



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA

“EFECTO DEL L-TRIPTÓFANO SOBRE LOS CORPÚSCULOS
GUSTATIVOS EN LA PÁPILA CALICIFORME EN RATAS
CON DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGO

PRESENTA

P.Q.F.B. ENRIQUE MARTÍNEZ CARRANZA

ASESOR DE TESIS: D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO

COASESOR DE TESIS: D.C. DANIEL GODINEZ HERNÁNDEZ

PARCIALMENTE APOYADO POR CIC-UMSNH.26.2 (2012) Y POR BECANET SUPERIOR 2011
(20110063573).

MORELIA, MICHOACÁN. MAYO DE 2012

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Parcialmente apoyado por CIC-UMSNH.26.2 (2012) y por BECANET SUPERIOR 2011 (20110063573).

DEDICATORIA

A mis Papás, a mi Madre María Guadalupe Carranza Cerda y a mi Padre Enrique Martínez Manríquez. Son quienes me dan fuerza y motivación en todo momento para buscar nuevos caminos aunque las circunstancias sean difíciles. Han sido unos excelentes padres.

A Cecilia, eres la persona que me complementa.

A mis hermanas Lizeth y Érika.

A quien viene en camino, ya te quiero conocer.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, a mis Papás por ese esfuerzo que realizaron diaria y constantemente desde el día que me pensaron para que tuviera la oportunidad de crecer como persona y profesionalmente. Por todos esos consejos, la confianza, por apoyarme en todas las circunstancias. Gracias a ustedes soy Químico Farmacobiólogo.

A Cecilia por animarme en momentos difíciles, por darme su corazón. Por apoyarme emocionalmente para seguir preparándome, corregirme y quererme.

Al D.C. Rosalío Mercado Camargo, por darme la oportunidad de recibir formación en el laboratorio de Neurobiología y de iniciar en mi el gusto por la investigación. Por su apoyo y sus consejos.

Al D.C. Daniel Godínez Hernández, por su interés en formar Químicos de calidad.

A mis sinodales Q.F.B. Armida Sánchez Gallegos, E.H.D.L. Judith Esmeralda Prieto Sierra, Q.F.B. Armando Ordaz Rodríguez, D.C. Rafael Ortiz Alvarado y D.C. Marcia Yvette Guauttereau Torres. Gracias por el apoyo y sus enseñanzas a lo largo de la carrera.

A mis padrinos Q.F.B. Silvia Selene Lázaro Cerda y Q.F.B. José Ángel García Gómez por darme oportunidad de iniciarme en uno de los campos de la carrera, por enseñarme y confiar en mi.

A mis compañeros del laboratorio de Neurobiología Omar, Gustavo, Roberto, Susana, Gaby, Mayra, Jaime, Blanca.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por recibirme entre sus aulas y laboratorios y brindarme la formación de Q.F.B.

Es conocido que la materia no se crea ni se destruye, sólo se transforma. Ustedes con reactivos como su esfuerzo, dedicación, apoyo, confianza, con consejos, y catalizadores como su alegría y entusiasmo a temperatura oscilante entre 0 y 35° C y un tiempo de reacción de 23 años o más, transformaron a su hijo en Químico Farmacobiólogo. ¡Gracias Papás!

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	I
CONTENIDO.....	1
ÍNDICE DE FIGURAS.....	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	4
LISTA DE ABREVIATURAS.....	5
I. RESUMEN.....	7
II. ABSTRACT.....	8
III. INTRODUCCIÓN.....	9
III.1 DIABETES MELLITUS.....	9
III.2 DIABETES MELLITUS TIPO 1 (DM1).....	10
III.2 DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2).....	11
III.3 DIABETES MELLITUS GESTACIONAL.....	12
III.4 OTROS TIPOS ESPECÍFICOS DE DIABETES.....	13
III.5 DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL (DME).....	13
IV. SÍNTESIS Y SECRECIÓN DE INSULINA.....	15
IV.1 SECRECIÓN DE INSULINA.....	16
IV.2 LAS COMPLICACIONES DE LA DIABETES Y PROBLEMAS RELACIONADOS.....	17
IV.2.1 Complicaciones agudas.....	17
IV.2.2 Complicaciones crónicas.....	18
IV.3 ALTERACIONES DE LA PERCEPCIÓN GUSTATIVA EN LA DIABETES MELLITUS.....	18
V. SISTEMA GUSTATIVO.....	19
V.1 Los mecanismos neurofisiológicos de la percepción del sabor.....	19
V.2 ORGANIZACIÓN NEUROANATÓMICA Y FUNCIONAL DEL SISTEMA GUSTATIVO.....	20

V.3 ASPECTOS MOLECULARES DE LA DETECCIÓN DEL SABOR.....	25
V.4 MECANISMOS MOLECULARES DE LA DETECCIÓN DE LOS SABORES SALADOS Y ÁCIDOS.....	27
V.5 MECANISMO MOLECULAR DE LA DETECCIÓN DE LAS MODALIDADES DULCE Y UMAMI.....	29
V.6 MECANISMO MOLECULAR DE LA DETECCIÓN DE LA MODALIDAD AMARGA	30
V.7 COMUNICACIÓN CELULAR EN LOS CORPÚSCULOS GUSTATIVOS	31
VI. SEROTONINA Y SISTEMA SEROTONINÉRGICO.....	32
VI.1 Síntesis de Serotonina.....	32
VI.2 SEROTONINA Y SISTEMA GUSTATIVO.....	36
VII. HIPÓTESIS	38
VIII. OBJETIVO GENERAL.....	38
IX. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
X. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
X.1 ANIMALES.....	39
X.2 GRUPOS EXPERIMENTALES	39
X.3 INDUCCIÓN DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL	39
X.4 PESO Y CONSUMO DE ALIMENTO.....	39
X.5 CONTEO DE CORPÚSCULOS GUSTATIVOS	40
X.6 ANÁLISIS DE LA MORFOLOGÍA.....	40
X.7 ADMINISTRACIÓN DE L-TRIPTÓFANO	40
X.8 ANÁLISIS DE RESULTADOS	40
XI. RESULTADOS.....	41
XI.1 CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE.....	41
XI.2 PESO CORPORAL	42
XI.3 CONSUMO TOTAL DE AGUA.....	43

XI.4 CONSUMO TOTAL DE ALIMENTO.....	44
XI.5 NÚMERO DE CORPÚSCULOS GUSTATIVOS.....	45
XI.6 LONGITUD DE LA PAPILA	46
XI.7 AMPLITUD DE LA TRINCHERA	47
XI.8 CORTES DE LA PAPILA CALICIFORME EN LOS DIFERENTES GRUPOS	48
XII. DISCUSIÓN.....	50
XIII. CONCLUSIÓN.....	53
XIV. BIBLIOGRAFÍA.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

1.- Organización neuroanatómica del sistema gustativo en mamíferos.....	21
2.- Estructura de las células gustativas.....	22
3.- Organización estructural de las células gustativas en la lengua.....	23
4.- Mecanismos moleculares de la transducción de la información gustativa.....	26
5.- La transducción sensorial gustativa.....	27
6.- Esquema de la biosíntesis de la serotonina a partir del triptófano.....	34
7.- Concentración de glucosa promedio durante experimentación.....	41
8.- Peso de las ratas al inicio y final del tratamiento.	42
9.- Consumo de agua por día, por grupo.....	43
10.- Alimento consumido diariamente por grupo.....	44
11.-Número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme.....	45
12.- Longitud de la papila caliciforme.....	46
13.- Amplitud de la trinchera de la papila caliciforme de rata.....	47
14.- Papila gustativa caliciforme de rata control.....	48
15.- Papila caliciforme de una rata con tratamiento de L- triptófano sin DME.....	48
16.- Papila caliciforme de una rata con DME.....	49
17.- Papila caliciforme de rata con DME y tratamiento de L-triptófano.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

1.- Diagnóstico de Diabetes Mellitus mediante determinación glucémica.....	14
2.- Agentes químicos utilizados en la inducción de la Diabetes Mellitus.....	15
3.- Clasificación de los receptores serotoninérgicos.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	5-hidroxitriptamina o serotonina
5-HT _(n)	receptores serotoninérgicos
ACh	acetilcolina
ADN	ácido desoxirribonucleico
AMPc	Monofosfato de adenosina cíclico
ARN total	ácido ribonucleico total
ARNm	ácido ribonucleico mensajero
ATP	Trifosfato de adenosina
BHE	Barrera hematoencefálica
Cbp	cuanto baste para
CG	Células gustativas
D.E.	Desviación estándar
dL	decilitro
DLAA	Descarboxilasa de aminoácidos aromáticos
DM	Diabetes Mellitus
DMID	Diabetes Mellitus Insulino Dependiente
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DME	Diabetes mellitus experimental
DMG	Diabetes mellitus Gestacional
g	gramo
GPCR	Receptores acoplados a proteínas G
GTP	Guanosin trifosfato
h	horas
i.p.	vía intraperitoneal

Kg	kilogramo
L-5-HTP	L-5-hidroxitriptófano
mg	miligramos
mL	mililitro
mM	milimolar
NaCl	Cloruro de sodio
°C	grado Celsius
OD	densidad óptica
PAF	Paraformaldehído
PBS	Buffer salino de fosfatos
PCR	reacción en cadena de la polimerasa
PKA	proteína quinasa A
RNasa	ribonucleasa
RT	transcripción reversa
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Sistema Nervioso Periférico
STZ	estreptozotocina
TA	temperatura ambiente
TPH	Triptófano hidroxilasa
U	unidad
UV	ultravioleta
X	media aritmética
μl	microlitro

I. RESUMEN

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica caracterizada por hiperglucemia crónica. Se han reportado cambios en la percepción gustativa en pacientes con diabetes mellitus. El gusto es un sentido vital para prevenir el consumo de alimentos tóxicos, así como la búsqueda de nutrientes. La sensación del gusto es detectado en células gustativas que se agrupan en corpúsculos gustativos localizados en las papilas gustativas que son estructuras especializadas en la cavidad oral. En las papilas gustativas se ha demostrado la presencia de serotonina y de los receptores serotoninérgicos (5-HT_{1A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₃). La hiperglucemia crónica se asocia con daño a largo plazo, disfunción y fallo de diversos órganos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón, páncreas, vasos sanguíneos, el cerebro y el sistema gustativo. El aminoácido L- triptófano es el precursor de la serotonina y puede obtenerse de la dieta diaria. Se ha demostrado la disminución de la concentración de serotonina en pacientes con Diabetes Mellitus, lo que ocasiona problemas como los anteriormente mencionados, así como su síntesis. Se desconoce hasta el momento si al administrar vía intraperitoneal el aminoácido precursor de la serotonina en ratas con DME inducidas con Estreptozotocina pudiera haber protección de la papila caliciforme y evitar, al elevar la concentración de serotonina, la degeneración del sistema gustativo ocasionado por la hiperglucemia que conlleva a la neuropatía periférica. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del L- trp. sobre la morfología y número de corpúsculos de la papila caliciforme en ratas con DM experimental. Se indujeron ratas diabéticas con Estreptozotocina en dosis única de 55mg/Kg vía ip., posteriormente se dio inicio al tratamiento con L-triptófano en dosis de 100mg/Kg al día por cinco días. Durante el tratamiento se obtuvieron datos como glucemia diaria, consumo de alimento, agua, peso inicial y final. Se procedió a sacrificar los animales y se obtuvieron las papilas caliciformes, las cuáles se observaron mediante cortes y se obtuvo como resultado una disminución en el número de corpúsculos gustativos en las ratas con DME y DME con tratamiento del aminoácido precursor de la serotonina, aunque en estas últimas la reducción fue un poco menor, se observó también una reducción en la amplitud y longitud de la misma. En cuanto a la concentración de glucosa, se observó marcada diferencia entre grupos de DME y los no inducidos. Estos resultados nos sugieren que al haber mayor concentración de serotonina puede haber cierta protección del sistema gustativo en la Diabetes Mellitus en una etapa aguda de la enfermedad.

Palabras clave: Serotonina, L- triptófano, Papila caliciforme, Corpúsculo gustativo, Diabetes mellitus.

II. ABSTRACT

Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by chronic hyperglycemia. There are reports about changes in taste perception in patients with diabetes mellitus. The taste is a vital way to prevent the consumption of toxic food, and the search of nutrients. The sense of taste is detected in taste cells that are grouped in taste buds located in the taste buds are specialized structures in the oral cavity. In taste buds have shown the presence of serotonin and serotonin receptors (5-HT1A, 5-HT2B and 5-HT3). Chronic hyperglycemia is associated with long-term damage, dysfunction and failure of various organs, especially the eyes, kidneys, nerves, heart, pancreas, blood vessels, brain, and the taste system. The amino acid L-tryptophan is the precursor of serotonin and can be obtained from the diet. It has been shown to reduce the concentration of serotonin in Patients with Diabetes Mellitus, which causes problems as mentioned above, and their synthesis. Is unknown so far whether administered intraperitoneal to the amino acid precursor of serotonin in rats with streptozotocin-induced DM could be protection of the papilla and calyx avoided by raising the concentration of serotonin, the gustatory system degeneration caused by hyperglycemia resulting peripheral neuropathy. The aim of the present work was to determine the effect of L-Trp. on the circumvallate papillae of rats with experimental diabetes mellitus (EDM). EDM was induced with a single dose of streptozotocin introduced i.p. (55mg/Kg). The experimental group was administered with L-tryptophan in doses of 100mg/kg per day for five days. During treatment, blood glucose data were obtained as daily consumption of food, water, initial and final weight. We proceeded to slaughter the animals and obtained the papillae, which were observed by the courts and obtained results in a decrease in the number of taste buds in rats with DME and treatment of the amino acid precursor of serotonin, although latter reduction was slightly lower, there was also a reduction in the amplitude and the same. As to the glucose concentration was observed significant difference between groups of DME and induced. These results suggest that having the highest concentration of serotonin may have some protection from the taste system in diabetes mellitus in an acute stage of the disease.

Key words: Serotonin, L-Tryptophan, circumvallate papillae, taste buds, Diabetes mellitus.

III. INTRODUCCIÓN

III.1 DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus (DM) es un problema grave de salud pública, debido a que ha aumentado su incidencia y prevalencia. En México, el registro realizado por la Encuesta Nacional de Salud 2000 estimó que existen alrededor de 3.6 millones de mexicanos mayores de 20 años que padecen DM; con prevalencia del 7.5%, ligeramente mayor en las mujeres que en los hombres a partir de los 50 años. En 1980 ocupó el noveno lugar como causa de muerte, para colocarse a finales de los 90, en el tercero, actualmente es la primera causa de muerte en nuestro país (Díaz et al., 2004). Las alarmantes cifras de pacientes con DM se asocian a un cambio en la alimentación y disminución de la actividad física cotidiana, esto contribuye a un prevalente incremento de las personas que desarrollan obesidad que es un factor importante para desarrollar DM (Bottino and Trucco, 2005).

