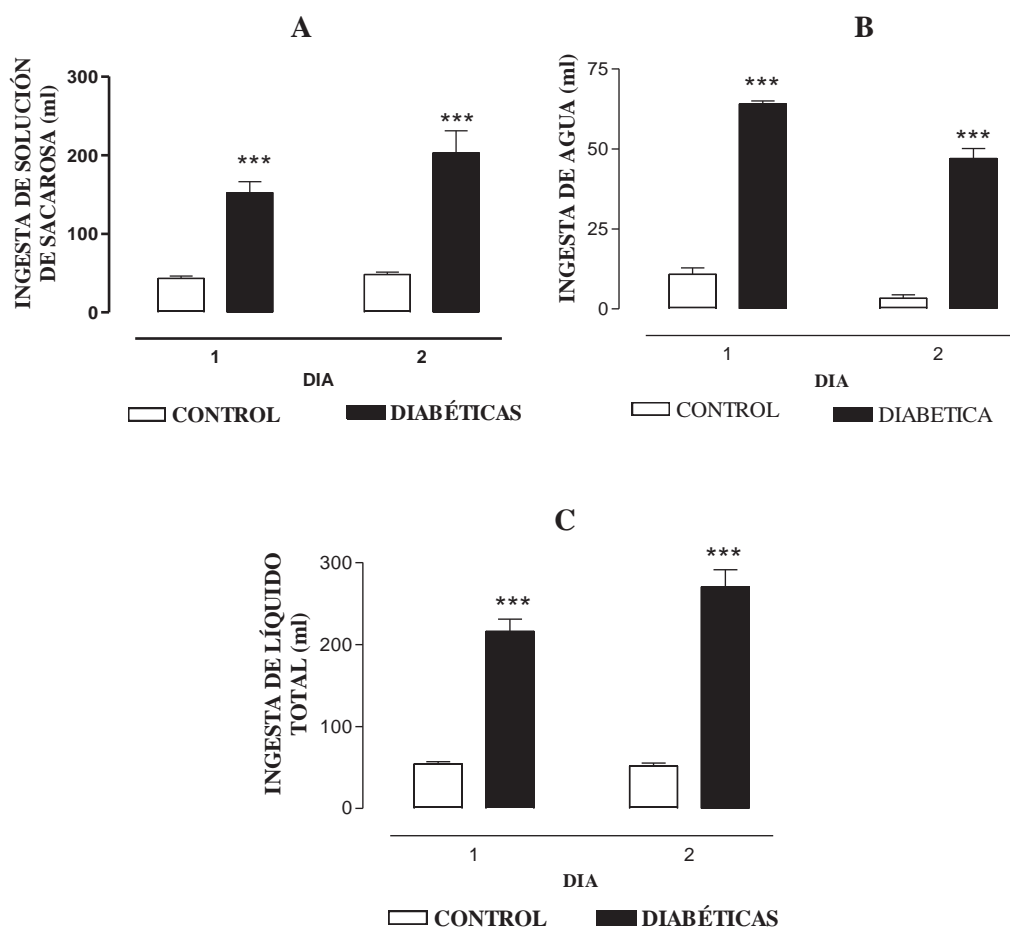


FIGURA 7 Ingesta de líquidos a la segunda semana de inducción de la DM1. (A) Consumo de solución de sacarosa al 1 % (B) consumo de agua (C) Consumo de líquidos totales agua y sacarosa. $\bar{X} \pm D.E.$ de 3 ratas de cada grupo. *** $p < 0.0001$

En la **Figura 8** se muestra la ingesta de líquidos en las ratas de la tercera semana de inducción de DM. Las ratas con DM1 ingirieron mayor cantidad de líquidos con respecto al grupo control. Comparando con la segunda semana las ratas del grupo con DM1 disminuyeron en un 72% en el consumo de agua (Fig. 8B) y aumentaron un 68 % su ingesta de solución de sacarosa (Fig. 8A), con las resultados anteriores se percibe un incremento 31% en el consumo de líquidos totales (Fig. 8C).

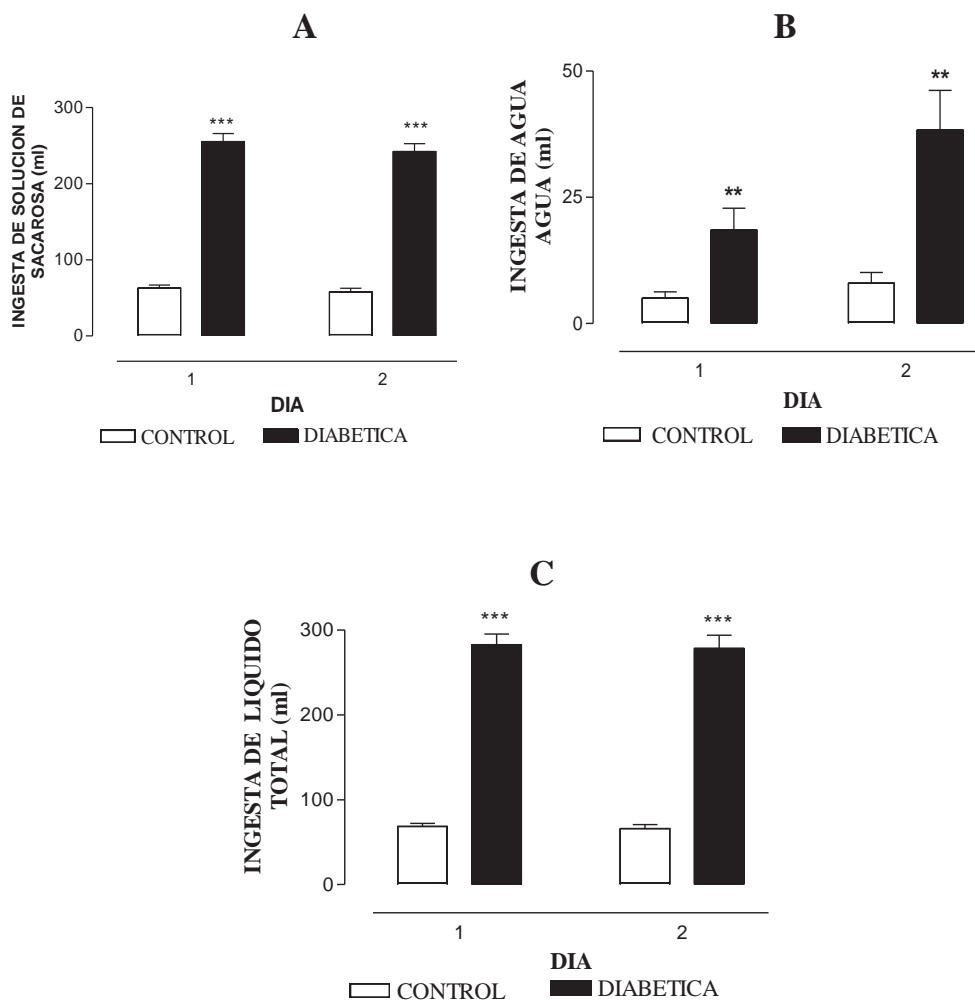


FIGURA 8 Ingesta de líquidos a la tercera semana de inducción de la DM1. (A) Consumo de solución de sacarosa al 1 % (B) consumo de agua (C) Consumo de líquidos totales agua y sacarosa. $\bar{X} \pm D.E.$ de 3 ratas de cada grupo. ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

En la **Figura 9** se muestra la ingesta de líquidos a la cuarta semana de inducción de DM1. Las ratas con DM1 ingirieron mayor cantidad de líquidos con respecto al grupo control. Comparando con la tercera semana se observa en las ratas con DM1 un aumento del 50% en el consumo de agua (Fig. 9B) y se mantiene igual su ingesta de solución de sacarosa (Fig. 9A).

