

# Aumento de los gránulos de secreción neuroendócrina en glándulas submaxilares y parótidas en pacientes con Diabetes Mellitus no dependiente de insulina

SERGIO A. ISLAS ANDRADE\*  
ALBERTO C. FRATI MUNARI\*\*  
JORGE GONZALEZ ANGULO\*\*  
PEDRO ITURRALDE\*\*  
LUZ MARLENE LLANOS VEGA\*\*

*Se investigó la presencia y la cantidad de gránulos neuroendócrinos y células microgranulares de las glándulas salivales, en necropsias de 20 pacientes diabéticos no dependientes de insulina (DMNDI) y en 20 sujetos no diabéticos, mediante el uso de tinciones de Grimelius y de Fontana-Masson. En ambos grupos se observaron gránulos y células microgranulares en acinos serosos y en ductos intercalados. Sin embargo, se encontró un aumento significativo en el número de gránulos en sujetos con DMNDI en comparación con los no diabéticos. El peso de ambas glándulas, parótida y submaxilar fue significativamente mayor en el grupo de DMNDI que en el grupo de los no diabéticos.*

*La presencia de mayor número de gránulos en el grupo de DMNDI pudiera tener relación con el glucagón glándulas submaxilares de roedores y quizá desempeñar un importante papel en la patogenia de la DMNDI. Será necesario en estudios posteriores establecer el verdadero papel de esos hallazgos para tratar de entender mejor la patogenia de la enfermedad.*

**CLAVES:** Gránulos neuroendócrinos, células microgranulares, diabetes mellitus no dependiente de insulina. DMNDI

## SUMMARY

*The amount of neuroendocrine granules in microgranular cells of salivary glands were investigated in necropsies of 20 non-insulin dependent diabetics (NIDDM) and in 20 non-diabetic subjects with Grimelius and Fontana-Masson stainings. Granules in serous acini, and intercalated ducts were observed in both groups; however, a significant higher number of granules and microgranular cells were observed in NIDDM subjects as compared with non-diabetics. Both parotid and submaxillary glands were significantly heavier in NIDDM than in the non-diabetic group.*

*These granules may be related to immunoreactive glucagon which has been found in submaxillary glands of rodents and might play a role in the pathogenesis of NIDDM. Further investigations should be performed to clarify whether these cells are the site of glucagon synthesis and also clarify the pathogenesis of NIDDM.*

**KEY WORDS:** Neuroendocrine granules, microgranular cells, (NIDDM) non-insulin dependent diabetes mellitus.

\* Jefe de la División de Medicina, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.

\*\* Servicios de Medicina Interna y Anatomía Patológica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional "La Raza". IMSS.

## Introducción

Mientras que la función exocrina de las glándulas salivales está bien establecida,<sup>1,2</sup> éstas glándulas tienen también una función endócrina mediante algunos péptidos biológicamente activos, aunque sólo algunos de ellos están relacionados con el metabolismo de los carbohidratos.<sup>3</sup>

Extractos de glándulas submaxilares han demostrado efectos de hiperglucemia cuando son inyectados a animales<sup>4</sup> y como contraparte, la extirpación bilateral de las glándulas submaxilares o la atrofia acinar debida a la ligadura del conducto salival, ocasiona disminución de los niveles de glucosa tanto en animales sanos como en diabéticos,<sup>4,5</sup> así como en seres humanos con diabetes.<sup>6</sup> Algunos investigadores sostienen que estos hallazgos indican la presencia de una sustancia similar al glucagon en esos órganos. El glucagon inmunoreactivo,<sup>7</sup> y las células neuroendócrinas han sido encontrados en glándulas submaxilares humanas y animales. Más aún, los gránulos neuroendócrinos se han visto incrementados en glándulas submaxilares de un pequeño grupo de pacientes diabéticos y también en ratas a las que se les indujo diabetes mellitus con estreptozotocina, hallazgos éstos primeramente demostrados en México por Benítez y colaboradores.<sup>8</sup>

Debido a que en humanos no hay estudios informados para investigar sistemáticamente la presencia de células neuroendócrinas, el propósito de este trabajo fue indagar en estudios de autopsia, la presencia y la cantidad de gránulos neuroendócrinos en glándulas salivales de pacientes diabéticos.