La Diabetes Mellitus es una enfermedad que se caracteriza por hiperglucemia que resulta de la acción deficiente de la insulina que puede deberse a una inadecuada secreción de insulina y/o una respuesta disminuida de los tejidos a la insulina en uno o más puntos en la vía de acción de esta hormona. Existen diversos procesos patogénicos en el desarrollo de la diabetes que causan deficiencias de insulina, entre los que se encuentran, la destrucción autoinmune de las células β del páncreas y resistencia a la insulina en los tejidos, lo cual causa anomalías en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. Los síntomas de la hiperglucemia en la DM incluyen poliuria, polidipsia, polifagia, se presenta pérdida de peso y visión borrosa. Las consecuencias agudas son hiperglucemia con cetoacidosis o síndrome hiperosmolar no cetónico y entre las consecuencias crónicas se encuentran la retinopatía con pérdida en la visión, nefropatía que conduce a insuficiencia renal, neuropatía periférica con riesgo a perder sensibilidad en los miembros distales, con complicaciones como pie diabético y neuropatía autonómica que puede causar daños gastrointestinales, genitourinarios y cardiovasculares. (American Diabetes Association, 2003).

El daño a los tejidos que provoca la hiperglucemia de la DM se puede explicar por la glicosilación de proteínas como la hemoglobina (Wautier y Guillausseau, 2001), el incremento en la producción de polioliol, la hiperactivación de la PKC y la producción de especies reactivas de oxígeno (Díaz-Flores, et al., 2004).

En 1997 el comité de expertos de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) propuso la siguiente clasificación de la DM que hasta el momento es la más aceptada.

- I.- Diabetes Mellitus Tipo 1
- II.- Diabetes Mellitus Tipo 2
- III.- Diabetes Mellitus Gestacional
- IV.- Otros tipos específicos de diabetes

En los Estados Unidos, hay 20.8 millones de personas, o el 7% de la población, que sufren de todos tipos diabetes. Si bien ya se han diagnosticado con diabetes alrededor de 14,6 millones de personas, desafortunadamente 6,2 millones (o casi un tercio) no saben que padecen la enfermedad.

Para determinar si un paciente tiene diabetes latente o diabetes, los profesionales de la salud realizan una prueba de glucosa en el plasma en ayunas (GPA) o una prueba oral de tolerancia a la glucosa (POTG). Con cualquiera de esas dos pruebas, puede diagnosticarse la diabetes latente o la diabetes. La American Diabetes Association recomienda la prueba de GPA porque es más económica, rápida y fácil de realizar.

Si en la prueba de GPA se detecta un nivel de glucosa en la sangre en ayunas entre 100 y 125 mg/dl, significa que la persona tiene una diabetes latente. Una persona con un nivel de glucosa en la sangre en ayunas de 126 mg/dl o superior padece diabetes.

III.2 DIABETES MELLITUS TIPO 1 (DM1)

Esta variedad de DM corresponde a entre 5 y 10% de los casos de este síndrome. Es la variedad más frecuente de DM en niños y adolescentes y era conocida anteriormente como Diabetes insulino dependiente o Diabetes infantil. Este tipo de diabetes resulta de la destrucción autoinmune de las células β del páncreas. Se distinguen dos subclases, una variedad autoinmune y otra idiopática (Powers, 2006).

En estas personas, la enfermedad se caracteriza por el comienzo repentino de síntomas intensos, la necesidad de administrar insulina exógena para conservar la vida y la tendencia a la cetosis incluso en estado basal. En el adulto, la destrucción de las células beta es un poco más lenta que en los niños, y el funcionamiento de las células beta que quedan basta para prevenir la cetoacidosis durante varios años. Como se sabe, la diabetes tipo 1 es consecuencia de destrucción de células beta,

con desaparición casi completa de la secreción de insulina y deficiencia insulínica absoluta.

En este tipo de DM el rango de destrucción de las células β del páncreas es muy variable. Algunos pacientes, particularmente niños y adolescentes, pueden presentar cetoacidosis como primer síntoma de la DM1, otros pueden presentar una hiperglucemia leve que puede cambiar rápidamente a severa y/o cetoacidosis en presencia de infecciones. Los pacientes eventualmente dependen de insulina para sobrevivir, comúnmente aparece en etapas tempranas de la vida pero puede darse en cualquier momento, incluso en etapa senil. La destrucción autoinmune de las células β tiene múltiples predisposiciones genéticas y se pueden relacionar con factores ambientales que permanecen pobremente definidos.

Entre los indicadores de destrucción autoinmunitaria se encuentran anticuerpos contra las células de los islotes y la insulina, descarboxilasa de ácido glutámico (GAD) y fosfatasas de tirosina IA-2 e IA-2 β .

La diabetes tipo 1 también comprende los casos en que no se conocen las causas de la destrucción de las células beta, pero al parecer no es regida por mecanismos inmunitarios.

En la variedad idiopática los pacientes presentan también insulinopenia y son propensos a cetoacidosis pero no existe evidencia autoinmune. Sólo una pequeña minoría de los pacientes con DM1 cae en esta variedad de los cuales la mayoría son africanos o asiáticos (American Diabetes Association, 2003).

III.2 DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2)

Anteriormente conocida como diabetes no insulino dependiente o diabetes del adulto, DM2 es la clasificación que se usa para individuos que presentan resistencia a la insulina o una deficiencia parcial de ésta. Durante los primeros años de padecerla los pacientes no requieren insulina para sobrevivir. Existen diferentes posibles causas para la DM2 y aunque estas no se han determinado, se sabe que en la DM2 no existe destrucción autoinmune de las células β , y los pacientes que la padecen no poseen ninguna otra de las causas posibles de la DM1 ni de alguna otra clasificación. La mayoría de los pacientes con DM2 son obesos y la obesidad en si causa cierto grado de resistencia a la insulina (Powers, 2006). El riesgo de padecer este tipo de diabetes incrementa con la edad, la modificación de hábitos alimenticios, la inactividad física que como se mencionó anteriormente conllevan a la obesidad, esto

se puede observar claramente ya que entre el 50 y 90% de pacientes con diabetes de tipo 2 son obesos (American Diabetes Association, 2003).

La etiología de la diabetes tipo 2 es heterogénea, puesto que se han identificado una gran variedad de estilos de vida y elementos ambientales que constituyen factores de riesgo en este trastorno. 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 Cocksackie (Powers, 2006).

III.3 DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

La diabetes mellitus gestacional (DMG) se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa que sea detectada durante el embarazo (American Diabetes Association, 2003) y consiste en la presencia de hiperglucemia en ayuno o intolerancia a la glucosa moderada. Las mujeres diabéticas que se embarazan no se incluyen en esta clase, la frecuencia de la DMG es mayor conforme avanza la edad, en las mujeres con sobrepeso y en las razas o etnias de África o Asia. El factor aislado más compatible con una tolerancia alterada a la glucosa oral durante el embarazo es la edad. Las mujeres con DMG tienen mayor riesgo de desarrollar diabetes de tipo 2 después del embarazo (Harris, 2003). Una mujer que padeció DMG puede contrario a lo anteriormente mencionado, volver a los valores promedio de glucosa (antes la DMG).

Una posibilidad para la etiología de la DMG es que el embarazo crea un estrés metabólico que simplemente lleva a una mujer con DM1 compensada o tipo 2 a un estado de hiperglucemia descompensada. El principal riesgo que esto implica es la muerte fetal.

La diabetes gestacional se manifiesta en la madre en los últimos meses del embarazo, después que el cuerpecito del bebé esta completamente formado pero mientras el bebé esta creciendo. Debido a esto, la diabetes gestacional no causa defectos de nacimiento como los que se observan en las madres con diabetes antes del embarazo.

Sin embargo, la falta de tratamiento o la falta de control de la diabetes gestacional puede afectar a su bebé. Cuando una mujer tiene diabetes gestacional su páncreas trabaja demasiado para producir insulina, pero la insulina no disminuye los niveles de glucosa en la sangre. Si bien la insulina no pasa por la placenta, la glucosa y otros nutrientes lo hacen. Por lo tanto, demasiada glucosa en la sangre pasa por la placenta dando al bebé niveles elevados de glucosa. Esto causa que el páncreas del bebé produzca más insulina para descartar la glucosa en la sangre. Como el bebé recibe más energía de la que necesita para el crecimiento, el exceso de energía se convierte en grasa.

El exceso de grasa puede llevar a la macrosomía, o sea un bebé “gordo”. Los bebés con macrosomía enfrentan problemas de salud, incluyendo lesión de los hombros al nacer. Debido al exceso de insulina producido por el páncreas del bebé, los recién nacidos pueden presentar niveles bajos de glucosa en la sangre y corren un riesgo más alto de complicaciones con la respiración. Los bebés con exceso de insulina se convierten en niños con riesgo de obesidad y adultos con riesgo de desarrollar la diabetes tipo 2.

III.4 OTROS TIPOS ESPECÍFICOS DE DIABETES

Esta variedad comprende un grupo heterogéneo que abarca los casos de diabetes en que las causas se establecen o por lo menos se conocen parcialmente. Estas causas comprenden defectos genéticos conocidos que alteran el funcionamiento de las células β o la acción de la insulina, trastornos del páncreas exócrino, endocrinopatías, diabetes inducida por medicamentos o químicos, infecciones, formas no comunes de diabetes autoinmune y otros síndromes genéticos asociados con diabetes (American Diabetes Association, 2003).

III.5 DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL (DME)

Los modelos animales han sido ampliamente utilizados en la investigación de la DM, desde 1922 se han usado una variedad de animales para la implementación de DME. Los modelos animales de DME han sido la clave para el desarrollo de los agentes terapéuticos orales, tratamiento laser para la retinopatía diabética, trasplante de tejido pancreático y la utilización de la bomba de insulina para liberar gradualmente la misma. Estos modelos han contribuido de gran manera al estudio de

la DM y han dado la oportunidad de estudiar los factores genéticos y ambientales que pueden influir en el desarrollo de ésta enfermedad, en el establecimiento de sus complicaciones y también nos han dado información de cómo manejar y tratar la DM en humanos. La mayoría de los experimentos se llevan a cabo en ratas; sin embargo, otras especies son utilizadas, incluyendo conejos, ratas, vacas, perros y ovejas. Los modelos animales de diabetes pueden ser espontáneos o usando sustancias químicas, cirugías o manipulación genética, cada uno de los modelos tiene ventajas y desventajas pero todos son usados de una manera distinta para apoyar la investigación acerca de la DM (Chatzigeorgiou, 2009).

La inducción de la diabetes se ha logrado por medio de diversas técnicas experimentales. Las primeras aproximaciones de modelos de DM fueron que tras la extirpación del páncreas a animales, estos presentaban los signos típicos de la diabetes, tales como, poliuria y polidipsia, por lo que la extirpación del páncreas se ha propuesto como estrategia experimental relativamente simple para el estudio de los efectos de hiperglucemia en un animal. Sin embargo, existen además otras complicaciones en los que a los animales que se les ha extirpado el páncreas derivadas de la falta de las otras hormonas que se producen y excretan en el páncreas. Existen también, métodos no quirúrgicos para inducir hiperglucemia por daño al páncreas, entre los cuáles se encuentran la administración de toxinas tales como la Estreptozotocina (STZ) y aloxan. En ratas y ratones la STZ, la aloxana y el vacor interfieren con el metabolismo celular (inhibiendo la síntesis de ADN específicamente en la célula β) y como resultado hay una destrucción de la misma. El uso de agentes químicos para producir diabetes, permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción de un estado diabético (Chatzigeorgeiou, 2009; Rees y Alcolado 2005; Ramos, 1994).

	GLUCOSA EN AYUNO	GLUCOSA CASUAL	CURVA DE TOLERANCIA 2hr 75g
NORMAL	<100 mg/dl		<140 mg/dl
PREDIABETES	100 - 125 mg/dl (glucosa en ayuno alterada)		140 - 199 mg/dl (alteración de la tolerancia a la glucosa)
DIABETES	>126 mg / dl	>200 mg / dl con síntomas	>200 mg / dl

American Diabetes Association. Diabetes Care 31:555,2008

Tabla 1.- Diagnóstico de Diabetes Mellitus mediante determinación glucémica.

Fármaco	Referencia
Aloxano	Huegues et al., 2001
Estreptozotocina	Huegues et al., 2001
Vacor	Rees y Alcolado., 2005
Ditizona	Rees y Alcolado., 2005
8-hidroxiquinolina	Rees y Alcolado., 2005

Tabla 2.- Agentes químicos utilizados en la inducción de DME. Tomada de Juárez, (2008).

IV. SÍNTESIS Y SECRECIÓN DE INSULINA

El páncreas es la pieza clave en la regulación del metabolismo, es un órgano glandular, ubicado en el abdomen, detrás del estómago, adherido al intestino delgado y al bazo. Dentro del páncreas hay pequeños grupos de células llamados Islotes de Langerhands. El Islote de Langerhans está compuesto de cuatro tipos diferentes de células, cada una de las cuales sintetiza y secreta una hormona distinta: insulina en la célula β (beta), glucagón en la célula α (alfa), somatostatina en la célula δ (delta), y polipéptido pancreático en la célula PP o F. Las células β conforman hasta 60 a 80% del islote y constituyen su centro (Goodman & Gilman., 2003), en estas células se sintetiza y secreta la insulina. La principal función de la insulina es su efecto hipoglucémico, aunque también interviene en el transporte de aminoácidos y de electrolitos. Se sintetiza en el Retículo endoplásmico de las células β y en el Complejo de Golgi se almacena en vesículas para ser expulsada al exterior por exocitosis (Malgor y Valsecia., 2000).

Las células β fabrican insulina en etapas, la primera etapa es la producción de la proinsulina. La proinsulina es una molécula formada por una cadena proteínica de 81 aminoácidos, que es precursora de la insulina. Las células β del páncreas procesan la proinsulina convirtiéndola en insulina por la sustracción enzimática del péptido C, que es una estructura de 30 aminoácidos que conecta las cadenas A y B de 21 y 30 aminoácidos respectivamente (Goodman & Gilman., 2003). Ambas cadenas están conectadas por puentes disulfuro y un tercero sólo pliega a la cadena A.

El péptido C no tiene ninguna función conocida. Sin embargo, se segrega en las mismas cantidades que la insulina y, de hecho, circula en la sangre más tiempo que la insulina, por lo que es un preciso marcador cuantitativo del funcionamiento de las células β . Así, niveles normales de péptido C indican una secreción relativamente normal de insulina del páncreas.

Las células Beta del páncreas controlan el nivel de glucosa. En primer lugar, sirven como un sensor de los cambios de nivel de glucosa en sangre y, después segregan la insulina necesaria para regular la captación de carbohidratos y mantener los niveles de glucosa dentro de un margen estrecho.

La insulina tiene un profundo efecto sobre el metabolismo de los carbohidratos, el metabolismo proteico, mineral y el metabolismo lipídico (Malgor y Valsecia., 2000). Los desajustes en la acción insulínica tienen amplios efectos sobre órganos y tejidos. Los tejidos blanco de importancia para la regulación de la homeostasis de glucosa por la insulina son hígado, músculo y grasa.

