

UNIVERSIDAD DE GRANADA
Departamento de Psicología Experimental y
Fisiología del Comportamiento
Lab. de Psicobiología

NEUROBIOLOGIA DE LA NUTRICION:
MECANISMOS TRONCOENCEFALICOS
IMPLICADOS EN LA
SECRECION SALIVAL

Tesis presentada para la obtención del Grado de
DOCTOR EN PSICOLOGIA, por
Juan Manuel Jiménez Ramos
Abril de 1.987

TRIBUNAL

Presidente: D. Vicente Simón Pérez.

Vocales: D. Santiago Segovia Vázquez.

D. Emilio Martínez de Victoria Muñoz.

D^a Filomena Molina Valero.

Secretario: D. Alberto Morales Moreno.

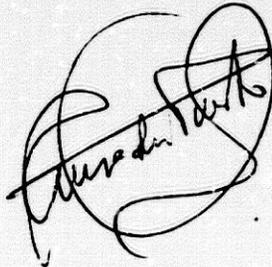
Fecha de lectura: 5 de junio de 1987

Calificación: Apto cum laude.

D. AMADEO PUERTO SALGADO, Catedrático de Psicobiología de la Universidad de Granada,

CERTIFICA: que la presente Tesis Doctoral titulada "Neurobiología de la Nutrición: Mecanismos Troncoencefálicos implicados en la Secreción Salival", ha sido realizada por el doctorando en el Laboratorio de Psicobiología del Departamento de Psicología Experimental y Fisiología del Comportamiento de la Universidad de Granada, bajo mi dirección.

Y para que conste, expido el presente, que firmo en Granada a diez de Abril de mil novecientos ochenta y siete.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Amadeo Puerto Salgado", enclosed within a circular scribble.

Fdo. Amadeo Puerto Salgado.

Al Profesor Dr. D. Amadeo Puerto Salgado.

A mis padres,
A mis hermanos Antonio y Alicia, y
A mi abuela Rosa.

A María Elena Castillo López.

AGRADECIMIENTOS

Especialmente, deseo expresar mi agradecimiento al Dr. D. Amadeo Puerto, quien me acogió en su grupo de investigación, fomentando e impulsando decisivamente el presente trabajo en su Laboratorio de Psicobiología de Granada.

Mi gratitud también a los Profesores Alberto Acosta y Luis Fuentes, del Departamento de Psicología Experimental y Fisiología del Comportamiento, por su ayuda estadística.

Asimismo, mi agradecimiento al Dr. D. Emilio Martínez de Victoria, del Departamento Interfacultativo de Fisiología Animal de esta Universidad, por su inestimable ayuda en la fase final de esta investigación.

Por último, mi reconocimiento a todos mis compañeros de Laboratorio, porque de una u otra forma han contribuido al resultado final de este trabajo. A todos ellos, mi gratitud.

INDICE

Resumen.	1
<u>INTRODUCCION GENERAL</u>	3
INTRODUCCION	4
1. LA SALIVA: CARACTERISTICAS Y FUNCIONES EN EL COMPORTA- MIENTO	9
.Composición de la saliva.	11
Componentes inorgánicos	11
Sustancias orgánicas.	12
.Funciones de la saliva.	14
Discriminación gustativa.	14
Citoprotección gástrica	17
2. REGULACION NERVIOSA DE LA SECRECION SALIVAL.	19
.Anatomía.	23
.Influencias Parasimpáticas.	26
.Influencias Simpáticas.	34
.Interacción Simpático-Parasimpático	39
3. SECRECION REFLEJA DE SALIVA.	46
.Características y funciones	47
.Mecanismos neurobiológicos.	51
4. SECRECION CEFALICA DE SALIVA	55
.Características y funciones	56
.Mecanismos neurobiológicos. Sed prandial.	63
5. LOS NUCLEOS SALIVALES DEL TRONCOENCEFALO: NEUROANATOMIA.	76
.Estudios con técnicas de degeneración	77
.Tinción de colinesterasa.	78
.Transporte retrógrado de peroxidasa (HRP)	79
6. CELULAS SALIVALES EN EL TRONCOENCEFALO: ELECTROFISIO- LOGIA.	88
.Registros unicelulares.	89
.Estimulación eléctrica.	90

<u>CAPITULO 1: NEURONAS SALIVATORIAS EN LA FORMACION RETICULAR</u>	
<u>PARVOCELULAR BULBOPONTINA: UN ESTUDIO EXPERIMENTAL CON LE-</u>	
<u>SIONES ELECTROLITICAS EN LA RATA.</u>	
	100
Introducción.	101
<u>Experimento nº 1.</u>	104
Método.	104
Sujetos.	104
Cirugía.	104
Procedimiento experimental	113
Análisis de los datos.	114
Resultados.	114
<u>Experimento nº 2.</u>	124
Método.	124
Sujetos.	124
Procedimiento experimental	125
Análisis de los datos.	125
Resultados.	126
<u>Experimento nº 3.</u>	131
Método.	131
Sujetos.	131
Cirugía.	131
Procedimiento experimental	132
Análisis de los datos.	133
Resultados.	133
<u>Experimento nº 4.</u>	143
Método.	143
Sujetos.	143
Procedimiento experimental	143
Histología	144
Análisis de los datos.	145
Resultados.	146
Discusión	158

<u>CAPITULO II: PARTICIPACION DE LA FORMACION RETICULAR PAR- VOCELULAR BULBOPONTINA EN LA SECRECION DE SALIVA SUBMANDI- BULAR Y SUBLINGUAL</u>		175
Introducción		176
<u>Experimento nº 5</u>		179
Método		179
Sujetos		179
Cirugía		180
Procedimiento experimental.		180
Análisis de los datos		180
Resultados		181
<u>Experimento nº 6</u>		190
Método		191
Sujetos		191
Procedimiento experimental.		191
Análisis de los datos		192
Resultados		192
<u>Experimento nº 7</u>		203
Método		204
Sujetos		204
Procedimiento experimental.		205
Análisis de los datos		206
Resultados		207
<u>Experimento nº 8</u>		219
Método		219
Sujetos		219
Procedimiento experimental.		219
Histología.		220
Análisis de los datos		220
Resultados		220
Discusión.		231

<u>CAPITULO III: PARTICIPACION DE LA FORMACION RETICULAR</u>	
<u>PARVOCELULAR BULBOPONTINA EN LA SECRECION DE SALIVA</u>	
<u>PAROTIDEA.</u>	240
Introducción	241
<u>Experimento nº 9</u>	244
Método	244
Sujetos	244
Cirugía	244
Procedimiento experimental.	245
Análisis de los datos	245
Resultados	245
<u>Experimento nº 10.</u>	255
Método	255
Sujetos	255
Procedimiento experimental.	255
Histología.	256
Análisis de los datos	256
Resultados	256
Discusión.	271
 <u>CAPITULO IV: MECANISMOS NERVIOSOS PERIFERICOS IMPLICADOS</u>	
<u>EN LA SECRECION SALIVAL DE ORIGEN TRONCOENCEFALICO</u>	
Introducción	277
<u>Experimento nº 11.</u>	280
Método	280
Sujetos	280
Cirugía	281
Procedimiento experimental.	282
Análisis de los datos	283
Resultados	285
<u>Experimento nº 12.</u>	314
Método	314
Sujetos	314
Cirugía	314

Procedimiento experimental.	316
Histología.	317
Análisis de los datos	317
Resultados	319
Discusión.	350
 <u>CAPITULO V: NEUROFARMACOLOGIA DE LA SECRECION SALIVAL</u>	
<u>EVOCADA POR ESTIMULACION TRONCOENCEFALICA.</u>	359
Introducción	360
<u>Experimento nº 13.</u>	361
Método	361
Sujetos	361
Cirugía	362
Procedimiento experimental.	364
Histología.	364
Análisis de los datos	364
Resultados	366
Discusión.	390
 <u>DISCUSION GENERAL.</u>	396
 <u>CONCLUSIONES</u>	408
 <u>BIBLIOGRAFIA</u>	411
 <u>APENDICE (Abreviaturas).</u>	443

RESUMEN

La localización anatómica y funcional de los centros salivatorios del troncoencéfalo ha sido objeto de polémica desde principios del presente siglo. Sólo recientemente ha podido dilucidarse neuroanatómicamente de modo unánime la región troncoencefálica de la que dependería la actividad secretora de las glándulas submandibulares y sublinguales (Formación Reticular Parvocelular bulbopontina). Con objeto de comprobar funcionalmente este hecho, a saber, si la región Parvocelular bulbopontina regula la secreción salival, en la presente investigación dicha zona ha sido activada y lesionada electrolíticamente en la rata.

Tal y como demuestran los distintos datos obtenidos, la activación de la región anteriormente señalada evoca un efecto hipersecretor salival específico. En esta respuesta salivatoria, altamente significativa, se encuentran implicadas tanto las glándulas submandibulares y sublinguales como las parótidas. Sin embargo, la influencia nerviosa que la zona troncoencefálica estudiada ejerce sobre las glándulas submandibulares y sublinguales es de mayor importancia que la que dicha región mantiene sobre las glándulas parótidas. Esta última conclusión se ve apoyada por el hecho de que la lesión parvocelular da lugar a profundos déficits en secreción salival submandibular-sublingual, sin provocar, al menos aparentemente, un déficit secretor parotídeo sustancial.

