



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

ESCUELA DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

TÍTULO DE LA TESIS:

***IMPLEMENTACIÓN DE UN MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETES
MELLITUS TIPO 1***

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGO
PRESENTADA POR:

p.Q.F.B. BLANCA ESTELA JUÁREZ MUÑOZ

ASESOR DE TESIS:

DC. ROSALIO MERCADO CAMARGO

COASESOR DE TESIS:

DC. RAFAEL ORTÍZ ALVARADO

TESIS PARCIALMENTE APOYADA POR
CIC 26.2, COECYT-CB07021309

MORELIA MICH, AGOSTO 2008

**ESTA TESIS SE REALIZO EN EL LABORATORIO DE NEUROBIOLOGIA DE LA FACULTAD
DE QUIMICO FARMACOBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN**

NICOLAS DE HIDALGO

DEDICATORIA

**A Dios por permitirme vivir tantas experiencias hermosas en mi vida y
aprender de cada una de ellas.**

A mis padres Jaime y Bertha, por creer en mí y apoyarme en todo.

A mis hermanos Jaime, Jesús, Víctor y Mónica.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores: D.C. Rosalío Mercado Camargo y D.C. Rafael Ortiz Alvarado que con su apoyo y conocimientos ayudaron a llevar a término este trabajo de tesis.

A mis sinodales:

D.C. María Carmen Bartolomé Camacho

M.C. Berenice Yahuaca Juárez

Q.F.B. Armida Sánchez Gallegos

Por dedicar su tiempo para complementar este trabajo de tesis.

Al M.C. Omar por su apoyo y consejos.

**A mis amigas y compañeros de laboratorio por su darme siempre su apoyo y amistad:
Angie, Gabis, Lulú, Susan, Jaime, Tavo, Diana, Gabi y Luis.**

“La sabiduría suprema es tener sueños bastante grandes para no perderlos de vista mientras se persiguen”

William Faulkner

CONTENIDOS	Página
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
CONTENIDO.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
LISTA DE ABREVIACIONES.....	vi

Capítulo

1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	3
3. INTRODUCCIÓN.....	4
3.1 Diabetes mellitus.....	4
3.2 Síntesis y secreción de insulina.....	8
3.3 Las complicaciones de la diabetes y problemas relacionados.....	13
3.4 Modelos experimentales de diabetes mellitus.....	20
3.5 Perspectiva actual de la diabetes.....	25
4. JUSTIFICACION.....	27
5. HIPÓTESIS.....	26
6. OBJETIVOS.....	28
General.....	28
Específicos.....	28
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	31
9. RESULTADOS.....	32
10. DISCUSIÓN.....	39
11. CONCLUSIONES.....	42
12. BIBLIOGRAFIA.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Fármacos con efecto diabetogénico en animales experimentales.....	23
2. Causas de muerte en México.....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Ubicación del páncreas.....	9
2. Células que conforman el páncreas.....	9
3. Molécula de proinsulina.....	11
4. Molécula de insulina.....	11
5. Secreción de insulina en la célula.....	12
6. Conversión enzimática de glucosa a sorbitol.....	18
7. Incidencia de diabetes.....	26
8. Gráfica que muestra los niveles de glucosa sanguínea de las ratas.....	32
9. Gráfica que muestra el peso de las ratas.....	33
10. Fotografías que muestran la diferencia en la complexión de las ratas.....	34
11. Gráfica del consumo de alimento.....	35
12. Gráfica que muestra la relación peso/alimento.....	36
13. Gráfica que muestra el IMC a las diferentes semanas de inducción.....	37
14. Gráfica que muestra la ingesta de líquidos.....	38

LISTA DE ABREVIACIONES

DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
STZ	Estreptozotocina
ADA	Asociación Americana de Diabetes
OMS	Organización Mundial de la Salud
IP	Intraperitoneal
NOD	Diabético no obeso
β	Beta
DMG	Diabetes mellitus gestacional
α	Alfa
δ	Delta
MODY	Maturity-onset diabetes of the Young
ATP	Adenosin trifosfato
K	Potasio
AGE	Aumento de los productos de glicación avanzada
PKC	Proteína cinasa C
DAG	Diacilglicerol
CV	Cardiovascular
ACV	Accidentes cerebrovasculares
EVP	Enfermedad vascular periférica
BB	Bio breeding

1. RESUMEN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad de disfunción metabólica que se caracteriza por un aumento en la concentración de glucosa en sangre, por un déficit absoluto o relativo de insulina, y por alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y grasas, representando el primer lugar de mortalidad en nuestro país. Esta situación de hiperglucemia ocasiona complicaciones crónicas a largo plazo, disfunción, y falla de varios órganos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos, que son comunes a todos los tipos de DM. La diabetes se divide en dos categorías principales, la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). La DM1 ocurre más frecuentemente en niños y adolescentes. La DM2 generalmente inicia después de los 40 años de edad. Algunos estudios han documentado además cambios gustativos en pacientes que cursan con esta enfermedad. Estos cambios gustativos pueden estar relacionados con la inervación y cambios morfológicos en los corpúsculos gustativos. Dada la gran relevancia de esta enfermedad es necesario contar con modelos animales que nos permitan entender los diferentes factores desencadenados por la diabetes mellitus y estos modelos animales representan grandes ventajas en este caso, ya que se puede disponer de varias generaciones en un periodo relativamente corto.

La literatura refiere que la administración de estreptozotocina (STZ) es un método adecuado para inducir la diabetes mellitus tipo 1, sin embargo la dosis de STZ difiere, por lo que el objetivo de este trabajo de tesis fue implementar un modelo experimental de diabetes mellitus tipo 1 (DM1). Para inducir la DM1 en ratas se administro STZ, en dosis de 55mg/kg de peso vía IP, a los controles sólo se les administró el vehículo. Se midieron

Implementación de un modelo experimental de DM tipo 1

los niveles de glucosa en sangre usando un medidor One Touch Ultra, se realizó seguimiento de peso, ingesta de agua y consumo de alimento. Los resultados muestran que los animales administrados con STZ presentaron aumento en la concentración de glucosa sanguínea, poliuria, polifagia, polidipsia y disminución de peso corporal. Estos cambios son los que en general se presentan en los pacientes con DM1, por lo que concluimos que la dosis administrada de STZ es efectiva para inducir la DM1 en forma experimental. Con lo cual se podrá utilizar este modelo para estudiar los mecanismos fisiopatológicos de la DM.

Palabras claves: *Estreptozotocina*, Diabetes Mellitus rata, modelos animales experimentales.

2. ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a disease of dysfunction metabolic characterized for an increase in the concentration of glucose in blood, for an absolute or relative deficit of insulin, and for alteration in the metabolism of the carbohydrates, the proteins and the fatties. This situation of hyperglycemia cause chronic complication to long time, dysfunction and failure of various organs, especially the eyes, kidneys, nerves, heart and blood vessel, these are common to all the types of DM. There are two principal categories: type 1 and type 2. Diabetes type 1 occurs frequently in children and adolescents. Diabetes type 2 generally beginning after the 40 years old. Represent the first place the mortality in our country due to its complications generates for the metabolic alterations in carbohydrates, lipids and proteins. Some studies have documented besides changes in the taste in patients with this disease. These changes taste who be connected with the innervations and morphology change in the taste bud. Due to its big importance is necessary rely whit animal model who us permit to understand the different factors unchain for the diabetes mellitus and these animal models represent big advantages in this case, because can to dispose of several generations in a short period.

The objective of this thesis work was to implement an experimental model of diabetes mellitus type 1 (DM1) in rats. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ), at a single dose of 55mg/kg body weight. To the control only to them was administered the Vehicle. Was measured the levels of glucose in blood wing a One Touch Ultra, was realized continuation of weight and food consumption. The obtained result was favorable, because the experimental group showed symptoms of marked hyperglycemia include polyuria, polydipsia, weight loss and polyphagia.

Key words: Streptozotocin, Diabetes Mellitus rats, animal models.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 LA DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad de disfunción metabólica que se caracteriza por un aumento en la concentración de glucosa en sangre, por un déficit absoluto o relativo de insulina, y por alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, las proteínas y las grasas (Triana, 2001). Es una enfermedad relevante desde el punto de vista individual, familiar y comunitario, ya que produce diversos grados de incapacidad e induce cambios en la dinámica social del individuo motivados por las incomodidades de un tratamiento y control de por vida.

Varios procesos patogénicos están involucrados en el desarrollo de la diabetes, como destrucción de las células β del páncreas y otros que resultan en resistencia a la acción de la insulina. La base de las anormalidades en el metabolismo de carbohidratos, grasas, y proteínas en la diabetes es la deficiencia de la acción de la insulina en el tejido blanco. La deficiencia de la acción de la insulina es el resultado de una inadecuada secreción de esta y/o una disminuida respuesta de insulina en el tejido.

Los síntomas de una hiperglucemia marcada incluyen poliuria (micción excesiva), polidipsia (sed excesiva), pérdida de peso, algunas veces presentan polifagia (aumento del apetito), y visión borrosa. Aumenta la susceptibilidad a ciertas infecciones y puede estar acompañado con hiperglucemia crónica. Las consecuencias de una diabetes no controlada son hiperglucemia con cetoacidosis o síndrome hiperosmolar no cetónico.

A largo plazo las complicaciones de la diabetes incluyen retinopatía con pérdida potencial de visión; nefropatía conduciendo a la insuficiencia renal; neuropatía periférica con riesgo de úlceras del pie, amputación, articulaciones de charcot, y neuropatía autonómica gastrointestinal, genitourinaria, cardiovascular y disfunción sexual. Pacientes con diabetes tienen una mayor incidencia de aterosclerosis cardiovascular, enfermedad vascular periférica, enfermedad cerebrovascular, hipertensión arterial y enfermedad periodontal (ADA, 2002; ADA, 2007).

3.1.1 Clasificación de la diabetes mellitus

En 1997 la asociación Americana de Diabetes (ADA) propuso una nueva clasificación de la diabetes, la cual fue actualizada en el 2003 (ADA, 2007):

Diabetes Mellitus tipo 1: Antiguamente denominada insulín dependiente (debido a la necesidad de utilizar insulina) o diabetes mellitus juvenil (debido al inicio temprano), cuya etiología puede ser idiopática o autoinmune.

