



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

**ESTUDIO HISTOLOGICO E HISTOQUIMICO
DE LAS GLÁNDULAS LINGUALES DE EGRETta THULA
(AVES: ARDEIDAE)**

Samar, María Elena *
Avila, R.E. **
Olmedo, L.A. ***
Porfirio, V. ****
Grunberg, K. *****

RESUMEN

Con el propósito de investigar la histofisiología de las glándulas linguales de Egretta thula (garcita blanca) se realizó su descripción histológica y el análisis histoquímico de las mucinas producidas por las células glandulares. Cortes de lengua se colorearon con HE, PAS, PAS/neuraminidasa, Alcian blue, Azul de toluidina y lectina PNA conjugada a peroxidasa con y sin digestión previa con neuraminidasa. Las glándulas eran numerosas, dispuestas lateralmente en sentido anteroposterior, con respecto al cartilago lingual. En la región anterior los lóbulos glandulares presentaban estructuras tubulares revestidas de células cuboideas basófilas. Hacia la región posterior se localizaba escasa cantidad de adenómeros mucosos y glándulas intraepiteliales. Las reacciones histoquímicas revelaron en la secreción glandular glicoconjugados, los que contenían residuos de ácido siálico terminal ya que las reacciones de PAS y Alcian Blue disminuyeron en intensidad después de la digestión con neuraminidasa. Además después de la acción enzimática se incrementó la afinidad por PNA. También había grupos sulfato fuertemente alcianofilicos y metacromáticos. Podemos concluir que las glándulas linguales de E. thula se caracterizan por la gran distribución de glicoconjugados que tienen los mismos residuos terminales que en mamíferos los que participan en la lubricación del bolo alimenticio, la adhesividad celular y la defensa tisular contra agentes patógenos.

Palabras clave: garcita blanca - glándulas salivales - mucinas - ácido siálico - histoquímica - funciones.

Cátedra B de Histología y Embriología. Facultad de Odontología, U.N.C.

Cátedra II de Histología, Embriología y Genética. Facultad de Ciencias Médicas. U.N.C.

* Dra. en Medicina y Cirugía. Profesora Asociada.

** Dr. en Medicina y Cirugía. Profesor Adjunto.

*** Odontólogo - Tesista - JTP

**** Tesinista de Biología.

***** Doctora en Biología - JTP

Summary

In the present study it was investigated the histophysiology of the lingual salivary glands in white egret. Glands were processed by conventional histology (hematoxylin-eosin and Masson trichromic) and histochemical techniques including PAS, PAS/neuraminidase, alcian blue, toluidine blue and PNA lectin.

The obtained results have indicated the presence of numerous glands located anteroposterior and lateral to the lingual cartilage. In the anterior region, glandular lobes showed tubular structures formed by basophilic cuboidal cells.

In the posterior region a scarce number of mucous adenomers and intraepithelial glands were found. The histochemical reactions indicated the presence of glycoconjugate compounds in the glandular secretion. These glycoconjugates had a high number of terminal sialic acid residues because it was observed a decrease in PAS and alcian blue reactions after neuraminidase digestion. In addition, the affinity by PNA lectin was increased with enzymatic digestion. It was also detected a strong alicianophilic and metachromatic sulphated groups. These findings showed that the glandular lingual secretion in these birds, present the same types of glycoconjugates as those described in mammals. In conclusion, this secretion could play a main role in food lubrication and non-immune responses.

Key words: white egret - salivary glands - mucins - sialic acid - histochemistry functions.

INTRODUCCION

La película de mucinas que recubre la mucosa oral se origina en las glándulas salivales y constituye el área de defensa entre la interfase tejidos-medio ambiente, cumpliendo importantes funciones en la conservación de la salud bucal (19-20).

Tales funciones se pueden sintetizar en: A-Protección no inmune: *Cubierta mucosa lubricante y demulcente. *Barrera semipermeable contra agresiones externas y desecación. *Modulación de la proliferación de la flora microbiana oral. B- Función digestiva: *Lubricación, fluidificación y humectación del bolo alimenticio.

