

HISTOFISIOLOGIA DE LAS GLANDULAS SALIVALES DE Netta peposaca (AVES ANATIDAE)

María E. Samar, Rodolfo E. Avila, Verónica Porfirio y Miriam Rabino.

II. Cátedra de Histología, Embriología y Genética. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Catamarca 1546. 5000 – Córdoba. Argentina.

RESUMEN. Se analizaron las características estructurales y citoquímicas de las glándulas salivales del pato picazo Netta peposaca (Aves: Anatidae) para inferir sobre el rol fisiológico que desempeñan en esta especie. Se emplearon muestras de lengua, piso de la boca y paladar de patos recién nacidos (n=5) y adultos (n=5) las que se colorearon con HE, Masson, PAS, Azul de toluidina y Alcian blue. Se observó en ambos grupos la presencia de glándulas mucosas en la base de la lengua con moderado desarrollo, siendo los adenocitos PAS positivos, alcianofílicos y metacromáticos, al igual que los acúmulos glandulares alveolares del paladar. Las glándulas palatinas tenían conductos revestidos por un epitelio estratificado intensamente acidófilo. Algunas células ductales presentaban un citoplasma con glicoproteínas PAS positivas y sulfomucinas metacromáticas. En el piso de la boca llamó la atención la presencia de lóbulos glandulares en gran cantidad, tanto en los recién nacidos como en adultos, constituidos por estructuras tubulares. Los túbulos periféricos presentaban adenocitos PAS positivos y metacromáticos mientras que los túbulos centrales contenían epiteliocitos fuertemente acidófilos, algunos de los cuales contenían mucinas PAS positivas. Estas células se coloreaban ortocromáticamente con el Azul de toluidina. Podemos concluir que las glándulas salivales de N. peposaca contienen adenocitos cuyas secreciones participarían no sólo en la lubricación de los alimentos, sino también en la protección no inmune de la cavidad oral. Los epiteliocitos acidófilos, semejantes a las células de los conductos estriados de las glándulas salivales de mamíferos, podrían actuar en el transporte iónico y acuoso, modificando la osmolaridad de la saliva.

ABSTRACT. Histophysiology of the salivary glands of the magpie duck *Netta peposaca* (Aves: Anatidae).

In the present work, the structural and cytochemical characteristics of the salivary glands from the magpie duck *Netta peposaca* were analized, to infer the physiological role they play in this specie. Samples of tongue, mouth floor and palate of newborn (n=5) and adults (n=5) ducks were employed, and stained with HE, Masson, PAS, Toluidine blue and Alcian blue. The presence of mucous glands with a moderate development was observed in both groups in the base of the tongue.

Trabajo subsidiado por SECYT (Universidad Nacional de Córdoba).

being the mucosecretory cells PAS positive, alcianophilic and metachromatic, as were the cumuli of glands of alveolar aspect located at the palate. The palatine glands had ducts coated by an intensely acidophilic stratified epithelium. Some ductal cells presented a cytoplasm filled with PAS positive glycoproteins and metachromatic sulphomucins. The presence of a great amount of glandular lobules in the mouth floor both in newborns and adults ducks called our attention. These glandular lobules were constituted by tubular structures. The peripheral tubules presented PAS positive and metachromatic mucous cells, while in the central tubules strongly acidophilic cells were found, some of which contained PAS positive mucins. These cells stained orthochromatically with Toluidine blue. We may conclude that the salivary glands of the magpie duck *Netta peposaca* contain mucous cells, whose secretions would participate in the lubrication of food and in the non immune protection of the oral cavity. Acidophilic cells, similar to those found in the striated ducts of the salivary glands of mammals, could participate in ionic and aqueous transport, modifying the osmolarity of the saliva.