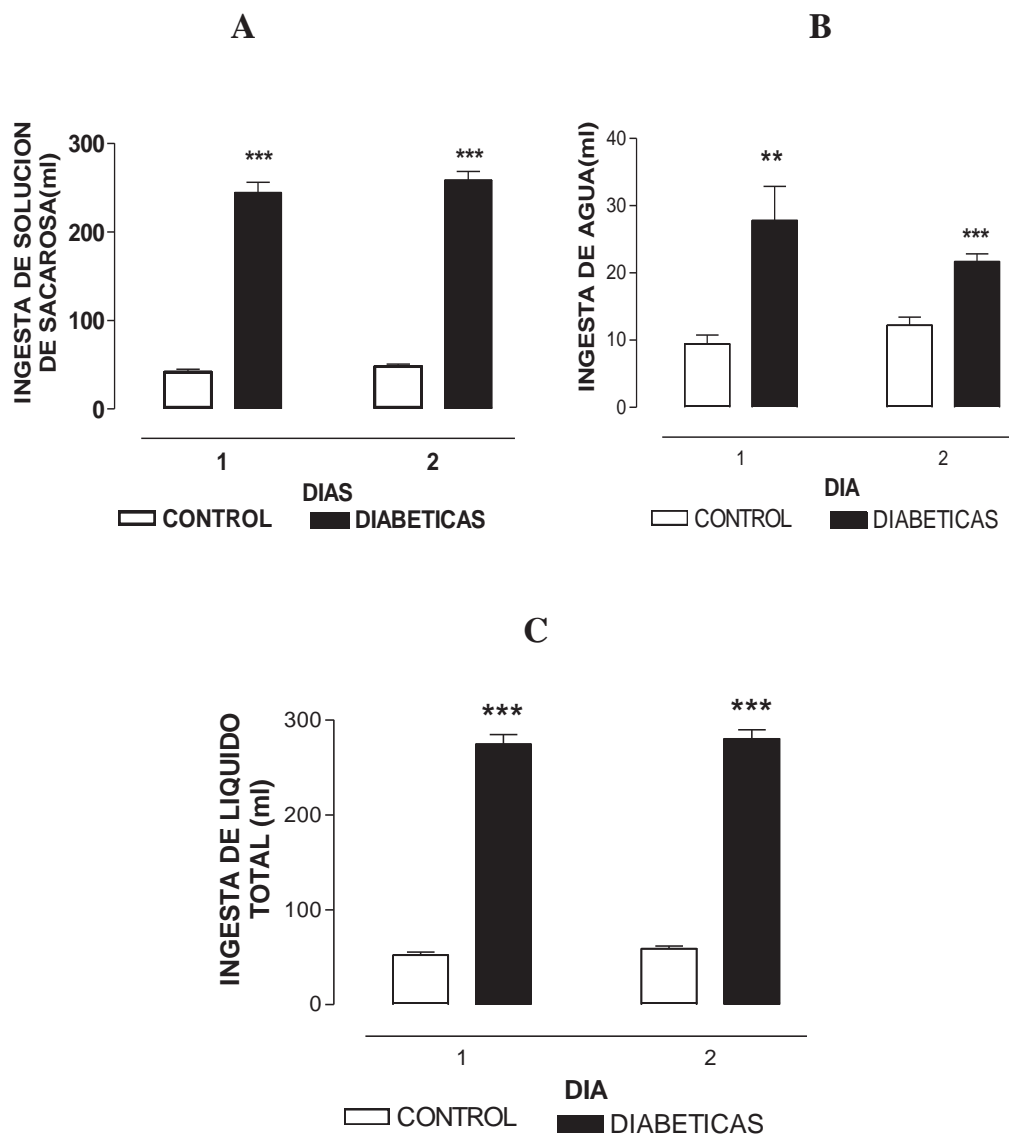


FIGURA 9 Ingesta de líquidos a la cuarta semana de inducción de la DM1. (A) Consumo de solución de sacarosa al 1 % (B) consumo de agua (C) Consumo de líquidos totales agua y sacarosa $X \pm D.E.$ de 3 ratas de cada grupo. ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

En la **Figura 10** se observa la ingesta de líquidos en las ratas de la quinta semana de inducción de DM1. Las ratas con DM1 ingirieron mayor cantidad de líquidos con respecto al grupo control. Comparando con la cuarta semana las ratas del grupo con DM1 aumentaron en un 60% su ingesta de agua (Fig. 10B) y un aumento del 18% en la ingesta de solución de sacarosa (Fig. 10A), observando un incremento en la ingesta de líquidos totales (Fig. 10C).

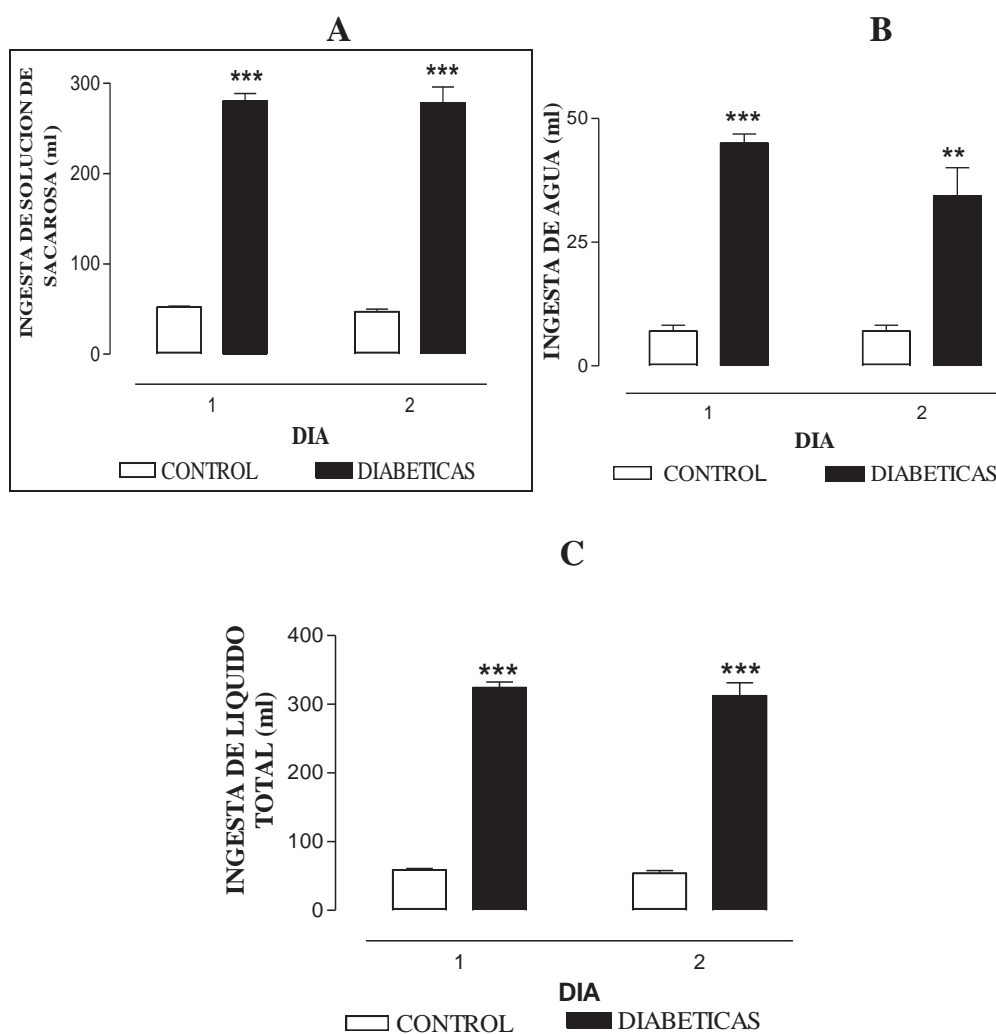


FIGURA 10 Ingesta de líquidos a la Quinta semana de inducción de la DM1. (A) Consumo de solución de sacarosa al 1 % (B) consumo de agua (C) Consumo de líquidos totales agua y sacarosa. $X \pm D.E.$ de 3 ratas de cada grupo. ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

En la **Figura 11** se observa la ingesta de líquidos en las ratas de la sexta semana de inducción de DM1. Las ratas con DM1 ingirieron mayor cantidad de líquidos respecto al grupo control. Comparando con la quinta semana las ratas del grupo con DM1 disminuyeron en un 11% su ingesta de solución de sacarosa (Fig. 11A) y disminuyeron en un 44.5 % su ingesta de agua (Fig. 11B).