## Material y métodos

Se estudiaron en autopsia, dos grupos de individuos:

- I: Veinte sujetos con historia de diabetes mellitus no dependiente de insulina o tipo II; diez fueron hombres y diez mujeres (edades  $59.1 \pm 15$  años).
- II: Veinte casos sin historia de diabetes mellitus; nueve hombres y once mujeres (edades  $40 \pm 10$  años).

Se excluyeron a todos aquellos casos con historia de cirrosis hepática, linfomas, leucemias, síndrome de Sjögren y parotiditis.

La necropsia se efectuó dentro de las primeras ocho horas después de la muerte. Se obtuvieron las glándulas parótidas y submaxilar izquierdas de cada uno de los casos y se pesaron (peso fresco). Se fijaron con solución amortiguadora de formalina al 10%. Los cortes de tejido

se hicieron en diez diferentes sitios de cada glándula, se deshidrataron e incluyeron en parafina. Los cortes de cuatro  $\mu$  fueron teñidos con hematoxilina-eosina, con tinción de Fontana-Masson y Grimelius.<sup>9-11</sup> Cada muestra fue revisada por dos patólogos de manera separada y sin que ninguno de ellos supiera del diagnóstico que originó la muerte del paciente.

La localización de los gránulos con cada tinción y su cantidad se anotaba con el siguiente esquema:

50 o menos gránulos: +  
50 a 100 gránulos: ++  
100 o más gránulos: +++

La cantidad de gránulos estuvo presente en cada acino o en cada ducto observado por los patólogos. El control para comparar fue hecho con tinciones argirófilas en páncreas normal.

El análisis estadístico fue realizado con las pruebas U de Mann-Whitney y Chi cuadrada ( $\chi^2$ ) y se consideró como significativamente estadística a la  $p$  menor de 0.05.

## Resultados

El peso de las glándulas parótidas y submaxilares fue de  $39.2 \pm 10.2$  gr y  $31.6 \pm 11.6$  gr respectivamente en el grupo de diabéticos. Estos pesos fueron significativamente superiores a los del grupo control que fueron de  $27.4 \pm 8.6$  gr y de  $20.6 \pm 7.2$  gr respectivamente para las glándulas parótidas y submaxilares con un valor de  $p < 0.01$ .

Con las tinciones de Fontana-Masson y Grimelius se tiñeron adecuadamente las células de los islotes pancreáticos, y en las glándulas salivales los gránulos neuroendócrinos fueron observados en las células de cada acino seroso, en los conductos intercalados y en pocas ocasiones en los conductos estriados. Los acinos mucosos de las glándulas submaxilares no mostraron gránulos pero si los acinos serosos (Cuadro I y figura 1). Los neuroendócrinos en las células acinares, sólo se observaron con la tinción de Grimelius (Cuadro II). Con ambas tinciones, la cantidad de gránulos fue estimada en (+) en todos los sujetos no diabéticos y en (++) a (+++) en los diabéticos con  $p < 0.01$  (Cuadro III).

## Discusión

El aumento de tamaño de las glándulas parótidas puede ocurrir en varias enfermedades como el alcoholismo crónico, la cirrosis hepática, la hipertrigliceridemia, la desnutrición y la diabetes mellitus.<sup>12</sup>

**Cuadro I. GRANULOS DE SECRECION EN GLANDULAS SUBMAXILARES DE PACIENTES DIABETICOS.**

Método	Acinos serosos	Acinos mucosos	Conductos intercalados
Hematoxilina	-	-	-
Grimelius	+	-	-
Fontana-Masson	+++	-	+++
-Ninguna	+ Escasas	++Moderadas	+++Abundantes

En técnica de Grimelius identificamos gránulos de secreción en acinos serosos. En técnica de Fontana-Masson fue abundante la presencia de gránulos tanto en acinos serosos como en conductos, pero no en acinos mucosos.

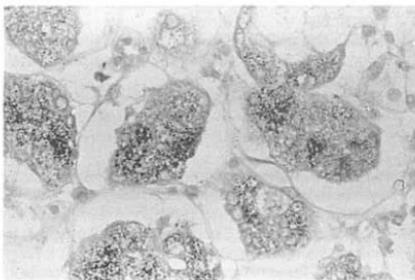


Fig. 1. Glándula submaxilar de una paciente diabética que muestra numerosos gránulos neuroendócrinos en acinos serosos (Fontana-Masson 100x).