INTRODUCCION

Teniendo en cuenta los antecedentes bibliográficos, hemos comprobado que los aspectos embriológicos, histofisiológicos y citoquímicos de las glándulas salivales de las aves, han sido poco investigados. En general, se afirma que tienen glándulas salivales secretoras de mucus poco desarrolladas, asignándoles como función, la lubricación de los alimentos relacionando la proliferación glandular y la cantidad de glicoconjugados, con la calidad de los nutrientes ingeridos, como se describe en aves granívoras (Grassé, 1950; Farner y Ziswiler, 1972). En trabajos anteriores, hemos realizado una extensa investigación de las glándulas salivales de aves con regímenes alimentarios diferentes y pudimos comprobar su gran desarrollo, acompañado de una importante y heterogénea secreción de mucinas (Samar et al., 1992; 1993 a y b; 1995; 1996a). Es conocido que dichas secreciones mucosas se asocian a funciones protectoras de la salud bucal, adicionales a la función lubricante y facilitadora del desplazamiento de los alimentos a través del esófago (Mandel, 1987; Tabak, 1995). En base a estos antecedentes, en el presente trabajo se analizaron las características estructurales y citoquímicas de las glándulas salivales del pato picazo (Netta peposaca) para inferir sobre algunos aspectos histofisiológicos. N. peposaca es uno de los patos que habitan el territorio argentino en mayor abundancia. Se lo encuentra en general, en todas las aguas dulces y es casi exclusivamente en ella donde obtiene el alimento. En su dieta se citan semillas de plantas acuáticas, moluscos, gusanos, lombrices, pequeñas ranas, pececitos e insectos, lo cual lo hace útil al hombre, ya que elimina muchos enemigos de sus cultivos (Vigil, 1973).

MATERIAL Y METODOS

Se emplearon muestras de lengua, piso de la boca y paladar extraídas de ejemplares recién nacidos (n=5) y adultos (n=5) de N. peposaca de ambos sexos en su hábitat natural y sacrificados de acuerdo a los Protocolos Internacionales de Investigaciones Biomédicas con animales (Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas, 1990). El material se fijó en formol al 10 % a pH 7,4 en buffer fosfato y se incluyó en parafina, según la técnica de rutina. Se realizaron cortes seriados de cada muestra y se colorearon con Hematoxilina/Eosina y tricrómico de Masson (Samar y Avila, 1991). Para las investigaciones histoquímicas se utilizaron las siguientes técnicas: (Barka y Anderson, 1967; Samar y Avila, op. cit.): Periodic acid -Schiff (PAS) para glicoconjugados con grupos

1-2 glicoles (glicoproteínas y glucógeno). Amilasa/PAS para determinar la presencia o ausencia de glucógeno. Alcian blue a pH 1,0 para glicoconjugados sulfatados (glicosaminoglicanos ácidos sulfatados o sulfomucinas). Alcian blue a pH 2,5 para glicoconjugados acídicos (glicosaminoglicanos ácidos sulfatados y no sulfatados). Azul de toluidina a pH 3,8 para la determinación de sustancias basófilas v metacromáticas alcohol-resistentes. Digestión con neuraminidasa para la remoción de residuos de ácido siálico terminal de los glicoconjugados. Posteriormente los cortes se colorearon con Alcian blue a pH 2,5. La diferencia de coloración entre los controles y los problemas nos indica la existencia de ácido siálico accesible. Reacciones de bloqueo (metilación) y saponificación para corroborar la presencia de glicosaminoglicanos ácidos con grupos sulfato y carboxilo coloreados con el Alcian blue.

RESULTADOS

A- Glándulas de la lengua: se observó en la base de la lengua un moderado desarrollo de lóbulos glandulares formados por acinos tapizados por adenocitos y delimitados por tejido conectivo denso, con gruesos haces de fibras colágenas coloreadas de azul con tricrómico de Masson (Fig. 1a).

Los adenocitos presentaban con Hematoxilina y eosina, un citoplasma pálido y de aspecto vacuolado, por el mucígeno que comprimía el núcleo hacia la base, mientras que, con las técnicas citoquímicas aparecían repletas de sulfomucinas metacromáticas alcohol resistentes y alcianofílicas. La metacromasia del epitelio glandular contrastaba notablemente con la ortocromasia del tejido conectivo circundante. También contenían glicoproteínas fuertemente PAS positivas.

B- Glándulas palatinas: estaban constituidas por porciones terminales alveolares revestidas por adenocitos con glicoconjugados PAS reactivos, alcianofílicos y con metacromasia resistente a la extracción alcohólica, que ocupaban todo el citoplasma (Fig. 1b). Algunas células presentaban solamente una manifiesta PAS positividad y alcianofilia apicales y otras con PAS positividad y alcianofilia moderadas.