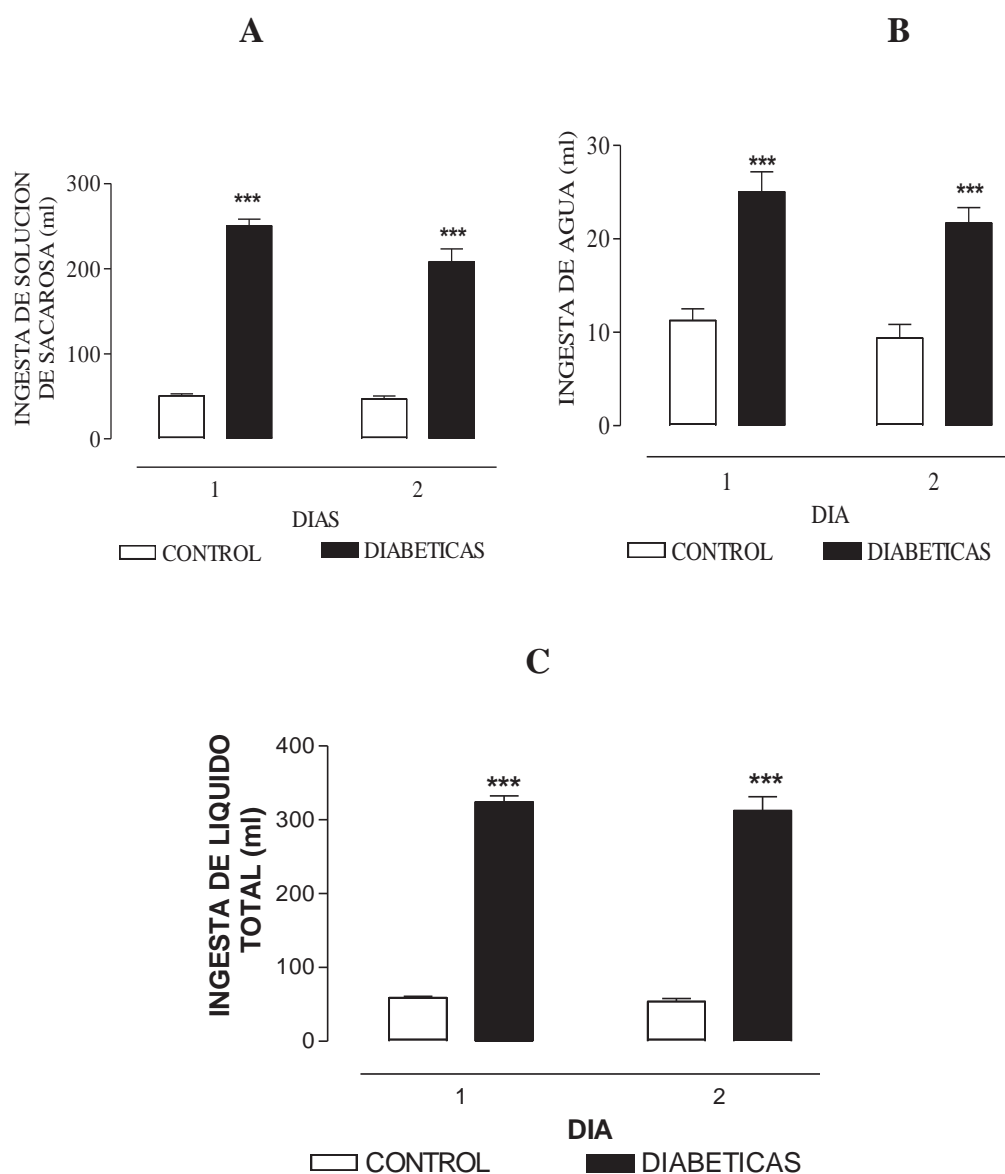


FIGURA 11. Ingesta de líquidos a la Sexta semana de inducción de la DM1. (A) Consumo de solución de sacarosa al 1 % (B) consumo de agua (C) Consumo de líquidos totales agua y sacarosa. $\bar{X} \pm D.E.$ de 3 ratas de cada grupo. *** $p < 0.0001$

En la Figura 12 se observa la ingesta de líquidos en las ratas de la séptima semana de inducción de DM1. Las ratas con DM1 ingirieron mayor cantidad de líquidos respecto al grupo control. Comparando con la sexta semana las ratas del grupo con DM1 disminuyeron en un 11% su ingesta de solución de sacarosa (Fig. 11A) y disminuyeron en un 44.5 % su ingesta de agua (Fig. 11B).

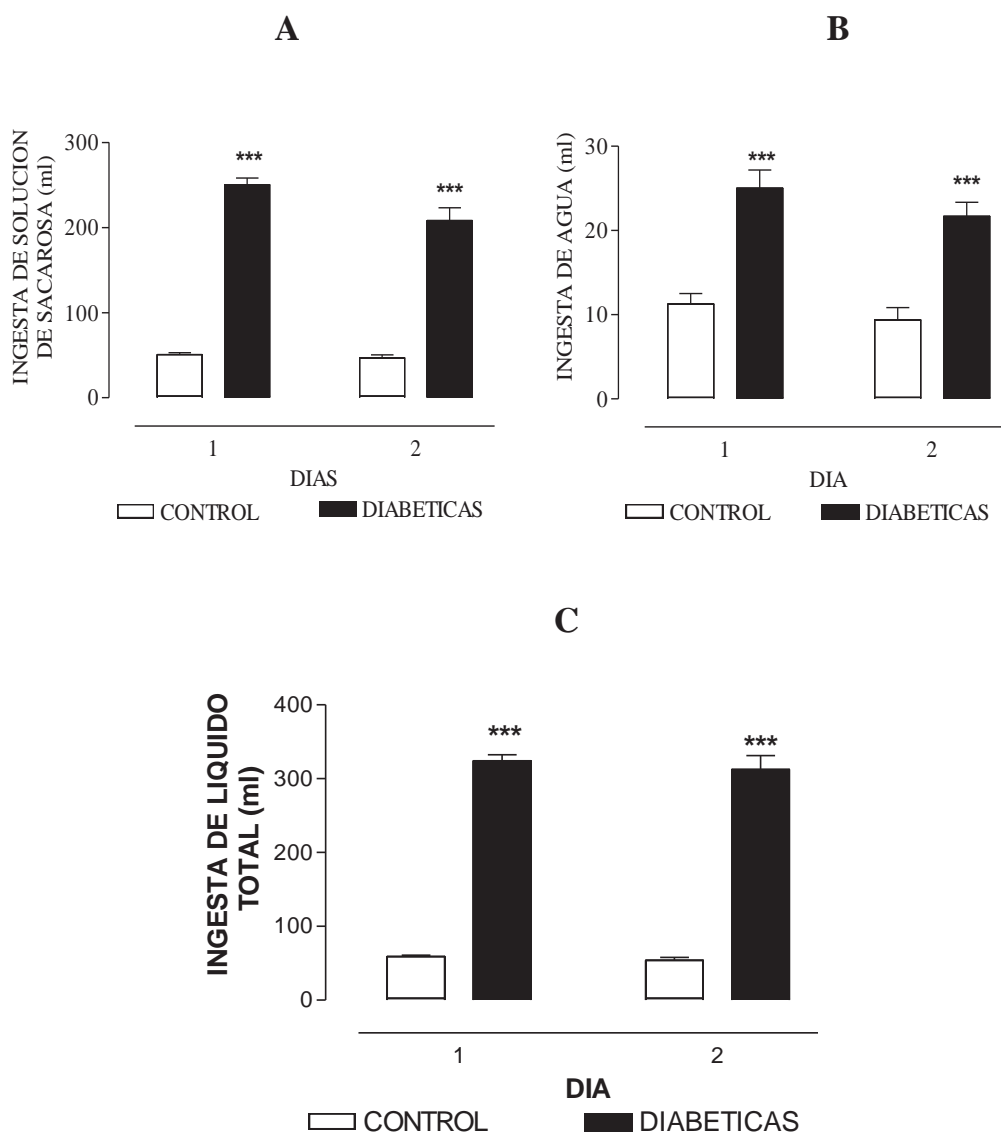


FIGURA 12. Ingesta de líquidos a la Séptima semana de inducción de la DM1. (A) Consumo de solución de sacarosa al 1 % (B) consumo de agua (C) Consumo de líquidos totales agua y sacarosa. $\bar{X} \pm D.E.$ de 3 ratas de cada grupo. *** $p < 0.0001$.

En la **Figura 13** se observa la ingesta de líquidos en las ratas de la octava semana de inducción de DM1. Las ratas con DM1 ingirieron mayor cantidad de líquidos con respecto al grupo control. Comparando con las semanas anteriores las ratas del grupo con DM1 muestran una disminución en el ingesta de agua (Fig. 12B) al grado que la ingesta llega a ser igual a la del grupo control y una disminución en la ingesta de la solución sacarosa (Fig.12A), por tanto la ingesta de líquidos totales disminuyó.

