

## Efecto modulador de las glándulas salivares sobre la diferenciación y maduración de las células gustativas de la rata \*

J. Cano, C. de la Roza y E. L. Rodríguez-Echandía

Departamento de Morfología  
Facultad de Medicina  
Universidad Autónoma de Madrid  
(España)

(Recibido el 17 de febrero de 1978)

J. CANO, C. DE LA ROZA and E. L. RODRIGUEZ-ECHANDIA. *Modulating Effect of the Salivary Glands Upon Differentiation and Maturation of Taste Bud Cells in the Rat.* Rev. esp. Fisiol., 34, 443-448.

It is currently considered that the sensitive nerves of the papillary plexus are solely responsible for the normal differentiation of taste bud cells in the circumvallate papillae of the rat. The effect of syallectomy on taste bud cells was studied. Evaluation of results was performed through cell counts. The results demonstrate that the major salivary glands are quite important in both differentiation and maturation of taste bud cells.

La existencia de tres tipos celulares en el interior de los botones gustativos de los mamíferos, ha sido confirmada con microscopía electrónica por varios autores (5, 7, 11, 14, 15, 17, 18). Los botones contienen células de citoplasma denso con el núcleo localizado en la parte basal, células claras con núcleos voluminosos y de localización apical y células con características estructurales intermedias. Según IWAYAMA (11), existe una transformación gradual dentro de los botones, desde cé-

lulas oscuras (fase I), a células intermedias (fase II) y células claras (fase III). Los tres tipos celulares representarían respectivamente las fases de diferenciación, maduración y degeneración en el ciclo vital de los receptores gustativos. BEIDLER y SMALLMAN (1) demostraron, mediante autorradiografía, que este ciclo vital dura 10 días por término medio.

OLMSTED (16) fue de los primeros en observar que los botones gustativos de la papila circunvalada central de la rata son estructuras neurodependientes y, años más tarde, otros autores (6, 8, 19) sugirieron la existencia de factores neurales de tipo trófico que dirigirían la diferen-

\* Trabajo realizado con una ayuda del M.E.C. y con la subvención n.º 1.776 de la CAICT.

ciación y el mantenimiento de los botones gustativos de los vertebrados.

Además de los inductores neurales, cuyo efecto parece ser del tipo «todo o nada», algunos trabajos recientes sugieren que las células gustativas son también afectadas por factores extraneurales. La saliva parece jugar un papel importante en el sistema gustativo (9). Existe una proteína en la saliva parotídea que acopla zinc y que estaría funcionalmente relacionada con el crecimiento y la nutrición de los botones (10). Por otra parte, si bien parece factible que algunas «hormonas» de las glándulas salivares sean capaces de ejercer efectos tróficos sobre los botones gustativos y el sistema papilar en general, esta posibilidad no ha sido aún analizada experimentalmente.

En el presente trabajo se demuestra que las glándulas salivares mayores participan en la diferenciación y maduración de las células gustativas de la papila circunvalada central de la rata.

### Material y métodos

Se han utilizado ratas Wistar (machos y hembras) de 200 a 300 g de peso. Se realizó una incisión longitudinal en la zona ventral del cuello bajo anestesia con éter. Se extirparon bilateralmente las glándulas parótidas, submaxilares y sublinguales previa ligadura de los correspondientes pedículos. Los animales fueron sacrificados a los 15 días de la operación y la papila circunvalada central fue extraída y fijada en el medio de KARNOVSKY (12). Después de una postfijación en  $\text{OsO}_4$  (1%) el material fue incluido en Epón 812. Se obtuvieron secciones de  $1 \mu$  de espesor y éstas se tiñeron con una solución de toluidina-borax,  $\text{pH} = 11$ .

### Resultados

La extirpación de las glándulas parótidas, submaxilares y sublinguales en ratas,

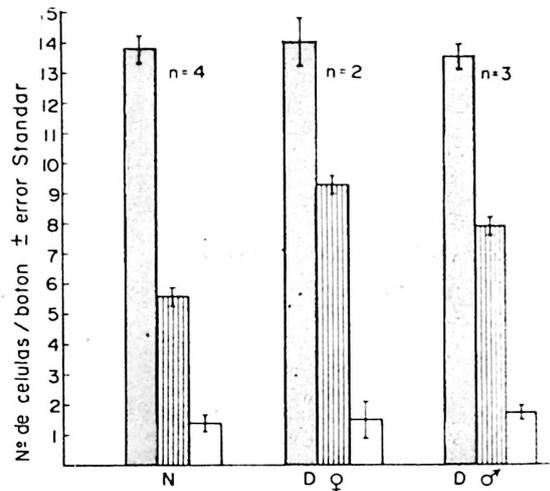


Fig. 1. Efecto de la deglandulación (D) total sobre las células gustativas de machos y hembras.