El epitelio de los conductos excretores era estratificado e intensamente acidófilo. Algunas células ductales eran mucosecretoras, semejantes a las células caliciformes y contenían gránulos y material luminal PAS positivos, metacromáticos y alcianofílicos.

C- Glándulas del piso de la boca: los lóbulos glandulares estaban compuestos por estructuras tubulares que eran numerosos, se diferenciaban netamente túbulos periféricos o externos y centrales o internos. Los túbulos periféricos presentaban un epitelio mucosecretor con células intensamente PAS positivas y metacromáticas, entre las que se disponían de manera aislada células moderadamente PAS reactivas (Fig. 2a y b).

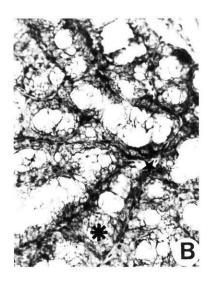
Los túbulos centrales presentaban células cuboideas, francamente eosinófilas y con una débil alcianofilia y PAS positividad citoplasmática que contrastaba notablemente con la fuerte reactividad de los túbulos periféricos. Las membranas basales y cubiertas celulares eran PAS positivas.

Cuando se empleó el Azul de toluidina, las células se colorearon ortocromáticamente y sus cubiertas de membrana reaccionaban con una fuerte metacromasia, resistente a la extracción alcohólica.

Entre los túbulos internos y externos se observaba una zona de transición, donde las estructuras tubulares poseían características tintoriales heterogéneas, con células que reaccionaban como las de la zona externa y otras como las internas.

En algunos lóbulos, se observó un ducto colector central, revestido por un epitelio cúbico simple con epiteliocitos acidófilos, semejantes a los descriptos en los túbulos centrales o internos.

Cada lóbulo estaba delimitado por tejido conec-



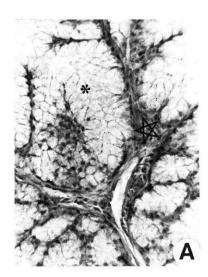


Fig. 1: Glándulas salivales de *Netta peposaca* (adulto). A: Glándulas linguales. Se señalan acinos mucosos (asterisco) delimitados por tejido conectivo denso (estrella). Coloración Hematoxilia y eosina. 400x. B: Glándulas palatinas. Adenómero alveolares mucosos repletos de sulfornucinas metacromáticas alcoholresistentes (asterisco). Coloración Azul de toluidina a pH 3,8. 400x.

tivo denso, cuyas fibras colágenas se coloreaban de manera característica con tricrómico de Masson.

No se encontraron diferencias estructurales ni citoquímicas en las glándulas de los recién nacidos y adultos, de ambos sexos.

En todas las muestras analizadas (glándulas linguales, palatinas, y del piso de la cavidad bucal), los glicoconjugados PAS positivos resultaron amilasa resistentes. La digestión previa con neuraminidasa, modificó parcialmente la positividad de las estructuras alcianofílicas a pH 2,5.

El comportamiento de los tejidos frente a la metilación suave (37°C) y fuerte (60°C) segui-

das de la saponificación, demostró la presencia de grupos ácidos, fundamentalmente sulfatados o sulfornucinas.

En el Cuadro 1 se presentan las características estructurales y citoquímicas más relevantes de los distintos grupos glandulares.

DISCUSION

Es bien conocido que el rol de las glándulas salivales es la producción de saliva, responsable de las funciones digestivas y protectoras a nivel de la cavidad bucal (Ten Cate, 1986). Las primeras se caracterizan por las diferentes

interacciones con el alimento, en tanto que las segundas están referidas a las interacciones con los dientes, los tejidos bucales blandos y la flora bacteriana (Tabak *et al.*, 1982; Levine, 1993).

La gran proliferación glandular en la cavidad bucal de aves, con abundancia de mucinas PAS positivas, alcianofílicas y metacromáticas, que contienen oligosacáridos con residuos de ácido siálico, N-acetil galactosamina, N-acetilglucosamina, manosa y D-glucosa, comprobada en un trabajo anterior por nosotros, son indicativos de que las mucinas salivales no sólo lubrican los alimentos, sino que además, cumplen funciones relacionadas con la protección y la defensa de la salud oral (Samar et al., 1996b).