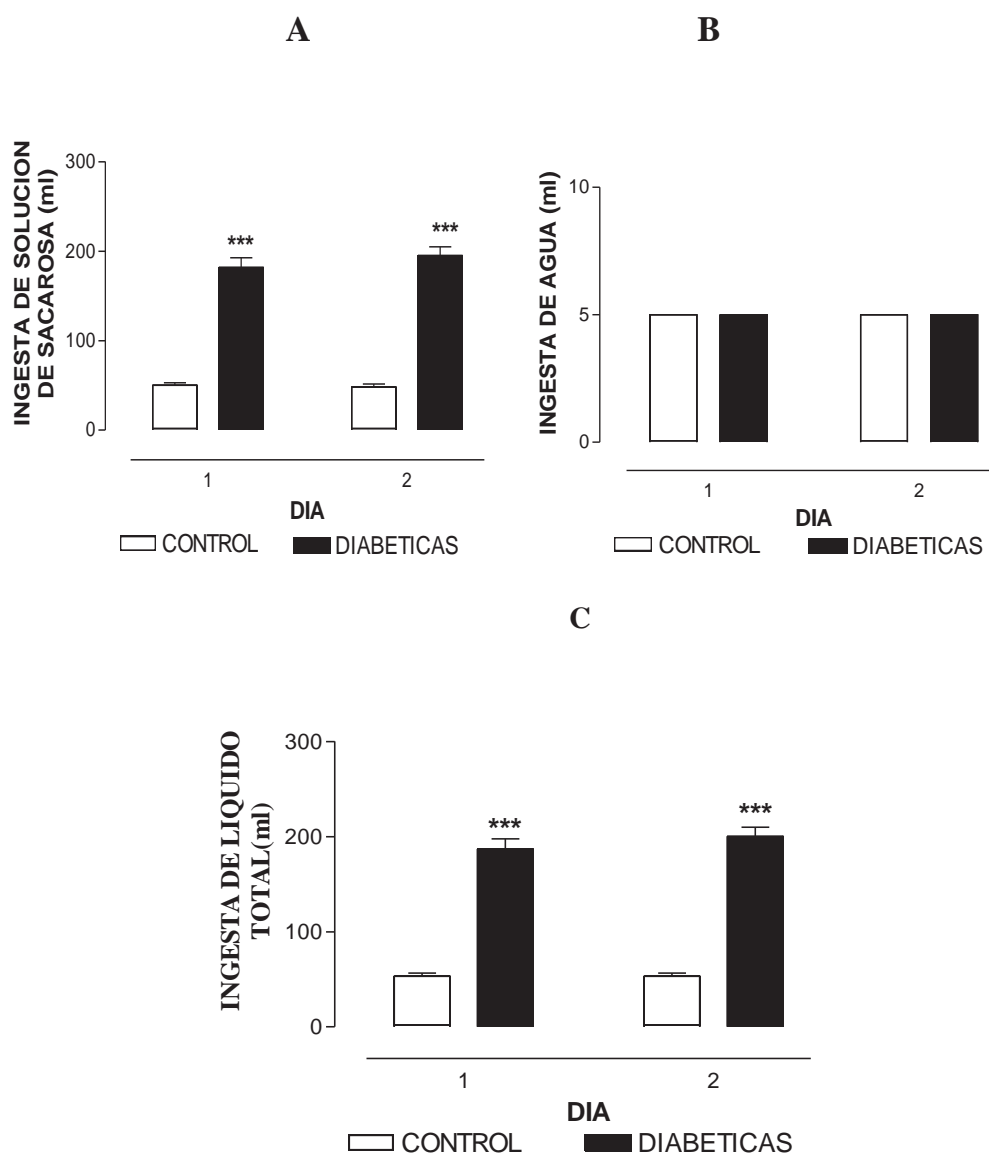


FIGURA 13. Ingesta de líquidos a la Octava semana de inducción de la DM1. (A) Consumo de solución de sacarosa al 1 % (B) consumo de agua (C) Consumo de líquidos totales agua y sacarosa. $\bar{X} \pm D.E.$ de 3 ratas de cada grupo. *** $p < 0.0001$.

En la **Figura 14** se observa la ingesta de líquidos en las ratas de la novena semana de inducción de DM1. Las ratas con DM1 ingirieron mayor cantidad de líquidos respecto al grupo control. Comparando con las semanas anteriores las ratas del grupo con DM1 disminuyeron su ingesta de agua en el primer día de medición al grado que la ingesta llega a ser igual a la del grupo control (Fig. 13B) mientras que en el segundo día llega a ser menor el consumo de agua con respecto a su control.

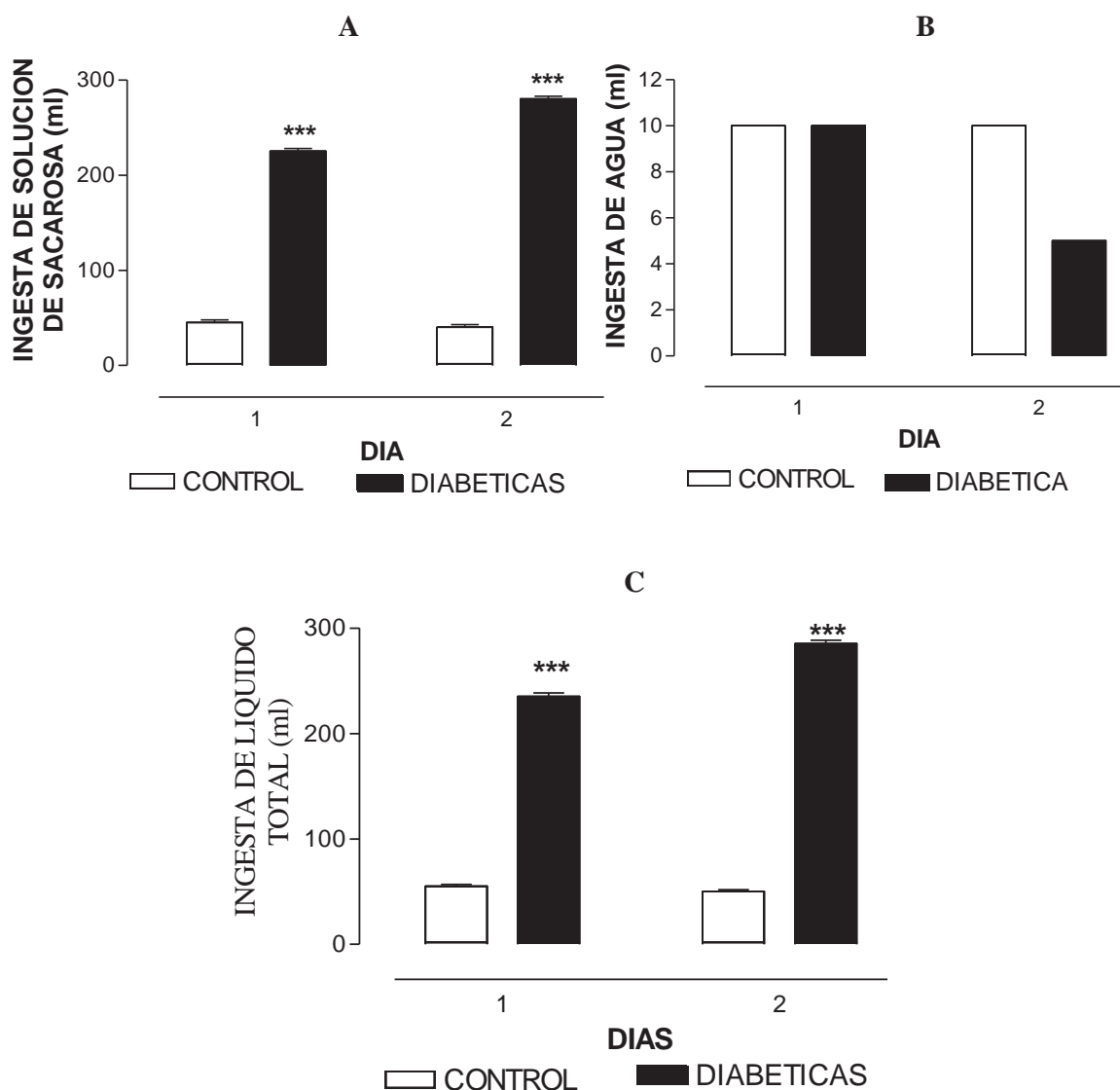


FIGURA 14. Ingesta de líquidos a la Novena semana de inducción de la DM1. (A) Consumo de solución de sacarosa al 1 % (B) consumo de agua (C) Consumo de líquidos totales agua y sacarosa $X \pm D.E.$ de 3 ratas de cada grupo. *** $p < 0.0001$.