Diabetes Mellitus tipo 2: Conocida anteriormente como no insulín dependiente, que comprende dos formas: Resistencia a la insulina y defectos en la secreción de la misma.

Otros tipos específicos: que incluyen defectos genéticos, alteraciones de la función exocrina del páncreas, endocrinopatías, toxicidad por fármacos e infecciones.

Diabetes mellitus gestacional (DMG): la definen simplemente por el hecho de aparecer durante el embarazo; y no establece una vinculación etiológica. La incidencia es de 1 a 5% de mujeres embarazadas.

Diabetes mellitus Tipo 1

La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) antes llamada diabetes infanto-juvenil, aparece en la infancia y adolescencia con tendencia a cetoacidosis, derivada del aumento de la

oxidación de ácidos grasos hacia cuerpos cetónicos, es metabólicamente lábil por lo que para compensarla es imprescindible el tratamiento con insulina. Es habitual el comienzo de esta forma clínica de diabetes entre los 6-14 años, y la mayoría tiene un diagnóstico confirmado antes de los 20 años. El páncreas de estos pacientes, no produce insulina, por lo tanto no hay insulina plasmática. Sin suficiente insulina, la glucosa se acumula en el torrente sanguíneo en lugar de penetrar en las células. El cuerpo a pesar de los altos niveles de glucosa en el torrente sanguíneo, es incapaz de utilizarla como energía, lo que lleva a que aumente el apetito. Además, los altos niveles de glucosa en la sangre hacen que el diabético orine más, lo que a su vez causa sed excesiva.

En la DM1, plenamente establecida, las funciones de las células beta terminan por desaparecer totalmente. Esta forma clínica de diabetes podría también originarse o relacionarse con infecciones virales, con virus como el Coxsackie B y al de la parotiditis y otros virus diabetógenos como el de la encefalomiocarditis N que induce la aparición de una DM1 en roedores (Cabrera y *col.*, 2002; Malgor y Valsecia, 2000). Existen evidencias de que la DM1 puede depender de una enfermedad autoinmunitaria de las células β pancreáticas. Hasta en el 80% de los individuos con diabetes tipo 1 se detectan anticuerpos contra componentes de las células de los islotes, en etapas tempranas, o antes de que comience la enfermedad clínica (Goodman & Gilman, 2003).

Diabetes Idiopática

Algunas formas de diabetes tipo 1 no se conoce su etiología. Algunos de estos pacientes tienen insulinopenia permanente y son propensos a la cetoacidosis, aunque no tienen problemas de autoinmunidad. Solo una minoría de pacientes con diabetes tipo 1 se incluyen en esta categoría, la mayoría son de origen africano o ascendencia asiática.

Diabetes mellitus Tipo 2

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es la forma más común de diabetes, principalmente ocurre en individuos obesos, asociados con hipertensión y dislipidemia. Producida por una combinación de factores genéticos y no genéticos cuyas consecuencias son la resistencia a la insulina y la deficiencia de esta. Algunos de los factores no genéticos son edad avanzada, consumo excesivo de calorías, sobrepeso y vida sedentaria.

Con frecuencia este tipo de diabetes pasa inadvertido durante varios años debido a que la hiperglucemia se desarrolla gradualmente, y en etapas tempranas no es tan severa, de tal forma que el paciente no la asocia con los síntomas clásicos de la diabetes. Por último, la deficiencia de la secreción de insulina origina hiperglucemia descompensada y precipita la expresión clínica de la enfermedad (ADA, 2002).

Al menos inicialmente y a lo largo de su vida, estos individuos no necesitan tratamiento con insulina para sobrevivir. Aunque la etiología específica de esta forma de diabetes aún no se conoce, la destrucción autoinmune de las células β no se produce en este tipo de diabetes. La mayoría de los pacientes con esta forma de diabetes son obesos, y esto causa algún grado de resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina puede disminuir al bajar de peso y/o al recibir tratamiento farmacológico por hiperglucemia pero rara vez se restaura a la normalidad (Wing, *et al.*, 1994). La cetoacidosis rara vez ocurre espontáneamente en este tipo de diabetes; cuando se presenta usualmente está asociada con el estrés (Butkiewicz, *et al.*, 1995; Banerji, *et al.*, 1994). Estos pacientes tienen alto riesgo de desarrollar complicaciones microvasculares y macrovasculares (Kuusisto *et al.*, 1994). El riesgo de desarrollar este tipo de diabetes incrementa con la edad, obesidad, y falta de actividad física (Harris MI, 1989).

El otro grupo con una prevalencia relativamente alta dentro de estas enfermedades es la diabetes del adulto de aparición en el joven denominada también en su abreviatura inglesa tipo MODY (Maturity-onset diabetes of the young). En la clasificación de la ADA se incluye dentro del grupo “otros tipos de diabetes” en él se agrupan defectos monogénicos en la función de las células β que se heredan con carácter autosómico dominante. Se caracterizan por una alteración de la secreción de insulina, siendo la acción de la insulina normal o estando mínimamente disminuida. El diagnóstico suele realizarse antes de los 25 años. En la actualidad se conocen varias mutaciones de diferentes genes asociados con esta enfermedad.

3.2 SÍNTESIS Y SECRECIÓN DE INSULINA

El páncreas (fig. 1) 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 Langerhans. El islote de Langerhans está compuesto de cuatro tipos de células (fig. 2), 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 conocida 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).

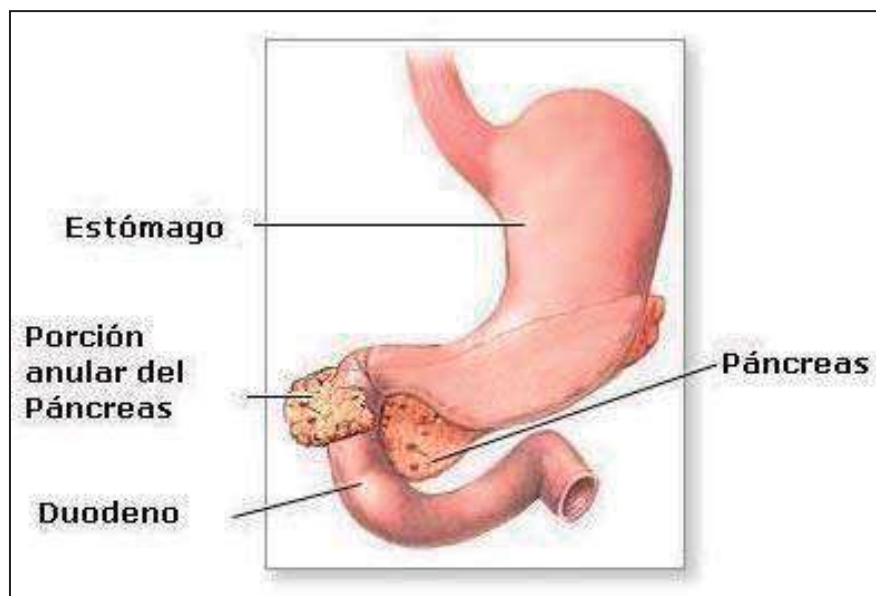


Figura 1. Muestra la ubicación del páncreas. Tomada de www.nlm.nih.gov/.../ency/imagepages/9063.htm

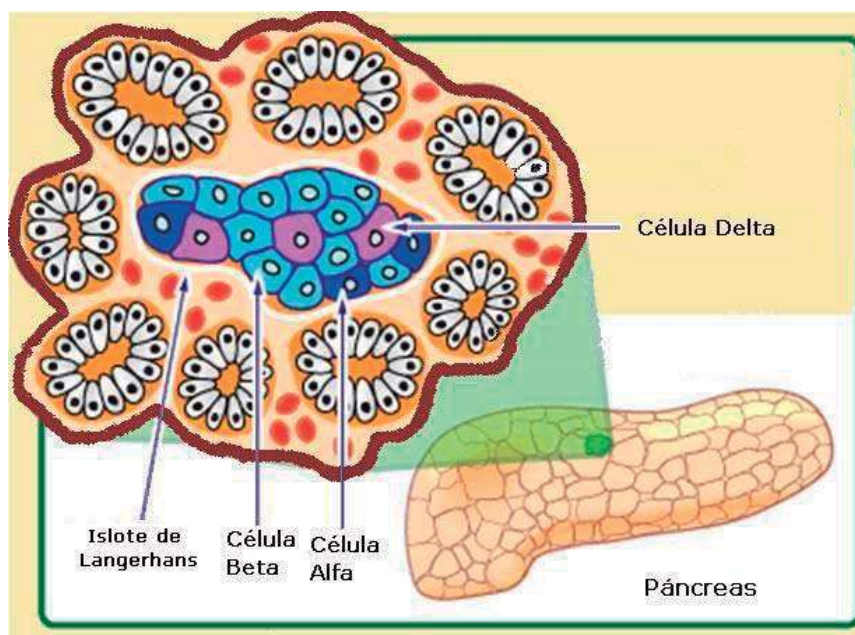


Figura 2. Células que conforman el Páncreas. Tomada de www.geneticsrus.org/DNA/dna2.php

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 (fig. 3). 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 solo pliega a la cadena A (fig. 4).

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 péptidos C indican una secreción relativamente normal del páncreas.

Las células Beta del páncreas controlan el nivel de glucosa. En primer lugar, sirven como un sensor de los cambios del 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.