Estas mucinas han sido objeto de múltiples y variados estudios, especialmente en mamíferos, incluyendo el hombre (9, 22).

Por el contrario, las investigaciones realizadas sobre la composición de los glicoconjugados en glándulas salivales de aves son escasas (7-8, 11-16, 18).

Con el propósito de investigar algunos aspectos histofisiológicos de las glándulas linguales de un ave acuática de nuestro medio *Egretta thula* (garcita blanca), se estudiaron con histoquímica convencional y lectina PNA las mucinas producidas por los adenocitos de las porciones secretoras glandulares.

MATERIALES Y METODOS

Se capturaron cinco ejemplares adultos de *Egretta thula* (garcita blanca) en La Para (Departamento Río Primero, Prov. de Córdoba; Argentina).

Egretta thula es un ave que frecuente principalmente las lagunas, de cuyas márgenes obtiene su alimentación, compuesta de insectos, peces, caracoles, ranas, etc. (23)

Las aves se sacrificaron de acuerdo a los Protocolos Internacionales de Investigaciones Biomédicas con Animales y de inmediato se realizó la disección de las lenguas las que se fijaron en formol al 10% a pH 7,4 en buffer de fosfato y luego se incluyeron en parafina. Se hicieron cortes seriados de 5 μ m y se emplearon las siguientes técnicas histológicas ^(4,9): Hematoxilina y eosina, PAS, PAS/ α -amilasa, Alcian blue a pH 2,5 y 1,0, Azul de toluidina a pH 3,8.

La presencia de glicosaminoglicanos ácidos con grupos sulfato y carboxilo coloreados con Alcian blue se corroboró por medio de las reacciones de bloqueo (metilación) y saponificación. Las sialoglicoproteínas y los sialoglicanos se investigaron por medio de la remoción enzimática selectiva del ácido siálico con neuraminidasa. Posteriormente, los cortes fueron coloreados con PAS y Alcian blue a pH 2,5.

Para una localización más precisa del ácido siálico algunos cortes se colorearon con lectina PNA de *Arachis Hipogaea* unida a peroxidasa (Sigma) ^(6,21). PNA se une a los carbohidratos β -D-galactosa, y α -N-acetilgalactosamina en ausencia de ácido siálico. ^(1,2)

RESULTADOS

A- Descripción estructural:

Las glándulas se disponían lateralmente en sentido anteroposterior, en relación al cartilago lingual. Las regiones anterior y media presentaban abundantes lóbulos glandulares formados por estructuras tubulares cuyo epitelio estaba constituido por células cuboideas basófilas (**Fig. 1 A**). En la región posterior, los adenómeros eran escasos y estaban tapizados por adenocitos mucosecretorios con citoplasma pálidos, de aspecto vacuolado (**Fig. 1 A**).

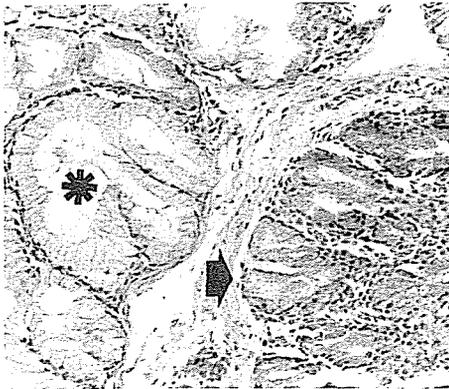
Glándulas mucosas de localización intraepitelial se destacaban en la parte posterior de la lengua (**Fig. 1 B**). Los grupos glandulares estaban circunscriptos por manojos de fibras colágenas como se demostró con el método tricrómico de Masson (**Fig 2 A y B**).

B- Histoquímica convencional:

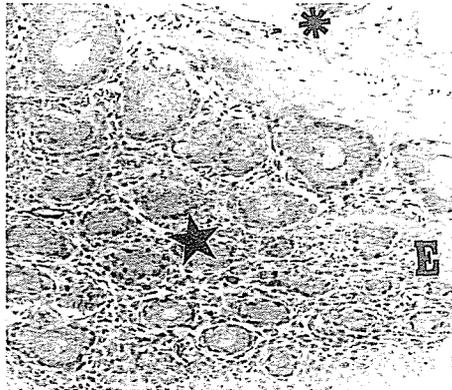
En las glándulas anteriores se observaron algunas células PAS positivas en tanto que otras presentaban una PAS positividad de localización apical o eran negativas. Células ortocromáticas se entremezclaban con otras que mostraban diferentes grados de metacromasia.

