



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

STRESS Y GLANDULAS SALIVALES

Mónica Alicia Fedelich [*]
María Luis Rins de David [**]

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es el de establecer si la inducción de stress determina cambios morfológicos en la glándula sublingual y submaxilar de la rata.

El Síndrome General de Adaptación (S.G.A.) fue inducido en 25 machos Wistar, adultos jóvenes a través del frío y de la inmovilización. Los animales fueron sacrificados 48 hs. y 10 días después de la aplicación del stressor (E.A.).

Para verificar las condiciones del stress se pesaron las glándulas adrenales y se valoraron los niveles de corticosterona plasmática. Las glándulas sublinguales y submaxilares fueron desecadas, pesadas y fijadas en formol a pH 7 y estudiadas en cortes con H.E.

Los resultados indican que la glándula submaxilar es más sensible al frío que la sublingual, mientras que la inmovilidad determina un efecto inverso.

SUMMARY

The object of this work was to establish whether induced stress leads to morphological changes in the sublingual and submaxillary glands of rats.

General adaptation syndrome (S.G.A.) was induced in 25 young adult male Wistar rats through cold and immobilization. The animals were killed 48 hrs. and 10 days after stressor (E.A.) application.

To verify stress condition, the adrenales were weighed and plasmatic corticosterone were carried out. The sublingual and submaxillary glands were dissected, fixed in buffered formol and stained with H.E.

The results histology indicate that the submaxillary is more sensitive to cold than the sublingual, while the reverse holds true form immobilization.

[*]: Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra "A" de Anatomía, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba.

[**]: Profesora Adjunta de la Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba.

INTRODUCCION

Se sabe que las glándulas salivales están sujetas a influencias neuroendócrinas [21] y que a su vez ellas ejercen acciones sobre distintas esferas del organismo [14].

Están constituidas por un tejido muy sensible, que responde con modificaciones a cambios hormonales, ya sea por déficit [24] o exceso de hormonas [1-2] que se manifiestan aún durante el ciclo estrual [19]; durante el mismo, es posible observar variaciones histoquímicas en el borde luminal de los conductos estriados [19].

El efecto de un stress intenso como el producido por METHOTREXATE [23] o TURPENTINE [20] determinan en el animal un Síndrome General de Adaptación (S.G.A.) con modificaciones en sublingual (SL.) y submaxilar (SMx.) detectables con metodología morfohistoquímica.

Sin embargo, cuando el E.A. es suave (15 minutos diarios y -20° C). Las glándulas salivales no presentan cambios detectables con M.O. [18]. Surge entonces la búsqueda del umbral reaccional de SL. y SMx. al stressor.

El objetivo del presente trabajo es el de establecer si la inducción de stress por frío, o la inmovilidad, determinan cambios morfológicos en las glándulas SL. y SMx.

MATERIAL Y METODO

Se trabajó con 25 ratas Wistar machos adultos jóvenes, los lotes de cinco animales cada uno se constituyeron de la siguiente forma:

- 1°) Testigos normales.
- 2°) Stress por frío (48 horas).
- 3°) Stress por inmovilidad (48 horas).
- 4°) Stress por frío (10 días).
- 5°) Stress por inmovilidad (10 días).

El stress inducido por frío se realizó a -20° C durante una hora a la mañana y una hora a la tarde.

El stress por inmovilidad se realizó en jaulas individuales y en dos exposiciones diarias de una hora cada una.

Los horarios establecidos para aplicar el estímulo fueron de 9 a 10 hs. y de 14 a 15 hs.

Todos los lotes de animales fueron mantenidos con una temperatura entre 18° y 20°C y con un ritmo de 14 hs. de luz y 10 de oscuridad. Se alimentaron con dieta balanceada de laboratorio y agua ad-libitum.