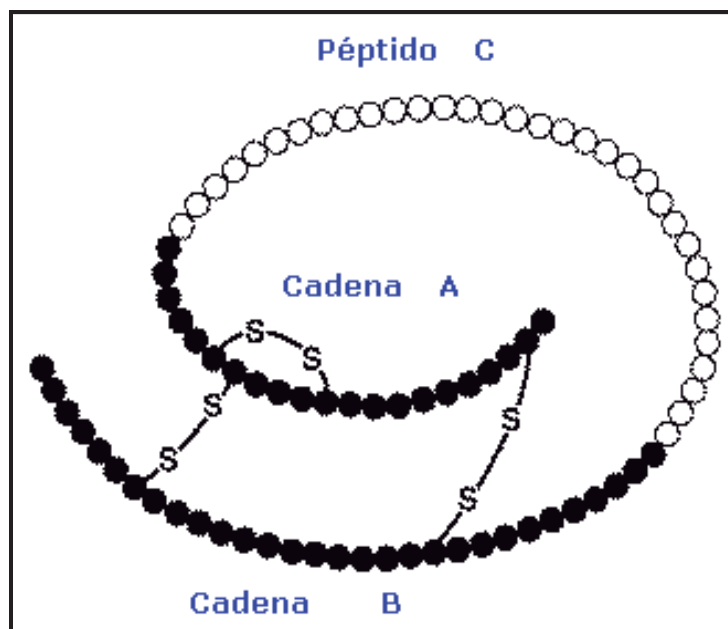


Figura 3. Molécula de proinsulina (tomada de www.uned.es/pea_nutricion_y_dietetica_I/guia/diabetes/prodinsu.htm)

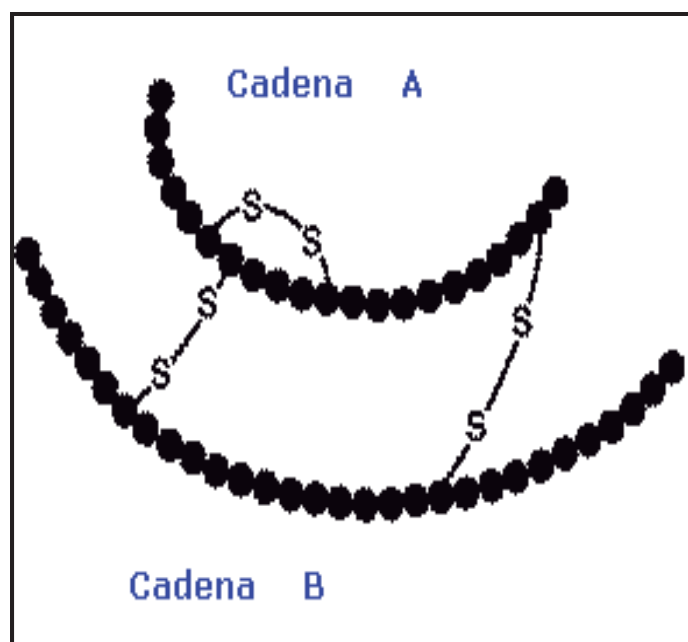


Figura 4. Molécula de insulina compuesta de cadenas tipo A y B (tomada de www.uned.es/pea_nutricion_dietetic_I/guia/diabetes/prodinsu.htm)

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 otros 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 K, lo que produce depolarización 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) (figura 5).

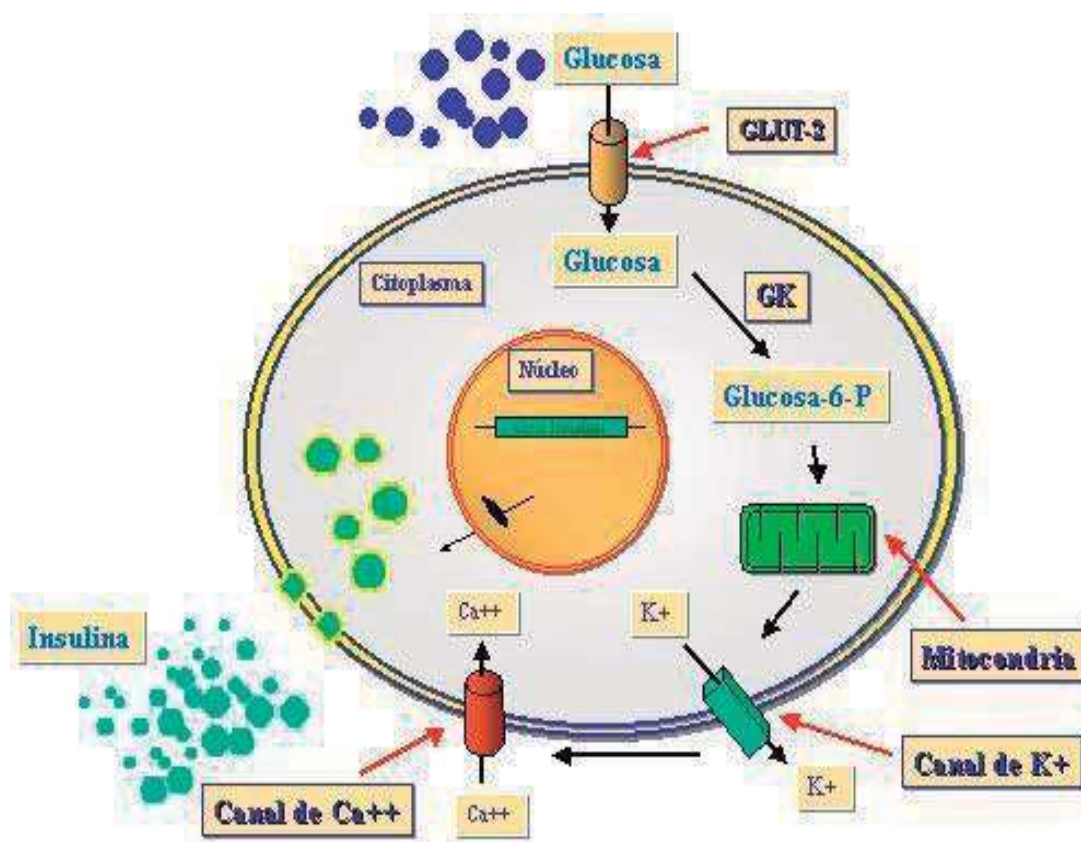


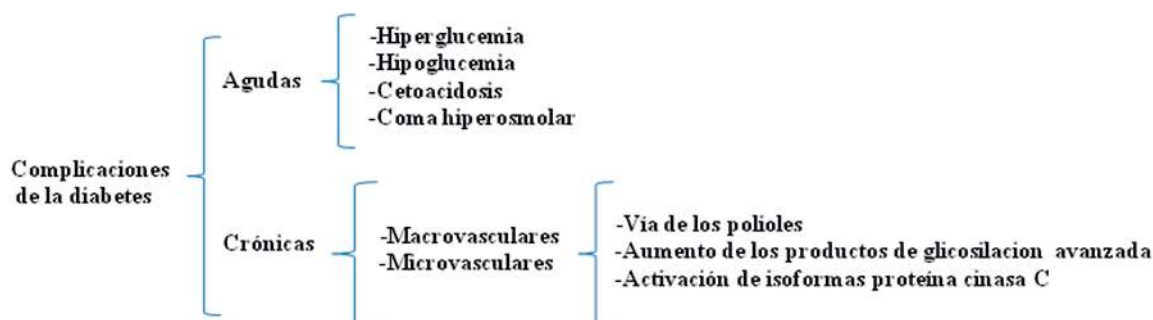
Figura 5. Ruta que integra la señal de glucosa en el exterior de la célula con la secreción de insulina en la célula β (tomada de www.diabetesjuvenil.com/documentos_html/dj_ln).

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.

3.3 LAS COMPLICACIONES DE LA DIABETES Y PROBLEMAS RELACIONADOS

La hiperglucemia es considerada en la actualidad como un factor causal 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:



3.3.1 Complicaciones agudas.

Son situaciones reversibles y remediabiles 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. Por:
 1. Error en el tratamiento.
 2. Exceso de hidratos de carbono.
 3. Estrés físico (cirugía, infecciones) o psíquico (tensión emocional).
- 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.

3.3.2 Complicaciones crónicas.

Estas complicaciones pueden ser de dos tipos: microvasculares y macrovasculares, según afecten a arterias de menor o mayor calibre o diámetro.

Microvasculares:

- Retinopatía: Es una causa frecuente de ceguera, está estrechamente relacionada con la duración de la diabetes.
- Nefropatía: Es la causa más frecuente de insuficiencia renal. Se produce inicialmente por afectación glomerular.
- Neuropatía: en la cual se presenta daño a los nervios como resultado de una hiperglucemia.

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 azúcar en la sangre y tiene mayores posibilidades de desarrollo si los niveles de azúcar en la sangre no están bien controlados.

Algunos diabéticos no presentan neuropatía, mientras que otros pueden sufrir esta afección en una etapa relativamente temprana. En promedio, el inicio de los síntomas se presenta de 10 a 20 años después de diagnosticada la diabetes y aproximadamente el 50% de las personas con dicha afección finalmente padecen neuropatía.

Las lesiones a los nervios periféricos pueden afectar los nervios craneales o los de la columna vertebral y sus ramificaciones y es un tipo de neuropatía (lesión nerviosa) que tiende a desarrollarse por etapas. Las neuropatías autónomas afectan los nervios que regulan las funciones vitales involuntarias, incluyendo el músculo cardíaco y los músculos lisos. Estas neuropatías pueden causar presión sanguínea baja, diarrea, estreñimiento, impotencia sexual y otros síntomas (Hornick y Aron, 2008).

Factores de riesgo de la neuropatía diabética

Los factores de riesgo relacionados 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)

Alteraciones de la percepción gustativa en la diabetes.

Dentro de las manifestaciones tempranas de la diabetes, diversos autores han reportado una pérdida de sensibilidad a los estímulos gustativos (disgeusia). El hecho de

que dicha deficiencia esta 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 de la 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).

Se han realizado estudios con gustómetro eléctrico en pacientes diabéticos y pacientes controles, pareados por edad y sexo. El sabor se estudió con un electrogustómetro. El umbral con electrogustómetro en pacientes diabéticos aumentó significativamente, mientras que en los sujetos controles solo hubo ligeros cambios. En el grupo de diabéticos el umbral electrogustométrico se asoció con complicaciones de la diabetes, sobre todo con neuropatía periférica ya que ninguno de ellos consumió grandes cantidades de alcohol, fumado o había enfermedad o tomado medicamentos que pudieran alterar el sabor. Estos resultados sugieren que la disminución en la percepción gustativa es una alteración degenerativa resultado de la complicación de la diabetes mellitus (Le Floch *et al*, 1990; Le Floch *et al*, 1992).