Las distintas alteraciones comportamentales resultantes del déficit salivatorio inducido tras la lesión de la Formación Reticular Parvocelular (sed prandial, principalmente), han sido reproducidas periféricamente como consecuencia de la sección de los axones secretomotores que transcurren a través de la caja timpánica, a nivel del oído medio. Es más, la respuesta hipersalivatoria provocada como resultado de la estimulación parvocelular es totalmente bloqueada si dichas fibras secretoras son seccionadas con antelación a la intervención cerebral, lo que demuestra que estas vías eferentes periféricas median los distintos fenómenos secretores salivales observados en este trabajo.

Dichas fibras de conexión cerebro-glandular deben ser de naturaleza parasimpática, ya que el bloqueo de los receptores muscarínicos de las glándulas submandibulares-sublinguales con atropina, abole la respuesta salival parvocelular. La administración de antagonistas alfa y beta adrenérgicos, individual o conjuntamente, no afectan significativa-

mente la respuesta hipersalivatoria evocada desde el troncoencefálico.

Por último, existe un estrecho paralelismo entre la zona troncoencefálica activada y lesionada en los estudios que a continuación se presentan, y aquella definida como núcleo Salival Superior recientemente mediante técnicas anatómicas fiables (peroxidasa).

INTRODUCCION GENERAL.

INTRODUCCION.

1. LA SALIVA: CARACTERISTICAS Y FUNCIONES EN EL COMPORTAMIENTO.
 - .Composición de la saliva.
 - Componentes inorgánicos.
 - Sustancias orgánicas.
 - .Funciones de la saliva.
 - Discriminación gustativa.
 - Citoprotección gástrica.
2. REGULACION NERVIOSA DE LA SECRECION SALIVAL.
 - .Anatomía.
 - .Influencias Parasimpáticas: efectos secretores, vasomotores y mioepiteliales. Mecanismos neurotransmisores.
 - .Influencias Simpáticas: efectos secretores, vasomotores y mioepiteliales. Mecanismos neurotransmisores.
 - .Interacción Simpático-Parasimpático.
3. SECRECION REFLEJA DE SALIVA.
 - .Características y funciones.
 - .Mecanismos neurobiológicos.
4. SECRECION CEFALICA DE SALIVA.
 - .Características y funciones.
 - .Mecanismos neurobiológicos. Sed Prandial.
5. LOS NUCLEOS SALIVALES DEL TRONCOENCEFALO: NEUROANATOMIA.
 - .Estudios con técnicas de degeneración.
 - .Tinción de colinesterasa.
 - .Transporte retrógrado de peroxidasa (HRP).
6. CELULAS SALIVALES EN EL TRONCOENCEFALO: ELECTROFISIOLOGIA.
 - .Registros unicelulares.
 - .Estimulación eléctrica.

A partir de los años cincuenta, tras el descubrimiento del síndrome del Hipotálamo Lateral y del Ventromedial, se produjo un creciente interés por el área de la Psicobiología de la Nutrición. Como resultado de ello, durante algunos años las investigaciones realizadas en este campo se centraron en la función del cerebro en relación a la conducta nutritiva, proponiéndose teorías de tipo centralista. Un ejemplo de ello, fue el desarrollo por parte de Stellar en 1954 de su conocida teoría motivacional. Actualmente, la atención por estos temas todavía se mantiene en auge si bien el centro de interés que subyace a las investigaciones que en el momento presente se llevan a cabo ha evolucionado hacia posiciones mucho más integradoras, aunándose mecanismos periféricos y centrales.

En este sentido, un considerable número de laboratorios cuyo objetivo primordial es el conocimiento de las bases cerebrales de la nutrición, han comenzado a estudiar las funciones del Tronco Cerebral, una extensa área del Sistema Nervioso Central poco explorada funcionalmente hasta principios de los años setenta y que, como se expondrá más adelante, desempeña, en sí misma, un papel relevante en la conducta nutritiva.

Estos trabajos han adoptado, en muchos casos, una visión cerebro-visceral de la nutrición. Tratan de estudiar los mecanismos neurobiológicos eferentes, tanto centros como vías, a través de los cuales el Sistema Nervioso ejerce directamente su función sobre las estructuras viscerales periféricas y las funciones que dichos sistemas llevan a cabo en la nutrición y digestión de los alimentos.

Dentro de esta visión cerebro-visceral de la nutrición, merece especial atención el estudio de las bases cerebrales de las secreciones digestivas. Este tema se encuentra históricamente asociado a la figura de

Pavlov, quizás, el primer fisiólogo que demostró concluyentemente la gran importancia que juegan estas secreciones en la digestión de los nutrientes. De hecho, como más adelante se expondrá en detalle, la presencia de dichos procesos secretores puede hacer que los alimentos ingeridos sean fisiológicamente positivos (reforzantes), lo que demuestra su relevante función en la conducta nutritiva.

En efecto, durante la alimentación o inmediatamente antes de que esta comience, puede observarse secreción de saliva, de jugos gástricos y de insulina, principalmente. Esta acción secretora anticipatoria permite preparar al sistema gastrointestinal fisiológica y bioquímicamente para llevar a cabo el procesamiento de los alimentos ingeridos.

Desde finales del siglo pasado se sabe que las secreciones digestivas antes mencionadas vienen mediadas por estructuras nerviosas periféricas (Pavlov, 1910). Pero sólo desde hace algunos años, se están comenzando a conocer los sistemas cerebrales implicados en la actividad secretora exocrina previamente aludida. Al parecer, los centros y vías finales de estos sistemas neurobiológicos de localización central, están distribuidos a nivel troncoencefálico, siendo modulados por núcleos diencefálicos y telencefálicos de desarrollo filogenético más reciente. A pesar de ello, esto no significa que las estructuras más caudales no puedan presentar cierta autonomía en su funcionamiento o que incluso, a veces, puedan resultar moduladas por aferencias procedentes de niveles todavía más inferiores, el propio tracto gastrointestinal, por ejemplo. Así, y en ausencia de los centros situados más rostralmente en el Sistema Nervioso Central, estas estructuras neurales localizadas troncoencefálicamente podrían seguir realizando algunas de sus funciones aunque, lógicamente, de un modo mucho más impreciso (véase Puerto, 1982).

En lo referente a la conducta nutritiva no sería de extrañar la posibilidad anterior, dadas las abundantes muestras de integración anatómica y funcional de que se disponen. Así, por ejemplo, una buena parte de las aferencias de origen gastrointestinal terminan directamente en el núcleo del Tracto Solitario, donde convergen en una misma célula con la información gustativa procedente de la cavidad oral (Bereiter, Berthoud y Jeanrenaud, 1981a).

Así, pues, las células troncoencefálicas pueden estar informadas de algunos de los eventos más significativos que tienen lugar a nivel periférico (Mei, 1983; Fantino, 1984) por lo que, en ausencia de las

estructuras directrices más recientes filogenéticamente, el propio Tronco Cerebral podría utilizar dicha información aferente y generar, si bien rudimentariamente, ciertos procesos regulatorios nutritivos. Además, el troncoencéfalo cuenta con sistemas neurobiológicos apropiados para evocar respuestas fisiológicas y comportamentales propias del comportamiento nutritivo (Arnedo y Puerto, 1981).

De hecho, y como han demostrado Grill y Norgren (1978), los sistemas troncoencefálicos, con independencia del resto del Sistema Nervioso rostral, pueden integrar información de origen visceral y generar una conducta nutritiva básica. Así, según estos autores, las ratas decerebradas a nivel supracolicular podrían regular inicialmente los estados de déficit y equilibrio alimenticio.

Asimismo, Ritter et al. (1981) han demostrado la capacidad del troncoencéfalo en ciertos procesos regulatorios nutritivos. En efecto, la administración de 5-tioglucona, un análogo antimetabólico de la glucosa, en el sistema ventricular del cerebro sólo evocaba nutrición si dicha sustancia alcanzaba el IV ventrículo y, por tanto, las células troncoencefálicas. Estos resultados parecen indicar que los glucorreceptores que median el consumo de alimentos durante el proceso de glucoprivación se encuentran localizados a nivel troncoencefálico y no en el diencefalo, como hasta ahora se había pensado.

Al parecer, los procesos secretorios ya comentados están modulados troncoencefálicamente por mecanismos neurales que se encuentran circunscritos en el núcleo Dorsomotor del vago, el núcleo Ambiguo y los dos núcleos Salivatorios, tanto el superior como el inferior.

Efectivamente, en relación al primero de los centros neurales anteriormente citados, diferentes estudios han señalado al núcleo Dorsomotor del vago como lugar de origen de neuronas secretoras en dirección al sistema gastrointestinal superior (Dennison et al., 1981; Leslie et al., 1982). Más recientemente, Fox y Powley (1985) han confirmado las conclusiones aportadas por los estudios neuroanatómicos previos demostrando, por otra parte, que los cuerpos celulares de las diferentes ramas vagales (gástrica posterior, gástrica anterior, celiaca posterior, accesoria anterior y hepática) se agrupan topográficamente en columnas longitudinales dentro del propio núcleo troncoencefálico. Entre otras funciones, algunos autores han comprobado que la estimulación de las cé-

lulas localizadas en la zona central de esta región bulbar, provoca secreción gástrica (Wyrwicka y García, 1979). Por el contrario, su lesión unilateral unida a la vagotomía cervical contralateral va seguida de un marcado descenso en secreción gástrica en presencia de estímulos secretores adecuados (Kerr y Preshaw, 1969). En todos estos estudios existe una perfecta concordancia entre la localización anatómica y la funcional, resultados que permiten situar fiablemente a nivel troncoencefálico la zona de origen de las neuronas eferentes preganglionares vagales implicadas en secreción gástrica.