En la **Figura 15** se observa el porcentaje de ingesta de agua relacionado al consumo de líquidos totales en cada semana a partir de la inducción de DM1. Se puede apreciar que las ratas del grupo con DM1 ingirieron menor porcentaje de agua en la 1,4, 6, 7, 8 y 9 semana comparada con su grupo control.

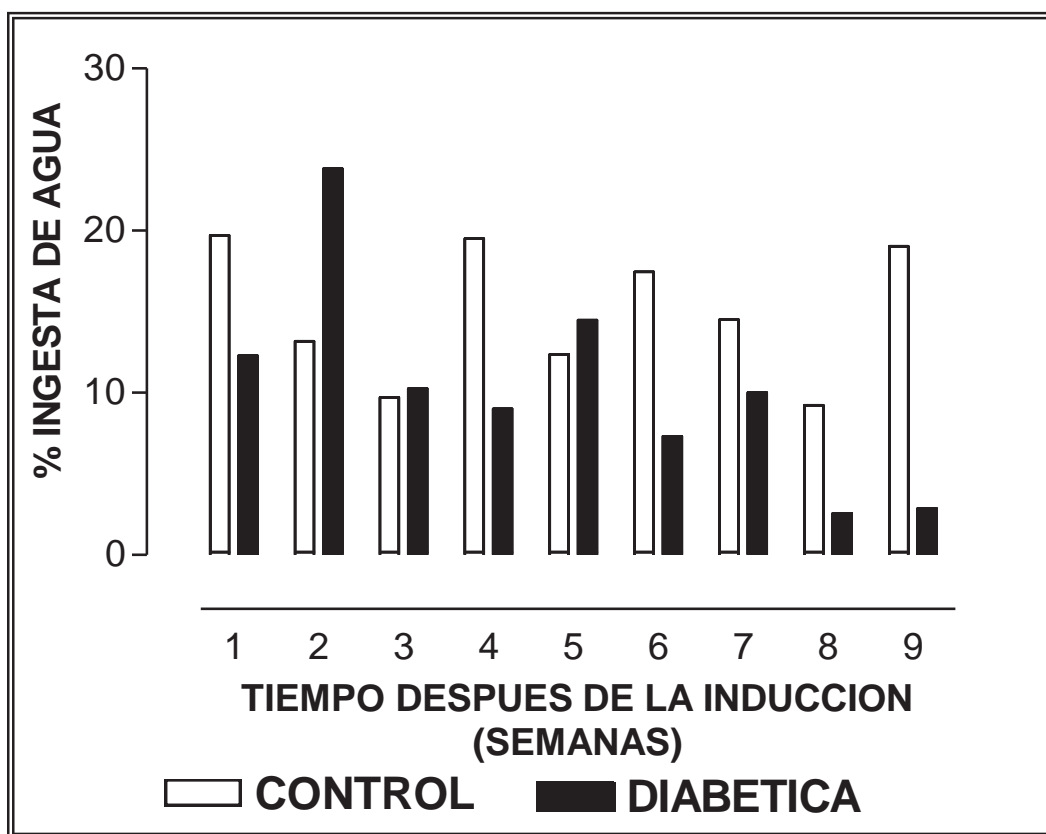


FIGURA 15. Porcentaje de ingesta de agua durante las 9 semanas posteriores a la inducción de la DM1 en relación al consumo de líquidos totales.

En la **Figura 16** se observa el porcentaje de ingesta de sacarosa relacionado con el consumo de líquidos totales en cada semana a partir de la inducción de DM1. Se puede apreciar que las ratas del grupo con DM1 ingirieron mayor porcentaje de solución de sacarosa en la 1,4, 6, 7, 8 y 9 semana comparada con su grupo control.

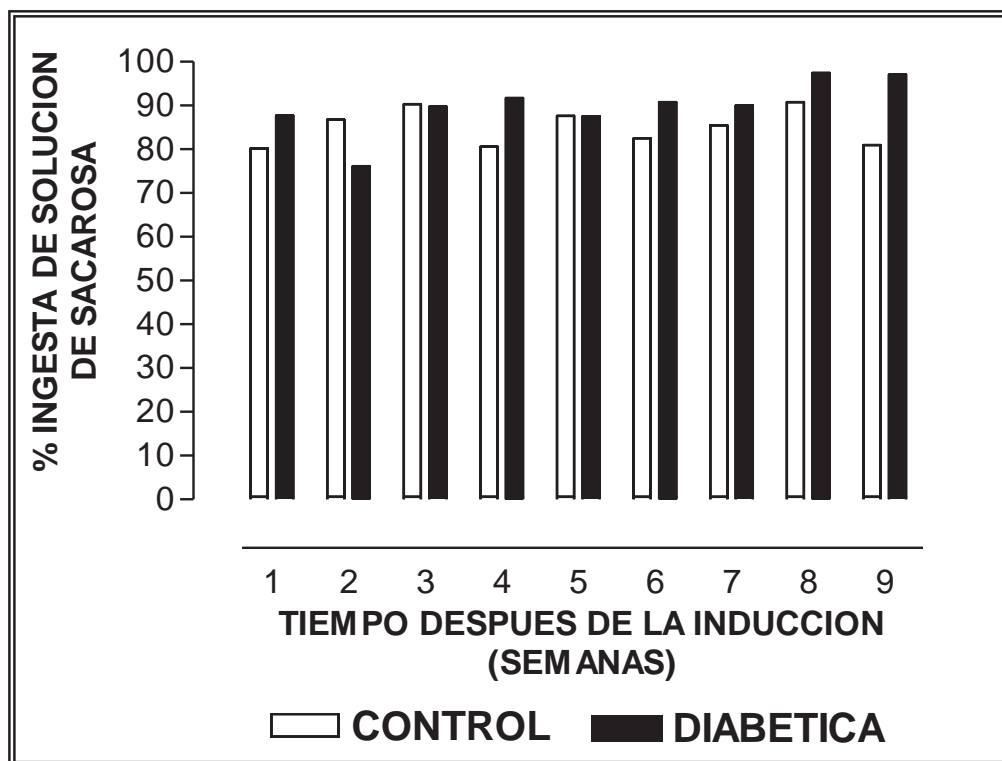


FIGURA 16. Porcentaje de ingesta de solución de sacarosa al 1% durante las 9 semanas posteriores a la inducción de la DM1 en relación con la ingesta de líquidos totales.

En la figura 17 se muestra el número de corpúsculos gustativos en las ratas con DM1 y en las ratas del grupo control, a partir de la primera semana y hasta la novena semana de inducción de la DM1. Se observa que existe disminución estadísticamente significativa del número de corpúsculos gustativos en las ratas con DM1 comparadas con su control.