Macrovasculares:

- Enfermedad cardiovascular periférica
- Enfermedad cerebrovascular
- Cardiopatías

La presencia de DM incrementa de manera significativa el riesgo cardiovascular (CV), confirmando a la DM como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de aterosclerosis (Kannel and Gee, 1979). La enfermedad CV en pacientes con DM es la responsable de más del 80% de todas las muertes y del 75% de todas las hospitalizaciones. Los pacientes con DM tienen tres veces más riesgo de desarrollar accidentes cerebrovasculares (ACV) que la población general (Lackland and Moore, 1997).

La enfermedad vascular periférica (EVP) es 4 veces más frecuente en pacientes con DM. La EVP en pacientes con DM involucra principalmente las arterias de las pantorrillas (arterias tibial y peroneal) y también tienen mayor dificultad para desarrollar circulación arterial colateral en las extremidades inferiores.

Los síntomas incluyen (Schaper *et al*, 2000):

- Claudicación intermitente
- Dolor de reposo en las extremidades inferiores
- Pérdida de vello en el dorso de los pies
- Disminución o ausencia de pulsos periféricos

MECANISMO DEL DAÑO VASCULAR POR HIPERGLUCEMIA

Existen numerosas hipótesis que intentan explicar el mecanismo patogénico de enlace entre la hiperglucemia crónica y el desarrollo de complicaciones. Sin embargo, hay tres hipótesis que han generado la mayor cantidad de evidencias científicas así como algunos estudios basados en inhibidores específicos de estos mecanismos:

- ❖ Incremento de la actividad de la aldosa reductasa (vía de los polioles)

- ❖ Incremento de la formación de los productos finales de glicosilación avanzada (AGE);
- ❖ Activación de las isoformas de la proteína cinasa C (PKC)

La hiperglucemia mantenida en algunos tejidos puede activar estas vías cuyos metabolitos pueden afectar la función celular.

Vía de los polioles

El metabolismo de la glucosa a través de esta vía representa un pequeño porcentaje del uso total de la glucosa, pero en un ambiente hiperglucémico, el incremento de la glucosa intracelular resulta en un aumento de la conversión enzimática de la glucosa a sorbitol (figura 6). El incremento de esta vía produce cambios severos que incluyen la disminución en los niveles de NADPH, Glutathion y miositol; cada uno con un papel importante en el desarrollo de la microangiopatía diabética, al mismo tiempo que se produce un aumento de sorbitol intracelular, que inhibe la síntesis de mionositol. La disminución de mionositol en el nervio disminuye la velocidad de conducción nerviosa y la aparición de la neuropatía diabética (Triana, 2001; Plugliese *et al.*, 1991).

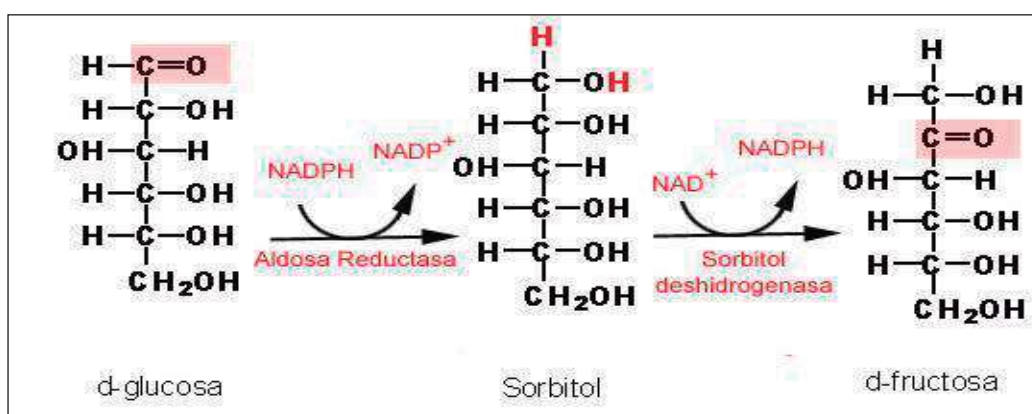


Fig. 6

Conversión enzimática de glucosa a sorbitol (tomada de www.iqb.es/d_mellitus/medico/complica/retina/cap01_13.htm#sorbitol)

Aumento de los productos de glicación avanzada (AGE)

Esta teoría surgió al intentar explicar las complicaciones de la DM como una forma de envejecimiento precoz. La glicación avanzada se produce durante el envejecimiento normal, pero en la DM este proceso está acelerado. Los productos de la glicosilación no enzimática de las proteínas varían en su estructura química pero como grupo se denominan productos finales de la glicosilación avanzada (AGE) (Degenhardt *et al.*, 1998).

Esta hipótesis plantea el aumento de la formación de los productos finales de glicosilación avanzada. Estos productos AGE se encuentran en mayores cantidades en los vasos retinianos y glomerulares de los diabéticos.

La glicosilación implica una reacción en la cual los azúcares (glucosa en general, pero no exclusivamente) reaccionan no enzimáticamente con fructosamina. Es así que en una segunda fase, cuando las concentraciones de glucosa se mantienen altas durante varias semanas, estos productos se estabilizan y se transforman en los llamados productos finales de glicosilación conocidos como AGE, que no retornan a sus sustratos de origen después de haber logrado que disminuyan los niveles de glucosa.

La producción intracelular de precursores AGE daña las células blanco por 3 mecanismos:

- 1.- Proteínas intracelulares modificadas por los AGE alterando su función.
- 2.- Los componentes de la matriz extracelular y sus receptores proteicos integranas.
- 3.- las proteínas plasmáticas modificadas por los precursores de los AGE se unen a sus receptores en las células endoteliales, en las células mesangiales y en los macrófagos induciendo producción de especies reactivas de oxígeno.

Las complicaciones vasculares son asociadas precisamente con los AGE, formados lentamente durante varios meses y años sobre las proteínas estructurales por ejemplo,

colágeno y lente cristalino, antes que se observen sus efectos acumulativos (Gugliucci, 2000).

Activación de las isoformas de la proteína cinasa C (PKC)

Otro mecanismo por el cual la hiperglucemia modifica el balance metabólico a nivel celular parece ser la modificación de la actividad de la proteína Kinasa C, (Gugliucci, 2000). La PKC es una cinasa serina/treonina que participa en los eventos de transducción de señal en respuesta a estímulos específicos hormonales, neuronales y factores de crecimiento. La hiperglucemia mantenida produce activación de la PKC, aumenta el diacilglicerol (DAG) en las células microvasculares de la retina y en glomérulo renal de los animales diabéticos.

La familia de la PKC comprende varias isoformas, la isoforma β ha sido la más frecuente asociada al daño producido en la diabetes.

3.4 MODELOS EXPERIMENTALES DE DIABETES MELLITUS

Los modelos animales se han utilizado extensivamente en la investigación de la Diabetes. Desde 1922, se han utilizado una variedad de animales, incluyendo conejos, ratas, vacas, perros y ovejas. Los modelos animales 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.

Biomodelos espontáneos de diabetes tipo 1

La diabetes espontánea entre los animales es relativamente común. El primer caso fue descrito en 1851 en un primate. Se presenta en una gran variedad de especies de

mamíferos entre las que se encuentran perros, gatos, caballos, ganado, cerdos, ovejas, el hámster chino, conejos Nueva Zelanda Blancos, perros Keeshond y monos. Los modelos más representativos en el estudio de la diabetes son el ratón NOD (en inglés, nonobese diabetic mouse) y la rata BB (bio breeding) que es una variante de la cepa wistar.

Esta enfermedad ha sido estudiada en animales que desarrollan diabetes insulino dependiente en los que intervienen 2 factores patogenéticos que se complementan: los defectos inmunológicos y la predisposición genética. (Hugues *et al.*, 2001).

Agentes infecciosos

Algunos virus producen daño pancreático y, como consecuencia, síndromes diabéticos en los animales. Estos incluyen al de la encéfalo miocarditis, Coxsackie B, Enfermedad de pie y boca, Encefalitis equina venezolana y todos los picornavirus. El Síndrome inducido por estos virus es moderado y transitorio, debido a que solo una porción de los islotes de Langerhans está afectada (Ramos y Domingo, 1994)

Lesiones en el hipotálamo ventro medial

La administración de electrolitos en la zona ventro medial hipotalámica causa lesiones que provocan hiperfagia, hiperinsulinemia y obesidad. Tras un período inicial de sensibilidad al aumento de la insulina, se desarrolla el estado de resistencia, especialmente a nivel muscular. Cuando se administran electrolitos en el núcleo paraventral inducen hiperfagia, obesidad y, algunas veces intolerancia moderada a la glucosa. Los modelos mejor estudiados para este síndrome son la rata y el ratón. (Ramos y Domingo, 1994; Hugues *et al.*, 2002; Arulmozhi *et al.*, 2004).

Alteraciones dietéticas

El consumo de alimentos enriquecidos con grasa saturadas o azúcares simples, como la sacarosa, puede acrecentar la concentración de insulina y aumentar su depósito en el tejido adiposo lo que reduce la sensibilidad a la insulina y la intolerancia a la glucosa en los tejidos (Hugues *et al.*, 2002) (Arulmozhi *et al.*, 2004).

En animales como el perro y el gato se presenta un síndrome diabético clínicamente inestable, en omnívoros y herbívoros como conejos, cabras, cerdos, ovinos, monos, aves y peces sólo se presenta un estado diabético caracterizado por glucosuria moderada y cetonuria variable, esto sugiere que es complicado utilizar la dieta para producir diabetes ya que existen variables no controladas.

Inducción hormonal

Excesivas dosis de hormonas contrarreguladoras (glucagón, hormona del crecimiento, glucocorticoides), pueden producir estados de hiperglucemia. La administración de glucocorticoides, especialmente la dexametasona, en distintos períodos de la vida, puede afectar selectivamente la acción de la resistencia a la insulina en diferentes tejidos. Sin embargo, la infusión de insulina durante algunos días junto con la glucosa, previene la hiperglucemia. Otras hormonas que pueden causar estos efectos son las catecolaminas, la somatostatina y las tiroideas (Stojanonska *et al.*, 1990).