En relación a N. peposaca, coexisten dos tipos glandulares bien diferenciados estructuralmente:

glándulas mucosas acinares en el órgano lingual y alveolares en la región palatina, en tanto que en el piso de la boca, se localizaron lóbulos glandulares constituidos por estructuras tubulares periféricas mucosas y centrales, intensamente eosinófilas.

Las reacciones histoquímicas revelaron en los adenocitos de las distintas glándulas, la presencia de glicoconjugados del tipo de las glicoproteínas y de los glicosaminoglicanos ácidos sulfatados y no sulfatados.

Además, los glicoconjugados probablemente contenían residuos de ácido siálico terminal, ya que, la reacción con Alcian blue disminuyó la intensidad después de la digestión con neuraminidasa. Se considera que el ácido siálico y los grupos sulfato, lubrican y protegen el tracto

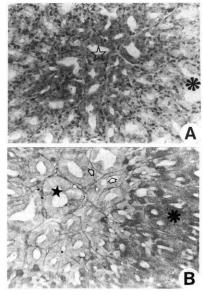


Fig. 2: Glándulas salivales de *N. peposaca* (recien nacido) correspondientes al piso de la boca. A: Se observa un lóbulo glandular compuesto por túbulo periféricos mucosecretores (asterisco) y túbulos centrales con células fuertemente acidófilas (estrella). Coloración Hematoxilina y eosina. 250x. B: Túbulos periféricos intensamente PAS reactivos (asterisco): Túbulos centrales con una débil PAS positividad (estrella). Se señalan las membranas basales y cubiertas PAS positivas. Coloración PAS. 250x.

Cuadro 1. Características estructurales y citoquímicas de las glándulas salivales de N. peposaca.

Glándulas	Patos Recien Nacidos (Machos y Hembras)				Patos Adultos (Machos y Hembras)			
	PAS	AB pH 2.5	AB pH 1,0	ATO pH 3,8 [PAS	AB pH 2,5	AB pH 1,0	ATO pH 3,8
Linguales (acinares)	+++	+++	+++	ţ	+++	+++	+++	Ţ
Palatinas (alveolares)	+++	+++	+++	ſ	+++	+++	+++	I
Piso de la boca (tubulares)								
túbulos internos	+	+	+	-	+	+	+	-
túbulos externos	+++	+++	+++	[+++	+++	+++	[

Escala de intensidad de las coloraciones: + débil, ++ moderada, +++ intensa. PAS: Periodic acid - Schiff. AB: Alcian blue. ATO: Azul de Toluidina. [: Metacromasia

respiratorio y digestivo (Schultz *et al.*, 1984; Suprasert *et al.*, 1986).

También, los residuos de ácido siálico de los hidratos de carbono, cubren la superficie de la mucosa lingual manteniendo su hidratación (Gargiulo *et al.*,1991).

De acuerdo a los resultados obtenidos, postulamos que las secreciones de las células mucosas de las glándulas salivales linguales, palatinas y tubulares externas del piso de la boca, participarían no sólo en la lubricación de los alimentos como está demostrado, sino también en la protección no inmune de la cavidad bucal, como son, el mantenimiento de la integridad de la mucosa oral y su hidratación, el freno de la proliferación bacteriana, la protección contra irritantes mecánicos y químicos, relacionadas directamente con los componentes químicos de sus mucinas, como describen Mandel (op. cit.), Suprasert et al. (op. cit.), Tabak (1995), entre otros. Estas funciones se pueden extrapolar a especies evolutivamente diferentes como los mamíferos.

Las células acidófilas centrales de las glándulas tubulares del piso de la boca, semejantes estructuralmente a las de los conductos estriados de las salivales de los mamíferos (Ten Cate, *op. cit.*), actuarían en el transporte iónico y acuoso, modificando la osmolaridad de la saliva.

Podemos concluir que: a) En N. peposaca coexisten glándulas salivales con adenocitos y epiteliocitos acidófilos, estructuralmente diferentes a las de los mamíferos, las que presentan elementos característicos como los acinos y los conductos intercalares, excretosecretores y excretores. En las palatinas, se observan conductos con células caliciformes como sucede en las de algunos mamíferos, incluyendo el hombre. b) Sus secreciones mucosas participarían en la protección de la cavidad bucal, mientras que las acidófilas podrían actuar en el transporte iónico y acuoso. c) Estas glándulas no muestran variaciones estructurales ni histoquímicas en relación a la edad y el sexo, ya que el patrón glandular permanece constante en aves machos y hembras, tanto recién nacidas como adultas.