Inmediatamente después de la última exposición al E.A. se sacrificaron los animales con guillotina y se procedió de la siguiente manera:

- * Recolección inmediata de sangre para la valoración de corticosterona plasmática, según técnica de Rerup Hedner [17].
- * Se pesa el animal.
- * Se disecan las glándulas salivales sublingual y submaxilar, se pesan y fijan en formol taponado (a pH 7), para su posterior estudio histológico con coloración de H.E.
- * Se disecan y pesan las glándulas adrenales.
- * En todas las tablas los pesos de las glándulas corresponden al término medio del grupo y van acompañados de sus respectivos errores standard (E.S.)

Los resultados fueron comparados usando el test de Student [4-8]. Las diferencias fueron consideradas significativas si $P = 0.05$ ó menor.

RESULTADOS

Peso

En la tabla N° 1 se observa el peso de las glándulas salivales y suprarrenales tanto en valores absolutos como por 100 gr. de peso corporal. Se presentan los términos medios (T.M.) y E.S. de cada lote.

Glándulas Sublinguales

Cuando el peso se expresa en valores porcentuales aparecen diferencias estadísticamente significativas con la aplicación de frío en el período de 48 hs., con una $P < 0.025$. En los restantes lotes (inmovilidad 48 hs., frío e inmovilidad 10 días), no hay diferencias con respecto a los testigos.

Al observar los valores absolutos de las glándulas sublinguales, no se hallan variaciones en ninguno de los lotes (Tabla 1).

Glándulas Submaxilares

Analizando los valores expresados por 100 gr. de peso corporal no se destacan diferencias estadísticamente significativas en

ninguno de los casos de inducción de stress. Los pesos absolutos de las glándulas muestran que, la inmovilidad (48 hs.), determina diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$).

Glándulas Adrenales

La mayoría de las glándulas de los animales stressados presentan disminución de peso con respecto a los testigos, tanto cuando se expresan resultados en valores porcentuales como absolutos. De manera que, por 100 gr. de peso animal, el stress aplicado durante dos días, ya sea frío o inmovilidad, da significación con una $P < 0.001$. Cuando el estímulo es aplicado, durante 10 días, la inmovilidad arroja una $P < 0.05$, mientras que el frío no induce cambios significativos.

En valores absolutos los resultados son similares: el estímulo alarmógeno aplicado por un período de 48 hs. (frío o inmovilidad) da significación con una $P < 0.001$.

A los 10 días la inmovilidad determina una diferencia con $P < 0.05$, mientras que el frío como en el caso anterior no da diferencias con respecto a los testigos.

Valoración de corticosterona plasmática

Los animales stressados arrojan niveles de corticosterona plasmática diferentes a los testigos.

A las 48 hs. (frío e inmovilidad) los valores son más altos, con una $P < 0.05$, mientras que a los 10 días éstos descienden, aún por debajo del nivel de los testigos (Tabla N° 2).

Histología

La glándula sublingual de la rata Wistar normal, presenta dimorfismo sexual [18]. En el macho los acinos mucosos constituyen la unidad secretoria predominante. El citoplasma es límpido y los núcleos pequeños ocupan la porción basal.

El tejido seroso está representado por medialunas delgadas y envolventes, de límites netos y núcleo pequeño y central.

El estroma es escaso, pero delimita con nitidez los acinos.

Los conductos estriados, llamados así por las estrías características de la porción basal, constituyen un lugar de intercambio electrolítico para la formación de saliva definitiva (Foto N° 1) [3].

El stress inducido por inmovilidad durante 10 días según la metodología descrita determina cambios al M.O. que se observan claramente a nivel de las medialunas. Estas se presentan aumen

tadas de tamaño, con núcleos muy grandes de eucromatina con varios nucleolos. Esta característica nuclear se observa también en los conductos (Foto N° 2).

El stress inducido por frío determina cambios muy semejantes a los detallados por inmovilidad, pero sus características son aparentemente más moderadas (Foto N° 3).