Los resultados obtenidos con Alcian blue tanto a pH 2,5 como 1,0, fueron similares a los descriptos para la técnica de PAS.

Figura 1: Lengua de Egretta thula

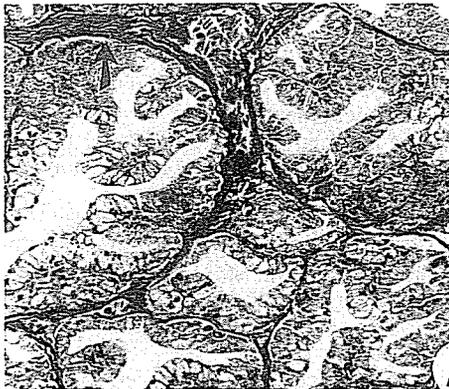


- A- Se señalan las glándulas linguales anteriores revestidas por células cuboideas basófilas (flecha) y posteriores, constituidas por adenocitos mucosecretoras (asterisco). Coloración H/E. 250x.

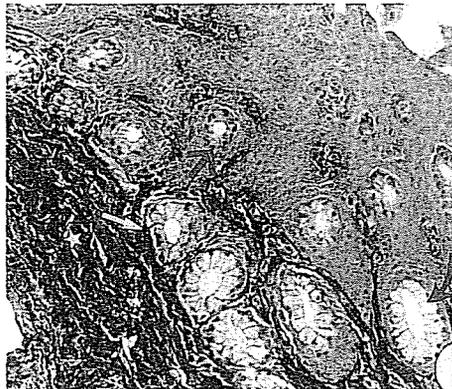


- B- Epitelio lingual (E). Glándulas mucosas intraepiteliales (estrella). Tejido conectivo (asterisco). Coloración H/E. 250x.

Figura 2: Glándulas linguales de Egretta thula.

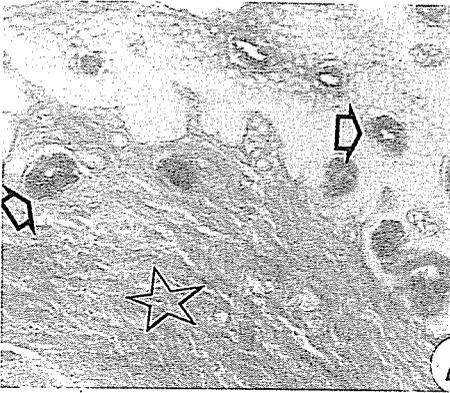


- A- Glándulas linguales anteriores delimitadas por tejido conectivo fibroso (flecha). Coloración tricrómico de Masson. 250x.

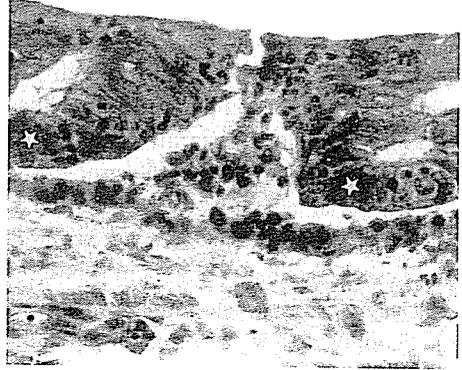


- B- Glándulas posteriores intraepiteliales (flecha negra) y subepiteliales (flecha blanca). Tejido conectivo fibroso (estrella). Coloración tricrómica de Masson. 250x.

Figura 3: Glándulas linguales posteriores intra y subepiteliales de *egretta thula*.