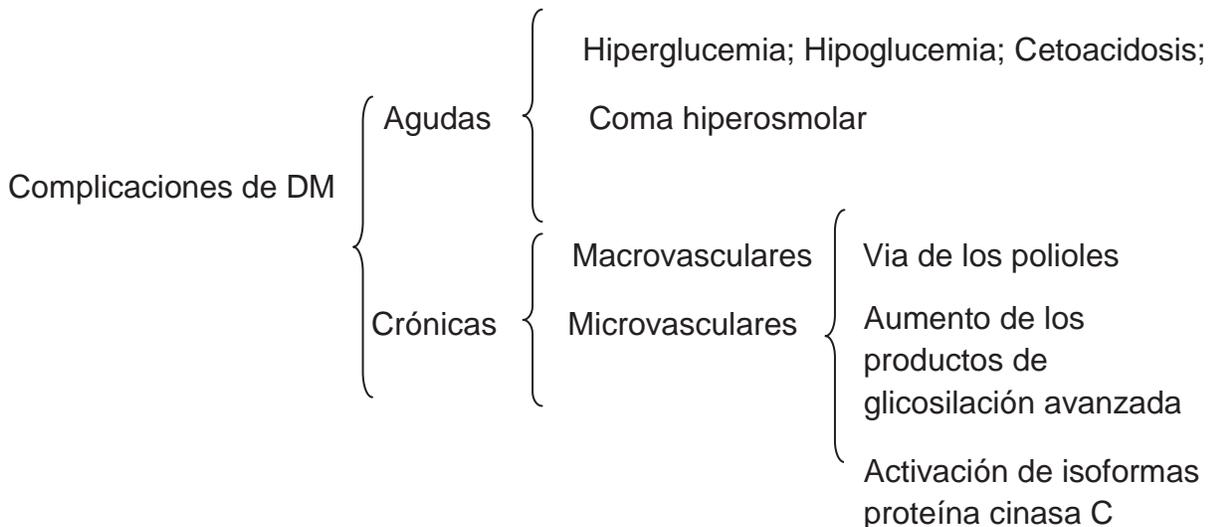
IV.1 SECRECIÓN DE INSULINA

La glucosa es el principal estímulo para la secreción de insulina en seres humanos y es un factor permisivo esencial en los efectos de muchos secretagogos (Matschinsky., 1996). La glucosa entra en la célula β mediante transporte facilitado, que está mediado por GLUT₂, un tipo específico de transportador de glucosa. A continuación, la glucocinasa lleva a cabo fosforilación del azúcar, aumentando así los niveles de ATP. El aumento de ATP causa el cierre en los canales de K, lo que produce despolarización de la membrana celular y apertura de canales de calcio, y por tanto, un aumento en la concentración de calcio intracelular, lo que estimula la secreción de insulina almacenada en el interior de la célula (Newgard and Johnson., 2000).

La insulina pancreática se segrega directamente en la circulación portal y es transportada al hígado, que es el órgano central de la homeostasis de la glucosa, donde se degrada el 50% de la insulina. La circulación periférica transporta entonces la insulina hasta las células del cuerpo y finalmente al riñón, donde se degrada otro 25% y se produce la excreción.

IV.2 LAS COMPLICACIONES DE LA DIABETES Y PROBLEMAS RELACIONADOS

La hiperglucemia es considerada en la actualidad como un factor casual clave en el desarrollo de las complicaciones vasculares diabéticas pudiendo producir sus efectos nocivos por múltiples vías. Las complicaciones de la diabetes mellitus pueden ser divididas en dos grupos:



IV.2.1 Complicaciones agudas

Son situaciones reversibles y remediables generalmente, que pueden presentarse en cualquier momento de la evolución de la diabetes, incluso desde su comienzo. Las más importantes son la hipoglucemia, hiperglucemia, cetoacidosis y coma hiperosmolar.

- Hipoglucemia: es la complicación más frecuente de la diabetes mellitus en personas tratadas con hipoglucemiantes orales y, sobre todo, con insulina.
- Hiperglucemia: es la elevación de la glucosa por encima de los niveles normales pre y postprandiales.

- Cetoacidosis: se caracteriza por hiperglucemia, cetosis (acumulación de cuerpos cetónicos derivados del aumento de la oxidación de ácidos grasos), acidosis metabólica y deshidratación.
- Coma hiperosmolar: generalmente aparece en mayores de 50 años con diabetes tipo 2, presenta deshidratación intensa, hiperglucemia extrema, hiperosmolaridad (alta concentración de solutos en sangre) y ausencia de cetoacidosis.

IV.2.2 Complicaciones crónicas

Estas complicaciones pueden ser de dos tipos: microvasculares y macrovasculares, según afecten a arterias de menor o mayor calibre o diámetro. Entre las más destacadas están la retinopatía, nefropatía y neuropatía.

Las personas con diabetes comúnmente desarrollan daño temporal o permanente en el tejido nervioso. Las lesiones en los nervios son causadas por una disminución del flujo sanguíneo y por los altos niveles de glucosa en la sangre y tiene mayores posibilidades de desarrollo si los niveles de glucosa no se controlan. Estas neuropatías pueden causar presión sanguínea baja, diarrea, estreñimiento, impotencia sexual y otros síntomas (Hornick y Aron., 2008).

Los factores de riesgo para una neuropatía diabética son obesidad, falta de actividad física, edad, herencia, síndrome de ovarios poliquísticos, hipertensión arterial y dislipidemia, DMG o antecedentes de recién nacido con un peso mayor a 4 Kg. (Kousta y Franks., 2006).

IV.3 ALTERACIONES DE LA PERCEPCIÓN GUSTATIVA EN LA DIABETES MELLITUS

Dentro de las manifestaciones tempranas de la diabetes, diversos autores han reportado una pérdida de sensibilidad a los estímulos gustativos (disgeusia). El hecho de dicha deficiencia está correlacionada con el grado de severidad de la neuropatía periférica, sugiere que la disgeusia en la diabetes es el resultado de la degeneración de las fibras gustativas y/o atrofia de las papilas gustativas (Le Floch et al., 1992). Los pacientes diabéticos presentan alteraciones en el umbral del sabor de la glucosa. Esto indica una alteración general en 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., 1999).

V. SISTEMA GUSTATIVO

V.1 Los mecanismos neurofisiológicos de la percepción del sabor.

El sabor corresponde al ensamblaje de las sensaciones percibidas durante la masticación de los alimentos. Desde el punto de vista fisiológico, este concepto, abarca una noción compleja, en el sentido común esto se llama “el sabor de un alimento”. 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 (picante) de los alimentos. A nivel neurofisiológico, la percepción del sabor es la resultante de la estimulación combinada de tres sistemas sensoriales: el olfato, el gusto y el tacto que junto con el oído y la visión, constituyen los cinco sentidos de los que disponen los mamíferos para tener una representación lo más fiel posible del ambiente. 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. Cabe señalar, que el gusto y la olfacción contribuyen igualmente a la digestión en el inicio de las secreciones a nivel gastrointestinal (Mattes, 1997), y están íntimamente asociados con la selección y el rechazo de los alimentos dañinos y potencialmente tóxicos (Dethier, 1993; Doty, 1993). La olfacción y la gustación al parecer juegan un papel fisiopatológico más vasto que el asociado a la digestión. En efecto, 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 et al., 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 et al., 2000). De la misma manera, la elevación del umbral gustativo es frecuente en los pacientes atendidos de diabetes de tipo 1 y 2 (Le Floch et al., 1989, 1990; Stolbova et al., 1999). 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 et al., 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 et al., 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 et al., 1989) y, por otra, un estado depresivo es frecuente en los pacientes disgeúsicos (Deems et al., 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 et al., 1980).

La percepción de las moléculas odorantes y sápidas comienza en células receptoras especializadas a partir de las cuales la información, vía diversos circuitos neuronales, es transmitida al cerebro. En el gusto, la detección de las moléculas sápidas se efectúa gracias a las células gustativas donde la estimulación pone en juego una red neuronal que se extiende desde la lengua, el paladar y la faringe hasta la extremidad inferior de la corteza parietal. Las redes neuronales utilizadas por los sistemas olfativos y gustativos son pues diferentes. Sin embargo estos dos sistemas trabajan principalmente en sinergismo. Es el caso particular durante la detección del sabor de un alimento, el cual es, de hecho, la resultante de la activación combinada de los receptores olfativos y gustativos por los aromas y las moléculas sápidas liberadas durante la masticación, respectivamente.

V.2 ORGANIZACIÓN NEUROANATÓMICA Y FUNCIONAL DEL SISTEMA GUSTATIVO

En los mamíferos, la detección y la percepción de las moléculas sápidas ponen en juego una red neuronal que se extiende desde la lengua, el paladar, la faringe y la parte superior del esófago hasta la extremidad inferior de la corteza parietal pasando por el núcleo del tracto solitario y núcleo posterior del tálamo, dos estructuras localizadas a nivel del tronco cerebral (Figura 1). El primer elemento de este circuito de transmisión, es un tipo de células epiteliales especializadas denominadas células gustativas (Figura 2), que se agrupan en corpúsculos formando las papilas gustativas (Guyton, 1996; Buck, 2000) (Figura 3).

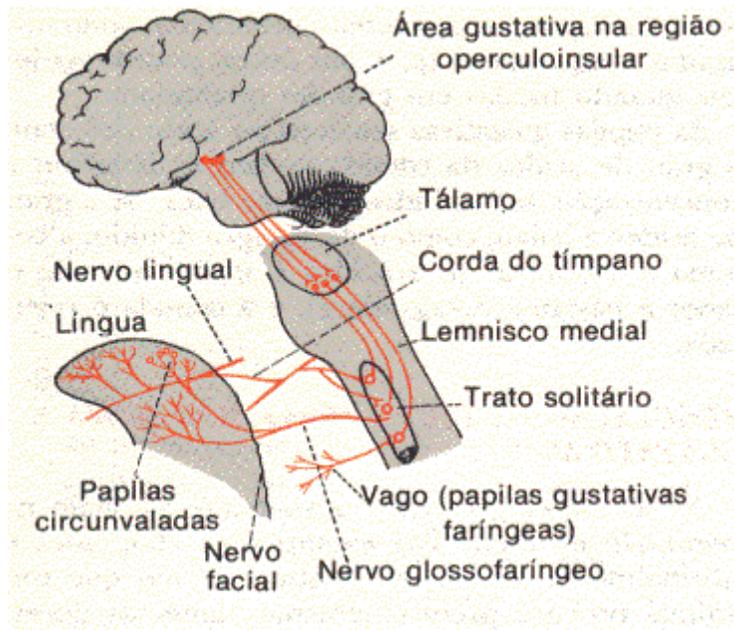


Figura 1. Organización neuroanatómica del sistema gustativo en mamíferos. Redes neuronales implicadas en la detección e integración de las señales gustativas a nivel del epitelio lingual y de la faringe. La inervación por los nervios craneanos VII (facial), IX (glossofaríngeo) y X (vago) permite transportar la información gustativa proveniente de las papilas gustativas a la corteza gustativa, pasando por el núcleo del tracto solitario, a nivel del tallo cerebral, y núcleo ventral posterior del tálamo. GUYTON, A.C. Fisiología Humana. 5ª ed., Rio de Janeiro, Ed. Interamericana, 1981.

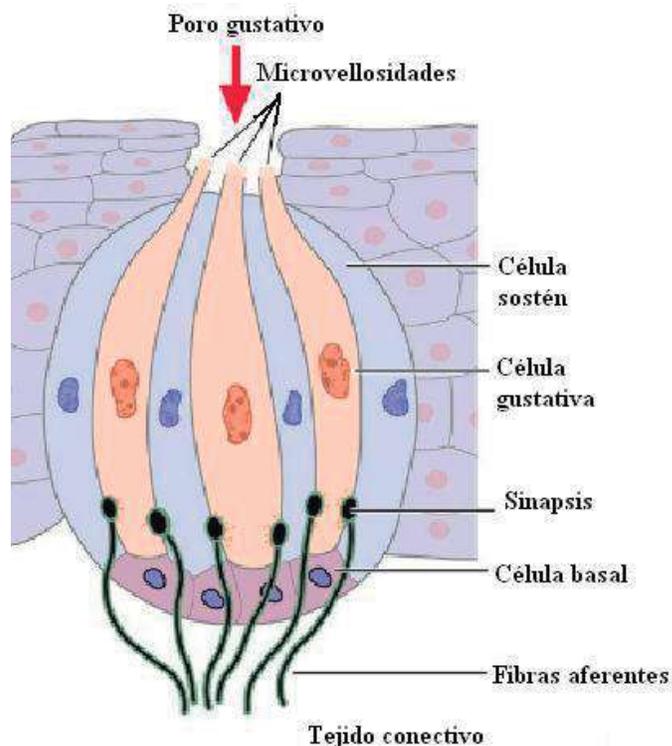


Figura 2. Estructura de las células gustativas. Se puede apreciar la morfología de la célula gustativa. Es una célula bipolar, en el polo apical presenta microvellosidades, es aquí donde las células interaccionan con las moléculas sápidas, en el polo basal las células establecen contacto sináptico con las fibras aferentes. Imagen modificada de <http://www.monografias.com/trabajos90/gusto-anatomia-facultad-medicina-biomed/gusto-anatomia-facultad-medicina-biomed.shtml>.

Las papilas gustativas (del latín papilla = eminencia), atendiendo a su morfología se dividen en tres clases diferentes: fungiforme (forma de hongo), caliciforme (forma de botón) y foliada (forma de crestas), y cada una de ellas está constituida de un número variable de corpúsculos gustativos. Las papilas fungiformes se localizan en las dos terceras partes anteriores de la lengua y en el paladar, a pesar de ser las más numerosas, ellas constituyen sólo el 18% del total de corpúsculos gustativos. Las papilas caliciformes se encuentran en la tercera parte posterior de la lengua. El número de este tipo de papilas es de 7-9 en humanos y sólo una en caso de roedores; aun siendo un número reducido, éstas constituyen el 48% del total de corpúsculos gustativos. Por otro lado, las papilas foliadas se localizan en los lados de

la tercera parte posterior de la lengua. Sólo existen dos papilas de esta clase, las cuáles contienen el 34% de los corpúsculos gustativos presentes en la lengua (Figura 3).