Columnas: media  $\pm$  error estándar de la media de los totales de células oscuras, intermedias y claras por corte de botón. n = cantidad de animales. El aumento de células intermedias en los animales deglandulados (D) es con respecto a los controles (N) significativa ( $p < 0,001$ ). No se observan diferencias significativas entre machos y hembras deglandulados.

machos y hembras, mostró cambios estructurales a nivel de los botones gustativos de la papila circunvalda central.

Los botones gustativos en las ratas glandulectomizadas presentaron un tamaño más irregular que en los controles. Si bien los diámetros medios ( $70 \mu$ ) se hallaron estadísticamente dentro del mismo rango, fue frecuente observar botones gigantes de más de  $100 \mu$  de diámetro en los animales a los que se extirparon las glándulas. El número total de células por botón fue consecuentemente variable, pero las medias fueron ligeramente superiores con respecto a los controles (fig. 1).

Los porcentajes de los diferentes tipos celulares en cada botón sufrieron también modificaciones. Los porcentajes de células oscuras (fase I) y claras (fase III) resultaron ser los menos afectados, pero el

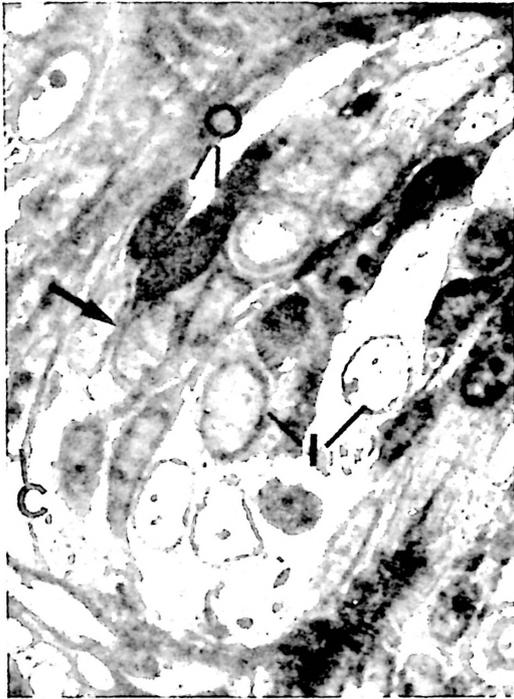


Fig. 2. Botón gustativo de una papila circunvalada control.

Se observan 12 células oscuras (O) y 6 células intermedias (I), algunas de las cuales presentan un citoplasma denso y un núcleo con forma parecida al de las células oscuras (flechas). C: células capsulares.  $\times 1.300$ .



Fig. 3. Botón gustativo de animal operado con 14 células oscuras (O) y 10 células intermedias (I).

En estos botones las formas de transición entre células oscuras e intermedias son menos evidentes. C: células capsulares.  $\times 1.000$

porcentaje de células intermedias (fase II) aumentó aproximadamente en un 70% en el conjunto de machos y hembras con respecto a sus controles. No se observaron diferencias significativas entre los animales machos y hembras operados (fig. 1).

Las figuras 2 a 5 muestran botones gustativos en cortes semifinos de material incluido de Epón y teñido con azul de toluidina, correspondientes a animales controles y glandulectomizados. Se observan algunas de las características descritas anteriormente. El volumen ocupado por las células oscuras en los botones de animales operados es comparativamente menor que en los controles.

### Discusión

Los botones gustativos de la papila circunvalada central de la rata constituyen un modelo simple para el análisis de los procesos de diferenciación, maduración y envejecimiento celular. Cada uno de estos procesos está allí expresado por un tipo característico de células que, a su vez, mantiene normalmente una proporción definida en el interior de los botones (14). Un simple recuento celular efectuado en condiciones técnicas apropiadas puede revelar, por lo tanto, los cambios inducidos experimentalmente. Este ha sido el método utilizado en el presente trabajo. Por otra parte, teniendo en cuenta que la vida media de las células gustativas de la rata