La **glándula submaxilar** de la rata es mixta; posee dos estructuras secretoras muy importantes. Los acinos seromucosos y los túbulos serosos, esta porción es denominada de diferentes maneras por los distintos autores: Pars convoluta [7], [9] túbulos granulados o conductos granulados. Están presentes en la glándula submaxilar de algunos roedores, entre ellos la rata y el ratón, contienen gránulos secretorios relativamente gruesos de material PAS + [16].

El estroma escaso circunscribe el límite acinar (Foto N° 4), la basofilia es homogénea y hay una discreta anisocariosis.

La glándula submaxilar de la rata stresada por frío, presenta basofilia acinar que se destaca solamente en el polo nuclear. La anisocariosis es más marcada que en el animal normal. El estroma escaso determina una glándula muy compacta (Foto N° 5), con signos de hiperemia. Los túbulos al igual que en el animal normal se presentan cargados de gránulos. Los núcleos son intensamente coloreados y grandes.

Cuando el stresor es inmovilidad se observan las mismas características, pero más atenuadas (Foto N° 6).

DISCUSION

El stress es la respuesta neuroendócrina a un estímulo alarmógeno o stresor. Se sabe que un stresor muy potente (Turpentine) [20], es capaz de determinar cambios a nivel de las glándulas salivales, pero que finalmente termina con la vida del animal, de experimentación [23].

Sin embargo, la utilización de un estímulo alarmógeno muy suave, no produce respuesta por parte de las glándulas salivales [22]. Es necesario entonces recurrir a un método que siendo efectivo para producir cambios en SL. y SMx. no sea incompatible con la vida del animal.

Con nuestra metodología de trabajo, en las glándulas salivales se observan cambios tanto en SL. com SMx., atribuibles entonces al Síndrome General de Adaptación.

Según Rosenman entre las 24 y 48 horas de iniciado el S.G.A. la rata se encuentra en el período de alarma y desde las 48 horas en adelante en etapa de resistencia. Siguiendo este criterio nue
tros animales estarían comprendidos en estas dos etapas.

Para corroborar el estado de stress, se pesaron las glándulas adrenales y se realizó la valoración de corticosterona plasmática.

Otros investigadores como Loyber y col. [11, 12] valoran los niveles de dichas hormonas en animales normales [13]. Nuestros resultados arrojan cifras diferentes en animales testigos y problemas.

Cuando se realiza la valoración a las 48 horas los resultados indican las cifras más altas. Este dato es coincidente con la dis
minución del peso de las glándulas adrenales. Presumiblemente esto podría atribuirse a una excreción exagerada por partes de las mismas.

A los diez días las cifras de corticosterona plasmática descien
den con respecto al lote anterior y aún con respecto a los testigos. Se podría inferir que existe un agotamiento por parte de las glándulas adrenales.

De las dos glándulas salivales en estudio es submaxilar la que reacciona con mayor intensidad o rapidez frente a diversas condi
ciones experimentales [15, 5] y así ocurre cuando el E.A. empleado es el frío. La glándula se presenta más compacta, con menos basofilia que en el animal normal. Son entonces los acinos quienes presentan las modificaciones más marcadas, no así los túbulos granulosos. Es importante destacar este hecho ya que los investigadores coinciden en que la porción más sensible de la glándula a las hormonas es la pars convoluta [6, 10].

Cuando se utiliza como stresor la inmovilidad, la glándula sublingual reacciona con más intensidad, lo que se detecta especialmen
te a nivel del tejido seroso y sus núcleos respectivos. Diversos autores coinciden en que la glándula sublingual tiene menos poder reaccional a diversos agentes que la glándula submaxilar. Esta reacción inversa en nuestros resultados tendrá que ser dilucida
da en trabajos complementarios.

Aunque el frío y la inmovilidad son agentes stresantes ¿sus mecanismos de acción serán semejantes?

En casi todos los lotes estudiados el peso de las glándulas saliva
les no varía de manera estadísticamente significativa con respe
cto a los testigos, pero como es una medida sujeta a muchas contingencias (tenor de agua, tiempo de deshidratación, etc.),

frente a los cambios morfológicos hallados, este parámetro es secundario.