Diabetes inducida

La inducción de la diabetes se ha logrado por medio de diversas técnicas experimentales. En 1889, Joseph von Mering y Oskar Minkowski (Von Mering & Minkowski 1889) observaron que tras la extirpación del páncreas a animales, estos

presentaban los signos típicos de la diabetes, tales como, poliuria y polidipsia. Todo hacía suponer que el páncreas fabricaba un compuesto que se vertía al plasma sanguíneo y cuya ausencia era la responsable de la diabetes, 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 la remoción parcial o total del páncreas, sin embargo existen complicaciones más severas en los animales que se les ha extirpado el páncreas.

Existen métodos no quirúrgicos para inducir hiperglucemia por daño al páncreas, este incluye la administración de toxinas tales como STZ y aloxana. 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. Estos compuestos en dosis diabetogénicas actúan específicamente sobre las células β (Ramos y Domingo, 1994). En ratas y ratones la STZ, la aloxana y el vacor interfieren con el metabolismo celular específicamente en la célula β y como resultado se destruyen las células β . En la tabla I se muestra una variedad de agentes utilizados para inducir la diabetes en animales experimentales (Rees y Alcolado 2005).

Tabla I. Fármacos con efecto diabetogénico en animales experimentales

Fármaco	Referencia
Aloxana	Hugues <i>et al</i> , 2001
Estreptozotocina	Hugues <i>et al</i> , 2001
Vacor	Rees y Alcolado, 2005
Ditizona	Rees y Alcolado, 2005
8-hidroxiquinolona	Rees y Alcolado, 2005

Los datos de inducción de diabetes en mamíferos superiores son escasos; solo perros, gatos y unos cuantos primates han sido estudiados en detalle, de esta manera los roedores de laboratorio, por sus periodos cortos de reproducción y bajo costo han sido utilizados con frecuencia para inducir experimentalmente la diabetes. Los científicos utilizan ratas, conejos, perros y primates no humanos para estudiar a largo plazo las complicaciones de la diabetes, particularmente las que implican vasos sanguíneos. Algunos estudios usando ratas diabéticas presentan concentraciones elevadas de glucosa en sangre, modificación de la función de los vasos sanguíneos que suministran los nutrientes a varios órganos, especialmente al cerebro. Ratas, conejos y ratones son usados para estudiar los efectos de pérdida parcial de las células de los islotes productoras de insulina del páncreas y el mecanismo de acción de la insulina. Un modelo en conejos es utilizado para estudiar cómo afecta la diabetes el metabolismo de lípidos en sangre y el desarrollo de aterosclerosis. Los perros se están usando como modelos para estudiar la retinopatía.

Los roedores han sido de incalculable valor en el estudio de la diabetes, tienen un periodo de vida natural de tan solo unos pocos años y se puede disponer de varias generaciones en un periodo relativamente corto, de esta manera los roedores de laboratorio, por su gran cantidad y bajo costo han proporcionado una cantidad mayor de información. Los perros viven aproximadamente 12 años en promedio, y con frecuencia mueren antes de las complicaciones de la diabetes. Los monos Rhesus en cautiverio que tienen un acceso ilimitado a la alimentación natural, desarrollan una especie de diabetes tipo 2 similar a la de los seres humanos, estos primates viven 20-30 años, y esto hace posible que se estudien las complicaciones de la diabetes. Los primates son una ventaja en el estudio de la diabetes, a diferencia de las personas, que desarrollan la diabetes en un periodo de 10-30 años, los

monos desarrollan esta enfermedad durante un periodo de 3-5 años, esto permite realizar el seguimiento científico de cada una de las etapas en el desarrollo de la enfermedad y sus complicaciones. Desafortunadamente, los costos de los primates, el mantenimiento de los mismos y los espacios especiales para mantenerlos son factores que influyen en que esta especie sea difícil de utilizar como modelo experimental.

3.5 PERSPECTIVA ACTUAL DE LA DIABETES

La DM en México es considerada como un grave problema de salud pública, puesto que es una enfermedad incurable que origina altos costos económicos a la persona que la padece, y que de no ser atendida en tiempo y forma, presenta riesgo de discapacidad y eventualmente, conduce a la muerte. Alrededor del 8.2% de la población entre 20 y 69 años de edad padece diabetes, y cerca del 30% de los individuos afectados, desconoce que la tiene.

La Secretaría de Salud en México, ha reportado que desde el año 2000 a la fecha, la principal causa de muerte es debida a la DM. Por mencionar números, del 2000 al 2005 murieron 339, 618 personas a causa de esta enfermedad (Collado-Meza *et al*, 2004) (Sánchez *et al*, 2002). En México, en los últimos cinco años la DM ha llegado a ocupar la primera causa de muerte (Tabla II) con 11% del total de las defunciones en ambos sexos y 14% de las muertes de las mujeres. En el 2000, México fue catalogado como uno de los 5 países con mayor incidencia de diabetes (Figura 7). En 2004 murieron 15 mil personas más que en el año 2000 a consecuencia de las complicaciones de la diabetes (como reflejo de los problemas ocasionados por el envejecimiento poblacional y la falta de un diagnóstico oportuno). Desde el punto de vista epidemiológico su frecuencia, prevalencia y mortalidad

Implementación de un modelo experimental de DM tipo 1

señalan con claridad que se trata de un problema de salud pública de primera magnitud en la República Mexicana.

Tabla II. Causas de muerte en México

SECRETARÍA
DE SALUD

Lugar	Descripción	Defunciones	Tasa
1	Diabetes mellitus	67.090	63
2	Enfermedades isquémicas del corazón	53.188	50
3	Lesiones de causa externa	50.040	47.2
4	Cirrosis y otras enfermedades crónicas del hígado	27.566	25,9
5	Enfermedad cerebrovascular	27.370	25,7
6	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	20.253	19
7	Ciertas afecciones originadas en el periodo perinatal	16.448	15,5
8	Infecciones respiratorias agudas bajas	14.979	14,1
9	Enfermedades hipertensivas	12.876	12,1
10	Nefritis y nefrosis	11.397	10,7

Elaborado a partir de las bases de datos de defunciones INEGI/SSA/DGIS

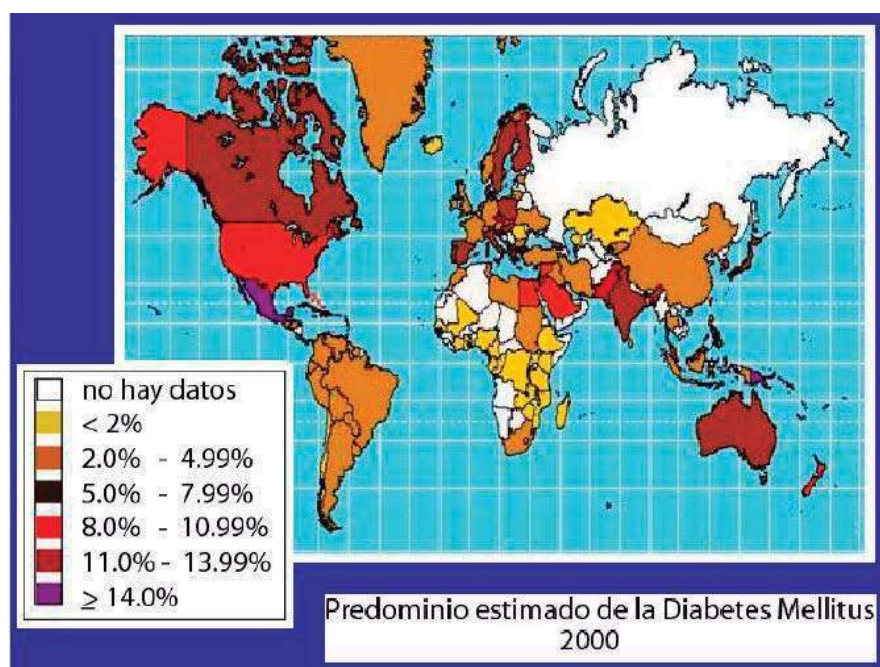


Figura 7. Incidencia de la diabetes.

4. JUSTIFICACIÓN

La DM constituye un problema de salud pública tanto a nivel mundial como a nivel nacional por la magnitud y la trascendencia de sus complicaciones. Dada la relevancia de este problema, es necesario contar con modelos animales de DM1 experimental que sean de bajo costo, reproducción corta y de mantenimiento sencillo que nos permitan conocer los mecanismos patofisiológicos de esta enfermedad. Es por eso que en el presente trabajo nos propusimos la siguiente hipótesis.

5. HIPÓTESIS

Es posible implementar un modelo experimental de DM1 en ratas.

6. OBJETIVOS

GENERAL

Implementar un modelo animal de diabetes mellitus tipo 1.

ESPECÍFICOS

- Inducir Diabetes mellitus en ratas
- Caracterizar los efectos de la administración de STZ en ratas.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 MANEJO DE ANIMALES

El estudio se realizó en ratas Wistar machos, de 12 semanas de edad, las cuales pesaron 300 ± 20 g, procedentes del bioterio de la Facultad de Químico farmacobiología. Durante el estudio, los animales fueron mantenidos en ciclos de luz-oscuridad de 12hrs cada uno, humedad relativa de 80% y temperatura de 20-24°C. Todos los animales se sometieron a la misma dieta, la cual se basó en un alimento que les proporcionó los requerimientos necesarios de proteínas, lípidos y carbohidratos (purina Chow) y como bebida, agua “*ad libitum*”.

7.2 INDUCCIÓN DE LA DIABETES

Con la finalidad de inducir la diabetes, al grupo experimental se le administró STZ [N-Methylnitrosocarbamoyl-D-glucosamine, Sigma] vía IP, en dosis única de 55 mg/Kg de peso, disuelta en solución amortiguadora de citratos de pH 4.5, al grupo control se le administró simultáneamente un volumen equivalente del vehículo para que ambos grupos estuvieran sometidos a las mismas condiciones de estrés. Los niveles de glucosa en sangre de cada rata fueron medidos utilizando el aparato One Touch Ultra con 8 horas de ayuno previo, antes y después de la inducción con STZ. Se realizó 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. Los valores normales de glucosa sanguínea con este

método son 73-110 mg/dl. Posteriormente cada semana se realizó la determinación de glucosa en sangre.