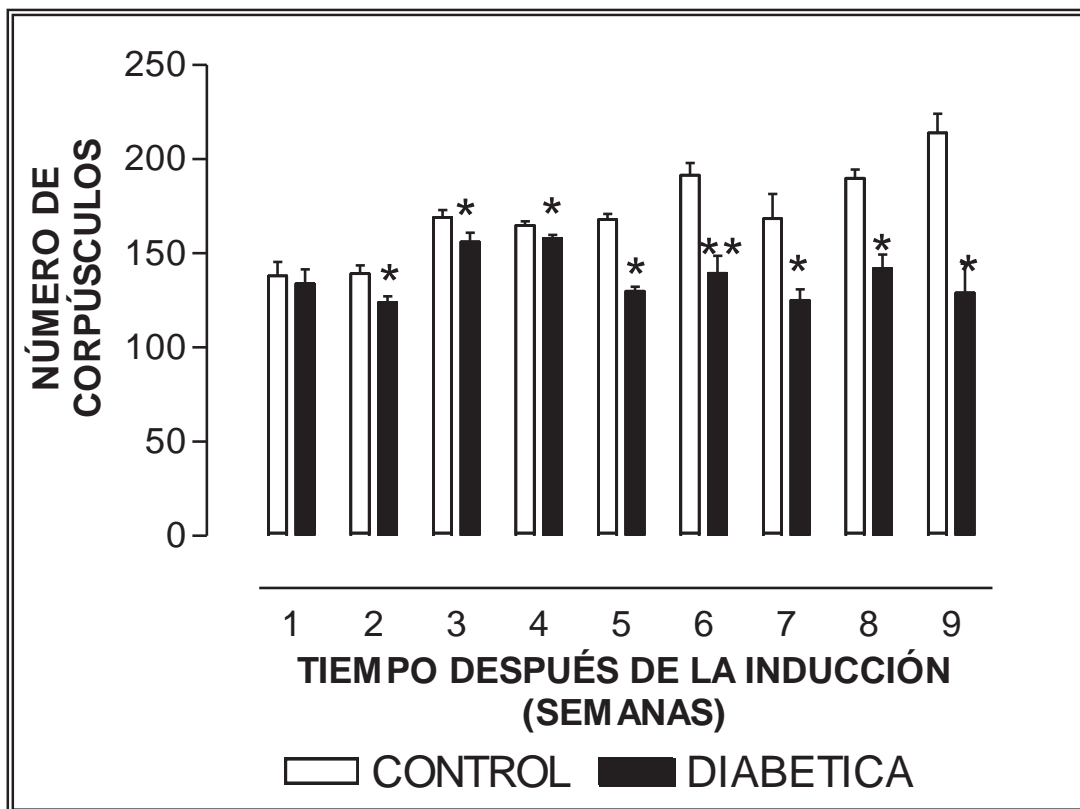


FIGURA 17. Número corpúsculos gustativos en la papila caliciforme de ratas. $X \pm D.E.$ de Seis experimentos realizados cada grupo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$.

En la **Figura 18** se muestra el porcentaje de reducción del número de corpúsculos gustativos durante las nueve semanas de experimentación.

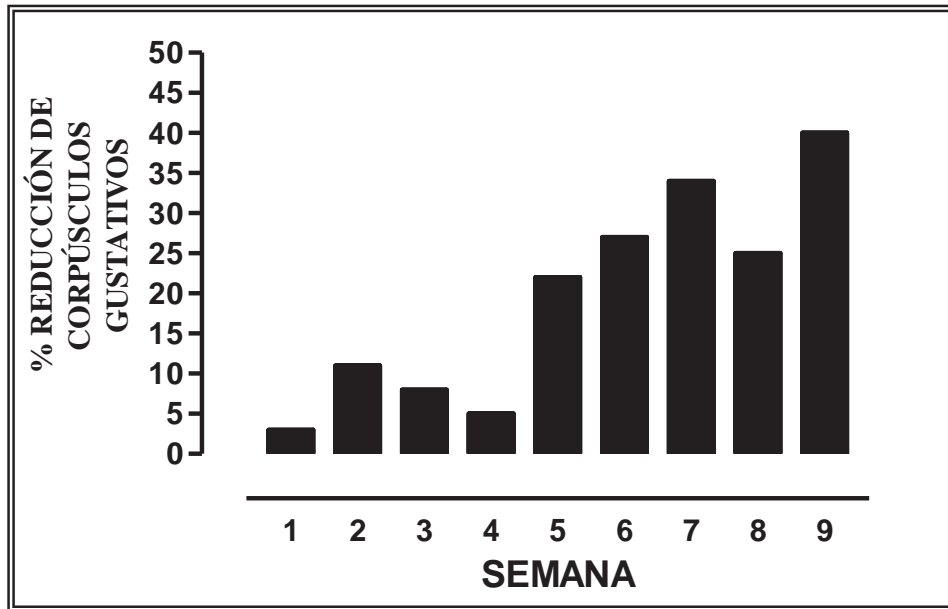


FIGURA 18. Porcentaje de reducción de los corpúsculos gustativos.

En la **Figura 19** se muestran macrofotografías de la papila caliciforme y de los corpúsculos gustativos de la Novena semana de inducción de DM1, se observan cambios morfológicos en la papila de las ratas con DM1 (19B) con respecto a su control (19A). Se puede observar menor densidad de las células gustativas, en los corpúsculos gustativos de las ratas con DM1 (19D) con respecto a su control (19C). Indicado con la flecha

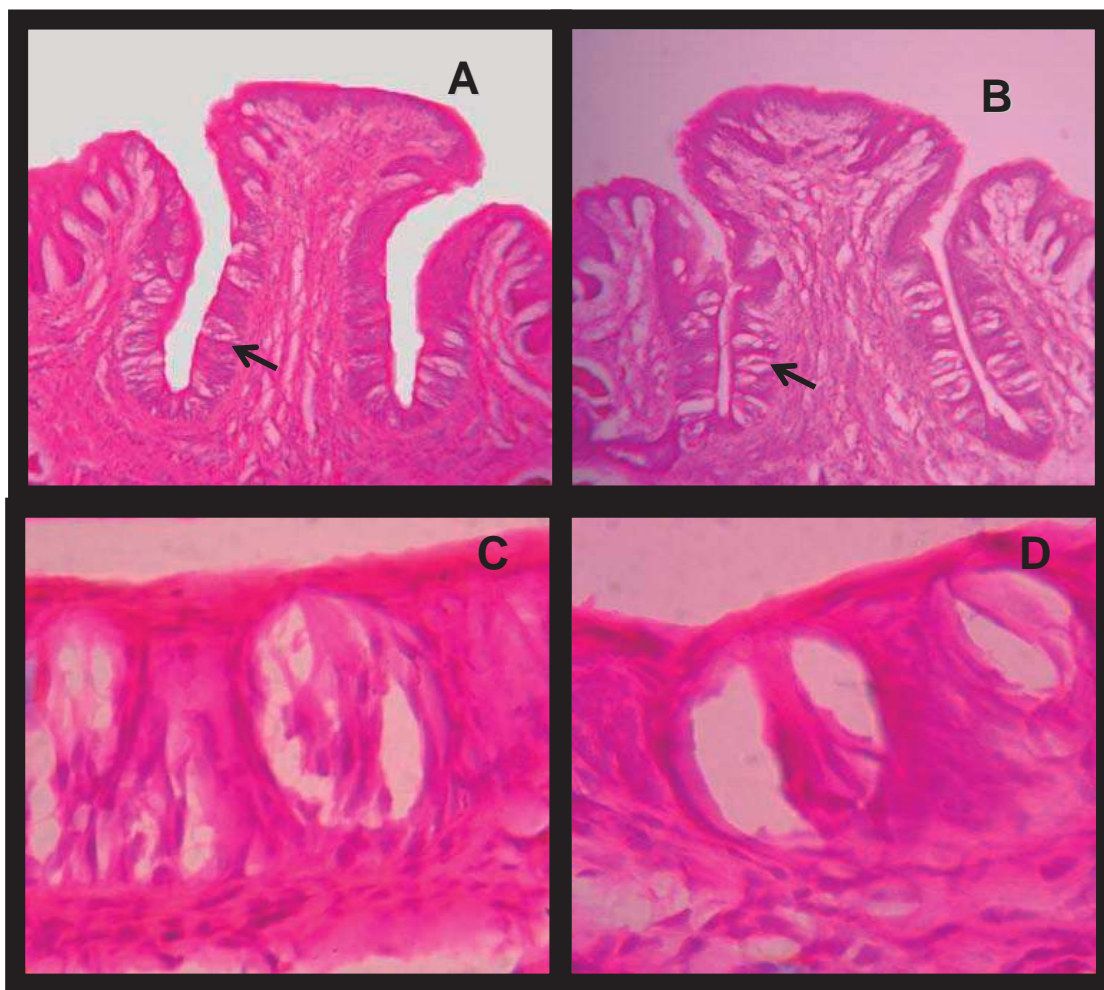


FIGURA 19. Morfología de la papila caliciforme de rata control (19A) y rata diabéticas (19B). Amplificación de los corpúsculos gustativos de rata Control (19C) y ratas diabéticas (19D) nueve semanas después de la inducción de la DM1.