Con esta metodología se corrobora una vez más la estrecha relación existente entre el sistema endócrino y las glándulas salivales.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se desprende que:

1º) Desde el punto de vista histológico es más sensible al frío la glándula submaxilar que sublingual, mientras que a la inmovilidad reacciona con más intensidad sublingual.

2º) El peso de las glándulas salivales no se modifica de manera estadísticamente dignificativa en ninguno de los períodos estudidos.

3º) Nuestro stress fue efectivo, lo corroboramos con:

a) El peso de las glándulas adrenales en todos los casos presenta una disminución significativa con respecto a los testigos.

b) La valoración de corticosterona plasmática en los animales stressados, arroja cifras que son diferentes a los testigos.

Tabla 1: Peso de las Glándulas Salivales y Adrenales

GRUPO EXPERIMENTAL	CORPORAL (mg)	GLANDULA SUBMAXILAR		GLANDULA SUBLINGUAL		GLANDULA ADRENAL	
		Absoluto (mg)	Porcentual (mg/100P.Corp.)	Absoluto (mg)	Porcentual %	Absoluto (mg)	Porcentual %
TESTIGO (5)	259,5 ± 18,99	228,3 ± 11,5	51,3 ± 14,7	32,5 ± 1,7	12,8 ± 1,1	24,1 ± 0,7	9,6 ± 0,9
FRIO (5) (dos días)	299 ± 9,4	201,3 ± 15,6	67,2 ± 4,5	28,7 ± 1,6	7,7 * ± 1,8	17,7 * ± 1,1	5,9 ** ± 0,3
INMOVILIDAD (5) (dos días)	294 ± 15,9	187,7 ** ± 7,6 *	64,2 ± 2,1	30,4 ± 1,6	10,4 ± 0,6	13,9 * ± 1,2	4,7 *** ± 0,2
FRIO (5) (10 días)	330,2 ± 17,9	235,4 ± 19,3	71,1 ± 3,4	33,5 ± 2,5	10,1 ± 0,5	25,2 ± 1,5	7,6 ± 0,3
INMOVILIDAD (5) (10 días)	281,9 ± 7,8	197,1 ± 17,3	69,6 ± 5	29,4 ± 2,7	10,4 ± 0,7	21,1* ± 3	7,5 * ± 0,5

MEDIA ± E.S. Número entre paréntesis indica el número de ratas
 Grado de significación al compararlo con los testigos
 P < 0,025 * P < 0,005 * P < 0,001 ** P < 0,001 **

Tabla 2: Reacción frente a diversos agentes estresantes

GRUPO EXPERIMENTAL		CORTICOSTERONA (ug/100 ml)	PLASMÁTICA
TESTIGO	a	40,42	± 3,44
FRIO (2 días)	b	50,07 *	± 2,93
INMOV. (2 días)	c	52,77 *	± 5,33
FRIO (10 días)	d	36,92	± 6,57
INMOV. (10 días)	e	30,42	± 1,27

MEDIA ± ES

P < 0,005 * Grado de significación resultante de comparar:

a Vs. b; a Vs. c.

FOTOGRAFÍAS

Todas las fotografías se tomaron con 400 aumentos, sobre cortes coloreados con Hematoxilina Eosina.

Nº 1: Glándula sublingual normal, nótese acinos, medialunas y conductos.

Nº 2: Glándula sublingual de un animal sujeto a stress por inmovilidad durante 10 días. Se observa aumento de tamaño de las medialunas, como así también de sus núcleos.

Nº 3: Glándula sublingual, stressor utilizado: frío durante 10 días. También se observan medialunas abultadas.

Nº 4: Glándula submaxilar normal. Nótese acinos y túbulos granulados.

Nº 5: Glándula submaxilar de un animal sometido a stress por frío durante 10 días. La glándula se presenta más compacta y basofilia circunscripta a la porción basal nuclear.