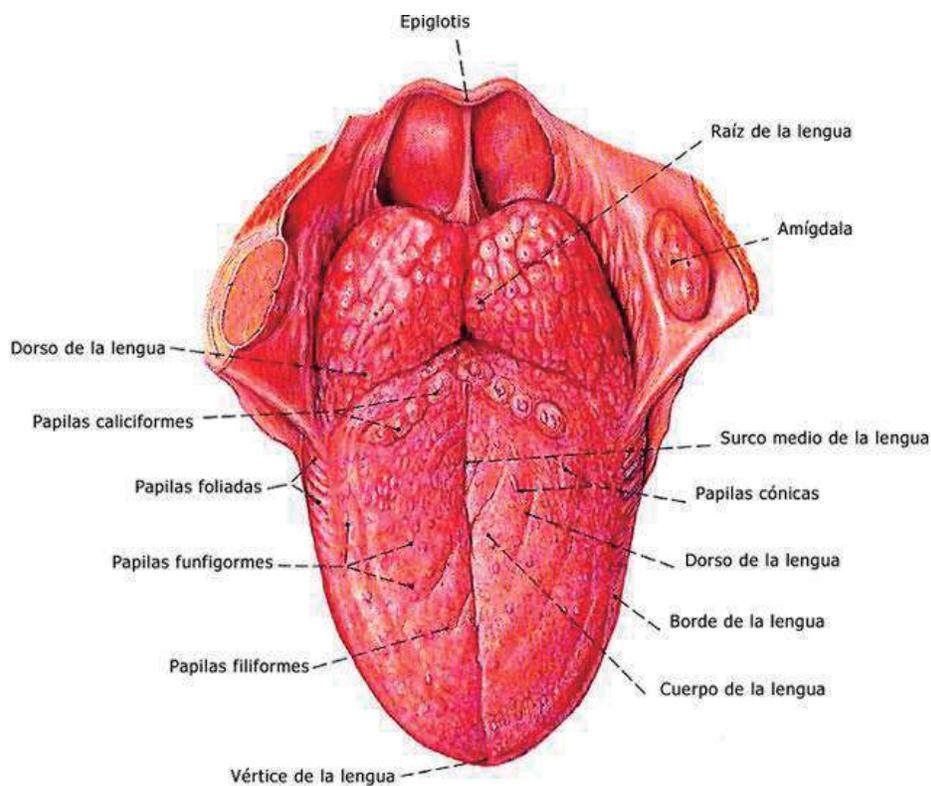


Figura 3. Organización estructural de las células gustativas en la lengua. Las células gustativas se agrupan en corpúsculos para formar las papilas gustativas. Existen tres tipos diferentes de papilas gustativas, las cuáles tienen una localización específica en la lengua. Además, las papilas caliciformes y foliadas están constituidas por un número superior de corpúsculos gustativos. Imagen tomada de <http://www.cienciasnaturalesonline.com/las-papilas-gustativas/2009/>

Se distinguen igualmente cuatro tipos morfológicamente diferentes de células gustativas al interior de cada corpúsculo: las células basales, oscuras (tipo I), claras (tipo II) e intermedias (tipo III) (Figura 3). Las células basales son pequeñas células esféricas localizadas en la base del corpúsculo a partir de las cuales son generadas todas las células gustativas (Buck, 2000). Las células oscuras, claras e intermedias, en cuanto a ellas, se caracterizan por su forma bipolar. Estas células envían sus prolongaciones hacia la cavidad bucal donde interaccionan con las moléculas sápidas presentes en los alimentos y hacia la base del corpúsculo gustativo (Buck,

2000; Lindemann, 2001)(Figura 2 y 3) en donde establecen los contactos sinápticos con las fibras que las inervan (Buck, 2000; Lindemann, 2001) (Figura 3). Las células gustativas de tipo I posee 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 (Boughter et al., 1997; Adler et al., 2000; Yang et al., 2000^a y 2000^b; Yee et al., 2001; Defazio et al., 2006). Sin embargo, ellas no forman sinapsis estructuralmente definida con las fibras aferentes primarias (Clapp et al., 2004). Por otro lado, las células de tipo III son las únicas que establecen sinapsis clásica con nervios gustativos aferentes (Murray, 1986; Yang et al., 2000^b; Yang et al., 2004). Paradójicamente, las proteínas necesarias para la transducción gustativa son expresadas, como mencionamos anteriormente, en las células de tipo II.

Por otro lado, las células de tipo I presentan una forma alargada, al igual que las células de tipo II y III. Se ha propuesto que las células de tipo I tienen la función de mantener la integridad del corpúsculo gustativo, es decir, dan sostén a las demás células y mantienen las condiciones osmóticas del medio (Miura et al., 2006). Con respecto a las células tipo II se propone que son las células que expresan los receptores para las diversas moléculas sápidas, así como expresan la maquinaria molecular para el inicio de la transducción de la señal gustativa (Roper., 2006; Suzuki., 2007). Las células de tipo III, además de estar en contacto con las células tipo II, establecen contacto con las fibras nerviosas aferentes y tienen la capacidad de almacenar y liberar neurotransmisores como el glutamato, la acetilcolina, adenosin trifosfato, adrenalina y serotonina. En las células de tipo III se ha reportado la expresión de receptores para serotonina como los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT₃ en ratas adultas (Hernes et al., 2004; Suzuki, 2007).

Las papilas gustativas son inervadas por los nervios craneanos: facial (facial VII), glossofaríngeo (IX) y vago (X) (Figura 1 y 3). 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 fungiforme, 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 (Guyton, 1996; Buck, 2000). Las proyecciones de segundo orden son luego conectadas con el núcleo ventro-postero-medial del tálamo. Las neuronas núcleo ventro-postero-medial se

proyectan hacia la parte anterior de la ínsula en el lóbulo cortical temporal (Figura 1) y hacia el opérculo en el lóbulo cortical frontal. Estas regiones son consideradas como las áreas cerebrales gustativas donde toma lugar la percepción consciente 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 (Guyton, 1996; 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.

V.3 ASPECTOS MOLECULARES DE LA DETECCIÓN DEL SABOR

Existen cinco modalidades de sabor diferentes: el sabor dulce, amargo, salado, ácido y el umami, un sabor recientemente descrito generado por ciertos aminoácidos. A nivel molecular, la detección y traducción de los sabores es efectuada por receptores que se localizan en la superficie de las microvellosidades presentes en la membrana apical de las células gustativas (Figura 4). En función de la naturaleza del sabor, el receptor activado pertenecerá, ya sea, a la familia de receptores 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, de allí su nombre de proteína G. Esta proteína está 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.

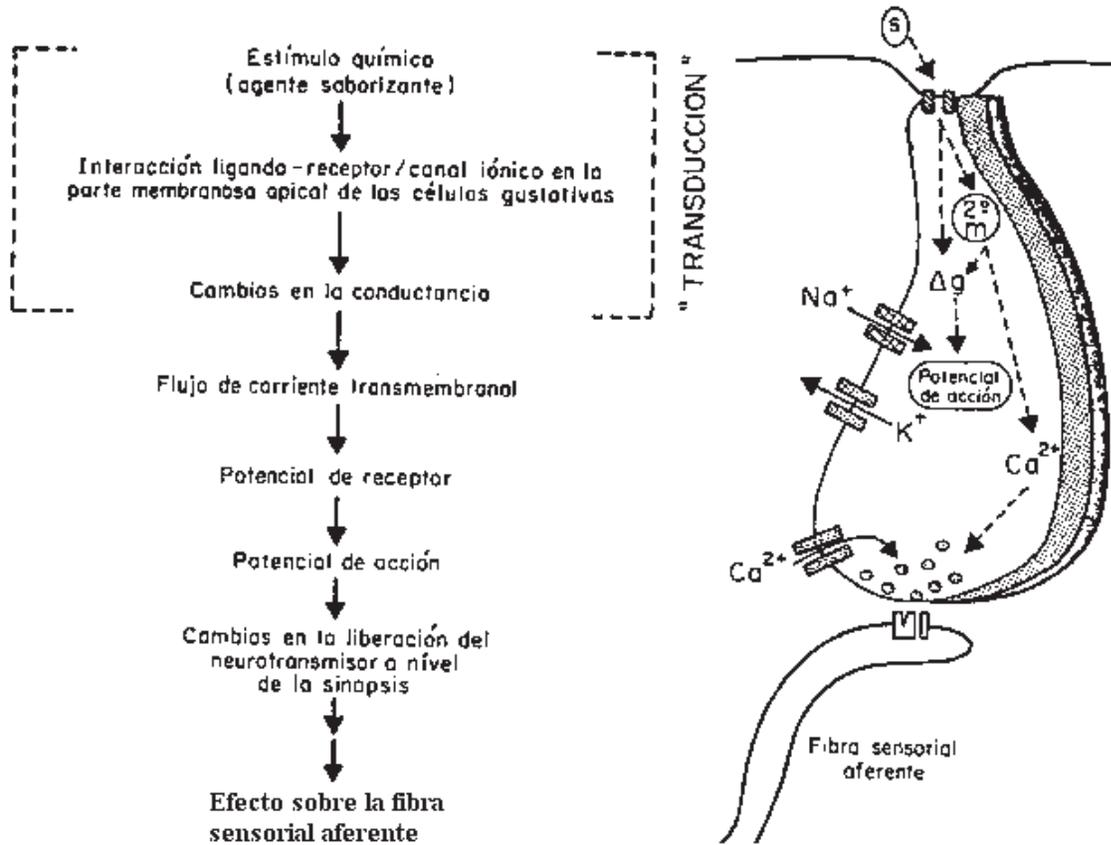


Figura 4. Mecanismos moleculares de la transducción de la información gustativa. Se puede apreciar la anatomía de la célula gustativa, la localización de los receptores gustativos (en las microvellosidades de la membrana apical) y las vías de transducción de las señales gustativas. Modificada de Neurobiología de los sistemas sensoriales, Graciela Meza Ruiz. 1995. UNAM.

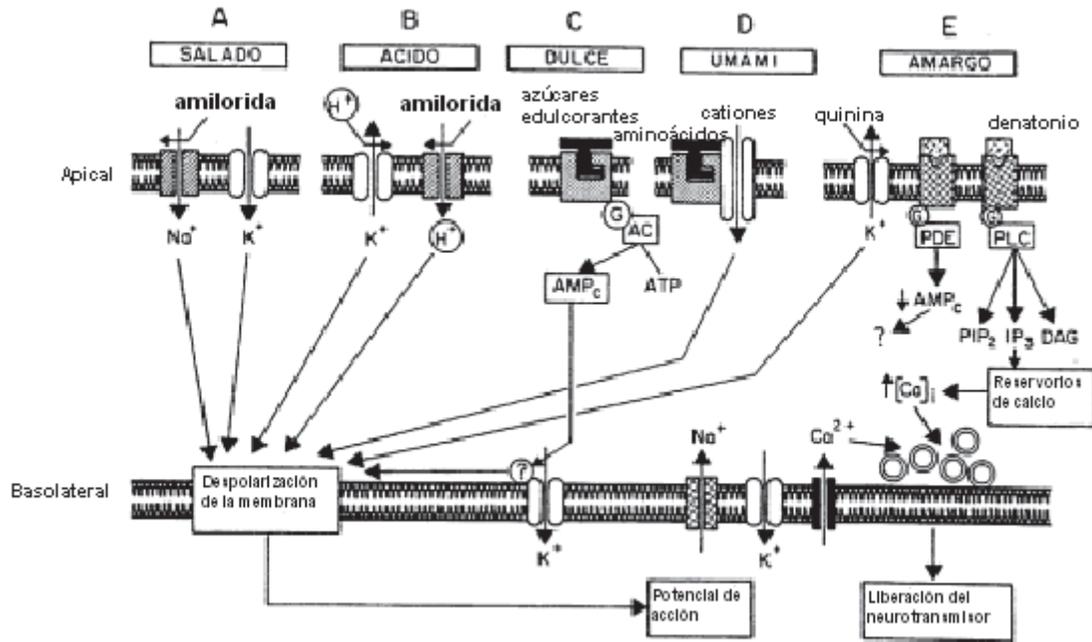


Figura 5. La transducción sensorial gustativa comprende varios mecanismos distintos: pueden ser simples, tales como los estímulos iónicos; como lo que desencadenan las sales o los ácidos o complejos como los provocados por los aminoácidos, los edulcorantes o los sabores amargos que utilizan receptores acoplados a proteínas G. En la mayoría de los casos, la transducción conduce a la despolarización al inicio del potencial de acción, lo que conlleva la activación de canales de calcio sensibles al voltaje y finalmente a la liberación del neurotransmisor. Modificada de Neurobiología de los sistemas sensoriales, Graciela Meza Ruiz. 1995. UNAM.

V.4 MECANISMOS MOLECULARES DE LA DETECCIÓN DE LOS SABORES SALADOS Y ÁCIDOS

Todos los vertebrados, poseen células gustativas que responden a los sabores salado y ácido. En mamíferos, la excitación débil de estas células produce una sensación agradable sin embargo, cuando la estimulación es fuerte produce una sensación desagradable generando un comportamiento de aversión.

La percepción del sabor salado se asocia con la acción de los iones (Na^+) presente en forma de sal en los alimentos y principalmente en forma de cloruro de sodio

(NaCl), la sal de mesa. La detección de los estímulos salados se efectúa a través de la interacción de los iones sodio con los canales iónicos sensibles a la amilorida (un guanidinio heterocíclico que bloquea reversiblemente los canales epiteliales de Na⁺) (Boughter, 1997) (Figura 4). La interacción del NaCl con estos canales, se produce por la difusión de iones sodio al interior de la célula gustativa contra un gradiente electroquímico generando una despolarización de la membrana (Avenet and Lindemann, 1991), esto dirige a la producción de potenciales de acción que resultan en la liberación de un neurotransmisor (serotonina, noradrenalina o ATP) sobre las fibras nerviosas aferentes (Lindemann, 1996) después del influjo de iones de calcio (Ca²⁺). Varias sales sódicas son saladas, no obstante, la intensidad de su percepción depende de la talla de su anión asociado, por ejemplo, el NaCl es más salado que el acetato de sodio a la misma concentración. Estas diferencias de sensibilidad a las sales de sodio resultan, probablemente, de las diferentes capacidades de los aniones para penetrar las uniones fuertes (tight junction) presentes entre las células gustativas e interactuar con los canales basolaterales, a través de una ruta paracelular (Yee et al., 1991; Elliott and Simon, 1990).

Al parecer los protones son los responsables del estímulo agrio, ya que el sabor agrio generado por compuestos ácidos es proporcional a la concentración de protones. La percepción del sabor ácido de un alimento, resulta de la interacción de los protones (H⁺) liberados durante la masticación con diversos tipos de canales iónicos. Los protones extracelulares son capaces de bloquear canales de K⁺ (Cummings and Kinnamon, 1992) (Figura 4), impidiendo la salida de este catión, lo cual provoca una despolarización y la generación de potenciales de acción por la activación de canales de calcio sensibles a voltaje, resultando en la liberación del neurotransmisor sobre las fibras gustativas aferentes. Recientes estudios genéticos y funcionales han demostrado que el receptor PKD2L1 (polycystic kidney disease), un miembro de la familia de canales iónicos TRP (transient receptor potencial), es selectivamente expresado en una población de células gustativas distintas a las que median los sabores dulce, umami y amargo (Huang et al., 2006). La ablación, por la acción de la toxina diftérica, de las células que expresan este receptor produce animales con una pérdida total de la percepción del sabor ácido, manteniendo intacta la capacidad de identificar los demás sabores. Sin embargo, el mecanismo por el cual PKD2L1 puede mediar las respuestas a los sabores ácidos no ha sido descrito. (Huang et al., 2006).