Del mismo modo, con respecto a la secreción de insulina, Weaver (1980) y más recientemente Luiten et al. (1984), han coincidido en señalar al núcleo Ambiguo y al Dorsomotor del vago, una vez más, como posibles centros troncoencefálicos en los que se originan las fibras eferentes vagales que inervan las células beta del páncreas. En efecto, la administración de peroxidasa a nivel pancreático producía, en ambos estudios, idéntico marcaje en las zonas bulbares antes indicadas. Es más, tanto en el Dorsomotor del vago como en el núcleo Ambiguo, el número de cuerpos celulares marcados disminuía significativamente si los animales eran tratados previamente a la inyección pancreática de peroxidasa con Aloxana, una sustancia tóxica que destruye específicamente las células beta pancreáticas provocando la degeneración de las fibras eferentes vagales. Este último hecho sugiere que la diabetes mellitus inducida en los animales experimentales tras la administración de Aloxana, es debida a la destrucción (degeneración) de las fibras vagales de origen troncoencefálico, lo que apoya, asimismo, la idea que sugiere que estos centros bulbares modulan fisiológicamente la secreción de insulina.

Una prueba concluyente que ha confirmado la participación funcional de estos dos núcleos del Tronco Cerebral en la secreción de insulina, ha sido aportada por Bereiter et al. (1981b) y Rohner-Jeanrenaud et al. (1983) en la rata. En ambos trabajos se estimulaba eléctricamente el núcleo Dorsomotor del vago, en unos casos, o el núcleo Ambiguo en otros, lo que provocaba un rápido incremento en el nivel plasmático de insulina. En todos los experimentos efectuados, la estimulación del núcleo Dorsomotor vagal evocaba siempre mayor grado de secreción que la registrada cuando la intervención se centraba sobre el núcleo Ambiguo. Finalmente, Berthoud et al. (1983) han sugerido que la secreción de insulina dependiente de estas estructuras cerebrales, posiblemente esté me-

diada por ramas vagales gástricas, celiacas e incluso hepáticas.

En relación a la localización anatómica y funcional de los núcleos Salivatorios, su estudio comenzó a principios del presente siglo y desde entonces hasta hace apenas una década la posible situación de las células secretoras salivales troncoencefálicas ha sido objeto de numerosas discrepancias. Este hecho, unido al desconocimiento anatómico de la Formación Reticular, región donde la mayoría de los neuroanatomistas localizaban dichos centros, ha dificultado enormemente la localización funcional de los núcleos Salivatorios. Así, como se detallará más adelante, actualmente se ha demostrado que la estimulación eléctrica de estas zonas troncoencefálicas activaba frecuentemente fibras aferentes o eferentes a los centros salivatorios, con lo que la secreción observada no reflejaba la correcta ubicación de los núcleos secretores.

A partir del estudio de Hiura (1977) esta polémica neuroanatómica antigua se ha abordado utilizando la técnica de transporte retrógrado de peroxidasa, particularmente en el caso del núcleo Salivatorio superior. Sus resultados, así como los de otros trabajos realizados posteriormente, han coincidido en localizar el núcleo Salivatorio superior en una misma región neuroanatómica, independientemente de la zona en la que se aplicara la peroxidasa: la Formación Reticular Parvocelular. A pesar de las conclusiones unánimes que la totalidad de estos estudios anatómicos han generado, en la actualidad no se cuenta con pruebas funcionales directas que asignen claramente a la Formación Reticular Parvocelular troncoencefálica una función secretomotora.

El objetivo de las distintas series experimentales que se presentan en esta Tesis, consiste en investigar las características funcionales del núcleo Salivatorio superior en base a los nuevos datos anatómicos presentados recientemente y que más adelante serán examinados en detalle. No obstante, antes se pasará revista a algunas funciones de este sistema secretor, así como a su dependencia del Sistema Nervioso Autónomo. Esta información preliminar va a permitir conocer la organización de los mecanismos neurales y funcionales básicos de los que se sirve el Sistema Nervioso en su actuación glandular. Posteriormente, se estudiará cómo estos mecanismos periféricos son modulados desde el cerebro.

1. LA SALIVA: CARACTERISTICAS Y FUNCIONES EN EL COMPORTAMIENTO.

.Composición de la saliva.

Componentes inorgánicos

Sustancias orgánicas

.Funciones de la saliva.

Discriminación gustativa

Citoprotección gástrica

La secreción salival constituye un claro ejemplo de secreción exocrina llevada a cabo, en este caso, por las glándulas salivales. En la mayoría de los mamíferos existen tres pares de glándulas salivales mayores. Las glándulas submandibulares, también llamadas submaxilares y, en algunos casos, mandibulares, son las de mayor peso localizándose bilateralmente, como su nombre indica, debajo de la mandíbula. Adherida a ella puede observarse la glándula sublingual, que presenta un peso y tamaño muy inferior. El tercer par glandular viene representado por la glándula parótida, que se extiende bilateralmente desde la región ventral del pabellón auditivo externo hasta el ángulo posterior de la mandíbula. Como veremos más adelante, la saliva secretada por estas glándulas es conducida rápidamente a través de conductos especializados hasta la cavidad oral, donde ejerce la mayoría de sus funciones.

Además de las glándulas salivales mayores, existe otro conjunto de glándulas productoras y secretoras de saliva escasamente estudiadas, que debido a su tamaño reducido y, al parecer, poca importancia funcional, se denominan glándulas salivales menores. La mayor parte de la mucosa oral está cubierta por este tipo de glándulas, pudiéndose clasificar en cinco grupos en función de su localización oral:

- Labiales, localizadas en la superficie interna de los labios.
- Bucales, representan una continuación de las anteriores.
- Palatinas, en el paladar.
- Glosopalatinas, localizadas en la región del istmo.
- Intralinguales.

La aportación de las glándulas salivales menores en relación al volumen total de saliva secretada, bien en estado de reposo o tras estimulación refleja, se estima que oscila alrededor del 5-10 por ciento

(véase Green et al., 1985).

Composición de la saliva.

Desde los trabajos de Ludwig presentados en 1850 (consúltese, Dawes, 1986), se admite que la actividad secretora de las glándulas salivales mayores es modulada, principalmente, por estructuras nerviosas periféricas. La activación de estos nervios evoca secreción de saliva, un fluido rico en agua, componentes inorgánicos y compuestos orgánicos biológicamente activos.

De todos los componentes inorgánicos de la saliva los más importantes para el mantenimiento de la osmolaridad salival son el sodio, potasio, cloruro y bicarbonato. Otros iones presentes son los cationes calcio y magnesio y los aniones fosfato, yoduro y fluoruro.

La concentración de estos iones en la saliva no es siempre constante, sino que depende de la magnitud del flujo salival segregado en un momento dado. Asimismo, el tipo de estimulación que actúa sobre las glándulas parece también desempeñar una función significativa. Así, por ejemplo, bajo estimulación parasimpática los niveles iónicos de sodio y cloruro en la glándula submandibular de la rata aumentaban paralelamente al incremento de flujo. El potasio, en cambio, se comporta de manera opuesta siendo su concentración baja cuando el flujo incrementa y aumentando progresivamente sus niveles conforme el flujo disminuye (Rigby y Templeton, 1984). Con respecto al bicarbonato, este se comporta de forma diferente en función de la glándula que se considere. En la parótida del conejo este anión se mantiene prácticamente constante tras cambios drásticos en la magnitud del flujo. En cambio, en la glándula submandibular de la misma especie, la concentración salival de bicarbonato suele aumentar conforme disminuye el flujo (véase la Introducción de Moreno, 1980).

Si la estimulación que incide sobre la glándula es de origen simpático, la concentración salival de sodio y cloruro aumenta también paralelamente en razón directa al flujo, aunque siguen un patrón estadístico distinto al observado bajo estimulación parasimpática. Así, por ejemplo, tras la estimulación simpática de la glándula parótida del conejo, los valores máximos de concentración de sodio y cloruro se obtienen con un flujo secretor significativamente inferior al requerido durante estímulos parasimpáticos. También el contenido de potasio salival se ve

afectado tras estimulación simpática de modo semejante al observado durante la activación parasimpática, aunque el valor de flujo en el que se estabiliza la concentración mínima de potasio es significativamente diferente en función de que se estimule una rama autonómica u otra (Martínez de Victoria, 1977).

Con respecto al pH de la saliva, en el ser humano su valor oscila, en estado de no estimulación, entre 5.9 y 7.0, proxímadamente (Kullaa-Mikkonen et al., 1985).