Nº 6: Glándula submaxilar: animal stressado por inmovilidad (10 días). Se observa una glándula más compacta que en el animal normal. En los túbulos granulados no se observan modificaciones.

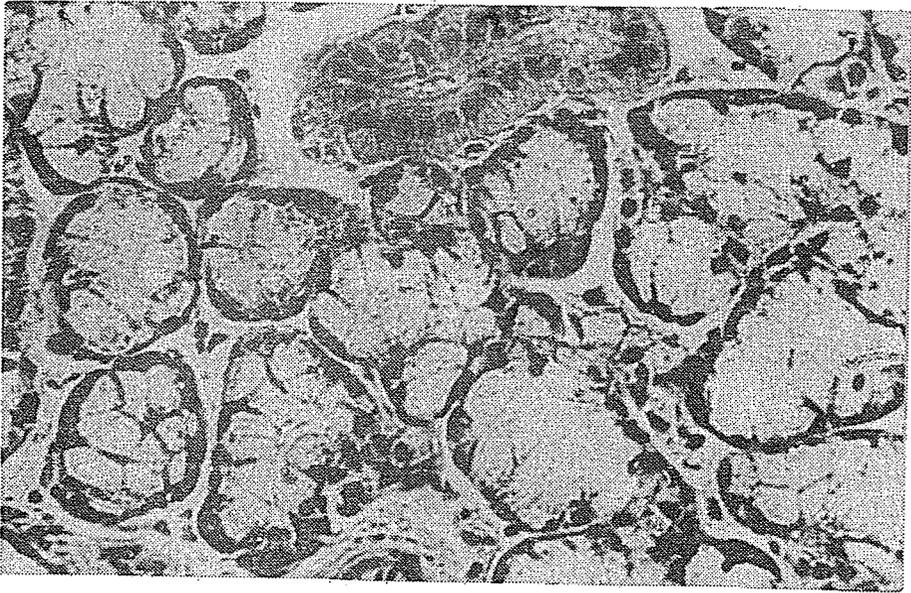


Foto N° 1

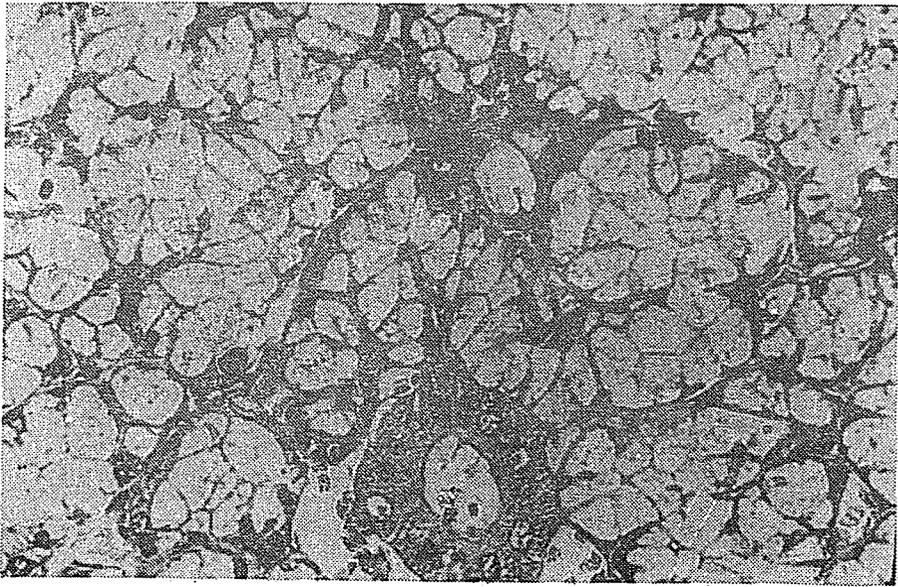


Foto N° 2

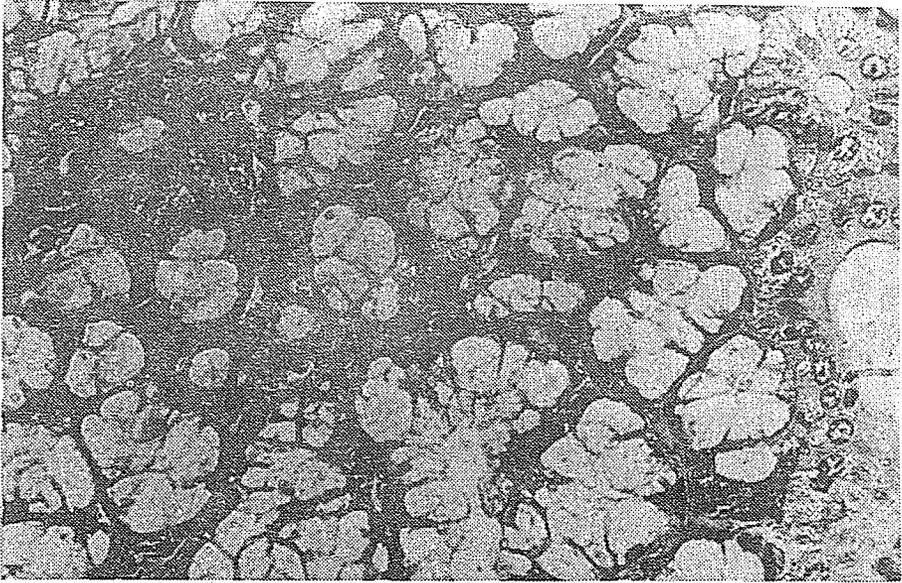


Foto N° 3

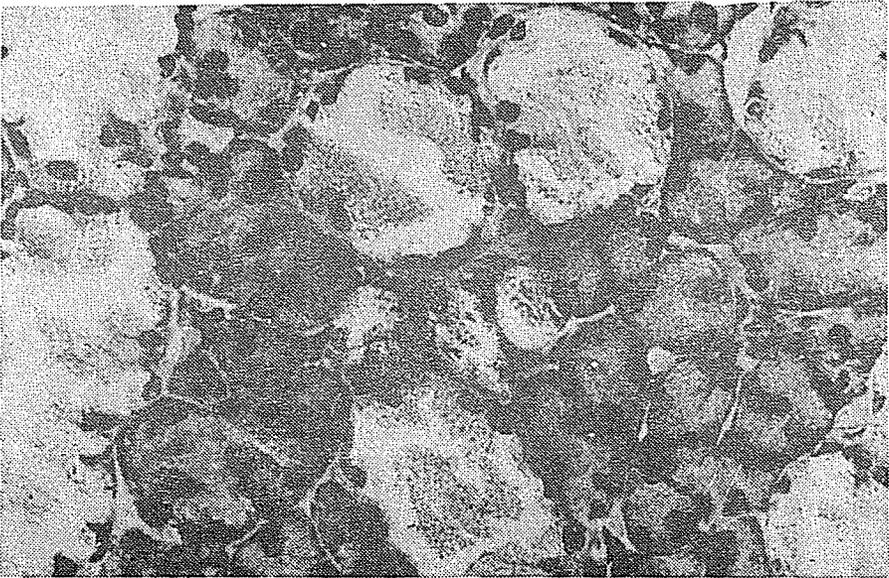


Foto N° 4

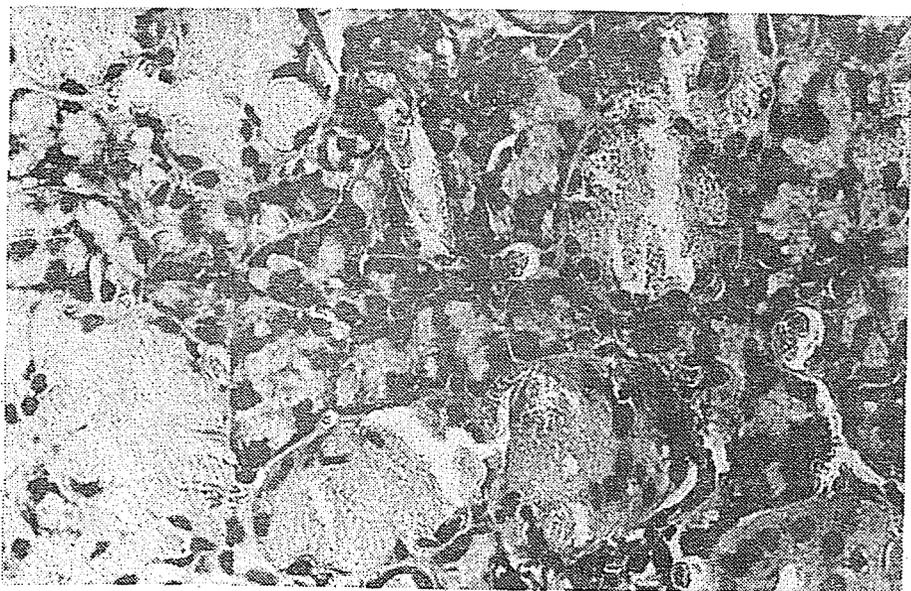


Foto N° 5

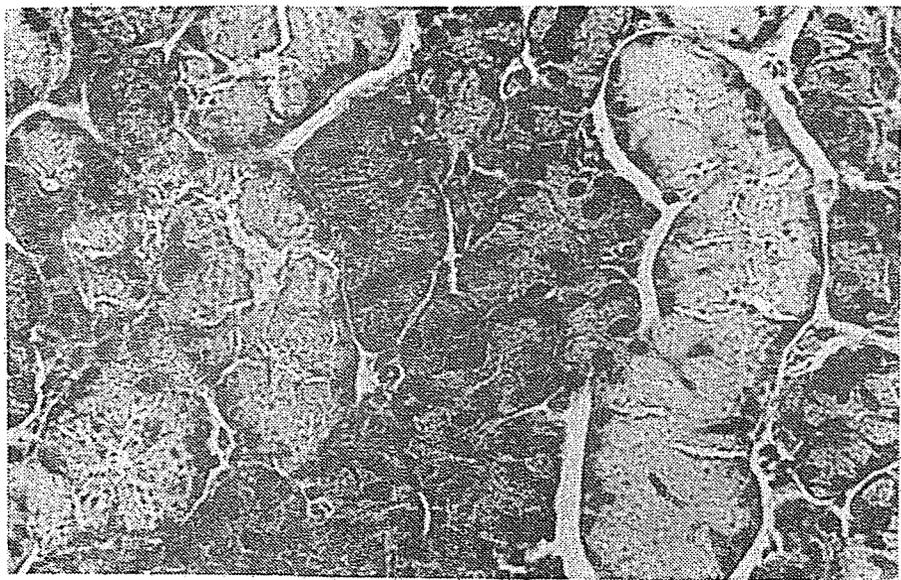


Foto N° 6

BIBLIOGRAFIA

1. CHRETIEN MONIQUE: "Action de la testosterone sur la structure fine d'un effecteur: la glande sous-maxillaire de la souris male". *Microscopie* 14: 35; 1972.
2. CHRETIEN MONIQUE: "Action de la testosterone sur la structure fine d'un effecteur: la glande sous-maxillaire de la souris male". *Microscopie* 14: 55; 1972.
3. DAVENPORT, H.W.: "Fisiología de la digestión". 2°; Interamericana; México; 1966.
4. GALAN, G.: "Análisis estadístico". *Arch. Hosp. Univ. Habana* 6: 573; 1954
5. HILL, C.R.; BOURNE, G.H.: "The histochemistry and cytology of the salivary gland duct cells". *Acta Anat.* 20: 116; 1954.