7.3 EVALUACIÓN DEL ESTADO DIABÉTICO

Se realizó la medición del peso corporal, el consumo de alimento (colocando 100g de alimento y midiendo su consumo cada 24hrs), el consumo de H₂O (se colocó un biberón 200ml de H₂O y se midió el volumen ingerido cada 24 hrs) y se calculó el índice de masa corporal utilizando la relación $\text{peso} / (\text{talla})^2$.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó la media y la desviación estándar de los datos experimentales y la significancia de los valores entre los grupos control y diabético, se realizó utilizando la t de “student”.

Los gráficos se realizaron mediante el programa Graph Pad Prism ver 3.0.

9. RESULTADOS

NIVELES DE GLUCOSA SANGUÍNEA

En la figura 8 se muestran los resultados de los niveles de glucosa en sangre de las ratas control y diabéticas durante las nueve semanas que se les dio seguimiento. Se puede observar que al inicio del experimento (previo a la administración de STZ y vehículo) los valores de glucosa en sangre del grupo de ratas es similar, como se esperaba, teniendo valores de 100 ± 0.1 mg/dl correspondientes a los valores normales. Después de la inducción (administración de STZ o vehículo) los valores de glucosa en el grupo control se mantienen normales, mientras que en el grupo experimental se observó un incremento estadísticamente significativo con respecto al grupo control, desde la primera hasta la novena semana de inducción de la diabetes.

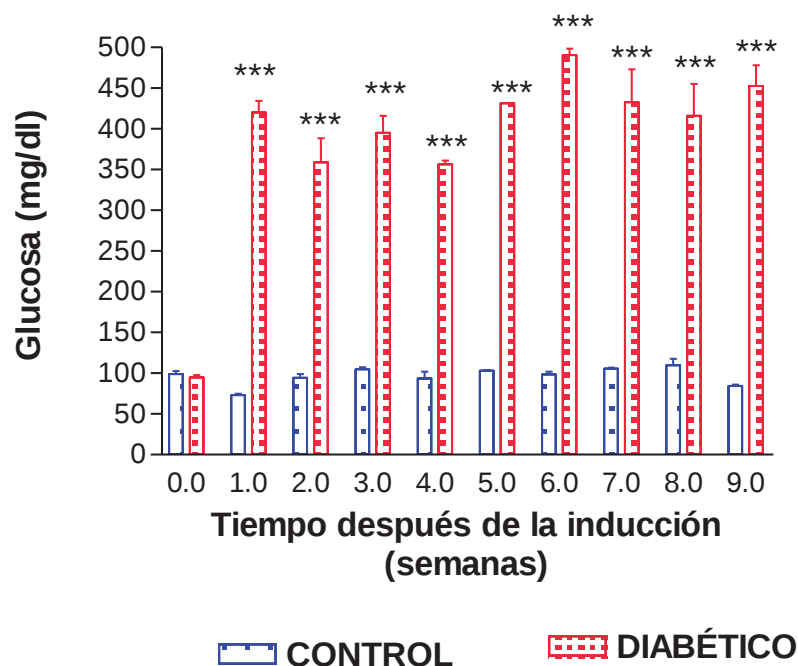


Figura 8. Niveles de glucosa en sangre en ratas del grupo control y del grupo diabético $X \pm D.E$ de 36 ratas de cada grupo *** $p < 0.0001$.

PESO CORPORAL

La figura 9 muestra el peso de las ratas del grupo control y del grupo diabético. En el grupo control se observó un incremento en su peso corporal durante las nueve semanas, mientras el grupo diabético disminuyó su peso corporal durante las 9 semanas. La diferencia en el peso entre ambos grupos fue estadísticamente significativa ($p < 0.0001$) y fue de un 25% en la segunda semana hasta un 40% en la novena semana de inducción de la diabetes.

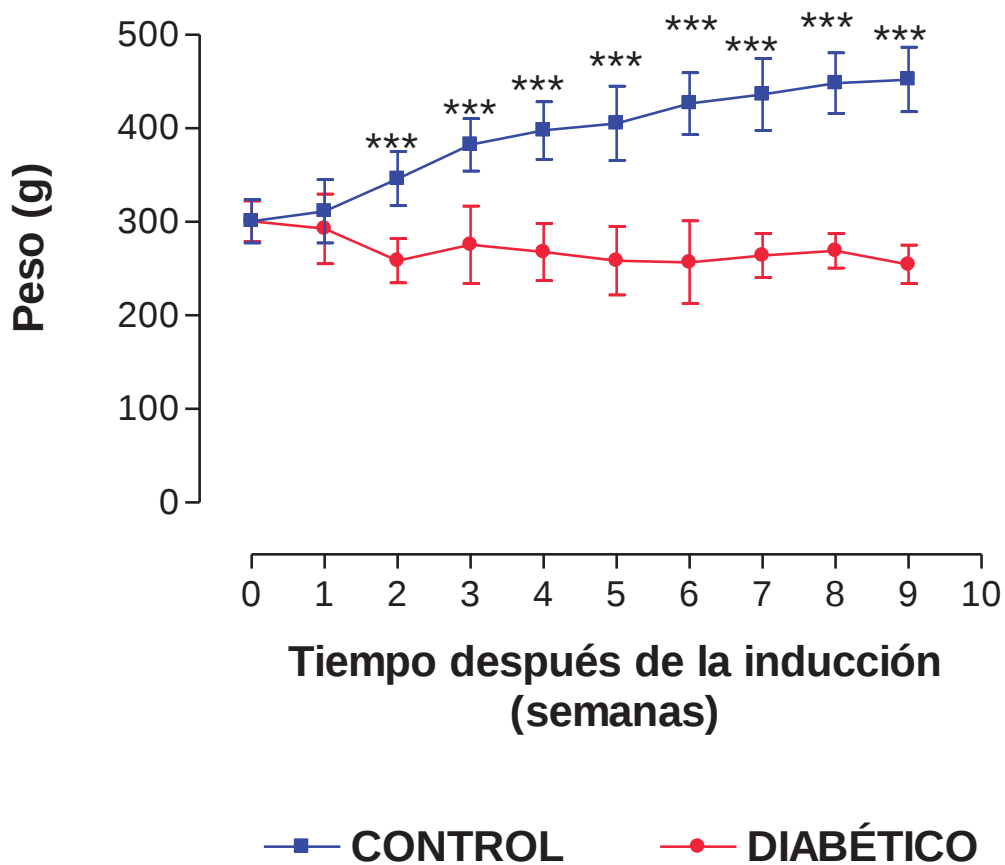


Figura 9. Peso de las ratas $\bar{X} \pm D.E.$ de 36 ratas control y 36 ratas diabéticas.

Implementación de un modelo experimental de DM tipo 1

La figura 10a-c muestra fotografías de las ratas de ambos grupos a la quinta (9a), séptima (10b) y novena (10c) semana de inducción de la diabetes, en la cual se puede apreciar la diferencia en la complexión de las ratas, siendo menor en las ratas diabéticas.

Fig. 10a



Fig. 10b



C Control
D Diabética

Fig. 10c

Figura 10. Fotografías de las ratas control y las ratas diabéticas a la semana quinta (8a), séptima (8b) y novena (8c) semana posterior a la inducción de la diabetes.

ALIMENTO CONSUMIDO

En la figura 11 se muestra el consumo de alimento de las ratas del grupo control y del grupo diabético. En donde se puede observar un incremento aproximadamente de un 60% de la ingesta de comida estadísticamente significativa ($p < 0.0001$) en el grupo de ratas diabéticas comparadas con su control.

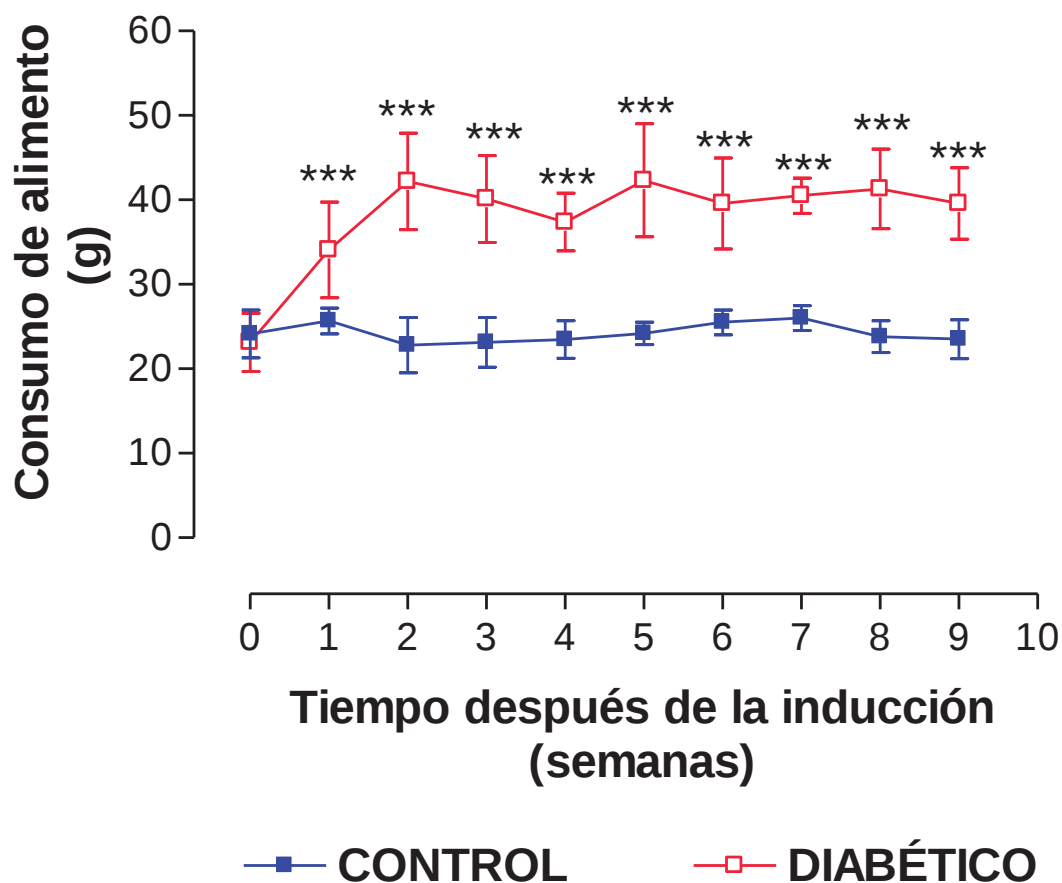


Figura 11. Consumo de alimento de ratas control y ratas diabéticas $X \pm D.E.$ de 36 ratas control y 36 ratas diabéticas

RELACION PESO/ALIMENTO

En la figura 12 se muestra la relación entre el alimento consumido y el peso de las ratas, observándose que las ratas diabéticas consumen mayor cantidad de alimento ($p < .0025$) en relación a su peso con respecto a las ratas control.