Recientemente se ha demostrado que la medida del pH salival puede constituir un índice muy sensible para detectar cambios en la actividad secretora salival. Asimismo, dichos cambios podrían relacionarse con patrones de comportamiento específicos. Como es sabido, en situaciones de stress existe un predominio simpático que también afecta a las glándulas salivales, manifestándose por la aparición de una saliva viscosa asociada con un aumento en su composición orgánica. Pues bien, Sandín y Chorot (1985) han demostrado, en seres humanos, una disminución muy significativa en el pH salival bajo situaciones inductoras de stress (un examen oral) en comparación con el valor de pH medido antes y después a la prueba oral. De este modo, el pH salival podría constituir un indicador fisisológico eficaz del nivel de ansiedad.

Lógicamente, y debido a las funciones principalmente digestivas de la saliva como se verá más adelante, durante la ingestión de alimentos este valor de pH debe ir cambiando, resultado de la secreción de diferentes componentes salivales que en cada momento dado resulten relevantes para una adecuada nutrición. No obstante, estudios "in vivo" de este tipo han sido muy escasos, principalmente por la dificultad técnica de medir exclusivamente el pH salival sin que este se vea afectado por los compuestos orgánicos presentes en los nutrientes.

Además de los electrolitos ya mencionados, el fluido salival contiene un gran número de sustancias orgánicas, principalmente polipéptidos biológicamente activos. Mediante técnicas inmunocitoquímicas se ha demostrado que estos compuestos están localizados, generalmente, dentro de los gránulos secretorios presentes en los ductos proximales de las glándulas. No se conocen los estímulos fisiológicos que podrían liberarlos al flujo salival, aunque la secreción de la mayoría de dichas sustancias parece venir mediada por influencias alfa adrenérgicas. Asimismo, en muchos casos, ha podido demostrarse que tales sustancias son sintetizadas en las propias glándulas y no captadas del torrente sanguíneo (Barka, 1980).

Entre los polipéptidos aludidos detectados en la glándula submandibular de distintos roedores destacan, principalmente, algunos factores de crecimiento y diferenciación celular, como el factor de crecimiento nervioso y el factor de crecimiento epidérmico. También han sido identificadas hormonas gastrointestinales como el glucagón (Pérez Castillo y Blázquez, 1980), gastrina (Takeuchi et al., 1973) y una sustancia estructuralmente muy parecida a la insulina (Smith et al., 1986). Finalmente, tanto las glándulas salivales mayores como las menores, presentan elevadas cantidades de amilasa (véase Barka, 1980 y Green et al., 1985), un enzima secretado al fluido salival por influencia nerviosa (Gjörstrup, 1978) con claras funciones digestivas. Así, durante la masticación, la amilasa salival ha de hidrolizar algunos polisacáridos digeribles, almidón principalmente, a fin de comenzar un proceso degradativo que se completará a nivel del intestino delgado tras la secreción de la amilasa pancreática, con la formación de glucosa libre (Lehninger, 1979).

Con la única excepción de la amilasa salival, la función fisiológica que estos péptidos pudieran desempeñar no es todavía conocida, no existiendo pruebas definitivas para asignar a las glándulas salivales funciones endocrinas además de las propias exocrinas que posee.

Al contrario, los datos existentes no apoyan la posibilidad de que las hormonas contenidas en las glándulas y secretadas en la saliva actúen como verdaderas hormonas, tal y como lo hacen cuando estas mismas sustancias son liberadas por auténticas glándulas endocrinas localizadas a otros niveles del organismo.

Este hecho ha sido confirmado en el caso del glucagón salival. En relación a sus funciones endocrinas, el glucagón es secretado por las células alfa pancreáticas. Esta hormona pasa a la sangre siempre que la concentración de glucosa se encuentra por debajo de un nivel crítico. De este modo, el glucagón actúa como mensajero químico para el hígado en donde se une a receptores específicos localizados sobre la superficie de las células hepáticas. Activados dichos receptores se pone en funcionamiento un mecanismo intracelular dependiente del AMP-c celular que permite transformar el glucógeno hepático en glucosa libre. Finalmente, en cuanto el nivel sanguíneo de glucosa se eleva hasta su nivel normal, la secreción de glucagón se detiene y el sistema vuelve a su estado normal (véase Lehninger, 1979).

Además de en el páncreas, en el ser humano y en otros mamíferos superiores, el glucagón es sintetizado por las glándulas submandibulares y parótidas y liberado al fluido salival. Por otro lado, las características biológicas e inmunológicas del glucagón extraído de las glándulas salivales es similar a las del glucagón pancreático (Pérez Castillo y Blázquez, 1980).

En un trabajo realizado por Smith et al. (1979) se estudió la contribución fisiológica del glucagón salival en relación al metabolismo de los carbohidratos. Si realmente el glucagón salival presenta funciones homeostáticas, la extirpación bilateral de las glándulas salivales debe producir efectos significativos sobre el metabolismo de esta hormona. Pues bien, los autores no observaron diferencias entre los animales desalivados y los controles en los niveles de glucagón plasmáticos tras la administración de insulina, ni tras un prolongado periodo de privación alimenticia. Es más, en ambos grupos aumentaban los niveles de glucagón similarmente tras estos tratamientos debido a la hipoglucemia producida.

Funciones de la saliva.

Además de las funciones propiamente digestivas, que serán estudiadas más adelante, durante el comportamiento nutritivo la saliva lleva a cabo un amplio conjunto de funciones que facilitan la ingestión de los alimentos. Así, ésta los humedece facilitando la masticación y deglución de los nutrientes. En segundo lugar, y simultáneamente al proceso anterior, la saliva interviene modulando la discriminación gustativa. Finalmente, en el estómago, una vez ingeridos los alimentos, el fluido salival adherido a los mismos actúa como un agente citoprotector y regenerador de las células de la mucosa gastrointestinal. Estas funciones se ponen claramente de manifiesto cuando el animal experimenta déficits salivatorios elevados, lo que produce determinadas alteraciones en su comportamiento ingestivo.

Como es sabido, la saliva se encuentra permanentemente en íntimo contacto con los receptores gustativos por lo que podría constituir uno de los posibles medios que afecten la sensibilidad gustativa durante, antes o después de la nutrición. Así, cambios tanto en el volumen como en la composición del fluido salival parecen influir sobre la percepción gustativa.

Esta posibilidad fue comprobada por primera vez por Vance (1965), quien comunicó en ratas desalivadas una elevada preferencia para determinadas concentraciones de quinina que, en animales normales, resultaban aversivas y eran, por tanto, rechazadas. Estas conclusiones han sido posteriormente confirmadas y ampliadas por diversos autores (Catalanotto y Leffingwell, 1979; Galili et al., 1981).

El mecanismo mediante el cual el fluido salival afecta a los receptores gustativos no se conoce. No obstante, histológicamente ha podido comprobarse que la extirpación de las glándulas salivales produce considerables cambios estructurales en los botones gustativos de la rata, así como alteraciones en el ciclo vital de las células gustativas. Concretamente, la ausencia de saliva promovía la maduración y diferenciación de ciertas unidades celulares a un ritmo más rápido que el habitual (Cano et al., 1978).

Así, pues, estos estudios demuestran que la saliva influye estructuralmente, y por tanto, es posible que afecte también funcionalmente a las células gustativas.

Recientemente, Norris et al. (1984) han llevado a cabo un interesante estudio sobre la actuación de la saliva en la percepción gustativa. Estos autores han investigado, en seres humanos, el efecto de distintos pH y diferente acidez titulable de ciertos ácidos sobre el flujo de saliva parotídea y la valoración de la acidez de dichos ácidos por parte de los sujetos. Según muestran sus resultados, el flujo de saliva está relacionado inversamente con el pH del ácido y directamente con la acidez titulable. Por otra parte, las cantidades de sodio salival varían según el pH y el flujo de la saliva de los sujetos. Así, los sujetos con alto flujo de saliva tienen un pH salival más alto y mayores cantidades de sodio que los sujetos con flujo bajo. La percepción de la acidez parece llevarse a cabo mediante un mecanismo de contraste ya que los sujetos con alto flujo salival perciben una intensidad de acidez significativamente mayor en comparación con los sujetos con bajo flujo salival y bajo pH. Este puede ser uno de los medios empleados a fin de detectar los umbrales de selección de soluciones ácidas.

Por tanto, variaciones en el volumen y composición de la saliva, tal y como han demostrado Norris y colaboradores, parecen influenciar la sensibilidad individual para estímulos gustativos.

Más recientemente, Weiffenbach, Fox y Baum (1986) han demostra-

do en seres humanos con un profundo déficit salivatorio (xerostomía), la enorme dificultad por parte de estos sujetos para discriminar entre diferentes modalidades gustativas cuando estas se presentaban a una concentración umbral. Sin embargo, estos mismos sujetos experimentales sí parecen discriminar de modo adecuado cuando la intensidad de los estímulos gustativos es supraumbral.