6. HOSOI, K.; NAKAMURA, T.; UEHA, T.: "Effect of testosterone on the amount of serous-like granules in convoluted tubular cells of mouse submandibular glands". *J. Biochem.* 81: 739; 1977.
7. HOUSSAY, A.B.; HARFIH, J.: "Effects of estrogens on submaxillary glands in mice". *J. Dent. Res.* 52: 1051; 1973.
8. IVY: "Normalidad". *Quart. Bull. Northw. Univ. Med. School* 18: 24; 1944.
9. KUMEGAWA, M.; TAKUMA, T.; TAKAGI, Y.: "Precocious induction of secretory granules by hormones in convoluted tubules of mouse submandibular glands". *Am. J. Anat.* 149: 111; 1977.
10. LACASSAGNE, A.; CHAMORRO, N.: "Reaction a la testosterone de la glande sous maxillaire atrophice, consecutivement a l'hy pophysectomie chez la souris". *C.R. Soc. biol.* 134: 223; 1944.
11. LECUONA, F.A.; PERASSI, N.; PALMA, J.; LOYBER, E.I.: "Plasma corticosterone in rats with electrochemical stimulation of the olfactory bulbs". *J. Endocr.* 54: 353; 1972.
12. LOYBER, I.; PERASSI, N.; LECUONA, F.; PERALTA, M.: "Effects of handling normal and bulbectomized rats at adrenal and plasma corticosterone levels". *Experientia* 33: 1393; 1977.