**Cuadro II. GRANULOS DE SECRECION EN GLANDULA PAROTIDA EN PACIENTES DIABETICOS.**

Método	Acinos serosos	Conductos intercalados	
Hematoxilina Eosina	-	-	
Grimelius	++	-	
Fontana-Masson	-	+++	
- Ninguno	+Escaso	++Moderado	+++Abundante

En diabéticos es abundante la positividad en Fontana-Masson en los conductos y moderadamente en Grimelius en acinos serosos.

**Cuadro III.**

GLANDULAS	DIABETICOS	NO DIABETICOS
<b>Parótidas</b>		
Número de	+ ++ +++	+ ++ +++
Acinos	0 5 15	20 0 0
Conductos intercalados	0 4 16	20 0 0
<b>Submaxilares</b>		
Acinos serosos	0 8 12	20 0 0
acinos mucosos	0 0 0	0 0 0
Conductos intercalados	0 6 14	20 0 0
+Negativo	++ Moderada cantidad	+++ Gran cantidad

Cantidad de gránulos neuroendócrinos positivos con tinciones de Fontana-Masson y Grimelius en glándulas salivales de diabéticos y no diabéticos.

La asociación entre diabetes mellitus y el aumento de tamaño de las glándulas parótidas se ha observado en 48 de 200 pacientes de una serie informada por Rusotto y colaboradores.<sup>13</sup>

En el presente estudio, el peso de las glándulas parótidas y submaxilares fue significativamente mayor en los diabéticos que en los sujetos no diabéticos. Este hallazgo concuerda con observaciones clínicas y con otras informadas.<sup>12</sup>

La explicación de este hecho en nuestros casos puede argumentarse por una hiperplasia glandular.

El mecanismo responsable del aumento de tamaño de las glándulas salivales en la diabetes mellitus no se conoce, sin embargo, el sólo hecho de que en las glándulas parótidas humanas se ha encontrado glucagon inmunoreactivo y además diferentes precursores hormonales, hace sospechar que éstas glándulas juegan un papel importante en la patogenia de la diabetes mellitus. Los diferentes precursores hormonales encontrados son: factor de crecimiento neuronal, factor de crecimiento epidérmico y gastrina inmunorreactiva.<sup>14</sup> Asimismo, los niveles elevados de hormona de crecimiento encontrados en diabéticos, podrían estar participando en el aumento de tamaño de las glándulas salivales, situación que también ha sido invocada en el crecimiento renal y en otras complicaciones tardías de éstos enfermos.<sup>15</sup>

La diabetes experimental inducida por estreptozotocina, produce acumulación de depósitos cristaloides citoplasmáticos, agrandamiento del aparato de Golgi de las células acinares, alteraciones focales de la membrana basal y otros cambios como la hiperplasia de células microgranulares que pueden tener una relación directa con la propia estreptozotocina o indirecta entre el glucagon y la insulina.<sup>16-18</sup> Los pacientes diabéticos en éste estudio, mostraron incremento de la cantidad de gránulos de

secreción neuroendócrina tanto en las parótidas como en las submaxilares comparadas con los sujetos no diabéticos. Estos gránulos son fácilmente identificados por tinciones de plata debido a la composición de aminas biogénicas de sus precursores. Entre las tinciones de plata, los métodos más utilizados son el de Fontana-Masson y el de Grimelius para demostrar los gránulos argentafines y argirófilos. Sin embargo, con estos métodos no siempre se tienen todos los gránulos probablemente debido a la presencia de otros precursores hormonales. En la diabetes mellitus experimental inducida por estreptozotocina se produce un aumento de la cantidad de gránulos teñidos por el método de Grimelius, así como también de las células microgranulares de los ductos intercalados.<sup>19,22</sup>

La hiperglucagonemia es un hallazgo común de la diabetes mellitus tipo I<sup>9</sup> y en la diabetes experimental inducidas por estreptozotocina.<sup>5,7</sup> El verdadero significado del glucagon de glándulas salivales en la homeostasis de los carbohidratos en los animales no diabéticos es controversial desde que la ligadura o la extirpación de una glándula submaxilar no modifica los niveles de glucosa sanguínea ni tampoco los niveles de glucagon e insulina, mientras que la ligadura de los conductos de ambas glándulas, submaxilares y parótidas; origina hipoglucemia.

Tanto en los animales diabéticos como también en los seres humanos, la resección o la ligadura de las glándulas submaxilares, causa efecto hipoglucemiante<sup>5,22</sup> el cual, por lo menos en animales es transitorio y no correlaciona con los niveles de glucagon en suero.<sup>5,8,22</sup> Este último hallazgo se pudiera deber a un efecto hiperglucemiante de algún factor diferente del glucagon en las glándulas salivales.