En relación al consumo de sodio, algunos autores han sugerido que la concentración de sodio en la saliva puede ser un factor significativo en la percepción de soluciones que contengan este ion (véase Morino, 1978). Más recientemente, Contreras y Catalanotto (1980) han demostrado que el desarrollo de apetito por sodio en ratas privadas de este ion en su dieta alimenticia, causaba una disminución significativa en los niveles de sodio salival pero no en los de potasio, por ejemplo. Este hecho, en opinión de los autores anteriores, podría facilitar la detección de sal en concentraciones subumbrales modulando su posterior ingestión, comportamiento habitualmente observado en animales con apetito por sodio. No obstante, aunque a raíz de este estudio parece claramente establecida una correlación positiva entre los niveles de sodio salival y la ausencia de sodio en la dieta alimenticia, la presente investigación no aclara si la disminución de sodio salival es un reflejo de un estado deficitario general del organismo en relación a este ion, o si se ha producido un cambio específico en la composición química salival modulado homeostáticamente desde algún lugar del organismo.

La idea de que los cambios específicos en la composición química de la saliva puedan provocar cambios gustativos que modulen, hasta cierto grado, la selección de la dieta bajo determinadas circunstancias experimentales, es realmente apasionante aunque el apoyo empírico con el que se cuenta actualmente es extremadamente pobre. La investigación futura determinará hasta qué punto la saliva juega un papel intermediario entre las necesidades internas del organismo y la aceptación o no de determinados nutrientes.

Además de las funciones que la saliva desempeña en la cavidad oral, recientemente se ha sugerido que algunos de los componentes orgánicos de este fluido podrían ejercer acciones fisiológicas a otros niveles del sistema gastrointestinal. Esta idea se basa en las pruebas aportadas por diversos experimentos en los que se ha demostrado que la

desalivación, que no induce "per se" la aparición de lesiones ulcerosas, disminuye significativamente la resistencia de la mucosa gástrica ante estímulos que pueden atentar contra su integridad, sales biliares, por ejemplo (Skinner et al., 1981).

Estos datos sugieren, según parece, la existencia en el fluido salival de uno o varios factores citoprotectores gástricos que podrían ejercer su función una vez la saliva alcanza el estómago durante la ingestión de alimentos. De este modo, la mucosa gástrica quedaría protegida de la elevada actividad secretora que durante esta fase digestiva tiene lugar.

El componente químico de la saliva que podría llevar a cabo esta función es, al parecer, el factor de crecimiento epidérmico (FCE), al menos, esas son las conclusiones recientemente expuestas por Olsen et al. (1984). En este estudio, los autores administraban subcutáneamente cisteamina, un agente inductor de úlceras, en ratas desalivadas y normales. Pasadas 24 horas, el área gástrica lesionada en los sujetos sin glándulas era significativamente superior a la observada en ratas controles también inyectadas. Por su parte, la infusión intragástrica de saliva sólo surtía efectos citoprotectores si ésta contenía FCE pero no si dicho polipéptido había sido aislado del fluido salival. Estos últimos hechos demuestran que es exclusivamente el FCE, y no otro o varios compuestos salivales, el responsable directo del fenómeno comentado.

El mecanismo mediante el cual el FCE amortigua el efecto de la secreción gástrica sobre la mucosa del estómago no es bien conocido aunque, como Olsen et al. (1984) han demostrado, dicho péptido debe actuar en un momento posterior a la secreción gástrica y no inhibiendo ésta, ya que la presencia de FCE a nivel estomacal no afecta en ningún grado la magnitud de ácido secretado.

La actuación citoprotectora del FCE a nivel gástrico podría ser explicada por su elevada acción trófica sobre la mucosa gastrointestinal. Estas son las conclusiones que se desprenden de un trabajo comunicado recientemente por Skinner, Soper y Tepperman (1984). En ratas con las glándulas submandibulares y sublinguales extirpadas y los ductos parotídeos ligados, estos autores midieron la incorporación de (³H) timidina por la mucosa oxíntica como índice de síntesis de DNA. Asimismo, se registró el contenido de DNA y RNA en esta mucosa. En los animales desalivados se observaba una disminución, hasta del 40 por ciento, en la in-

corporación de timidina así como un descenso significativo en el contenido de DNA y RNA de la mucosa oxíntica. La administración de extractos de tejido de glándulas salivales, o bien la infusión de FCE exógeno en los sujetos desalivados, aumentaba la síntesis de DNA y su concentración en la mucosa gástrica hasta los niveles normales, no observándose estos efectos ni en la mucosa duodenal ni en la del colon. Finalmente, la administración de extractos hepáticos o musculares no inducía los efectos tróficos comentados.

Últimamente, Soper y Tepperman (1986) han profundizado aún más en este fenómeno citoprotector llevado a cabo por la saliva, al demostrar que sólo la activación de los receptores alfa adrenérgicos presentes en las glándulas salivales es capaz de inducir en ratas normales el efecto mencionado. El bloqueo de este tipo de receptores glandulares mediante fentolamina, eliminaba la capacidad citoprotectora gástrica característica de la saliva.

En resumen, la atrofia y consiguiente degeneración de la mucosa gástrica en ausencia de saliva podría explicar su mayor susceptibilidad a ser lesionada en presencia de estímulos ulcerosos. Este efecto trófico asociado a la saliva, parece dependiente de la actuación del FCE. No obstante, aunque los datos existentes apoyan este posible mecanismo de acción, todavía no existe una prueba directa.

Además de las funciones de la saliva desarrolladas en este apartado, aún podrían describirse un buen número de acciones sobre el comportamiento y la fisiología del organismo. Entre estas destaca su conocido papel termorregulador (Stricker y Hainsworth, 1970), particularmente bajo temperaturas ambientales elevadas. Por otra parte, su función en el recién nacido a fin de lograr una lactancia adecuada ha sido, asimismo, claramente demostrada (Epstein, Blass, Batshaw y Parks, 1970).

2. REGULACION NERVIOSA DE LA SECRECION SALIVAL.

.Anatomía.

.Influencias Parasimpáticas: efectos secretores, vasomotores y mioepiteliales. Mecanismos neurotransmisores.

.Influencias Simpáticas: efectos secretores, vasomotores y mioepiteliales. Mecanismos neurotransmisores.

.Interacción Simpático-Parasimpático.

Como hemos expuesto hasta ahora, en mamíferos, la saliva participa decisivamente en un amplio conjunto de procesos fisiológicos, bien estén asociados a la ingestión de alimentos, bien a otras funciones independientes de la nutrición.

La unidad secretora de las glándulas salivales está constituida, según Schneyer y Emmelin (1974), por un conjunto de células glandulares y conductos que representan la base ultraestructural que sustenta el proceso secretor salival.

En la zona proximal de dicha unidad funcional, y siempre siguiendo la dirección de la saliva en su trayecto hacia la cavidad oral, se localizan las células acinares que representan, como se verá más adelante, los elementos secretores de las glándulas salivales. Aunque estructuralmente existen varias formas de acinos, uno típico está formado por 2-5 lóbulos elipsoidales truncados que surgen de un hilio común (Brocco y Tamarin, 1979), el cual junto con el de varios acinos abocan a una serie de ductos intercalares (Jacoby y Leeson, 1959). Rodeando estos ductos intercalares así como las propias células acinares, Parks (1961) utilizando técnicas de microscopía electrónica, ha observado células mioepiteliales en la parótida de la rata y del ratón. Brocco y Tamarin (1979) confirmando las observaciones previas de Parks, pero ahora en la glándula submandibular de la rata, han demostrado ultraestructuralmente, mediante microscopía electrónica de barrido, la presencia a estos niveles ductales de células contráctiles. Las células mioepiteliales observadas presentaban un pericarion central del que partían un número variable de procesos radiales que se extendían en todas direcciones, estableciéndose así una red continua de procesos mioepiteliales sobre la superficie de las células acinares.

A continuación, varios conductos intercalares convergen en un ducto estriado. A su vez, numerosos conductos estriados desembocan en ductos excretores, los cuales convergen para formar el ducto excretor principal. Este último es generalmente único, dirigiéndose desde la propia glándula hacia la cavidad oral, donde termina (Schneyer y Emmelin, 1974).

En lo referente a la irrigación, los vasos sanguíneos que abastecen a las glándulas salivales penetran en su interior principalmente por el hilio glandular. La sangre arterial parece irrigar primero a las estructuras glandulares distales para alcanzar posteriormente los acinos. También en el conducto excretor principal el flujo sanguíneo discurre en dirección opuesta al flujo salival (Schneyer y Emmelin, 1974). Por otra parte, la circulación sanguínea de los ductos excretores es independiente de la circulación intralobular (Ohtani et al., 1983).

La función secretora normal ejercida por las glándulas salivales, es llevada a cabo por la participación conjunta de diversos elementos glandulares que resultan modulados por influencias nerviosas de origen tanto simpático como parasimpático. Entre estos, los más importantes son las células acinares, las mioepiteliales y la musculatura lisa que envuelve a los vasos sanguíneos.

Las fibras nerviosas vasomotoras de ambas ramas autonómicas, modulan el flujo sanguíneo de las glándulas. Las motoras, por su parte, contraen las células mioepiteliales encargadas de expeler la saliva producida, lo más rápidamente posible, hacia la cavidad bucal. Finalmente, las células acinares presentes en las glándulas inician por influencia nerviosa la formación de saliva primaria. Las fibras secretoras se encargan también y principalmente, de estimular la exocitosis de gránulos presentes en los acinos los cuales contienen macromoléculas de gran valor digestivo, la amilasa entre ellas. Por otra parte, los axones secretoras parece que pueden afectar la absorción y secreción iónica a nivel de los ductos salivales. De hecho, en los ductos intercalares y estriados algunos autores han observado ultraestructuralmente dentro de la luz ductal, la presencia de gránulos secretorios, de forma esférica y de tamaño variable (Jacoby y Leeson, 1959; Espinel et al., 1983). Este último hecho sugiere que algunos ductos de la glándula submandibular no realizan únicamente funciones pasivas, destinadas a la conducción de la saliva hacia el exterior; la actividad secretora de los conductos podría contri-

buir a la composición de la saliva final secretada.