13. LOYBER, I.; PERASSI, N.; LECUONA, F.; PERALTA, M.: "Plasma corticosterone in adult and immature rats without olfactory bulbs". *Neuroendocrinol.* 13: 93; 1973-74.
14. NARASIMHAN (Jr), M.J.; GAULA, U.: "The regulatory influence of the submandibular salivary gland on growth". *Endocrinol.* 23: 11; 1969.
15. OGATA, T.: "Internal secretion of the salivary gland". *Folia Endocrinol, Japan* 20: 9; 1944.
16. QUINTARELLI, G.; TSUIKI, J.; HASHIMOTO, J.; PIGMAN: "Studies of sialic acid containing mucins in bovine submaxillary and rat sublingual glands". *J. Histochem. Cytochem.* 9: 1976; 1961.
17. RERUP, C.; HEDUER, S.: "On the assay of corticotrophin: comparison of the plasma corticosteroids and adrenal ascorbic acid response". *Acta Endocrinol.* 38: 220; 1961.
18. RINS de DAVID, M.L.: "Influencia de la edad y hormonas sexuales sobre la morfología e histoquímica de las glándulas salivales y lagrimal de rata". Tesis de Doctorado; Universidad Nacional de Córdoba; Facultad de Odontología; Cátedra de Fisiología; pág. 259; 1974.