En éste estudio, se puede concluir que los sujetos con diabetes mellitus tipo II tienen aumento de tamaño de las glándulas parótidas y submaxilares, así como un incremento en la cantidad de gránulos de secreción neuroendócrina en dichas glándulas. Sin embargo, es necesario establecer en estudios futuros el verdadero papel de esos hallazgos para entender mejor la patogenia de la hiperglucemia en la diabetes mellitus tipo II.

## Referencias

1. Barka T. Biologically active polypeptides in submandibular glands. *J Histochem. Cytochem* 1980;28:836.
2. Vogel R, Trauschold I, Werle E. Natural Proteinase Inhibitor. Acad Press, New York, N. Y. 1968.
3. Lawrence AM, Kirshteins L, Hojvat S, Rubin L, Palovan V. Salivary gland glucagon: a potent extrapancreatic hyperglucemic factor. *Clin Res* 1975;23:536-541.

4. Goldowski Z, Calandra JC. Salivary glands as endocrine organs. *J Appl Physiol* 1960;15:101-105.
5. Hoshino K, Decker RF, Molnar F, Kim Y, T. Hypoglycaemic effects of salivary ducts ligation upon Diabetes Mellitus in mice. *Arch Oral Biol* 1976;21:105-111.
6. Goldowski Z, Gadzain R. Ablation of salivary glands as initial step in the management of selected forms of diabetes mellitus. *Laryngoscope* 1971;81:1337-1358.
7. Lawrence AM, Tan S, Hojvats S. Salivary gland hyperglucemic factor: an extrapancreatic source of glucagon-like material. *Science* 1977;195:70-72.
8. Benítez L, Mendoza M, Freyre R, Vivar G. Células del Sistema APUD en glándulas salivales. *Patol (Méx)* 1978; 16:253-269.
9. Luna L. Manual of Histologic Staining of the Armed Forces Institute of Pathology Washington 1968.
10. Solcia E, Capella C, Vassallo G. Lead-haema toxin as a stain for endocrine cells. Significance of staining and comparison with other selective methods. *Histochem* 1969;20:116.
11. Vassallo G, Capella C, Solcia E. Grimelius silver stain for endocrine cell granules as shown by electron microscopy. *Stain technology* 1971;46:7-13.
12. O'Brien MJ, Gottlieb LS, Shklar G. Disorders of the immune system and the liver and biliary tract. In Robbins-Cotran. *Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia 1979, ed. 2nd. pp. 105.
13. Russotto SB. Asymptomatic parotid gland enlargement in diabetes mellitus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1981;52; 594-598.
14. Goldowski Z, Levin R. The role of submaxillary glands in homeostasis of insulin. *Diabetes* 1968; 17: Suppl 1:325.
15. Gelato MC. Effects of growth hormone releasing factor in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57:674.
16. Hand AR, Weiss RE. Effects of streptozotocin-induced diabetes on the rat parotid gland. *Lab Invest* 1984;51:429-440.
17. Unger RH, Orci L. Glucagon and the A cell: Physiology and Pathophysiology. *N Engl J Med* 1981;304:1518.
18. Lefebvre PJ, Unger RH. Glucagon molecular physiology, clinical and therapeutic implications. 1st ed. Pergamon Press, Oxford 1972 pp 255-319.
19. Grimelius L. A silver nitrate stain for alpha-1-cells in human pancreatic islets. *Acta Soc Med Upsal*, 1968;73:243.
20. Pearce AGE. Common cytochemical properties of cells producing polypeptide hormones (the APUD series) and their relevance to thyroid and ultimobranchial C cells and calcitonin. *Proc Roy Soc B* 1970;71-80.
21. Pearce AGE, Takor Takor T. Neuroendocrine embryology and the APUD concept. *Clin Endocrinol* 1976; 5 Suppl.: 2295.
22. Benítez-Bribiesca L, Mourelli M, Camacho-Escobar C et al. Role of submandibular glands in experimental streptozotocin diabetes in the rat. *Arch Invest Med (Méx)* 1983;14:379-405.
23. Smith S, Zur A, Voyles N, Bhatnagar R. Is submaxillary gland immunoreactive glucagon important in carbohydrate homeostasis? *Metabolism* 1979;8:343-346.