Además de lo anterior, cuyos efectos pueden observarse consecutivamente a la actividad nerviosa, los nervios glandulares ejercen acciones a largo plazo sobre las células glandulares, hecho fácilmente observable por la aparición tras la denervación glandular de atrofia celular (Hall y Schneyer, 1978; Ekström y Malmberg, 1984; Schneyer, 1986) y el desarrollo de supersensitividad ante agonistas farmacológicos (Emmelin, 1965; Thesleff y Sellin, 1980; Stefano y Pereg, 1981).

Deben de existir, asimismo, mecanismos hormonales implicados en la regulación a largo plazo de la actividad glandular. Así, la hiperactividad tiroidea incrementa la sensibilidad a la estimulación beta adrenérgica en la glándula submandibular de la rata (Medina et al., 1984). Este fenómeno está asociado a un aumento en el número de beta receptores, no observándose cambios aparentes en afinidad. Además, los receptores implicados deben ser del tipo beta₁, ya que en las membranas de la glándula submandibular no han sido detectados receptores beta₂. Por otra parte, el hipotiroidismo inducido por la extirpación del tiroides da lugar a efectos opuestos a los anteriormente comentados. No obstante, aunque parece existir una relación entre la sensibilidad de los receptores beta adrenérgicos y la densidad de los mismos bajo diferentes estados de actividad tiroidea, los mecanismos que median este fenómeno no son conocidos por el momento.

A pesar de la dependencia aparente que a partir de los trabajos de Medina et al. (1984), entre otros, se podría atribuir a la secreción salival con respecto al sistema hormonal, en la actualidad está muy bien establecido que, bajo condiciones fisiológicas, tanto la producción y flujo de saliva como la secreción de sus componentes está modulada prácticamente en su totalidad, por la inervación simpática y parasimpática glandular (Emmelin, 1981; Alm et al., 1984; Kyriakon et al., 1986). Es más, el concepto clásico de antagonismo entre las dos divisiones del sistema nervioso autónomo sólo puede mantenerse, en el caso de las glándulas salivales, para la inervación vascular. Este concepto no puede aplicarse a la inervación de las células acinares o secretoras y mioepiteliales, en donde ambos grupos de fibras nerviosas parecen actuar sinérgicamente.

Anatomía.

Aunque funcionalmente ambos sistemas interactúan, anatómicamente las fibras secretoras pertenecientes a cada una de las ramas autonómicas que modulan la actividad salival se originan a niveles del Sistema Nervioso Central distintos, discurriendo periféricamente en su trayecto hacia las glándulas por rutas anatómicas claramente diferenciadas. Asimismo, la neurofarmacología asociada a cada una de estas ramas es distinta.

Con respecto a las fibras del Sistema Nervioso Simpático, tradicionalmente se ha considerado que el neurotransmisor empleado por dicho sistema a nivel postganglionar es la norepinefrina (Emmelin, Holmberg y Ohlin, 1965). En la rata, las neuronas preganglionares simpáticas con dirección a la glándula submandibular, parecen originarse entre los niveles T₁ y T₃ de la Médula Espinal (Templeton, 1979). Este área secretora espinal presenta una longitud de 1-1.5 mm. en este animal, pudiéndose observar tanto secreción salival como vasoconstricción glandular tras su estimulación eléctrica. Según Templeton, el bloqueo de los receptores alfa adrenérgicos mediante la administración de dihidroergotamina, reducía la secreción salival a la mitad. La secreción restante era totalmente bloqueada mediante propranolol, un beta bloqueante. La vasoconstricción podía ser abolida por dihidroergotamina, en cuya presencia la estimulación del área simpática espinal indicada evocaba una ligera vasodilatación, bien por la activación directa de fibras vasodilatadoras, o bien como efecto secundario a la secreción evocada vía receptores beta.

Por otra parte, la administración de atropina no afectaba a ninguna de las dos respuestas fisiológicas provocadas tras la estimulación espinal. Es más, los efectos observados eran anatómicamente específicos quedando siempre restringidos dentro de los niveles medulares antes mencionados. Así, la activación de zonas próximas a esta región salivatoria espinal no provocaba ningún tipo de respuesta glandular.

Además de localizar funcionalmente el origen de las fibras secretoras y vasculares simpáticas a nivel espinal, el estudio anterior sugiere que, en la rata, la vasoconstricción submandibular es mediada por receptores alfa. La secreción, en cambio, parece estar modulada tanto por receptores alfa como beta adrenérgicos.

Los axones de las neuronas preganglionares simpáticas que inervan las glándulas salivales, abandonan la Médula Espinal a través de las

raíces ventrales de los tres primeros segmentos torácicos entrando al tronco simpático, localizado lateralmente a la columna vertebral, vía ramas comunicantes, para terminar, finalmente, en el ganglio cervical superior donde hacen sinapsis con las fibras simpáticas eferentes postganglionares (Brodal, 1981). Estas últimas alcanzan las glándulas siguiendo las paredes de las arterias que las irrigan.

Al parecer, en la glándula parótida de la rata, la inervación simpática es predominantemente ipsilateral aunque algunos nervios adrenérgicos con origen en el tronco simpático deben alcanzar la glándula contralateral. Este patrón de inervación simpática ha sido sugerido recientemente por Alm, Asking, Emmelin y Gjørstrup (1984) de la Universidad de Lund (Suecia) apoyándose en evidencias experimentales de tipo funcional. En primer lugar, la extirpación unilateral del ganglio cervical superior inducía la aparición de secreción degenerativa de amilasa "in vitro" en la glándula parótida contralateral. Aunque dicha secreción, debida a la degeneración del nervio, es significativamente más elevada en la glándula ipsilateral a la lesión, los valores observados en la parótida contralateral a las 17-20 horas tras la extirpación ganglionar, punto máximo de secreción (Asking et al., 1982), eran dos veces superiores a los obtenidos de una glándula control, la cual no había sido denervada ni ipsilateral ni contralateralmente.

En segundo lugar, la estimulación contralateral del ganglio cervical superior sobreimpuesta a la estimulación parasimpática previa con metacolina (fármaco muscarínico), incrementaba significativamente la secreción de amilasa en comparación con la obtenida durante la activación parasimpática en solitario.

Por último, aunque escasas, mediante técnicas histofluorescentes pudo comprobarse la presencia de fibras adrenérgicas en la parótida ipsilateral a la extirpación del ganglio cervical superior. Estas terminaciones nerviosas se hallaban rodeando vasos sanguíneos y en la proximidad de células acinares, lo que sugiere su naturaleza vasoconstrictora y secretora. Tales fibras nunca eran observadas, en cambio, cuando el ganglio cervical superior era extirpado bilateralmente.

Esta proyección simpática contralateral descrita por este grupo de autores para la parótida de la rata, ha sido observada en la misma glándula de otras especies, el conejo, por ejemplo (Martínez de Victoria, comunicación personal).

En la glándula submandibular de la rata, por su parte, el modelo de inervación simpática parece ser sólo ipsilateral. En efecto, Alm y Ekström (1977) han comprobado mediante histofluorescencia que la avulsión del ganglio cervical superior elimina la totalidad de los nervios adrenergicos en la glándula ipsilateral.

En lo referente a la inervación del Sistema Nervioso Parasimpático, las fibras preganglionares eferentes que median la secreción submandibular y sublingual, se originan en el núcleo Salivatorio superior (nSs) localizado a nivel bulbopontino. Estas fibras eferentes viscerales forman parte del nervio intermediario o de Wrisberg, haz de fibras tanto sensorial (vías gustativas) como secretomotor, tradicionalmente asociado al VII par craneal. En relación a sus fibras eferentes, este nervio da lugar a tres ramas que terminan en las glándulas lacrimales, por una parte, las nasales y, finalmente, en las glándulas submandibulares y sublinguales. Las fibras salivatorias con dirección a estas últimas glándulas abandonan el nervio intermediario a la altura del canal facial para dirigirse hacia la caja del tímpano, la que atraviesan como "chorda tympani" o cuerda del tímpano (Brodal, 1981). Posteriormente, y tras abandonar el cráneo a nivel temporal, las fibras pertenecientes a la cuerda del tímpano se unen al nervio lingual, desde donde alcanzan el ganglio submandibular, región de origen de las neuronas eferentes postganglionares (Whitehead y Frank, 1983).

Las fibras eferentes preganglionares con dirección a la glándula parótida forman parte del nervio glosofaríngeo, originándose en el núcleo Salivatorio inferior localizado a nivel bulbar (Nicholson et al., 1981). Las fibras salivatorias inferiores abandonan el nervio glosofaríngeo a la altura del ganglio petroso para formar un pequeño haz secretor conocido como nervio timpánico. Este atraviesa el suelo de la cavidad timpánica para ascender junto a la cara medial del tímpano abandonando, posteriormente, la cavidad craneana en dirección al ganglio ótico. Las fibras postganglionares originadas en el ganglio citado forman el nervio auriculotemporal, cuyos axones terminan directamente en la glándula parótida (Brodal, 1981).