V.5 MECANISMO MOLECULAR DE LA DETECCIÓN DE LAS MODALIDADES DULCE Y UMAMI

La transducción del gusto dulce es de vital importancia, sin dejar a un lado que las demás modalidades gustativas tienen la misma importancia, puesto que en los mamíferos ayuda a discriminar alimentos con alto contenido en energía en forma de carbohidratos. El inicio de la transducción está mediada a través de la activación de receptores acoplados a proteína G (GPCRs), denominados como la familia de receptores T1R; la cual está compuesta por los subtipos T1R1, T1R2 y T1R3. Todos los mamíferos de esta familia presentan la característica de tener un extremo aminoterminal largo el cual está expuesto hacia el exterior de la célula sirve como sitio de unión y reconocimiento para los saborizantes de tipo dulce (Zuker et al., 2006; Montmayeur y Matsunami., 2002). Se ha demostrado que los saborizantes de tipo dulce activan heterodímeros presentes en las células gustativas los cuales están conformados por la combinación T1R2 + T1R3 (Zuker et al., 2006). Este heterodímero ha mostrado la capacidad de responder a edulcorantes naturales, artificiales, D-aminoácidos y proteínas de carácter dulce (Sugita., 2006).

Al realizarse la unión de la molécula edulcorante con el heterodímero desencadena la señalización la cual inicia con la activación de la gustducina, generando la subsecuente activación de la fosfolipasa C β 2 (PLC β 2), la activación de la fosfolipasa propicia la hidrólisis del 4,5-bifosfato-fosfatidilinositol generando inositol trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG), para continuar con la transducción de la señal de tipo dulce se abren los canales iónicos transitorios del tipo TRPM 5 y de forma paralela el IP3 incrementa la concentración intracelular de calcio al activar el canal de calcio regulado por IP3 que se encuentra en el retículo endoplasmático liso (Zuker et al., 2006). Se ha demostrado que el modelo anterior es congruente, puesto que usando ratones K.O. para la fosfolipasa C β 2 o para TRPM5, se presenta un déficit en la capacidad de distinguir las modalidades amarga, dulce y umami (Zuker et al., 2006).

En el caso del gusto umami, es la modalidad más recientemente reconocida y fue descrita en Japón a principios del siglo XX, es generado por la presencia de sales de glutamato, principalmente por el L-glutamato monosódico, que es ampliamente utilizado en la cocina asiática, también es generado por algunos otros aminoácidos (aspartato) y por algunos péptidos. Se han sugerido varios tipos de receptores para la transducción del gusto umami, uno de ellos es una forma trunca en el extremo N-terminal del receptor metabotrópico glutamatérgico de tipo 4 (mGluR4t) (Lindemann., 2001).

Por otro lado usando un modelo de expresión in vitro se demostró que las células gustativas que responden a la estimulación con glutamato expresan el heterodímero T1R1 + T1R3, al realizar la inactivación para la expresión del heterodímero se elimina totalmente las respuestas celulares y conductuales características para la modalidad umami (Zuker et al., 2006), por tal motivo en la actualidad es aceptado que los receptores encargados de la detección de la modalidad umami es el heterodímero formado por los receptores T1R1 + T1R3.

En cuanto a la transducción del gusto umami se han propuesto dos vías, en la primer vía el receptor está acoplado de forma negativa a la adenilato ciclasa, generando disminución del adenosín monofosfato cíclico (AMPc), la segunda vía postula la participación de la gustducina y la PLC β 2. Ambas vías tienen como finalidad incrementar la concentración de Ca⁺² generando de esta manera la transducción de la señal de la célula de tipo II a la de tipo III (Lindemann., 2001).

V.6 MECANISMO MOLECULAR DE LA DETECCIÓN DE LA MODALIDAD AMARGA

La modalidad amarga se encarga de reconocer a las sustancias potencialmente tóxicas, puesto que en la naturaleza la mayor parte de los venenos existentes presentan un gusto amargo, cabe aclarar que esta aseveración no es del todo válida puesto que existen moléculas de carácter amargo que para los humanos nos resulta sumamente agradable, como es el caso de la cafeína.

Los receptores que están implicados en la detección del gusto amargo son denominados como T2R la familia se encuentra compuesta de 40 a 80 diferentes tipos de receptores, dependiendo de la especie, todos los receptores de la familia T2R presentan en común un dominio amino-terminal corto, el cual está expuesto hacia el exterior de la célula, el cual sirve como un sitio de unión de las moléculas amargas (Parry et al., 2004; Lindemann., 2001; Chandrashekar et al., 2000).

El mecanismo por el cual se inicia la transducción del gusto amargo es mediante la activación de la gustducina, incrementando la concentración intracelular de Ca⁺² (Parry et al., 2004). Actualmente existe controversia en el mecanismo específico de la transducción del gusto amargo, puesto que se ha demostrado que existen células de tipo II que expresan los receptores T2R pero no existe la coexpresión de la gustducina, y viceversa, esto ha llevado a plantear que existen otros mecanismos para la transducción del gusto amargo (Lindemann., 2001).

V.7 COMUNICACIÓN CELULAR EN LOS CORPÚSCULOS GUSTATIVOS

Los corpúsculos gustativos están en constante actividad, reciben a las moléculas sápidas presentes en los alimentos y en la saliva que se encuentra en la boca, la información recolectada es enviada hacia el sistema nervioso central, de forma paralela, las células gustativas se comunican con las demás células que integran el corpúsculo (Lindemann., 2001). El modelo actual de comunicación de los corpúsculos gustativos propone que la célula de tipo II al realizar la unión del receptor con la molécula sávida, se desencadenan una serie de procesos que conducen a la célula gustativa de tipo II a comunicarse con la célula de tipo III, la cual establece el contacto sináptico con las fibras nerviosas aferentes, para finalmente enviar la señal gustativa hacia el sistema nervioso central. La comunicación entre la célula de tipo II y la célula de tipo III se ha propuesto que puede ser de tipo eléctrico mediante las denominadas gap junction o mediante la liberación de transmisores químicos (Roper., 2006).

Los transmisores que se han propuesto tienen participación en la comunicación celular son el adenosín trifosfato (ATP), la noradrenalina (NA), acetilcolina (ACh), glutamato y péptidos como la colecistoquinina (CCK), péptido vasoactivo intestinal (VIP) (Herness et al., 2002; Suzuki., 2007), de la misma manera se ha postulado la participación de la **serotonina** (5-HT). Al mismo tiempo que la célula de tipo III establece el contacto sináptico con las fibras nerviosas, las células de tipo I se encargan de restablecer el equilibrio osmótico al interior del corpúsculo gustativo, el escenario que plantea este mecanismo es mediante la expresión de diversos tipos de receptores los cuales pueden presentar función de receptores posinápticos o de autoreceptores (Roper., 2006; Huang et al., 2009).

VI. SEROTONINA Y SISTEMA SEROTONINÉRGICO

La serotonina (5-Hidroxitriptamina o 5-HT) es un neurotransmisor que participa en los mamíferos en la regulación de múltiples funciones esenciales, actuando al nivel del SNC en la regulación de los ciclos de sueño y vigilia, conducta alimenticia, conducta sexual, sistema de termorregulación. Así mismo se ha asociado a procesos de ansiedad, depresión e hiperactividad, cuando la regulación endógena falla. Se ha demostrado su participación en procesos de aprendizaje y memoria (Cook et al., 2000). En los sistemas periféricos participa activamente en la regulación de los movimientos peristálticos del intestino delgado, así como también participa en la homeostasis primaria, además de regular el tono vascular (Cook et al., 2000). El nombre de serotonina fue dado por Page al describir que ésta molécula se encuentra presente en las plaquetas y al ser liberada produce reducción de la luz en los vasos sanguíneos (Page., 1976).

Se ha observado que los diabéticos tienen una elevación de la concentración de un importante grupo de aminoácidos neutros: valina, leucina, isoleucina, tirosina y fenilalanina. Dado que se altera la disposición de aminoácidos neutros, que se sabe compiten con el L- triptófano a nivel de los capilares de la barrera hemato-encefálica para pasar al cerebro y favorecer la síntesis de algunos importantes neurotransmisores, es probable que la DMID afecte también a sistemas de neurotransmisión y grupos neuronales específicos, como es el caso del sistema serotoninérgico cerebral. (Manjarrez et al., 1999).

Existe evidencia experimental que sustenta que el precursor metabólico de la síntesis de 5-HT es el L- triptófano. Éste es un aminoácido esencial en el organismo, se encuentra en el plasma en dos fracciones, el 90% se une a la albúmina y el 10% restante se encuentra en forma libre (FL). (Manjarrez et al., 1999).

VI.1 Síntesis de Serotonina

La 5-HT está presente tanto en vertebrados como en invertebrados. En mamíferos la síntesis de serotonina es llevada sólo en las células enterocromafines del intestino y a nivel del sistema nervioso central en las neuronas serotoninérgicas que se encuentran ubicadas en los núcleos del Rafe. El precursor inicial de la serotonina es como se mencionó, el aminoácido esencial L-triptófano, la serotonina es sintetizada en un proceso que requiere de dos etapas:

1.- La hidroxilación del L-triptófano a 5-hidroxitriptófano, esta reacción es llevada a cabo por la triptófano-5-hidroxilasa (TPH), esta reacción es la reacción limitante de la vía serotoninérgica. De la TPH se han descrito dos isoformas la TPH1 y TPH2 (Walther., 2009).

2.- La segunda reacción es la descarboxilación del 5-hidroxitriptófano para generar la 5-hidroxitriptamina o serotonina, esta reacción es llevada a cabo por la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos (MAO A), la MAO se comparte en el metabolismo de la serotonina y la vía de degradación de las catecolaminas (Adrenalina y Noradrenalina).

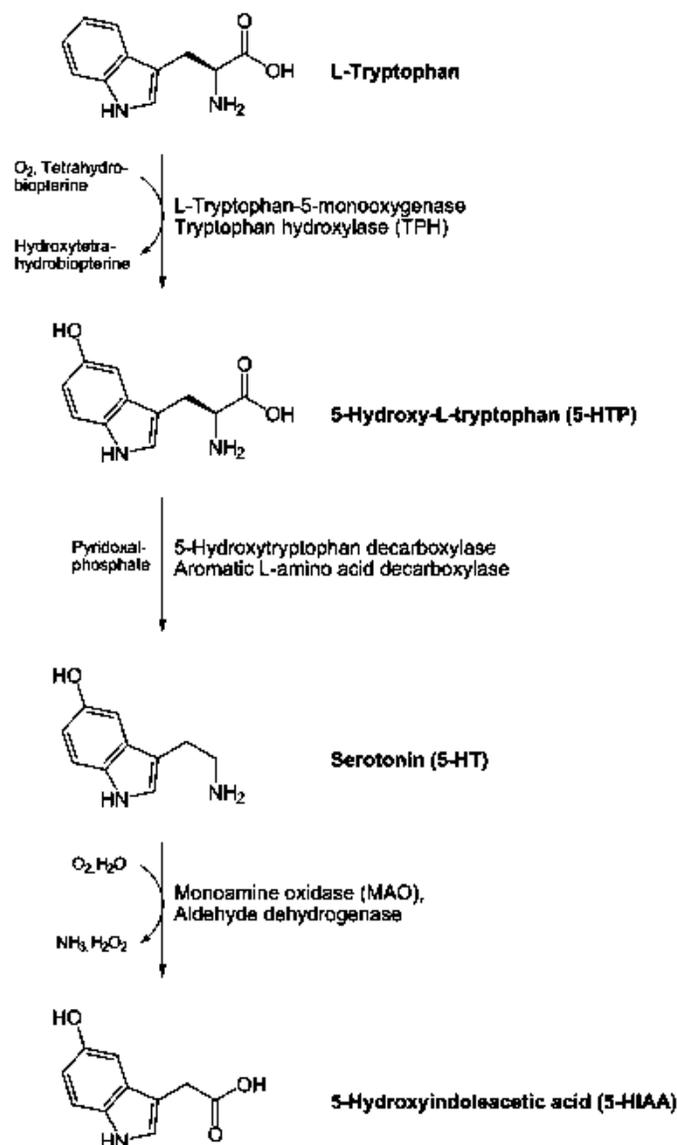


Figura 6. Esquema de la biosíntesis de la serotonina a partir del triptófano. Tomada de <http://es.wikipedia.org/wiki/Serotonina>

La serotonina liberada al espacio sináptico activa a los diferentes receptores serotoninérgicos; se conoce que existen varios mecanismos para mantener en equilibrio la concentración de serotonina en el espacio sináptico, uno de ellos es la recaptura del neurotransmisor por la proteína transportadora de serotonina (SERT o 5-HTT), posteriormente la serotonina puede seguir dos caminos, uno es la descarboxilación oxidativa, por la monoamino oxidasa A (MAO A) para formar el

ácido 5-hidroxiindolacético y el otro camino es ser reciclada y almacenada en vesículas para posteriormente ser liberada de nuevo (Walther et al., 2009).

En los mamíferos la síntesis de serotonina se realiza en dos sitios anatómicos, a nivel periférico en las células enterocromafines del intestino, donde se sintetiza el 90% de la serotonina del organismo y a nivel del sistema nervioso central en las neuronas serotoninérgicas ubicadas en los núcleos de Rafe, donde es sintetizado el 10%. La principal diferencia entre los dos sistemas serotoninérgicos es la isoforma de la TPH que es expresada, en el sistema serotoninérgico periférico se expresa la TPH1 y en el sistema serotoninérgico central es expresada la TPH2. Así mismo entre las isoformas de TPH existen diferencias en lo que respecta a sus parámetros enzimáticos como la constante de Michaelis (Km) y la velocidad máxima de reacción (Vmax) (Walther et al., 2009).

Los neurotransmisores y los neuromoduladores al igual que las hormonas actúan mediante la activación de sus receptores específicos. Estos receptores son proteínas que están insertas en las membranas celulares. Todas las neuronas y en general todas las células tienen por lo menos un tipo de receptor presente en su membrana, de la variedad de los receptores presentes dependerá la respuesta a diversos estímulos (Lodish et al., 2005). En la naturaleza y de forma sintética existen moléculas que tienen la capacidad de imitar la acción del neurotransmisor endógeno, con una cinética enzimática muy parecida por tener una estructura similar a la molécula endógena, a estas moléculas se les denomina agonistas. Pero también existen moléculas capaces de bloquear los efectos de la molécula endógena, los cuales presentan afinidad por el receptor, se unen al receptor pero no desencadenan los efectos, a estas moléculas se les llama antagonistas (Gilman et al., 1996).