19. RINS de DAVID, M.L.; MADOERY, F.A.; MOYANO ARAMBURU, B.: "Sexual hormones action on the cellular surface of rat salivary and lacrimal glands ducts". *J. Dent. Res.* 54: 638; 1975.
20. ROSENMAN, H.; CHARIPPER, H.A.; STAHL, S.S.: "The effects of stress on the submaxillary glands of young adult male rats". *Arch. Oral Biol.* 2: 196; 1960.
21. SHAFFER, W.G.: "Endocrine influences upon the salivary gland". *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 85: 215; 1960.
22. SHKLAR, G.; GLICKMAN, I.; TURESKY, S.: "A histochemical study of the salivary glands in normal and cortisone-injected white mice". *J. Dent. Res.* 37: 119; 1958.
23. SHKLAR, G.; SONIS, S.T.: "The effect of methotrexate on experimental salivary gland neoplasia in rats". *Archs. Oral Biol.* 20: 787; 1975.

24. SMITH, R.J.; FROMMER, J.: "Effects of prepubertal castration on development of granular tubules and amylase activity in the male mouse submandibular gland". Archs. Oral Biol. 17: 1561; 1972.

Agradecimientos:

Al Prof. Dr. Loyber y col. por la valoración de corticosterona plasmática y al Sr. Mario Peralta por su asistencia técnica.