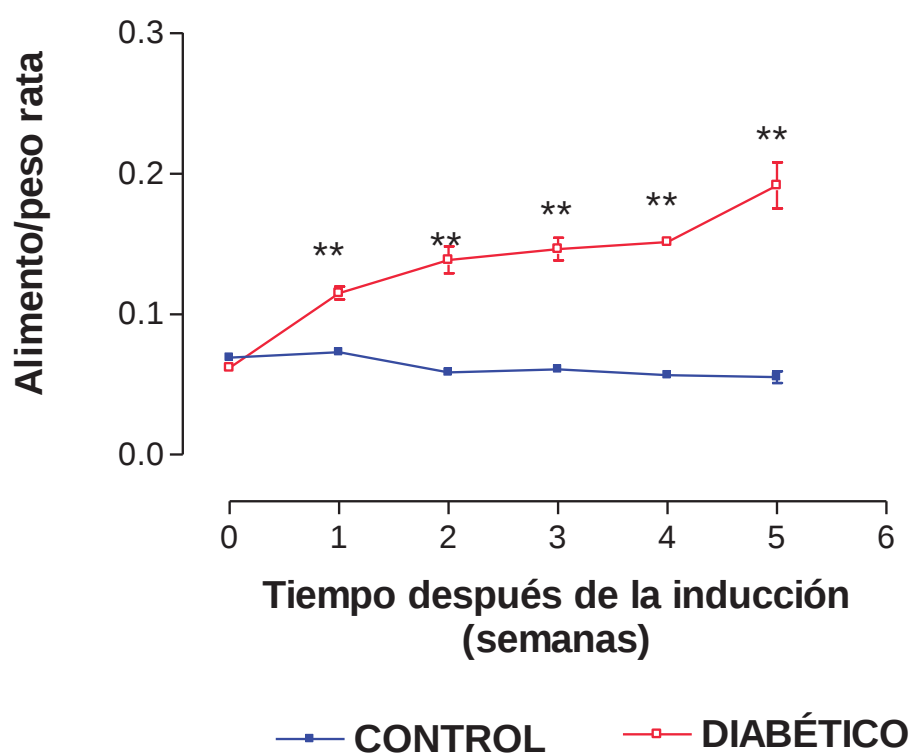


Figura 12. Alimento consumido en relación con el peso corporal de las ratas tanto del grupo control, como del grupo diabético. $X \pm D.E.$ 20 ratas de cada grupo.

ÍNDICE DE MASA CORPORAL

En la figura 13 se muestra el índice de masa corporal de las ratas calculado de la relación entre la masa y la longitud al cuadrado. Se observa que las ratas del grupo diabético presentan un IMC estadísticamente significativo ($p < 0.001$) menor comparadas con el grupo control.

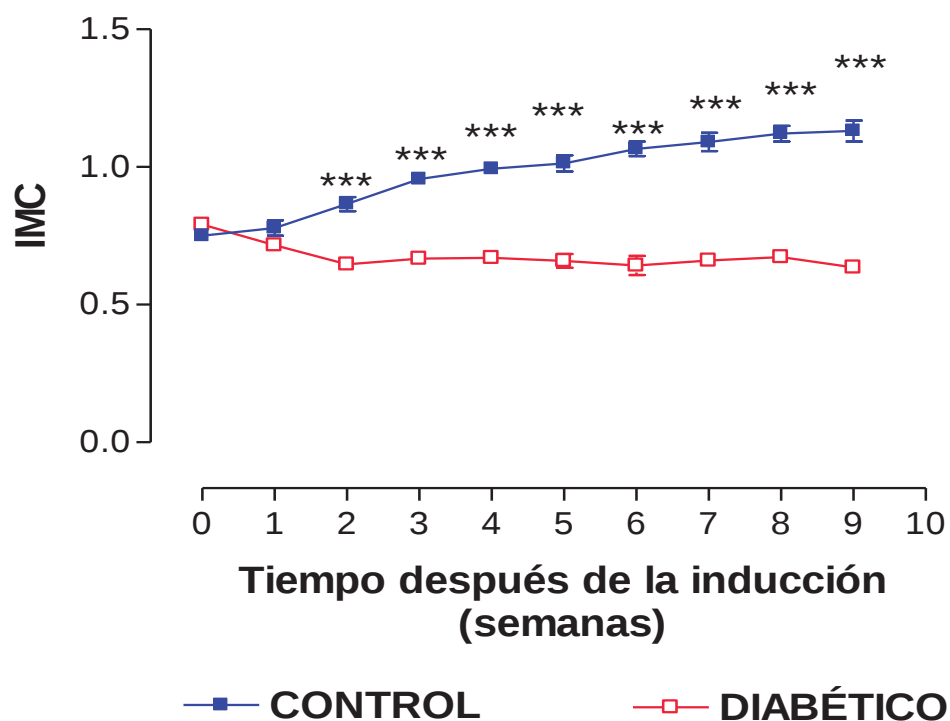


Figura 13. Índice de masa corporal. $X \pm D.E.$ de 36 ratas de cada grupo.

VOLUMEN INGERIDO DE AGUA

La figura 14 muestra el consumo de líquidos, se puede observar que las ratas diabéticas consumen mayor cantidad de agua que las ratas del grupo control ($p > 0.001$)

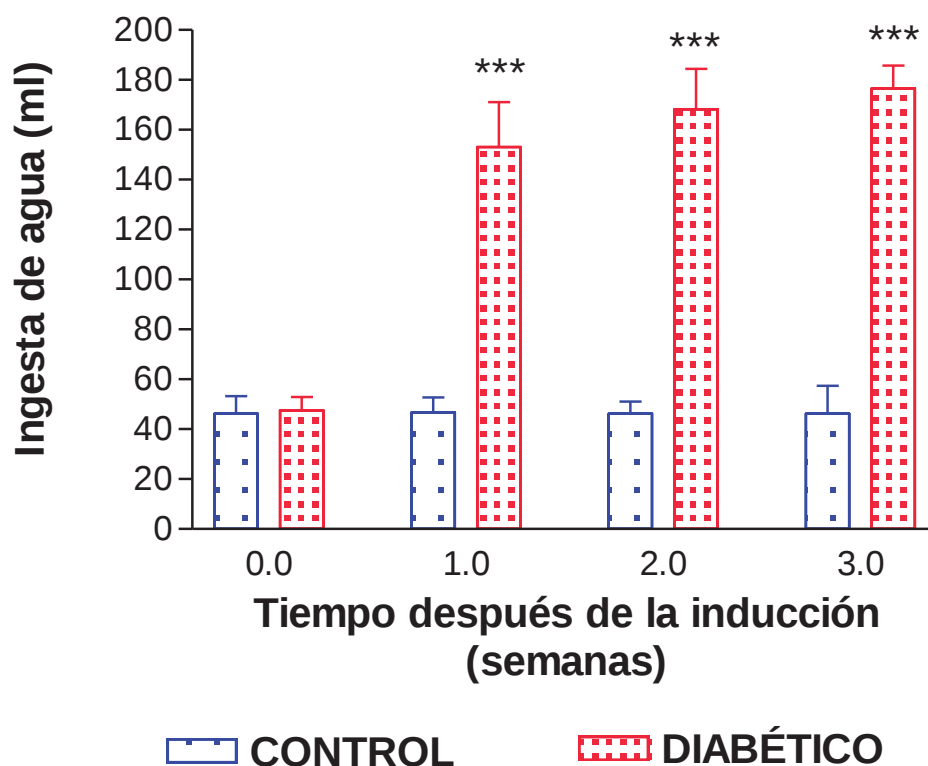


Figura 14. Ingesta de líquidos (agua). $X \pm D.E.$ de 4 ratas por semana de cada grupo.

En cuanto a la presencia de poliuria, las jaulas que contenían a las ratas diabéticas se les agregó granulina ya que efectivamente las ratas con inducción de diabetes tenían su cama de aserrín más húmeda que las controles, como no contamos con jaulas metabólicas para medir la cantidad de orina esta determinación sólo se realizó en forma cualitativa.

10. DISCUSIÓN

El modelo experimental que elegimos en el presente trabajo para inducir la diabetes mellitus tipo 1 fue la administración de estreptozotocina, este método químico ha sido empleado por varios autores (Rodríguez y Vivas, 2003; Yang and Wright, 2002; Hand and Weiss, 1984). No elegimos el método quirúrgico propuesto por von Mering y Oskar (1889) en el cual se extirpa el páncreas, en virtud de que este modelo requiere de un espacio apropiado para mantener a los animales, existen complicaciones postquirúrgicas como infecciones y además de la alteración en los niveles de glucosa (hiperglicemia) puede haber otro tipo de alteraciones si no se realiza el procedimiento quirúrgico en forma adecuada. Con respecto al animal empleado, en este caso la rata de laboratorio, se debió a que es un animal que puede estar controlado en espacios no grandes pero con condiciones ambientales estándar adecuadas (ciclos de luz-oscuridad de 12 hs, temperatura, humedad relativa y alimentación), es un animal con periodo de gestación cortos (21 días) y alcanza la madurez a los 60 días postnatales, además, la fisiopatología de la DM1 presente en el humano, la presenta las ratas con DM1 inducida. Otros autores han empleado especies superiores como el gato, el perro y los monos (Jonasson *et al*, 1958; Black y Capen, 1980; Henson and O'Brien 2006). En nuestro caso no los empleamos por la limitante de espacio, alimentación y cuidado de los mismos.