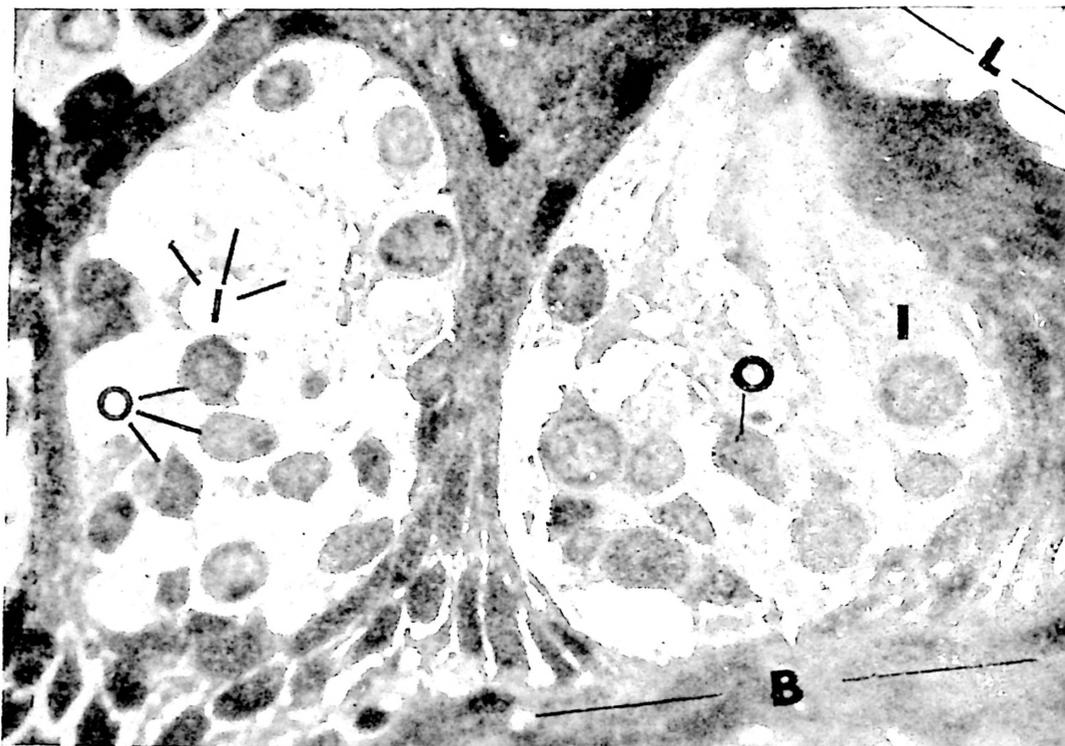


Fig. 4. Botones gustativos de un animal operado.

El botón de la izquierda ha sido cortado oblicuamente y presenta 14 células oscuras (O) y 16 células intermedias (I). El de la derecha ha sido cortado longitudinalmente y no es útil para efectuar recuentos celulares. B: base del epitelio; L: borde libre del epitelio.  $\times 1.128$ .

es de 10 días (1), se puede considerar que un intervalo postoperatorio de 15 días sería adecuado para el estudio.

Los resultados expuestos demuestran que la extirpación bilateral de las glándulas salivares mayores produce alteraciones en el ciclo vital de las células gustativas, lo que sugiere la existencia de factores activos, que son secretados por estas glándulas y que actúan sobre la papila circunvalada central, ya sea directa (disueltos en la saliva) o indirectamente (vía hemática). Estos «factores glandulares gustativos» (FGG) parecen modular el ciclo vital de las células gustativas de la papila circunvalada central provocando una inhibición de las fases I (diferenciación) y II (maduración).

El efecto inhibitor de los FGG sobre

la fase II queda demostrado por el hecho de que la glandulectomía provocó un aumento significativo en el número de células intermedias. Por otra parte, sólo una estimulación de la fase I o de diferenciación pudo dar como resultado la persistencia en estas preparaciones de cantidades normales de células oscuras. La glandulectomía provocó, por lo tanto, una estimulación de: la maduración de células oscuras a células intermedias, y la diferenciación de células troncales a células oscuras.

Hasta el momento sólo habían sido considerados como factores tróficos activos en la diferenciación de las células gustativa aquellos relacionados exclusivamente con los nervios sensitivos que forman el plexo papilar (6, 8, 16, 19).



Fig. 5. Botón gustativo de una animal operado en corte longitudinal.

Las células intermedias ocupan la mayor parte del volumen del botón y muestran 2 voluminosas prolongaciones (apical y basal). Las células oscuras presentan una porción nuclear fusiforme y prolongaciones citoplasmáticas muy delgadas.  $\times 1.400$ .