En general, se acepta que el neurotransmisor empleado por los nervios parasimpáticos postganglionares en su acción moduladora glandular es la acetilcolina, aunque otras sustancias parecen también implicadas produciendo siempre efectos significativamente inferiores (Emmelin,

1973).

A pesar de que los nervios y vías anatómicas expuestas anteriormente representan los sistemas principalmente implicados en la regulación nerviosa de las glándulas salivales, algunos autores han sugerido la existencia de nuevas vías colinérgicas de significación funcional menos conocida, que siguen rutas distintas a las ya mencionadas.

En esta línea, Holmberg (1971) observó funcionalmente en perros, fibras secretoras que procedentes del nervio mandibular discurrían junto a la arteria maxilar interna antes de inervar la glándula parótida. La secreción inducida por la estimulación de estos nervios representaba, en su valor medio, el 45 por ciento de la que se obtenía tras la estimulación del nervio auriculotemporal. Por otra parte, el fenómeno era abolido por atropina (muscarínico) pero no por hexametonio (nicotínico), un agente bloqueante ganglionar, lo que sugiere el carácter colinérgico y postganglionar de las vías nerviosas periféricas estimuladas por Holmberg.

Este autor presenta una prueba sugerente del carácter secretor primario de las fibras estudiadas. Concretamente, la sección de este grupo de nervios junto con el auriculotemporal eliminaba, casi completamente, la respuesta refleja de la glándula evocada tras la estimulación con ácido cítrico.

En otro estudio, realizado esta vez en el gato por Ekström y Emmelin (1974), se aportan un conjunto de pruebas que indican, una vez más, que la secreción parotídea obtenida tras la activación de los nervios circundantes a la arteria maxilar interna puede ser primaria. Por una parte, la secreción observada no era mediada a través de los nervios simpáticos y todavía podía registrarse secreción refleja, una vez seccionado el nervio auriculotemporal, cuando se depositaba en la boca del animal ácido cítrico. Además, tras la sección del nervio auriculotemporal, podía registrarse secreción salival mediante la aplicación de un agente anticolinesterásico observándose, asimismo, actividad del enzima colina-acetiltransferasa a partir de extractos glandulares.

Influencias Parasimpáticas: efectos secretores, vasomotores y mioepiteliales. Mecanismos neurotransmisores.

El estudio de la regulación nerviosa de la secreción salival presenta una serie de dificultades resultado, principalmente, de las múl-

tiples consecuencias que pueden observarse tras la estimulación de los nervios secretores de ambas divisiones autonómicas. Así, junto a las fibras funcionalmente catalogadas como secretoras discurren otras vasomotoras, e incluso unas terceras de tipo motor con dirección, como ya se indicó anteriormente, a las células mioepiteliales. Por otro lado, las fibras parasimpáticas y simpáticas ejercen sus influencias secretoras y motoras paralelamente y antagónicamente cuando estas actúan sobre los vasos sanguíneos. Así, pues, la estimulación eléctrica tanto de la cuerda del tímpano como del nervio auriculotemporal, evoca en diversas especies estudiadas secreción salival (Ekström y Emmelin, 1971; Ekström y Olgart, 1985c), vasodilatación (Lunberg et al., 1982a) y contracción de las células mioepiteliales (Thulin, 1976a).

Tras la estimulación eléctrica repetitiva de la cuerda del tímpano con valores prácticamente umbrales, Thulin (1976b) ha observado, en la rata, tanto secreción de fluido como un aumento en el flujo sanguíneo submandibular. Ambas respuestas incrementaban rápidamente al comienzo de la estimulación. La secreción de fluido evocado con frecuencias de estimulación bajas, era totalmente eliminado tras la administración de atropina, lo que demostraba su carácter parasimpático. Sin embargo, en presencia de atropina dicha secreción todavía persistía, aunque reducida a valores significativamente inferiores, si la frecuencia de estimulación empleada era elevada. Por otra parte, la respuesta vasodilatadora observada era reducida sólo ligeramente tras el bloqueo colinérgico, independientemente de los parámetros de estimulación empleados.

En otro estudio paralelo al anterior realizado también en la glándula submandibular de la rata, Thulin (1976a) comunicó una muy rápida elevación de la presión del ducto de dicha glándula tras la estimulación de la cuerda del tímpano a diferentes frecuencias. La presión ductal declinaba rápidamente cuando cesaba la estimulación nerviosa.

Más interesante es el trabajo, ya clásico, realizado por Emmelin, Garrett y Ohlin (1968) sobre la modulación parasimpática de las células mioepiteliales de las tres glándulas salivales mayores del gato. La presión ductal se registraba en animales anestesiados mientras se estimulaba el nervio auriculotemporal, o bien la cuerda del tímpano. Al parecer, las células mioepiteliales presentan un umbral de activación inferior a las acinares, ya que la estimulación de los nervios parasimpáticos a frecuencias subsecretoras (mediante un solo pulso de corriente)

producía una elevación significativa de la presión intraductal. La latencia de esta respuesta era inferior a 0.5 segundos alcanzando rápidamente un máximo para decrecer gradualmente. Además, el efecto no era producido por el paso de saliva a través de los ductos, ya que la estimulación sólo causaba secreción excepcionalmente. Es más, la elevación de la presión ductal no era causada tampoco por la vasodilatación glandular evocada tras la estimulación de los nervios parasimpáticos, ya que la administración de atropina bloqueaba el efecto mioepitelial, pero no la vasodilatación.

En relación a la inervación parasimpática de la glándula parótida de la rata, los efectos observados sobre los distintos elementos glandulares son semejantes a los ya descritos anteriormente en la glándula submandibular. En presencia de atropina, Thulin (1976a) observó, nuevamente, un efecto secretor residual tras la estimulación auriculotemporal con frecuencias medias y elevadas.

Un estudio más sistemático sobre la secreción resistente a la atropina en la parótida de la rata ha sido comunicado recientemente por Ekström et al. (1983a) y Anderson, Ekström, Garrett y Thulin (1983). En presencia de atropina y tras la estimulación del nervio auriculotemporal con alta frecuencia, estos autores observaron una reducción en la secreción de fluido que oscilaba alrededor del 85 por ciento, aproximadamente. Dicha secreción residual no era modificada ni con la administración de dosis extras de atropina ni tras la inyección de dihidroergotamina y propranolol conjuntamente. Por el contrario, si se estimulaban dichas fibras parasimpáticas con frecuencias secretoras bajas, el bloqueo colinérgico reducía la salivación en un 100 por ciento.

En cuanto a la composición de esta saliva parasimpática resistente a la atropina, lógicamente la cantidad total de proteínas, amilasa, sodio y potasio, entre otros componentes, disminuyen significativamente. Sin embargo, en términos de concentración tanto la amilasa como el resto de las proteínas incrementaban, no observándose cambios ni en sodio ni en potasio salival (Ekström et al., 1984a).

Debido a su pequeño tamaño, las cantidades inferiores de saliva registradas tras la estimulación de la cuerda del tímpano son aquellas obtenidas de la glándula sublingual. Además del efecto secretor, la estimulación parasimpática producía vasodilatación y elevación de la presión ductal, en este último caso con pulsos subsecretores. Las tres res-

puestas anteriores podrían ser bloqueadas mediante la aplicación de atropina si la frecuencia de estimulación empleada era baja. Con frecuencias elevadas, se hizo presente un efecto resistente a la atropina para las tres respuestas autonómicas (Templeton y Thulin, 1978).

Resumiendo lo expuesto hasta ahora, los tres pares de glándulas salivales parecen recibir una considerable influencia parasimpática, existiendo fibras específicas para cada una de las tres respuestas glandulares antes señaladas. Cuando los nervios parasimpáticos son estimulados con frecuencias bajas, la administración de atropina bloquea totalmente la secreción de fluido y la contracción de las células mioepiteliales. En cambio, la activación nerviosa con altas frecuencias en presencia del antagonista colinérgico indicado, reduce significativamente estas dos respuestas glandulares aunque todavía puede observarse un efecto residual. Por último, la vasodilatación es muy resistente a la atropina, sobre todo cuando las frecuencias de estimulación alcanzan un valor medio o elevado.

Este fenómeno de resistencia a la atropina ha sido recientemente muy estudiado, particularmente en su aspecto secretor, por Ekström y su grupo en la Universidad de Lund.

Este autor, en una serie de comunicaciones presentadas recientemente, ha sugerido la posibilidad de que varios neuropéptidos con características secretoras pudieran ser responsables de la secreción resistente a la atropina. Los dos péptidos propuestos han sido la sustancia P, por una parte, y el polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) por otra (véase, por ejemplo, Ekström, Garrett, Manson y Tobin, 1986).

De hecho, la administración intravenosa de sustancia P puede evocar una elevada secreción de saliva (Yu et al., 1983; Ekström y Olgart, 1986b). Por otro lado, tanto la sección del nervio auriculotemporal como la de la cuerda del tímpano, pueden causar el desarrollo de supersensitividad, en la glándula parótida y submandibular respectivamente, en presencia de sustancia P y sus análogos (Ekström et al., 1982).