A- Se señalan (flechas) glándulas repletas de glicoproteínas fuertemente PAS reactivas. Tejido conectivo PAS positivo. Coloración PAS. 250 x



B- Glándulas intraepiteliales intensamente coloreadas (estrellas). Lectina PNA / neuraminidasa. 400 x

Los adenocitos de las glándulas posteriores y los adenómeros intraepiteliales estaban repletos de mucinas fuertemente PAS positivas, resistentes a la amilasa, metracromáticas alcohol resistentes y alcianofílicas a ambos pH. (Fig. 3A).

Las mucinas localizadas en todas las glándulas linguales fueron sensibles a la acción de la neuraminidasa como se comprobó con Alcian blue y PAS con y sin tratamiento enzimático previo.

Los controles realizados con metilación/saponificación indicaron la presencia de glicoconjugados sulfatados y no sulfatados, especialmente los primeros.

C- Lectinhistoquímica:

Para obtener información más específica acerca de la presencia y localización de los residuos de ácido siálico se colorearon cortes de lengua con lectina PNA unida a peroxidasa, con y sin digestión previa con neuraminidasa. Con esta lectina se observó una coloración moderada en todas las glándulas. Cuando se expusieron los cortes histológicos a la digestión enzimática previa las células secretoras se colorearon intensamente (Fig. 3B).

DISCUSION

Las aves y los mamíferos son los vertebrados más evolucionados y especializados. Ambas clases ofrecen interesantes modelos para el estudio de la anatomía y la histología comparadas. Así las glándulas salivales de aves nos permiten realizar estudios comparativos sobre el comportamiento celular ⁽⁵⁾.

En base a lo anteriormente relatado hemos estudiado las glándulas linguales de *Egretta thula* para analizar su estructura y las mucinas producidas por las mismas.

Contrariamente a lo que se describe en aves acuáticas ⁽³⁾, *Egretta thula* presenta numerosas glándulas con diferentes características microscópicas según la región de la lengua que se considere como hemos descrito en el capítulo de Resultados.

Las reacciones histoquímicas nos permitieron demostrar la presencia de abundantes glicoconjugados en la secreción glandular, los que contenían residuos de ácido siálico terminal ya que las reacciones de Alcian blue y PAS disminuyeron de intensidad después de la digestión con neuraminidasa ⁽¹⁰⁾.

Además, después de la acción enzimática se incrementó la afinidad por la lectina PNA. La neuraminidasa separa los residuos terminales de ácido siálico. Así los residuos preterminales β -D galactosa o α -N acetilgalactosamina se hacen accesibles a la lectina PNA observándose un incremento en la coloración ⁽²⁾.

También en las glándulas de *Egretta thula* había grupos sulfato fuertemente metacromáticos y alcianofílicos.

Los grupos sulfato y el ácido siálico juegan un papel relevante en la protección y lubricación de las mucosas, además de otras importantes funciones biológicas ⁽¹⁷⁻¹⁸⁾.

De manera similar a lo hallado por nosotros en *Egretta thula*, MENGHI y col. ⁽⁸⁾ demostraron que en la lengua de *Coturnix coturnix japonica* (codorniz japonesa) las glándulas contienen sialoglicoconjugados a nivel de las glándulas linguales anteriores y posteriores.

CONCLUSIONES

Podemos concluir que las glándulas linguales de *Egretta thula* se caracterizan por la gran distribución de los glicoconjugados que tienen residuos glucídicos terminales semejantes a los de las mucinas salivales de los mamíferos, y que participarían en la lubricación del bolo alimenticio, la adhesividad celular y la defensa tisular no inmune contra agentes patógenos.