La serotonina actúa a través de sus receptores específicos, los cuales han sido denominados genéricamente como receptores serotoninérgicos, a través de estudios farmacológicos mediante agonistas y antagonistas serotoninérgicos y con estudios bioquímicos, fisiológicos y de biología molecular se han admitido a la fecha 7 familias de receptores serotoninérgicos y 15 subtipos (Ponimaskin et al., 2003; Varnas., 2005). Los receptores serotoninérgicos pueden ser del tipo canal o iónico o acoplado a cascadas de segundos mensajeros. En la tabla se muestra la clasificación y algunas de las características de los receptores serotoninérgicos.

Tabla 3.- Clasificación de los receptores serotoninérgicos.

Receptor	Tipo de señalización	Expresión (SNC)
5- HT _{1A}	AC(-)	Corteza/Hipocampo
5- HT _{1B}	AC(-)	Corteza
5- HT _{1D}	AC(-)	Ganglio basal
5- HT _{1E}	AC(-)	Corteza/Hipocampo
5- HT _{1F}	AC(-)	Corteza/Hipocampo
5- HT _{2A}	PLC (+)	Zonas corticales
5- HT _{2B}	PLC (+)	Cerebelo/Hipotálamo
5- HT _{2C}	PLC (+)	Plexo coroideo/Hipocampo
5- HT ₃	Canal iónico	Núcleo del tracto solitario
5- HT ₄	AC (+)	Hipocampo
5- HT _{5A}	AC (-)	Corteza/Cerebelo
5- HT ₆	AC (+)	Corteza
5- HT ₇	AC (+)	Hipocampo/Hipotálamo

AC= Adenilato ciclasa; PLC = Fosfolipasa C (Modificado de Varnas., 2005)

La familia de los receptores 5-HT₂ está compuesta por tres subtipos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}, la familia comparte la característica de estar acoplados a cascadas de segundos mensajeros, al unir la serotonina todos activan a la PLC (Varnas., 2005). Específicamente el receptor 5-HT_{2B} en el SNC se expresa en cerebelo y en el Hipocampo, pero a nivel periférico es expresado en el intestino, corazón y estómago (Florica-Howells, et al., 2000; Negbil et al., 2000; Choi y Morateaux, 1996).

VI.2 SEROTONINA Y SISTEMA GUSTATIVO

La serotonina es el neurotransmisor más ampliamente estudiado en los procesos de señalización gustativa, se ha puesto de manifiesto que la 5-HT está presente en los corpúsculos gustativos de diversas especies como en el ajolote, ratón, rata, conejo y mono, en las cuales se ha demostrado que las células basales y las células de tipo III

presentan la capacidad de almacenar y liberar serotonina (Nada and Hirato, 1975; Fujimoto et al., 1987; Kim and Roper, 1995; Yee et al., 2001; Nagai et al., 1998; Zancanaro et al., 1995).

Mediante el empleo de técnicas de biología molecular se ha demostrado la presencia del transportador para serotonina (5-HTT) en células gustativas de rata (Ren et al., 1999). Específicamente en la rata se demostró la expresión de los receptores 5-HT_{1A} expresado en células gustativas y 5-HT₃ expresado en fibras nerviosas aferentes (Herness et al., 2004). Estas evidencias han llevado a asociar la transducción de la señal gustativa con la serotonina, ya sea mediante mecanismos de comunicación convencional o mediante comunicación parácrina (Roper, 2006).

Nuestro grupo de investigación ha puesto en evidencia la expresión de las dos isoformas de la TPH durante etapas clave del desarrollo de la papila caliciforme en el ratón, mediante PCR cuantitativa se puso de manifiesto que la TPH2 presenta un perfil de expresión mayor que la TPH1 en las etapas estudiadas (15 y 17 días de gestación y recién nacido), al realizar inmunohistoquímica para la TPH se observa que en las etapas prenatales la enzima se localiza en las células gustativas, pero al nacimiento la TPH se localiza en las fibras nerviosas y en el tejido epitelial que rodea a la papila (Ortiz et al., 2006). El hallazgo de la expresión de la TPH conduce a pensar que la serotonina participa en los procesos de desarrollo de la papila caliciforme, mediante la activación de receptores serotoninérgicos específicos.

Hasta el momento no se conoce si la administración del aminoácido L-Triptófano (precursor de la serotonina) durante la Diabetes Mellitus Experimental, conociendo que ésta produce una reducción de la sensibilidad gustativa, disminuye la posibilidad de que ésta produzca disgeusia suponiendo que al haber mayores concentraciones de serotonina, pudiera ayudar al desarrollo y protección de la papila durante la DM en etapa aguda. Por lo cual nos planteamos la siguiente:

VII. HIPÓTESIS

La administración de L-Triptófano en ratas con Diabetes Mellitus Experimental produce cambios en la plasticidad de los corpúsculos gustativos.

VIII. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la administración de L-Trp. sobre la plasticidad de los corpúsculos gustativos en ratas con Diabetes Mellitus Experimental.

IX. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Implementar un modelo de diabetes mellitus experimental en ratas.
- Determinar el efecto de la activación del sistema serotoninérgico sobre el número de corpúsculos gustativos y su morfología.

X. MATERIALES Y MÉTODOS

X.1 ANIMALES

El estudio se realizó en ratas Wistar hembra, de dos meses de edad, procedentes del bioterio de la Facultad de Químico Farmacobiología. Antes y durante el estudio, los animales fueron mantenidos en ciclos de luz-oscuridad de 12 horas cada uno, humedad relativa de 60% y temperatura de 20-24°C. Todos los animales se sometieron a la misma dieta y agua ad libitum.

X.2 GRUPOS EXPERIMENTALES

Se formaron cuatro grupos experimentales, las ratas se dividieron en dos grupos principales que son control y DME. Un grupo fue el control y no se le administró L-Triptófano sino sólo agua inyectable como placebo, otro como control, fue administrado con L-Triptófano. Los otros dos grupos de las ratas fue inducida a Diabetes Mellitus Experimental, la mitad de las cuales fue administrada con L-Triptófano y la otra no.

X.3 INDUCCIÓN DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL

Para inducir la diabetes, al grupo experimental se le administró Estreptozotocina (N-Methylnitrosocarbamoyl-D-glucosamine, Sigma) via IP, en dosis única de 55mg/Kg de peso, disuelta en agua inyectable, al grupo control se le administró simultáneamente un volumen equivalente del vehículo como control de estrés. Los niveles de glucemia de cada rata fueron medidos utilizando el glucómetro One Touch Ultra, antes y después de la inducción con STZ con 8 horas de ayuno previo. Para esta medición se realizó una punción en la vena caudal con una lanceta, la muestra sanguínea se colocó en la tira reactiva para One Touch Ultra y se registró la lectura de la glucosa en mg/dL. Los niveles normales de glucosa sanguínea en las ratas fueron de 73-110 mg/dL. Posteriormente se realizó la medición de glucemia antes del sacrificio de los animales para la obtención de las muestras.

X.4 PESO Y CONSUMO DE ALIMENTO

El peso corporal y consumo de alimento se midió diariamente durante el tratamiento después de la inducción de la DME. Para medir el consumo de alimento se colocó la cantidad de 100g y 24 horas después se pesó el alimento sobrante y por diferencia se obtuvo la cantidad de alimento consumido por las ratas.

X.5 CONTEO DE CORPÚSCULOS GUSTATIVOS

Al iniciar el sexto día después de los cinco de tratamiento con L-Triptófano los animales se sacrificaron mediante fractura cervical, se les realizó una perfusión con solución salina fría al 0.9%, para remover la sangre de la lengua. Las ratas se decapitaron y se les extrajo la lengua, la cual fue fijada con paraformaldehído (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 en cada solución, posteriormente las papilas fueron extraídas de la lengua, orientadas en OCT y colocadas a -70°C, después se realizaron cortes de 16 µm de espesor en un criostato y los cortes se colocaron en laminillas gelatinizadas. Los cortes histológicos se tiñeron con hematoxilina-eosina y los corpúsculos gustativos se contaron, triple ciego en cada corte, de acuerdo al método descrito por Bradley (1980).

X.6 ANÁLISIS DE LA MORFOLOGÍA

El análisis de morfología se realizó empleando el programa ImageJ 1.42. Las medidas tomadas fueron la longitud de la papila caliciforme y la amplitud de la trinchera, fueron estudiados los grupos de ratas control, administrada con L-Triptófano, DME y DME L-Triptófano.

X.7 ADMINISTRACIÓN DE L-TRIPTÓFANO

Se sabe que la administración de 100mg/Kg de peso de L-Triptófano incrementa la concentración de serotonina en el animal, disminuyendo el mismo cerca a las 48 horas posteriores a su administración. Por lo anterior la administración del aminoácido fue por vía IP diariamente (cada 24 horas), en la dosis mencionada para lograr mantener elevada la concentración de serotonina durante 5 días de tratamiento.

X.8 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para determinar si hay diferencia significativa en los resultados, los datos fueron comparados mediante “t de student” en el programa GraphPad Prism versión 3.0.

XI. RESULTADOS

XI.1 CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE

La concentración de glucosa en sangre fue medida antes, a las 48 horas posteriores a la inducción de la Diabetes Mellitus Experimental y antes del sacrificio de los animales para la disección y utilización de las muestras. En los animales control se observó una concentración de glucosa en sangre de 102 – 123 mg/dL, mientras que para el grupo con DME fue de 387 – 583 mg/dL, observándose la hiperglicemia desde las 48 horas posteriores a la inducción.

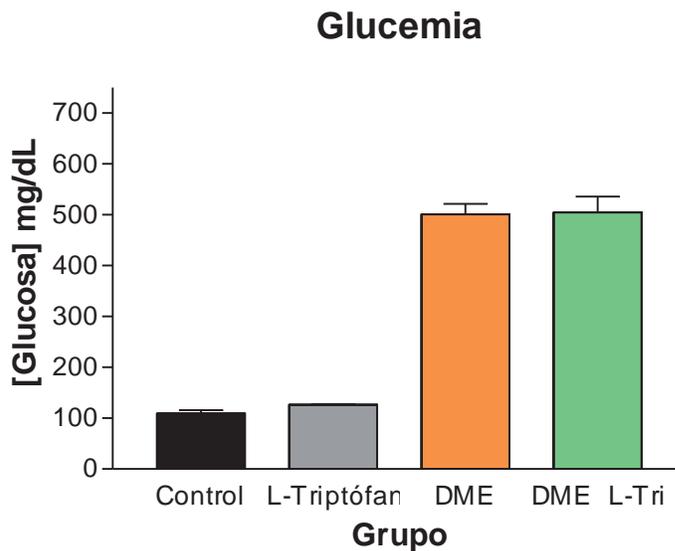


Figura 7. Concentración de glucosa promedio durante experimentación. Media ± D.E. n=3.

XI.2 PESO CORPORAL

La figura 8 muestra el peso corporal de los diferentes grupos. Se observa que hay una reducción en la ganancia de peso en las ratas con DME y DME L- Triptófano respecto a su control y a las administradas con L- Triptófano.

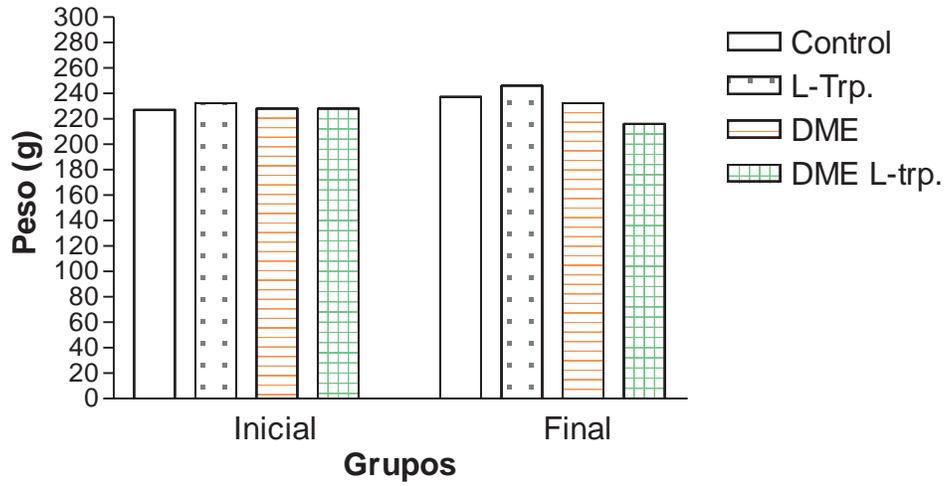


Figura 8. Peso de las ratas al inicio y final del tratamiento. Media \pm D.E. n=3.

XI.3 CONSUMO TOTAL DE AGUA

Una de las características de la DM es la polidipsia que se caracteriza por una ingesta mayor de líquidos que los individuos sanos. En la figura 9 se muestra el consumo de agua en cada uno de los grupos, es de notarse que en poco tiempo después de la administración de STZ el consumo de agua en ambos grupos aumentó considerablemente.

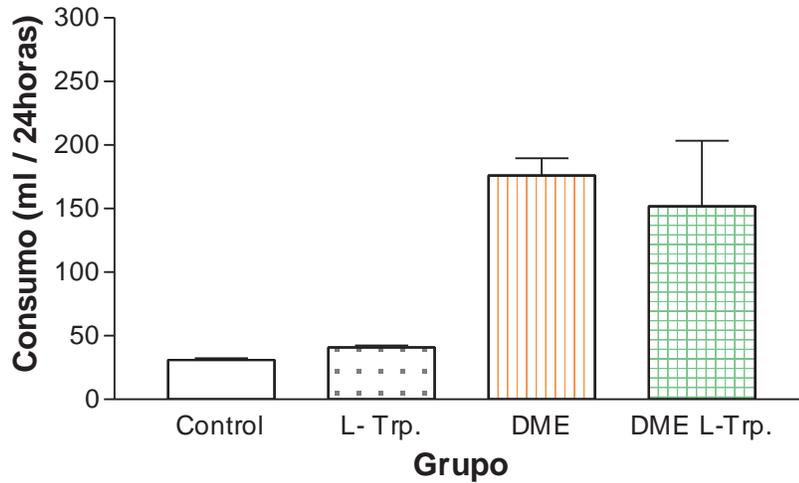


Figura 9. Consumo de agua por día, por grupo. Media \pm D.E. n=3.

XI.4 CONSUMO TOTAL DE ALIMENTO

Como parte de la sintomatología que presentan los pacientes con Diabetes Mellitus se encuentran la polifagia, poliuria, polidipsia y pérdida de peso. La polifagia se caracteriza por un incremento en el consumo de alimento, con respecto a los individuos sanos. En la figura 10 se puede observar que en las ratas con DME el consumo de alimento incrementó de manera considerable y nos damos cuenta que el alimento consumido por éstas está muy por encima de lo normal, aumentando hasta en un 70%.