11. DISCUSIÓN

La diabetes mellitus constituye un problema grave de salud en México, por lo que se requieren modelos experimentales de DM para estudiar y entender los mecanismos moleculares de las complicaciones de la misma. La administración de Estreptozotocina para inducir diabetes mellitus tipo 1 en forma experimental se ha reportado que es un buen método para tener un modelo experimental de la diabetes tipo 1 reproducible y adecuado (Juárez, 2008), debido a que las ratas utilizadas para este modelo presentan hiperglucemia, poliuria (aumento de excreción urinaria), polidipsia (necesidad de tomar agua) y polifagia (aumento del apetito), y pérdida de peso que son las características principales de la enfermedad y derivadas de estas se presentan las complicaciones como retinopatía, disgeusia y neuropatía periférica. El modelo empleado de ratas con DM1 en nuestro estudio se implementó en nuestro laboratorio y fue reportado previamente (Juárez, 2008).

Con respecto al efecto de la DM1 sobre la ingesta de solución de sacarosa, se observó aumento en la ingesta de solución de sacarosa, algunos autores han reportado dentro de las manifestaciones clínicas de la diabetes mellitus una pérdida de sensibilidad a los estímulos gustativos, concretamente el umbral de percepción gustativa por las soluciones dulces se encuentra elevado en pacientes diabéticos (Schelling et al., 1965; Lawson et al., 1979; Abbasi, 1981). Esta disminución de la percepción gustativa por la solución de sacarosa en las ratas con diabetes mellitus puede ser explicada por una reducción en la intensidad de las respuestas eléctricas de los nervios craneanos que transmiten las señales gustativas de la lengua al cerebro. Estas alteraciones están presentes en un 76% de los pacientes que sufren diabetes mellitus de tipo 1 y en el 40% de los pacientes afectados por la diabetes mellitus de tipo 2 (Le Floch et al., 1992; Stolbova et al., 1999). La disminución de la percepción gustativa asociada a la diabetes mellitus se presentan al inicio de la enfermedad (Perros et al., 1996) y evolucionan en intensidad al mismo tiempo que aumenta la severidad de la enfermedad, lo cual observamos en nuestro estudio ya que en la semana 8 y novena de inducción de la DM1 el porcentaje de ingesta de solución de sacarosa fue mayor que en las semanas previas. Estas observaciones sugieren que la disminución en la sensibilidad gustativa en las primeras fases de la diabetes mellitus puede favorecer la ingesta de alimentos ricos en

azúcares y en consecuencia, exacerbar la hiperglucemia, se ha encontrado que los pacientes obesos también presentan déficits de percepción gustativa (Stolbova et al., 1999) y que las ratas prediabéticas presentan una mayor ingesta de sacarosa y otros compuestos dulces sin que su patrón de consumo de compuestos ácidos, salados y amargos se encuentre afectado (De Jonghe et al., 2005; Hajnal et al., 2005).

Por otro lado en las ratas con DM1 se observó reducción en el número de corpúsculos gustativos a partir de la segunda semana de inducción de la DM1, sin embargo, la reducción no es tan marcada durante las primeras cuatro semanas como en las últimas semanas, lo cual se podría explicar como un efecto de plasticidad del sistema, es decir, el recambio de células del tipo II o los receptores del gusto azucarado (T1R2/T1R3) no se altera, pero a partir de la quinta semana la reducción en el número de corpúsculos gustativos fue mayor lo que se podría estar correlacionado con efectos derivados de las complicaciones de la neuropatía periférica en las ratas diabéticas, debido a que la presencia de nervios intactos son necesarios para mantener la integridad del corpúsculo gustativo, en efecto, si el nervio glossofaríngeo se encuentra seccionado el número de corpúsculos gustativos disminuye significativamente y su regeneración por cirugía induce la formación de nuevos corpúsculos gustativos totalmente diferenciados (Whitehead et al., 1987; Barry et al., 1993; Suzuki et al., 1996), esto se puede explicar por que las fibras nerviosas proporcionan un factor trófico para las células gustativas. Simultáneamente o alternativamente la degeneración de las fibras nerviosas podría liberar factores que induzcan la apoptosis del corpúsculo gustativo. Sin embargo en este estudio no se realizó inmuno histoquímica empleando anticuerpos contra PGP 9.5 para observar las fibras de los nervios que inervan a las papilas gustativas. Los cambios en el número de células de tipo II y/o de la expresión de receptores para el sabor azucarado no fueron explorados en este estudio, lo cual genera perspectivas para continuar estudiando los efectos de la DM1 sobre el sistema gustativo.

12. CONCLUSIONES

LA DM1 AFECTA LA PLASTICIDAD DE LOS CORPÚSCULOS GUSTATIVOS DE LA PAPILA CALICIFORME.

13. BIBLIOGRAFIA

Abbasi, A.A. 1981. Diabetes: diagnostic and therapeutic significance of taste impairment. *Geriatrics*, 36:73-78.

Adler, E., Hoon, M.A., Mueller, K.L., Chandrashekar, J. Ryba, N.J. and Zuker, C.S. 2000. A novel family of mammalian taste receptors. *Cell*, 100: 693-702.

Argoff, C.E., Cole, B.E., Fishbain, D.A., and Irving, G.A. 2006. Diabetic peripheral neuropathic pain: clinical and quality-of-life issues. *Mayo Clin. Proc.* 81:S3-S11.

Bradley, R.M., Cheal, M.L., and Kim, Y.H. 1980. Quantitative analysis of developing epiglottal taste buds in Sheep. *J. Anat.* 130: 25-32.

Behrens, M. and Meyerhof, W. 2006. Bitter taste receptors and human bitter taste perception. *Cell Mol. Life Sci.* 63: 1501-1509.

Bigiani, A. 2001. Mouse taste cells with glialike membrane properties. *J. Neurophysiol.* 85: 1552-1560.

Bougther, J.G. 1997 Amiloride suppresses the responses to acids in NaCl best neurons of the hamster solitary nucleus. *Chem. Senses* 22: 648-660.

Buck, B.L. 2000. Olfato y gusto: los sentidos químicos en Principios de Neurociencias. Kandel E. R., Schwartz J.H., Jessell T. M (Eds.), Mc Graw Hill, Cáp. 32, Pág. 635-645.

Casper, R.C., Kirschner, B., Sandstead, H.H., Jacob, R.A. and Davis, J.M. 1980. An evaluation of trace metals, vitamins, and taste function in anorexia nervosa. *Am. J. Clin. Nutr.* 33: 1801-1808.

Chaudhari, N., Landin, A.M. and Roper, S.D. 2000. A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor. *Nat. Neurosci.* 3:113-119.

Chaudhari, N., Yang, H., Lamp, C., Delay, E., Cartford, C., Than, T. and Roper, S. 1996. The taste of monosodium glutamate: membrane receptors in taste buds. *J. Neurosci.* 16:3817-3826.

Cummings, S.T. and Kinnamon, S.C. 1992. Apical K⁺ channels in Necturus taste cells. Modulation by intracellular factors and taste stimuli. *J. Physiol.* 99: 591-613.

Deems, D.A., Doty, R.L., Settle, R.G., Moore-Gillon, V., Shaman, P., Mester, A.F., Kimmelman, C.P., Brightman, V.J. and Snow, J.B Jr. 1991. Smell and taste disorders, a study of 750 patients from the University of Pennsylvania Smell and Taste center. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 117: 519-528.

DeFazio, R.A., Dvoryanchikov, G., Maruyama, Y., Kim, J.W., Pereira, E., Roper, S.D. and Chaudhari, N. 2006 Separate populations of receptor cells and presynaptic cell in mouse taste buds. *J. Neurosci.* 26, 3971-3980.

De Jonghe BC, Hajnal A, Covasa M. 2005. Increased oral and decreased intestinal sensitivity to sucrose in obese, prediabetic CCK-A receptor-deficient OLETF rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 288:R292-R300.

Dethier, V.G. 1993 The role of taste in food intake: a comparative view: In mechanism of taste transduction, edited by S.A. Simon and S.D. Roper, Boca Raton FL: CRC Press. p. 3-28.

Dobretsov, M., Romanovsky, D., and Stimers, J.R. 2007. Early diabetic neuropathy: triggers and mechanisms. *World J. Gastroenterol.* 14:175-191.

Doty, R.L. 1993. Smell and taste and their disorders. In: Disease of nervous system: clinical neurobiology, edited by A.K., Asbury, G.M. McKhann and W.I. McDonald, Philadelphia: Saunders, p. 390-403.