Bibliografía

1. ACCILI M., G. GABRIELLI, G. MENGHI, G. MATERAZZI: Histoenzymological detection of sialic acids in the rodent salivary glands. *Histol. Histopathol.* 11:647-658, 1996.
2. AVILÉS M., M.T. CASTELLS, J.A. MARTÍNEZ-MENÁRGUEZ, I. ABASCAL, J. BALLESTA: Localization of penultimate carbohydrates residues in zona pellucida and acrosomes by means of lectin cytochemistry and enzymatic treatments. *Histochemical J.* 29: 583-592, 1997.
3. FARNER D.S., ZISWILLER: *Avian biology* Vol. III Cap. 6 D.S. Farner and J.H. King Ed. Academic Press, London, 1972.
4. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos: *Métodos histotecnológicos*. ARP ed. Washington. 1992.
5. IZUTSU K.T., M.M. SCHUBERT, E.L. TRUELVE, D.E. JOHNSON: Use of human minor salivary glands in basic and applied secretion research. *J. Dent. Res.* 66 (Spec. Iss.): 645-659, 1987.
6. LEATHEM A., N. ATKIN: Lectin binding to formalin-fixed paraffin section. *J. Clin. Path.* 36: 747-750, 1983.
7. MENGHI G., P. CECCARELLI, P. SCOCCO, V. PEDINI: The chicken anterior lingual glands: Structural study of carbohydrates chains by lectins and glycosidases. *Archs. Oral Biol.* 37: 463-469, 1992.
8. MENGHI G., P. SCOCCO, P. CECCARELLI: Basic and lectin histochemistry for studying glycoconjugates in the lingual salivary glands of the japanese quail (*Coturnix Coturnix Japonica*). *Archs Oral Biol.* 38: 649-655. 1993.
9. FINKSTAFF C.: The cytology of the salivary glands. *Int. Rev Cytol.* 63: 142-261, 1980.
10. SAMAR M.E., AVILA R.E.: *Técnicas histológicas. Aspectos teórico-prácticos*. Ed. Atica. Córdoba. 1991.
11. SAMAR M.E., R.E. AVILA, S.P. DE FABRO: Histofisiología de las glándulas salivales de aves con distintos regímenes alimentarios. *Rev. Fac. Cienc. Med., Cba.* 51: 35-40, 1993.
12. SAMAR M.E., R.E. AVILA, K. GRUNBERG, S.P. DE FABRO, M.E. FERRARIS: Glándulas bucales del pollo (*Gallus domesticus*). Aspectos morfohistoquímicos. *Rev. Bras. Biol.* 53: 55-62, 1993.
13. SAMAR M.E., R.E. AVILA, S.P. DE FABRO, C. CENTURIÓN: Structural and cytochemical study of salivary glands in the magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) and the kelp gull (*Larus dominicanus*). *Cor-morant. Marine Ornithology* 23: 1995.
14. SAMAR M.E., R.E. AVILA, H.E. PORTAL, V. PORFIRIO, M.I. FONSECA: Glándulas salivales de chimango (*Milvago chimango*) y halconcito común (*Falco sparverius*) (Aves: Falconidae). Aspectos morfohistoquímicos. *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral* 27: 127-135, 1996.
15. SAMAR M.E., R.E. AVILA, V. PORFIRIO, M. RABINO: Histofisiología de las glándulas salivales de *Netta peposaca* (Aves Anatidae). *Natura Neotropicalis* 28: 11-17, 1997.
16. SAMAR M.E., R.E. AVILA, S.P. DE FABRO, M.I. FONSECA PÉREZ: Estudio estructural y morfométrico de las glándulas salivales de gorrión (*Passer domesticus*) durante invierno y verano. *Rev. Fac. Odont. Cba.* 23/25: 79-90, 1997.
17. SCHAUER R. Sialic acids and their role as biological markers. *TIBS* 9: 357-360, 1986.
18. SUPRASERT A., T. FUJIOKA, K. YAMADA: Glycoconjugates in the secretory epithelium of the chicken mandibular gland. *Histochem. J.* 18: 115-121, 1986.
19. TABAK L., M. LEVINE, I. MANDEL, S. ELLISON: Role of the salivary mucins in the protection of the oral cavity. *J. Oral Path.* 11:1-17, 1982.
20. TABAK L.: In defense of the oral cavity: Structure, biosynthesis, and function of the salivary mucins. *Annu. Rev. Physiol.* 57: 547-564, 1995.
21. TAYLOR C.R. Immunoperoxidase techniques. Practical and theoretical aspects. *Arch Path. Lab. Med.* 102: 113-121, 1978.
22. TEN CATE A.R.: *Histología oral*. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. 1986.
23. VIGIL C.: *Aves argentinas y sudamericanas*. Ed. Atlántida. Buenos Aires. 1973.