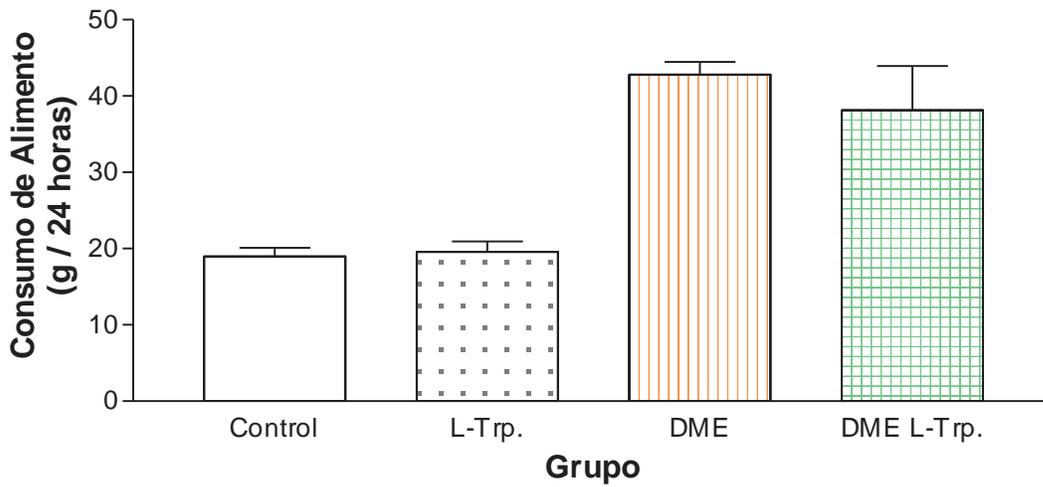


Figura 10. Alimento consumido diariamente por grupo. Media \pm D.E. n=3.

XI.5 NÚMERO DE CORPÚSCULOS GUSTATIVOS

En cuanto al conteo de corpúsculos gustativos, en la siguiente figura se observa que existe una disminución en el número de corpúsculos de la papila caliciforme en el grupo de las ratas con DME a la primera semana posterior a la inducción de la DME comparadas con el grupo control. También se observa que el grupo con DME tratado con L- Triptófano presenta una reducción en el número de corpúsculos comparado con el grupo control y con el grupo administrado con L- Triptófano.

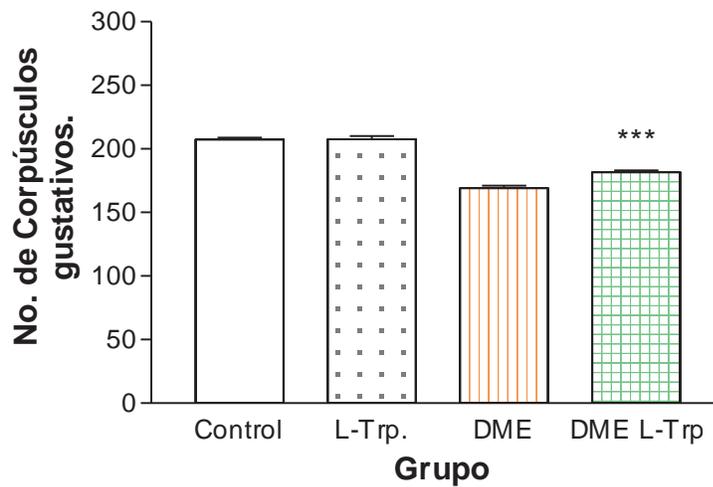


Figura 11. Número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme. Media \pm D.E.
*** $p < 0.001$. $n=3$.

XI.6 LONGITUD DE LA PAPILA

En la siguiente figura se muestra el análisis de la longitud medida en micrómetros (μm) de la papila caliciforme de animales control, tratados con L- Triptófano, con DME y DME con L- Triptófano. Notándose una disminución en la longitud en las ratas con DME y DME con L- Triptófano. Hay una pequeña diferencia entre las que fueron inducidas a la Diabetes Mellitus Experimental, se encuentra una menor disminución en las ratas DME con L- Triptófano.

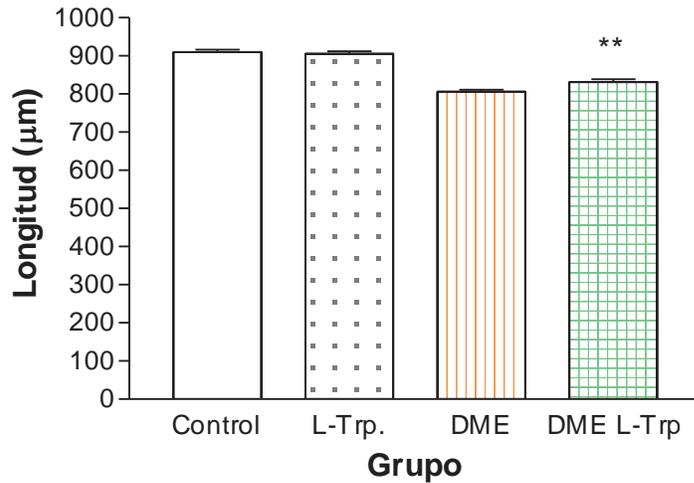


Figura 12. Longitud de la papila caliciforme. Media \pm D.E. ** $p < 0.01$ $n=3$.

XI.7 AMPLITUD DE LA TRINCHERA

El análisis de la amplitud de la trinchera de animales control, tratados con L-Triptófano, inducidos a DME y DME con tratamiento de L-Triptófano se muestra en la siguiente figura notando una disminución en los grupos inducidos con STZ, siendo un poco menor la disminución en el grupo administrado con L-Triptófano.

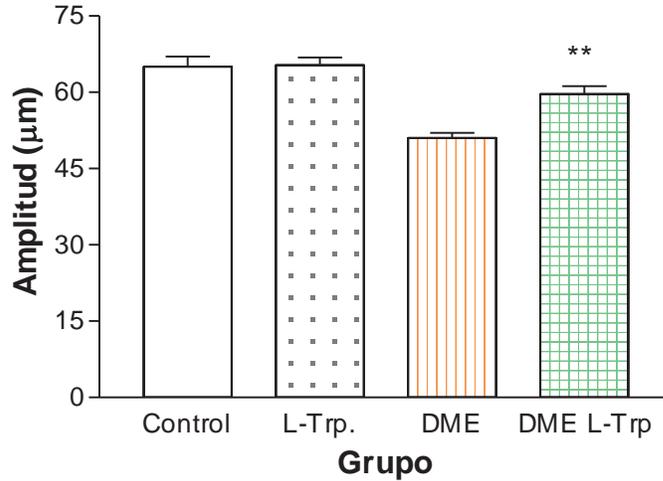


Figura 13 . Amplitud de la trinchera de la papila caliciforme de ratas. Media \pm D.E. ** $p < 0.01$ $n=3$.

XI.8 CORTES DE LA PAPIA CALICIFORME EN LOS DIFERENTES GRUPOS



Amplitud

Corpúsculo gustativo

Figura 14. Papila gustativa caliciforme de rata control teñida mediante la tinción hematoxilina-eosina. En ella se aprecian claramente los corpúsculos gustativos señalados con una flecha. Se indican también la longitud de la papila con la línea vertical y la amplitud de la trinchera con la horizontal. Microfotografía observada en el microscopio óptico con objetivo de 10x.

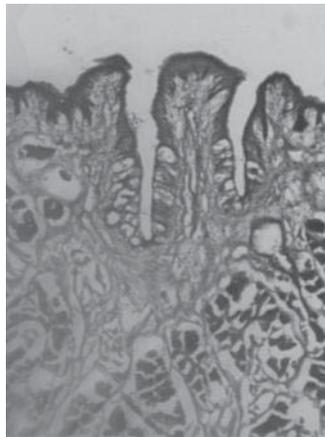


Figura 15. Se muestra la papila caliciforme de una rata con tratamiento de L-triptófano sin DME.

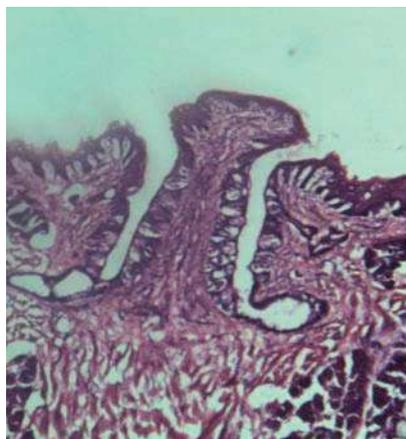


Figura 16. En esta imagen se observa la papila caliciforme de una rata con DME.

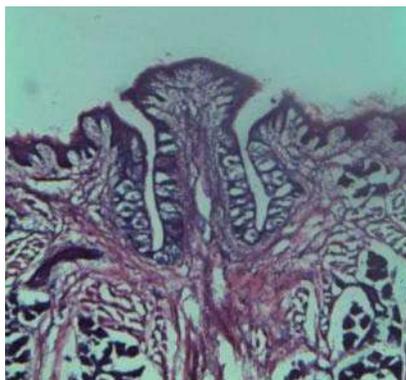


Figura 17. Imagen de papila caliciforme de rata con DME y tratamiento de L-Triptófano.

XII. DISCUSIÓN

La Diabetes Mellitus constituye un problema grave de salud pública alrededor del mundo afectando a más de 220 millones de personas (Haratz y Tanne, 2011). En 1980 en México ocupó el noveno lugar como causa de muerte, para colocarse a finales de los 90, en el tercero, actualmente es la primera causa de muerte. Estas alarmantes cifras se asocian a un cambio en la alimentación y disminución de la actividad física cotidiana (Díaz et al., 2004). La hiperglucemia crónica origina complicaciones como retinopatía, nefropatía, neuropatía periférica, amputaciones, síntomas cardiovasculares y disfunción sexual (Brownlee, 2001; ADA, 2010). El SNC también es afectado por las complicaciones crónicas (McCall, 2002). Por lo anterior, se requieren modelos experimentales de DM para estudiar y entender los mecanismos moleculares de las complicaciones de esta enfermedad.

La administración de Estreptozotocina se ha reportado que es un buen método para tener un modelo experimental de Diabetes Mellitus tipo 1 reproducible y adecuado (Lenzen, 2008; Juárez, 2008). La Estreptozotocina es una sustancia con citotoxicidad específica que destruyen a las células β del páncreas y causan un estado de deficiencia absoluta de insulina (Ramos and Domingo, 1994; Szkudelski, 2001). La hiperglucemia es la característica principal de la DM, en este trabajo se analizó la concentración de glucosa en sangre y los resultados muestran que al grupo de ratas que se les administró STZ desarrollan hiperglucemia a partir de las 48 horas y hasta el término de la vida. También presentaron otras características como poliuria (aumento de excreción urinaria), polidipsia (necesidad excesiva de tomar agua), polifagia (aumento de apetito) y pérdida de peso, lo cual correlaciona con los resultados de Lenzen (2008) y Juárez (2008) y nos indica que los animales tratados con STZ desarrollan DME.

En pacientes con Diabetes Mellitus se han documentado trastornos del gusto como ageusia o disgeusia (Le Floch et al., 1989), sin embargo aún no se han descrito las causas posibles de ésta alteración. El consumo y la preferencia de los edulcorantes pueden ser afectados por los cambios en la percepción y sensibilidad del sabor dulce (Shin et al., 2008; Tepper y Seldner, 1999), estudios previos han demostrado que el estado fisiológico del animal con DME puede afectar su sensibilidad a los estímulos gustativos. Las alteraciones pueden ocurrir en los diferentes niveles de la vía de transmisión del gusto: en las células gustativas (Huang y Staehler, 2009), los nervios gustativos aferentes (Miura et al., 2006) y el núcleo del tracto solitario (Nakamura and Norgren, 1995).

La alteración en la concentración de serotonina en el plasma de humanos resulta en una marcada plasticidad del umbral gustativo (Heath et al., 2006) se ha reportado una disminución en la concentración de serotonina que sucede a nivel del plasma (Herrera et al., 2003), y del SNC.

Existe una compleja relación entre la Diabetes Mellitus y el SNC (McCall., 2002), debido a que la hiperglucemia crónica origina cambios funcionales en muchas regiones del cerebro (Abraham et al., 2010) y altera la concentración de neurotransmisores, así como la interacción de sus respectivos receptores, esto ha sido descrito para algunas áreas del cerebro en la rata (Castillo et al., 2010). Las variaciones en la concentración de 5-HT en el cerebro están relacionadas con cambios en el comportamiento, estado de ánimo, ansiedad, agresividad, depresión, sueño, fatiga e incluso la supresión del apetito, niveles bajos de 5-HT o la señalización alterada de sus receptores se han relacionado con deseos cada vez mayores por alimentos dulces y ricos en carbohidratos. Si una persona tiene niveles normales de 5-HT, puede alcanzar la saciedad y controlar la ingesta de azúcar con mayor facilidad. Los niveles adecuados de éste neurotransmisor en el cerebro depende de la ingesta de alimentos ricos en triptófano (aminoácido precursor de serotonina) y de hidratos de carbono (De Matos et al., 2011). La Diabetes inducida por STZ da lugar a una hiperglucemia crónica que se asocia con una disminución en la concentración de 5-HT y con un aumento en la paralelo de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} y 5-HT₂ en la corteza y el tallo cerebral (Sandrini et al., 1997; Abraham et al., 2010). Esta disminución en la concentración de serotonina se puede originar debido a una disminución en su síntesis, ya que se observó que reduce la concentración de su precursor el L-triptófano (Herrera et al., 2003).

Durante la evolución de la enfermedad, se produce una serie de cambios metabólicos en los tejidos adiposo, muscular y hepático. En el tejido hepático se ha observado que, bajo ciertas circunstancias de estrés y durante la DMID, existe aumento en la actividad de la triptófano pirrolasa, ésta participa en la regulación de la gluconeogénesis y en la síntesis de nicotinamida adenin dinucleótido, así como en el metabolismo del grupo hemo, y podría influir en la relación de las fracciones libre y unida a albúmina del L- triptófano en la sangre. Los animales diabéticos tienen una mayor actividad de ésta enzima; éste mecanismo puede explicar la disminución de la cantidad del aminoácido disponible en la sangre, pues tendería a desviar L-triptófano hacia el tejido hepático a la vía del ácido cinurénico y nicotínico y, de ésta manera, disminuir la FL y su ingreso al cerebro a través de la barrera hematoencefálica para la síntesis del neurotransmisor. (Manjarrez y Herrera, 1999).

Se ha documentado que existe un sistema serotoninérgico inherente en el epitelio lingual y que la serotonina participa en la inervación y en el desarrollo de las papilas gustativas (Guzmán y Mercado., 2007).

Por lo anterior nuestro trabajo consistió en revisar que sucedería al administrar el precursor de la serotonina, el L-triptófano en ratas con Diabetes Mellitus Experimental, conociendo como se menciona anteriormente, que este padecimiento ocasiona una disminución de éste neurotransmisor y el mismo participa activamente en inervación y desarrollo de las papilas gustativas.