Con respecto a la fase I (diferenciación de células oscuras) los FGG ejercerían un efecto negativo en oposición al efecto positivo de los factores neurales. La diferenciación de las células oscuras parece ser por lo tanto el resultado de un equilibrio entre efectos de signo contrario.

No resulta sorprendente la existencia de FGG, ya que las glándulas salivares

secretan varios factores tróficamente activos que han sido ampliamente difundidos en la literatura. En la glándula submaxilar de la rata se han encontrado importantes factores hormonales. El factor de crecimiento neural (NGF) aislado por LEVI-MONTALCINI y BOOKER (13) tiene la propiedad de estimular el crecimiento y la diferenciación de las células nerviosas simpáticas y sensitivas. Otras hormonas sintetizadas por las glándulas submaxilares son el factor de crecimiento epitelial (EGF) aislado por COHEN en 1962 (4), la kalikreína (2), un factor estimulante de la eritropoyesis (3) y otros. En la glándula parótida, por otra parte, fue recientemente aislada (9) una proteína («gustina») que tiene la propiedad de acoplar zinc y que sería esencial para el mantenimiento de los botones gustativos en general.

Todos estos experimentos demuestran la importancia fisiológica general de las glándulas salivares. En lo concerniente a los factores glandulares activos en la modulación del ciclo vital de las células gustativas nada se puede decir por el momento con respecto a su mecanismo de acción. Los FGG podrían actuar por vía hemática, a la manera de una hormona, o bien actuar localmente mediante la disolución en la saliva y acción directa sobre los botones gustativos a través de sus correspondientes poros apicales. Algunos experimentos actualmente en curso tratan de resolver esta incógnita mediante el trasplante de las glándulas salivares extirpadas a la cápsula renal.

## Resumen

Hasta ahora se ha considerado que los nervios sensitivos que forman el plexo papilar son los únicos elementos que normalmente ejercen un efecto diferenciador sobre las células de los botones gustativos de la papila circunvalada central de la rata. Se estudia el efecto de la extirpación de las glándulas salivares mayores sobre este sistema de diferencia-

ción. Los resultados fueron evaluados mediante recuentos celulares. Se demuestra que las glándulas salivares mayores son fisiológicamente importantes para la diferenciación y maduración de las células gustativas.

### Bibliografía

1. BEIDLER, L. M. y SMALLMAN, R. L.: *J. Cell. Biol.*, 27, 263-272, 1965.
2. BHOOLA, K. D.: *J. Physiol* (Lond.), 196, 431-445, 1968.
3. CARNOT, P. y DEFLANDRE, C.: *C. R. Acad. Sci.*, 143, 432-435, 1906.
4. COHEN, S.: *J. Biol. Chem.*, 237, 1555-1562, 1962.
5. DURING, M. V. y ANDRES, K. H.: *Cell. Tiss. Res.*, 165, 185-198, 1976.
6. FARBMAN, A. I.: *J. Cell Biol.*, 52, 489-493, 1972.
7. GROVER-JOHNSON, N. y FARBMAN, A. I.: *Cell. Tiss. Res.*, 169, 395-403, 1976.
8. GUTH, L.: *Anat. Rec.*, 128, 715-731, 1957.
9. HENKIN, R. I., TALOL, N., LARSON, A. L. y MATTERN, C. F. T.: *Ann. Int. Med.*, 76, 375-386, 1972.
10. HENKIN, R. I., LIPPOLDT, R. E., BILSTAD, J. y EDELHOCH, H.: *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 72, 488-492, 1975.
11. IWAYAMA, T.: *Anat. Rec.*, 130, 283-297, 1970.
12. KARNOVSKY, M. J.: *J. Cell Biol.*, 27, 137A-138A, 1965.
13. LEVI-MONTALCINI, R. y BOOKER, B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 42, 373-384, 1960.
14. MURRAY, R. G., MURRAY, A. y FUJIMOTO, S.: *J. Ultrastruc. Res.*, 27, 444-461, 1969.
15. OLIVIERI-SANGIACOMO, C.: *Z. Zellforsch.*, 108, 397-414, 1970.
16. OLMSTED, J. M. D.: *J. Exp. Zool.*, 31, 369-401, 1920.
17. PARAN, N., MATTERN, F. T. y HENKIN, R. I.: *Cell. Tiss. Res.*, 161, 1-10, 1975.
18. TAKEDA, M. y HOSHINO, T.: *Arch. Histol. Jap.*, 37, 395-413, 1975.
19. ZALEWSKI, A. A.: *Anat. Rec.*, 167, 165-174, 1970.