Flores-Martínez, S.E., Machorro-lazo, M.V., García-Zapién, A.G., López-Cardona, M.G., Morán-Moguel, M.C., Sanchez-Corona, J. 2004. Epidemiología molecular en la diabetes mellitus y sus complicaciones. En Diabetes mellitus, Islas, S., Revilla, C., (eds) Mc Graw Hill. Pág. 1 p. 35-42

Genuth, S., Alberti, K.G., Bennett, P., Buse, J., Defronzo, R., Kahn, R., Kitzmiller, J., Knowler, W.C, Lebovitz, H., Lernmark, A., Nathan, D., Palmer, J., Rizza, R., Saudek, C., Shaw, J., Steffes, M., Stern, M., Tuomilehto, J., Zimmet, P. 2003. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 26:3160-3167.

Guyen, S., and Kuenzi, J. 1998. Diabetes Mellitus. In Concepts of altered health states. *Pathophysiology*. (portth C..M. ed). 21: 810-830.

Hajnal A, Covasa M, Bello NT. Altered taste sensitivity in obese, prediabetic OLETF rats lacking CCK-1 receptors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 289(6):R1675-86, 2005

Harris-Maureen, I. 2003. Definición y Clasificación de la diabetes mellitus y criterios actuales para el diagnostico. En Diabetes Mellitus fundamentos y clínica. LeRoith, D., Taylor, S. I., Olefsky, J. M. (Eds.) Mc Graw Hill. Pág. 32, Pág. 406-414.

Hoon, M.A., Adler, E., Lindemeier, J., Battey, J.F., Ryba, N.J. and Zuker, C.S. 1999. Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell*, 96: 541-551.

Islas-Andrade, S., and Revilla-Monsalve, M.C. 2004. Diabetes mellitus: conceptos y nueva clasificación en: Diabetes mellitus, Mc Graw Hill. Pág. 1 p. 3-20

Juárez, M.B. 2008. Implementación de un modelo de diabetes mellitus tipo 1. Tesis de licenciatura. Facultad de Químico farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de hidalgo. Morelia, Mich., México.

Kettaneh, A., Fain, O., Stirnemann, J. and Thomas, M. 2002. Taste disorders. *La Revue de Médecine Interne*. 23 : 622-631.

Krizhanovsky, V., Agamy, O., and Naim, M. 2000. Sucrose-stimulated subsecond transient increase in cGMP level in rat intact circumvallate taste bud cell. *Am. J. Phys. Cell Phys.* 279: C120-C125.

Lawson, W.B, Zeidler, A., Rubenstein, A. 1979. Taste detection and preferences in diabetics and their relatives. *Psychosom Med.* 3:219-227

Le Floch, J.P., Le Lievre, G., Labroue, M., Peynegre, R., and Perlemuter, L. 1992. Early detection of diabetic patients at risk of developing degenerative complications using electric gustometry: a five-year follow-up study. *Eur. J. Med.* 1:208-214

Li, X., Staszewski, L., Xu, H., Durick, K., Zoller, M. and Adler, E. 2002. Human receptors for sweet and umami taste. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99: 4692-4696.

Lin, W., y Kinnamon, S.C. 1999. Physiological evidence for ionotropic and metabotropic glutamate receptors in rat taste cells. *J. Neurophysiol.* 82: 2061-2069

Mattes, R.D. 2002. Nutrición y Sentidos Químicos, en *Nutrición en salud y enfermedad*. Shils Maurice E., Olson James A., Shike Moshe, Ross A. C. (Eds.) Mc Graw Hill. Pág. 42 Pág. 765-776

Mattes, R.D. 1997. Physiologic responses to sensory stimulation by food: nutritional implications. *J. Am. Diet. Assoc.* 97: 406-413.

Mattes, R.D. and Cowart, B.J. 1994. Dietary assessment of patients with chemosensory disorders. *J. Am. Diet. Assoc.* 94: 50-56.

Max, M., Shanker, Y.G., Huang, L., Rong, M., Liu, Z., Campagne, F., Weinstein, H., Damak, S. and Margolskee, R.F. 2001. Tas1r3, encoding a new candidate taste receptor, is allelic to the sweet responsiveness locus Sac. *Nat. Genet.* 28: 58-63.

Meyerhof, W. (2005) Elucidation of mammalian bitter taste. *Rev. Physiol, Biochem. Pharmacol.* 154: 37-72.

Miller, S.M. and Naylor, G.J. 1989. Unpleasant taste--aneglected symptom in depression. *J. Affect. Disord.* 17: 291-293.

Montmayeur, J.P., Liberles, S.D., Matsunami, H., and Buck, L.B. 2001. A candidate taste receptor near a sweet taste locus. *Nat. Neurosci.* 4: 492-498.

Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M.K., Feng, L., Ryba, N.J. and Zuker, C.S. 2002. An amino-acid taste receptor. *Nature*, 416: 199-202.

Nelson, G., Hoon, M.K., Chandrashekar, J., Zhang, Y., Ryba, N.J.P. and Zuker, C.S. 2001. Mammalian sweet taste receptor. *Cell*, 106: 381-390.

Nolte M.S., & Karan H.J. 2005. Hormonas pancreáticas y medicamentos usados en el tratamiento de la Diabetes En *Farmacología básica y clínica*. Katzung, B.G. (editor) Manual Moderno Cáp. 41 Pág. 691-712.

Perros P, MacFarlane TW, Counsell C, Frier BM. 1996. Altered taste sensation in newly-diagnosed NIDDM. *Diabetes Care* 19:768-770

Powers-Alvin, C. 2006. Diabetes mellitus. En *Harrison Principios de medicina interna*. Mc Graw Hill. Cáp. 323 Pág. 2367-2383

Sahagún-Flores, J.E., Bravo-Cuellar, A., Celis, A., Hernández-Flores, G. and Orbach-Arbouys, S. 2000. Elevated salt taste detection threshold in subjects with essential arterial hypertension. *Presse médicale*, 29: 1458-1470

Schelling, J.L., Tetreault, L., Lasagnas, L., Davis, M., and Schelling, J.L. 1965. Abnormal taste threshold in diabetes. *Lancet*, 19:508-512.

Scott, K. 2004. The sweet and bitter of mammalian taste. *Curr. Opin. Neurobiol.* 14:423-427.

Stolbova, K., Hahn, A., Benes, B., Andel, M. and Treslova, L. 1999. Gustometry of diabetes mellitus patients and obese patients. *Int. Tinnitus. J.* 5: 135-140.

Toyono, T., Seta, Y., Kataoka, S., Shigemoto, R. and Toyoshima, K. 2002. Expression of the metabotropic glutamate receptor, mGluR4a, in the taste hairs of taste buds in rat gustatory papillae. *Arch. Histol.Cytol.* 65: 91-96.

Van Dam P.S. 2002. Oxidative stress and diabetic neuropathy: pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 18:176-184.

Vinik, A.I., and Mehrabyan, A. 2004. Diabetic neuropathies. *Med. Clin. North. Am.* 88:947-999.

Vinik, A.I., Pittenger, G.L., McNitt, P., and Stansberry, K. B. 2003. Neuropatías diabéticas. En *Diabetes Mellitus fundamentos y clínica*. LeRoith D., Taylor S. I., Olefsky J. M. (Eds.) Mc Graw Hill. Pág. 1131-1180.

Vinik, A.I., and Milicevic, Z. 1996. Recent advances in the diagnosis and treatment of diabetic neuropathy. *The Endocrinologist*, 6:443-461.

Winkler, S., Garg, A.K., Mekayarajjanononth, T., Bakaeen, L.G. and Khan, E. 1999. Expression of the metabotropic glutamate receptor, mGluR4a, in the taste hairs of taste buds in rat gustatory papillae. *J. Am. Den. Asso.* 130:1759-1765.

Yan, W., Sunavala, S., Rosenzweig, S., Dasso, M., Brand, J.G. and Spielman, A.I. (2001) Bitter taste transduced by PLC β_2 dependent rise in IP $_3$ and alpha-gustducin-dependent fall in cyclic nucleotides. *Am. Physiol. Cell Physiol.* 280: C742-C745.

Zhang, Y., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Mueller, K.L., Cook, B., Wu, D., Zuker, C.S. and Ryba, N.J. 2003. Coding of sweet, bitter, and umami taste: different receptor cell sharing similar signaling pathways. *Cell*, 112: 293-301.

Zhao, F.L., Shen, T., Kaya, N., Lu, S.G., Cao, Y., and Herness, S. 2005. Expression, physiological actions, and coexpression patterns of neuropeptide Y in rat taste-bud cells. Proc. Natl. Acad. Sci. 102: 11100-11105.