Con respecto a la presencia de hiperglicemia en las ratas con DM1 inducida con STZ, esta se presentó o se determinó a las 48hs de administración del fármaco y estuvo presente durante el tiempo que duró el estudio (9 semanas). Otros autores (Junod *et al*,

1969; Rodríguez y Vivas, 2003; Yang *et al*, 2001; Usuki *et al*, 2007) han empleado dosis mayores y menores de STZ a las que utilizamos en este trabajo, y también reportaron la presencia de hiperglicemia. Con lo cual podemos concluir que la dosis de STZ empleada en el presente trabajo para inducir DM1 fue adecuada y acorde con los resultados de otros autores.

Por otro lado con respecto a las alteraciones que presentan las personas con DM1 como es la disminución de peso, las ratas con DM1 presentaron disminución de peso corporal que fue significativo a partir de la segunda semana de inducción con respecto al grupo control. Hongmei *et al*, (2005); Junod *et al.*, (1969); Rodríguez y Vivas, (2003) también observaron disminución del peso corporal en un grupo de ratas administradas con STZ.

El hipotálamo es el centro regulador del apetito (Arreaza y Arreaza, 2000) y se ha propuesto que la diabetes puede originar cambios en la función del mismo debido a que cuando se produce lesión en esta área cerebral en animales de experimentación, éstos presentan hiperfagia, no es claro aún de qué manera se producen las alteraciones en el hipotálamo por la diabetes. Es de esperarse que si existe un incremento en el consumo de alimento en las ratas con DM1 comparadas con un grupo control, éstas, incrementarán su peso, lo cual al determinar su IMC, este fuera mayor que el de las ratas del grupo control, sin embargo, los resultados muestran que el IMC de las ratas con DM1 es menor que las ratas del grupo control indicando un estado de desnutrición, sugiriendo que la supresión de secreción de insulina en las ratas con DM1 origina cambios en el aporte calórico y por tal motivo las ratas disminuyen su peso corporal. La presencia de hiperfagia en las ratas con DM1 puede explicarse como derivada de trastornos psicológicos como sería el caso en los humanos, o por alteraciones en los niveles de hormonas producidas por la diabetes.

Otra característica presente durante el estado de diabetes es que las ratas con DM1 presentan a partir de la primera semana un incremento en la ingesta de líquidos con respecto al grupo control, también debe mencionarse que las ratas con DM1 presentaron poliuria, estos dos tipos de conducta están presentes o caracterizan al estado diabético, lo cual apoya el procedimiento utilizado para inducir la DM1 en ratas en el presente trabajo.

11. CONCLUSIONES

Se logró la implementación del modelo experimental de DM1

12. BIBLIOGRAFIA

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, 2007. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 30:S42-S47

Arreaza, C., Arreaza, P., 2000. Obesidad al día. *Gac. Méd. Caracas*, 108:310-314.

Arulmozhi, D.K., Veeranjanyulu, A., Bodhankar, S.L., 2004. Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. *Indian Journal of Pharmacology* 36:217-221

Banerji, M.A., Chaiken, R.L., Huey, H., Tuomi, T., Norin, A.J., Mackay, I.R., Rowley, M.J., Zimmet, P., Lebovitz, H. 1994: GAD antibody negative NIDDM in adult black subjects with diabetic ketoacidosis and increased frequency of human leukocyte antigen DR3 and DR4. *Diabetes* 43:741-745

Black, H.E. and Capen, Ch.C. 1980. Chemically induced (streptozotocin-Alloxan) Diabetes Mellitus in the Dog. *American Journal of Pathology* 98: 295-310

Von Mering J. & Minkowski O. 1889. Diabetes mellitus nach pankreas extirpation. *Archiv Exp Path Pharmac* 26, 371.

Butkiewicz, E.K., Leibson, C., O'Brien, P.C., Palumbo, P.J., Rizza, R.A. 1995: Insulin therapy for diabetic ketoacidosis. *Diabetes Care* 18:1187-1190.

Cabrera, E., Diaz, O., Molina, G., Tiberti, C. 2002. Helicobacter pylori y anticuerpos Antiislotes pancreáticos en la Diabetes Mellitus. *Rev. Cubana Endocrinol.* 13(1):17-21

Collado-Meza, F., Barcelo, A., Arheart, K. 2004. An ecological analysis of childhood-onset type I diabetes incidence and prevalence in Latin America. *Rev. Panam. Salud Pública* 15:388-394

Sánchez P., Coutiño B., Mendoza L., Torres A., Altamirano N. 2002. Utilidad del ejercicio aeróbico en el control metabólico aplicado al niño con diabetes mellitus tipo 1. *Revista Mexicana de Medicina Física y rehabilitación* 14: 83-88

Degenhardt, T.P., Thorpe, S.R., Baynes, J.W., 1998. Chemical modification of proteins by methylglyoxal. *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand)* 44:1139-1145.

Goodman & Gilman, 2003. Insulina, Hipoglicemiantes orales y propiedades farmacológicas del Páncreas endocrino. cap. 61 en Las bases farmacológicas de la Terapéutica. Hardman, Limbird (eds.) Mc Graw Hill.pg. 1697-1731.

Gugliucci, A. 2000. Glicación de proteínas: rol protagónico de la hiperglucemia en las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. Rev. Med. Uruguay 16: 58-75

Hand A.R., Weiss R.E. 1984. Effects of streptozotocin-induced diabetes on the rat parotid gland. Lab Invest 51: 429-40.

Harris M.I. 1989. Impaired glucose tolerance in the U.S. population. Diabetes Care 12: 464-474

Henson, M.S. and O'Brien T.D., 2006. Feline Models of Type 2 Diabetes Mellitus. ILAR Journal 47: 234-242

Hongmei C., Sachin B., Akanksha G. and Avadhesh C. 2005. Duration of streptozotocin-induced diabetes differentially affects p38-mitogen-activated protein kinase (MAPK) phosphorylation in renal and vascular dysfunction. Cardiovasc Diabetol. 5: 4(1):3.

Hornick, T., Aron, D. 2008. Preventing and managing diabetic complications in elderly patients. Cleveland clinic journal of medicine 75:154-158

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

Hugues, B., Rodríguez, J., Rodríguez, C. 2002. Animales de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2. Rev. Cubana Endocrinol. 13:163-72

Jonasson, O., Jones, C.W. Bauman, A., John, E., Manaligod, J., Tso, M.O. 1985. The pathophysiology of Experimental Insulin-Deficient Diabetes in the Monkey. Ann. Surg. 201:27-39

Junod, A., Lambert, A.E. Stauffacher, W., Renold, A.E., 1969. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. J. Clin. Invest. 48:2129-2139

Kannel, W.B., Mc Gee, D.L. 1979. Diabetes and glucose tolerance as risk factors for cardiovascular disease: the Framingham study. Diabetes care 2:120-126.

Kousta, E., Franks, S. 2006. Síndrome de ovario poliquístico en mujeres con diabetes. Diabetes Voice 51:23-25.

Kuusisto, J., Mykkanen, L., Pyörälä, K., Laakso, M.K. 1994. NIDDM and its metabolic control predict coronary heart disease in elderly subjects. Diabetes 43:960-967.

Lackland, D.T., Moore, M.A. 1997. Hypertension-related mortality and morbidity in the southeast. Sout. Med. J. 90:191-198

Le Floch, J.P., Le lievre, 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., Verroust, J., Philippon, C., Peynegre, R., Perlemuter, L. 1990. Factors related to the electric taste threshold in type 1 diabetic patients. Diabet. Med. 7:526-31

Malgor, L.A., Valsecia, M.E. 2000. Farmacología renal y cardiovascular. Farmacología endocrina. 2: 179-180

Matchinsky, F.M. 1996. A lesson in metabolic regulation inspired by the glucokinase glucose sensor paradigm. diabetes metab. 45: 223-241

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.

Newgard and Johnson 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.

Plugliese, G., Tilton, R.G., Williamson, J.R. 1991. Glucose-induced metabolic imbalances in the pathogenesis of diabetic vascular disease. Diabetes Metab Rev 7:35-59.

Ramos, H.G., Domingo, J. 1994. Diabetes mellitus experimental. Ciencia veterinaria 6: 348-371

Rees, D.A. and Alcolado, J.C., 2005. Animal models of diabetes mellitus. Diabetes UK. Diabetic. Medicine 22:359-370

Rodríguez, M.L., Vivas, G. 2003. Localización del daño ocasionado por la diabetes mellitus en el eje hipotálamo-hipofisiario Gonadal en ratas con diabetes inducida. Revista de la facultad de farmacia vol.45 2: 33-38

Schaper, N.C., Nabuurs-Franssen, M.H., Huijberts, M.S. 2000. Peripheral vascular disease and type 2 diabetes mellitus. Diabetes Metab. Reviews 16:S11-S15

Stojanonska, L., Rosella, G., Proietto, J. 1990. Evolution of dexamethasone – induced insulin resistant in rat. Am. J. Physiol. 258: E 748- E 756

Triana, M.E. 2001. La hiperglicemia y sus efectos tóxicos. Un concepto patogénico para la micro y macroangiopatía. Rev. Cubana angirol. 2:131-141

Usuki S., Ito Y., Morikawa K., Kise M., Ariga T, Rivner M. and Yu R. 2007. Effect of pre-germinated brown rice intake on diabetic neuropathy in streptozotocin- induced diabetic rats. Nutrition & Metabolism, 4:1-11

Wing, R.R., Blair, E.H., Bononi, P., Marcus, M.D., Watanabe, R., Bergman, and R.N. 1994: Caloric restriction per se is a significant factor in improvements in glycemic control and insulin sensitivity during weight loss in obese NIDDM patients. *Diabetes Care*, 17:30–36

Yang, H., Wright, J.R. 2002. Human β Cells Are Exceedingly Resistant to Streptozotocin in vivo. *Endocrinology*, 143: 2491-2495