REFERENCIAS

Barka, T. y P. Anderson. 1967. Histoquímica. Ed. Atika. Madrid. 716 p. Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas. 1990. Normas para la investigación biomédica en animales. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 108: 637-641.

Farner D. S. y V. Ziswiler. 1972. Avian biology. Vol III, Cap. 6. D. S. Farner and J. R. King. *Academic Press*. London. 694 pp.

Gargiulo, A. M; S. Lorvik; P. Ceccarelli & V. Pedini. 1991. Histological and histochemical studies on the chicken lingual glands. *Br. Poul. Sci.*, 32: 693-702.

Grassé, **P. 1950**. Traité de zoologie. Tomo XV. Oisseaux. *Masson et Cie*. Paris. 1164 pp.

Levine, M. 1993. Salivary macromolecules. A structure/function synopsis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 694: 11-16.

Mandel, D. 1987. The function of saliva. *J. Dent. Res.* 66 (spec. iss): 623-627.

Samar, M. E. y R. E. Avila. 1991. Técnicas Histológicas. *Editorial Atica*. Córdoba. 182 p.

Samar, M. E.; R. E. Avila; C. Centurión; L. Ambrogio; K. Grunberg y S. P. de Fabro. 1992. Glándulas mucosas intraepiteliales en cavidad oral de *Miyopsitta monacha* (cotorrita o cata común). *Rev. Fac. Cienc. Méd. Univ. Nac. Córdoba.* 50: 29-30.

Samar, M. E.; R. E. Avila; K. Grunberg; S. P. de Fabro y M. E. Ferraris. 1993a. Glándulas bucales de pollo (*Gallus domesticus*): Aspectos morfohistoquímicos. *Rev. Bras. Biol.* 53: 55-62.

Samar, M. E.; R. E. Avila y S. P. de Fabro. 1993b. Histofisiología de las glándulas salivales de aves con distintos regímenes alimentarios. Rev. Fac. Cienc. Méd. Univ. Nac. Córdoba. 51: 35-40.

Samar, M. E.; R. E. Avila; S. P. de Fabro y C. Centurión. 1995. Structural and cytochemical study of salivary glands in the magellanic penguin (Spheniscus magellanicus) and the kelp gull (Larus dominicanus). Mar. Ornithol. 23: 2-6.

Samar, M. E.; R. E. Avila; H. E. Portal; V. Porfirio y M. I. Fonseca. 1996a. Glándulas salivales de chimango (*Milvago chimango*) y halconcito común (*Falco sparverius*) (Aves: Falconidae): Aspectos morfohistoquímicos. *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral* 27 (2): 127-135.

Samar, M. E.; R. E. Avila; M. I. Fonseca; V. Porfirio y M. Rabino. 1996b. Mucinas salivales y salud bucal. Abstracts XIII Jornadas Soc. Biología de Tucumán. p111.

Schultz, B. A.; S. S. Spicer & R. L Miller. 1984. Histochemical localization of sialoglycoconjugates with a sialic acid -specific lectin from the slug limaxflavus. *Histochem. J.* 16: 1125-1132.

Suprasert, A.; T. Fujioka & K. Yamada. 1986. Glycoconjugates in the secretory epithelium of the chicken mandibular glands. *Histochem. J. 18*: 115-121.

Tabak, L. A. 1995. In defense of the oral cavity: structure, biosynthesis and function of the salivary mucins. *Annu. Rev. Physiol.* 57: 547-564

Tabak, I; I. Mandel; M. Levine & S. Ellison. 1982. Role of the salivary mucins in the protection of oral cavity. *Oral Path. 11*: 1-17.

Ten Cate, A. R. 1986. Histología oral. 2°ed. *Ed. Médica Panamericana*. Buenos Aires. 536 p.

Vigil, C. 1973. Aves Argentinas y Sudamericanas. *Ed. Atlántida*. Buenos Aires. 360 p.

Recibido / Received /: 24 marzo 1997 Aceptado / Accepted /: 20 octubre 1997