Se encontró una disminución en el número de corpúsculos gustativos en las ratas con DME respecto al grupo control y al grupo de tratamiento con L- triptófano como era de esperarse. En las ratas con DME con tratamiento de L-triptófano también hubo reducción aunque un poco menor comparado con el grupo sin tratamiento. En cuanto a las dimensiones de las papilas también hubo menos reducción en las ratas DME con tratamiento del aminoácido respecto a las diabéticas sin el tratamiento.

Como se muestra en los resultados, la concentración de glucosa se mantuvo elevada en ambos grupos diabéticos, y dentro del rango de referencia en las que no poseían DME. Como se esperaba, se presentó polifagia y polidipsia en las ratas diabéticas y hubo un poco marcado menor consumo de alimento en las ratas con tratamiento respecto a sus referencias.

XIII. CONCLUSIÓN.

Los cambios en la plasticidad de los corpúsculos gustativos en la DME están relacionados con la concentración de la serotonina.

XIV. BIBLIOGRAFÍA

- Abraham, P.M., Anju, T.R., Jayanarayana, S., and Paulose, C.S. 2010a. Serotonergic receptor upregulation in cerebral cortex and down regulation in brainstem of streptozotocin induced diabetic rats: Antagonism by pyridoxine and insulin. *Neuroscience Letters* 483: 23–27
- Abraham, P.M., Paul, J., and Paulose, C.S. 2010b. Down regulation of cerebellar Serotonergic receptor in streptozotocin induced diabetic rats: effect of pyridoxine and aegle marmelose. *Brain research bulletin* 82: 87-94.
- Acosta, Ch. J. 2010. Neurotogenia del receptor 5-HT_{2B} de la papila caliciforme del receptor 5-HT_{2B} de la papila caliciforme de la rata. (Tesis de Maestría). Fac. de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México.
- 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.
- American Diabetes Association. 2003. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 26:S5-S20.
- American Diabetes Association. 2010. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 33:S62-S69.
- Avenet, P. and Lindemann, B. 1991. Noninvasive recording of receptor cell action potentials and sustained currents from single taste buds maintained in the tongue: the response to mucosal NaCl and amiloride. *J. Membr. Biol.* 124, 33-41.
- Bottino, R., and Trucco, M. 2005. Multifaceted therapeutic approaches for a multigenic disease. *Diabetes*, 54:S79–S86.
- Boughner, J.D. Jr. Pumplun, D.W., Yu, C., Christy, R.C. and Smith, D.V. 1997. Differential expression of α -gustducin in taste bud populations of the rat and hamster. *Th. J. Neurosci.* 17, 2852-2858.
- Brownie M. 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865):813-820.
- Buck, L.B. 2000. Smell and Taste: The Chemical senses. In.: *Principles of Neural Sciences*, edited by E. R. Kandel, J.H. Schwatz and T.M. Jessell McGraw Hill, p. 625-647.
- 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.
- Castillo, J., Barrera, D., Pérez, J., and Álvarez, F. 2010. Depresión y diabetes: de la epidemiología a la neurobiología. *Rev Neurol.* 51 (6): 347-359

- Chandrashekar, J., Mueller L., Hoon M., Adler E., Zuker C., Feng L., Gou W. and Ryba N. 2000. T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell*. Vol. 100: 703-711.
- Chatzigeorgiou, A., 2009. The use of animal models in the study of Diabetes Mellitus. *In Vivo*. 23: 245-258
- Clapp TR, Yang R, Stoick CL, Kinnamon SC, Kinnamon JC 2004 Morphologic characterization of rat taste receptor cells that express components of the phospholipase C signaling pathway. *J Comp Neurol* 468:311–321.
- Cook, H., Anderson, M., and VanderWeele P. 2000. Pharmacogenetics and the serotonin system: initial studies and future directions. *Eur. J. Pharmacol.* 410: 165-181.
- 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.
- De Matos, F., Casaccia, M., and Reis, C. 2011. Serotonin and hypothalamic control of hunger: a review. *Rev Assoc Med Bras* 57(1):74-75.
- 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.
- 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.
- Diaz-Flores, M.; Bayza-Gutman, L.A., Ibáñez-Hernández, M.A., Pascoe-Lira, D., Guzmán-Greenfel A.M., Kumate Rodríguez, J. 2004. Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gac. Med. Mex.* 140 (4): 439-447.
- Doty, R.L. 1993. Smell and taste and their disorders. In: *Disease of nervous system: clinical neurobiology*, edited by A.K. Absury, G.M. McKhann and W.I. McDonald, Philadelphia: Saunders, p. 390-403.
- Elliott, E.J. and Simon, S.A. 1990. The anion in salt taste: a possible role for paracellular pathways. *Brain. Res.* 535, 9-17.
- Goodman & Gilman, 2003. Insulina, Hipoglucemiantes orales y propiedades farmacológicas del Páncreas endócrino. Cap. 61 en las bases farmacológicas de la terapéutica. Hardman, Limbird (eds.) Mc Graw Hill Pág. 1697-1731.
- Guyton, A.C. 1996. *Précis de Physiologie Médical*. Piccin Nuova Libreria, Padoue Italie.

- Haratz, S. and Tanne, D. 2011. Diabetes, hyperglycemia and the management of cerebrovascular disease. *Neurology*, 24:81-88.
- Harris-Maureen, I. 2003. Definición y Clasificación de la Diabetes Mellitus y criterios actuales para el diagnóstico. LeRoith D., Taylor S. I., Olefsky J. M *Diabetes Mellitus fundamentos y clínica*. Mc Graw Hill. Pág. 406-411.
- Heath, T. P., Melichar, J. K., Nutt, J.D., and Donaldson, F. L. 2006. Human Taste Thresholds Are Modulated by Serotonin and Noradrenaline. *The Journal of Neuroscience*, 26(49):12664 –12671.
- Herness S., Zhao F.L., Lu S., Kaya N. and Shen T. 2002. Expression and physiological actions of Cholecystokinin in Rat Taste Receptor Cells. *J. Neuroscience* 22: 10018-10029.
- Herness S., Zhao F.L., Shen T., and Kaya N. 2004. A paracrine role for serotonin in rat taste buds: expression and localization of serotonin receptor subtypes. *Am. J. Physiol.* 286: 649-658.
- Herrera, R., Manjarrez, G., Nishimura, E., and Hernandez, J. 2003. Serotonin-Related Tryptophan in children with insulin-dependent diabetes. *Pediatric neurology* 28(1):20-23.
- Hornick, T., Aron, D. 2008. Preventing and managing diabetic complications in elderly patients. *Cleveland clinic journal of medicine* 75:154-158.
- Huang, A.L., Chen, X., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Guo, W., Trankner, D., Ryba, N.J. and Zuker, C.S. 2006. The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature* 442, 934-938.
- Hugues, B., Rodríguez, J., Rodríguez, C. 2001. Animales de laboratorio en la endocrinología: biomodelos de la diabetes tipo 1. *Rev. Cubana Endocrinología* 12:169-177.
- 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.
- Kettaneth, A., Fain, O., Stirnemann, J. and Thomas, M. 2002. Taste disorders. *La Revue de Médecine Interne*. 23, 622-631.
- Kousta, E., Franks, S. 2006. Síndrome de ovario poliquístico en mujeres con diabetes. *Diabetes Voice* 51:23-25.
- Le Floch, J.P., Le liebre, G., Labroue, M., Peynegre, R., Perlemeter, L. 1992. Early detection of diabetic complications using electric gustometry: a five year follow-up study. *Eur. J. Med.* 1: 208-214.
- Le Floch, J.P., Le Lievre, G., Sadoum, J., Perlemuter, L., Peynegre, R. and Hazard J. 1989. Taste impairment and related factors in type I diabetic patients. *Diabetes Care*. 12, 173-178.

- Le Floch, J.P., Le Lievre, G., Verroust, J., Philippon, C., Peynegre, R. and Perlemuter, L. 1990. Factors related to the electric taste threshold in type 1 diabetes mellitus. *Diabet. Med.* 7, 526-531.
- Lenzen, S. 2008. The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51:216–226.
- Lindemann, B. 1996. Taste reception. *Physiol. Rev.* 76, 718-766.
- Lindemann, B. 2001. Receptors and transduction in taste. *Nature* 413, 219-225.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, A.C., Matsudaira, P., 2005. *Molecular Cell Biology*, 5th Ed. P.534. New York, US/ Freeman and company.
- Malgor, L.A., Valsecchia, M.E. 2000. *Farmacología renal y cardiovascular. Farmacología endócrina*, 2: 179-180.
- Manjarrez-Gutiérrez Gabriel, Herrera-Márquez Julia Rocío y Molina Hernández Anayansi. 1999. Alteraciones en la síntesis de serotonina cerebral inducidas por diabetes mellitus insulino-dependiente. *Rev. Invest. Clin.* 51: 293-302.
- Matchinsky, F.M. 1996. A lesson in metabolic regulation inspired by the glucokinase glucose sensor paradigm. *Diabetes metab.* 45: 223-241.
- Mattes, R.D. 1997. Physiologic responses to sensory stimulation by food: nutritional implications. *J. Am. Diet. Assoc.* 97, 406-413.
- Mattes, R.D. 1999 *Nutrición y sentidos químicos. Cap. 42 en Nutrición en salud y enfermedad. Shils, Olson, Shike and Ros (Eds.). Mc Graw Hill. Pg. 765-777.*
- Mattes, R.D. and Cowart, B.J. 1994. Dietary assessment of patients with chemosensory disorders. *J. Am. Diet. Assoc.* 94, 50-56.
- McCall, A.L. 2002. Diabetes mellitus and the central nervous system. *Neurobiology* 51: 415-454
- Miller, S.M. and Naylor, G.J. 1989. Unpleasant taste—aneglected symptom in depression. *J. Affect. Disord.* 17,291-293.
- Miura, H., Kusakabe, Y. and Harada, S. 2006. Cell lineage and differentiation in taste buds. *Arch Histol Cytol*, 69 (4): 209-225.
- Montmayeur J.P. and Matsunami H. 2002. Receptors for bitter and sweet taste. *Neurobiology* 12: 366-371.
- Murray, R.G. 1986. The mammalian taste bud type III cell: a critical analysis. *J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res.* 95, 175-188.
- Nakamura, K., Norgren, R., 1995. Sodium-deficient diet reduces gustatory activity in the nucleus of the solitary tract of behaving rats. *Am. J. Physiol.* 269, R647–R661.
- Newgard, C.B. y Johnson, J.H. 2000. Transporte y fosforilación de glucosa en la secreción de insulina estimulada por glucosa. Cap. 4 en *Diabetes Mellitus fundamentos clínicos. Roith, Taylor, Olefski (Eds). Mc Graw Hill. Pg. 47-56.*
- Page, I.H. 1976. The discovery of serotonin. *Perspect. Biol. Med.* 20: 1-8.

- Parry M.C., Erkner A., and le Coutre J. 2004. Divergence of T2R chemosensory receptor families in humans, bonobos, and chimpanzees. *PNAS*. 10: 14830-14834.
- Ponimaskin, E., Manzke, T., Wilken, B., and W., Richter. 2003. Serotonin receptors: guardians of stable breathing. *Trends in Molecular Medicine*. 9: 542-548.
- Powers-Alvin C. 2006. Diabetes mellitus. En: Kasper Dennis L., Fauci Anthony S., Longo Dan L., Braunwald Eugene., Hauser Stephen L., Jameson J. Larry. Harrison. *Principios de medicina interna*. Mc Graw Hill. Pág. 2367-2383.
- Prado, RL. 2010. Efecto de la diabetes mellitus experimental sobre la expresión del receptor del gusto azucarado en la papila caliciforme de la rata. Tesis de Maestría, Facultad de Químico Farmacobiología, Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich., México.
- Ramos, H.G. and Domingo, J. 1994. Diabetes mellitus experimental. *Ciência veterinária*, 6:348-371.
- Ramos, H.G., Domingo, J. 1994. Diabetes mellitus experimental. *Ciencia veterinaria*, 6: 348-371.
- Rees, D.A., Alcolado, J.C. 2005. Animal models of diabetes mellitus. *Diabetes UK. Diabetic. Medicine*. 22:359-370.
- Roper S.D. 2006. Cell communication in taste buds. *Cell. Mol. Life Sci*. 63: 1494-1500.
- 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.
- Sandrini. M., Vitale, G., Vergoni, A.V., Ottani, A. and Bertolini, A. 1997. Streptozotocin-induced diabetes provokes changes in serotonin concentration and on 5-HT1A and 5-HT2 receptors in the rat brain. *Life Scienar*. 60(16): 1393-1397.
- Shin, Y.K., Martin, B., Golden, E., Dotson, C.D., Maudsley, S., Kim,W.,Jang, H.J., Mattson, M.P., Drucker, D.J., Egan, J.M., Munger, S.D., 2008. Modulation of taste sensitivity by GLP-1 signaling. *J. Neurochem*. 106, 455–463.
- Stolbova, K., Hahn, A., Benes, B., Andel, M., Treslova, L. 1999. Gustometry of diabetes mellitus patients and obese patients. *Int. Tinnitus. J*. 5:135-140.
- Sugita M. 2006. Taste perception and coding in the periphery. *Cell. Mol. Life. Sci*. 63: 2000-2015.
- Suzuki T. 2007. Cellular Mechanism in taste buds. *Bull Tokyo Dent*. 45: 151-161.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol.Res*. 50:536-546.

- Tepper, B.J., and Seldner, A.C., 1999. Sweet taste and intake of sweet foods in normal pregnancy and pregnancy complicated by gestational diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.* 70, 277–284.
- Varnas, K., 2005. *Distribution of Serotonin Receptors and Transporters in the Human Brain*. ISBN 91-7149-280-2 p.4
- Walther, J., Peter, J., Bashammakh, S., Hortnagi, H., Voits, M., Fink, H. and Bader, M. 2009. Synthesis of Serotonin by a second Tryptophan Hydroxylase Isoform. *Science*. 299: 76.
- Wautier, J.L., Guillausseau P.J. 2001. Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy, *Diabetes Metab.* 27:535-42.
- Winkler, S., Garg, A.K., Mekayarajananonth, 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.
- Yang, R., Crowley, H.H., Rock, M.E. and Kinnamon, J.C. 2000. Taste cells with synapses in rat circumvallate papillae display SNAP-25 like immunoreactivity. *J. Comp. Neurol.* 424, 205-215.
- Yang, R., Tabata, S., Crowley, H.H., Margolskee, R.F. and Kinnamon, J.C. 2000. Ultrastructural localization of gustducin immunoreactivity in microvilli of type II taste cell in the rat. *J. Comp. Neurol.* 425, 139-151.
- Yee, CL, Yang R., Bottger B., Finger, T.E., and Kinnamon, J.C. 2001. Type III cells of rat taste buds: immunohistochemical and ultrastructural studies of neuron-specific enolase, protein gene product 9.5 and serotonin. *The journal of comparative neurology*, 459(1):15-24.
- Zuker S.C., Ryba J.P., and Chandrashekar J. 2006. The receptors and cells for mammalian taste. *Nature* 444: 288-296.