Asimismo, la actuación de la sustancia P sobre las glándulas parece ser directa ya que la secreción producida por este neuropéptido no se ve afectada en presencia de bloqueantes colinérgicos o adrenérgicos. Este hecho sugiere la posible existencia de receptores específicos a la sustancia P en las membranas glandulares. Efectivamente, esta última

posibilidad ha sido recientemente confirmada por Bahouth, Stewart y Musacchio (1984) y por Bahouth et al. (1985).

Por otra parte, el hecho de que la sustancia P pudiera actuar como neurotransmisor en las glándulas salivales, tal y como viene sugiriendo últimamente Ekström, se ve apoyado por su localización, observada mediante técnicas inmunoreactivas, en el interior de los cuerpos celulares de neuronas postganglionares con dirección a la glándula submandibular de la rata (Ayer-Le Lievre et al., 1984).

Asimismo, en la parótida, Sharkey y Templeton (1984) utilizando técnicas semejantes, han comprobado la presencia de sustancia P en el ganglio ótico de la rata. No obstante, ni en este estudio ni en el de Ayer-Le Lievre y colaboradores anteriormente señalado, se ha demostrado que la sustancia P coexista junto con la acetilcolina en la misma neurona postganglionar parasimpática. Por tanto, en la actualidad las pruebas experimentales existentes no pueden descartar la posibilidad de que las neuronas peptidérgicas actúen paralelamente a las fibras colinérgicas a fin de modular la actividad glandular. Investigaciones futuras deberán aclarar la organización neuroquímica de estas fibras parasimpáticas.

Con respecto al VIP, su administración intravenosa en ratas también producía secreción salival aunque, en este caso, la respuesta secretora era unas diez veces inferior a la obtenida con sustancia P, presentando también mayor latencia. La sección de la cuerda del tímpano y del nervio auriculotemporal producían, igualmente, la aparición de supersensitividad obteniéndose respuestas salivales con dosis subsecretoras. El mecanismo secretor implicado debe ser directo, o al menos, no dependiente de receptores colinérgicos ni adrenérgicos. Así, el bloqueo simultáneo de estos dos tipos de receptores glandulares no afectaba la respuesta salival. Tampoco las glándulas adrenales parecían implicadas. Finalmente, y en comparación a la saliva obtenida tras la administración de sustancia P o metacolina, aquella evocada por VIP era mucho más viscosa presentando mayor contenido protéico (Ekström et al., 1983b).

En apoyo de una de las ideas expuestas más arriba, recientemente Dehaye et al. (1986) han demostrado la presencia de receptores específicos a VIP en la glándula parótida de la rata, lo que podría explicar la acción directa de este neuropéptido sobre la actividad glandular.

Existen varias pruebas que sugieren la coexistencia de VIP y acetilcolina en las neuronas parasimpáticas postganglionares que inervan

las glándulas salivales, por lo que dicho péptido podría actuar también como neurotransmisor. Así, por ejemplo, las neuronas inmunoreactivas a VIP contienen altos niveles de acetilcolinesterasa y acetil-transferasa (Lundberg y Hökfelt, 1983).

También Ekström et al. (1984b) y Brodin et al. (1984), han presentado recientemente un considerable conjunto de pruebas experimentales que demuestran claramente el origen parasimpático de estos péptidos. Sin embargo, las pruebas presentadas por estos autores no permiten concluir si los neuropéptidos estudiados actúan en paralelo o si coexisten en una misma neurona postganglionar. Entre los datos más significativos, cabe destacar los siguientes:

- La sección del nervio auriculotemporal reduce la cantidad total de sustancia P y VIP en la parótida de la rata en un 95 por ciento en comparación a la glándula contralateral no denervada.
- La sección de la cuerda del tímpano (descentralización parasimpática), no modifica la magnitud total de estos péptidos en la glándula submandibular.
- Por el contrario, tras la denervación de la glándula submandibular seccionando las fibras postganglionares parasimpáticas a nivel del hilio glandular, zona donde se localiza el ganglio submandibular, la cantidad total de sustancia P procesada fue reducida en un 90 por ciento con relación a la glándula contralateral no operada. La magnitud de VIP, en cambio, disminuyó sólo un 50 por ciento.
- La extirpación del ganglio cervical superior, no reducía el volumen total de sustancia P o VIP a nivel glandular.

En conclusión, tanto VIP como la sustancia P, parecen originarse en las neuronas postganglionares parasimpáticas alcanzando las glándulas salivales a través de esta ruta. En el caso del VIP, aproximadamente la mitad de estos nervios se originan dentro de la glándula propiamente y no a su entrada en el hilio.

Lógicamente, si estos neuropéptidos están asociados estructuralmente a las vías parasimpáticas glandulares, deben presentar funciones en su regulación. Sin embargo, en general, sus funciones no son bien conocidas, como tampoco el mecanismo mediante el cual dichos péptidos actúan a nivel glandular a fin de modificar la respuesta secretora. A pesar de ello, junto a las pruebas ya mencionadas, se cuenta con un amplio

conjunto de datos que sugieren que la sustancia P y VIP pueden ser algunos de los péptidos responsables de la secreción resistente a la atropina. Esta idea se ve apoyada por diversas pruebas experimentales que se resumen a continuación:

- I) De acuerdo con los datos de Ekström et al. (1985a), la estimulación del nervio auriculotemporal durante un periodo prolongado de tiempo (80 minutos) en presencia de agentes bloqueantes colinérgicos y adrenérgicos, da lugar a una disminución progresiva de la secreción de fluido y amilasa residual. Paralelamente se observa también una reducción progresiva de los niveles parotídeos de VIP y sustancia P. Por otro lado, esta marcada reducción de las respuestas secretoras no puede ser explicada por agotamiento glandular, ni tampoco por el desarrollo de subsensitividad en las células receptoras glandulares, ya que finalizado el periodo de estimulación nerviosa, la activación farmacológica (con sustancia P) evocaba una copiosa salivación. En base a estos datos, Ekström y su grupo explican este fenómeno como resultado de un agotamiento del neurotransmisor.
- II) Cuando la administración de sustancia P intravenosamente era combinada con la estimulación del nervio auriculotemporal en presencia de atropina y bloqueantes adrenérgicos alfa y beta, se observaba una marcada secreción de fluido y amilasa cuyo valor era significativamente superior a la suma de las cantidades registradas individualmente, cuando la sustancia P y la estimulación nerviosa eran aplicados separadamente (Ekström y Olgart, 1985b; Ekström y Olgart, 1986a).
- III) En la rata, Gallacher (1983) ha demostrado que tras la desensitización de la parótida mediante su exposición a sustancia P exógena, la secreción de amilasa inducida por la estimulación eléctrica de la glándula en presencia de antagonistas adrenérgicos y colinérgicos, disminuía significativamente en comparación con los valores obtenidos antes de la desensitización glandular.
- IV) Con respecto al VIP, el grupo de Lundberg en el Instituto Karolinska, ha demostrado que tanto la acetilcolina como VIP, son liberados simultáneamente por los terminales postganglionares durante la estimulación de la cuerda del tímpano. En valores absolutos, la cantidad de VIP liberada a la glándula submandibular es unas 500 veces inferior a la detectada en el caso de la acetilcolina (véase Lund-

berg et al., 1982b).

Los datos experimentales expuestos en los cuatro apartados anteriores sugieren, en primer lugar, que ambos neuropéptidos son liberados sinápticamente tras la estimulación de los nervios parasimpáticos. Sin embargo, los experimentos comentados no permiten asignar funciones neurotransmisoras a estos péptidos, aportando sólo pruebas indirectas. Es posible incluso, que la función que estas sustancias lleven a cabo ocurra paralelamente a la secreción o vasodilatación ejercida por los nervios, no interviniendo directamente en estos procesos. Algunos autores como Lundberg (véase Lundberg et al., 1982c), han sugerido recientemente la posibilidad de que VIP actúe como neuromodulador en las sinapsis colinérgicas de la glándula submandibular del gato. Así, en presencia de concentraciones fisiológicas de VIP, la afinidad de la acetilcolina hacia los receptores muscarínicos de la glándula incrementaba unas 100.000 veces.

Por otro lado, es posible que la secreción resistente a la atropina sea debida a la liberación de otros neuropéptidos estructuralmente relacionados con la sustancia P y VIP. Esta idea ha tomado cierto valor en los últimos años, máximo cuando Lundberg y su grupo (1984) han comprobado que la histidina-isoleucina, un péptido análogo al VIP que coexiste en las neuronas parasimpáticas postganglionares junto al VIP y la acetilcolina, es liberado conjuntamente con las sustancias anteriores.

En conclusión, la idea clásica sobre el funcionamiento fisiológico y neuroquímico que se tenía hasta comienzos de los años ochenta acerca del sistema parasimpático glandular, está experimentando en la actualidad una marcada evolución. Así, se han propuesto varios neuropéptidos como posibles responsables de la secreción resistente a la atropina. Sin embargo, las pruebas que los apoyan son indirectas. Asimismo, el mecanismo de acción por el que modifican la respuesta glandular no es bien conocido.

Influencias Simpáticas: efectos secretores, vasomotores y mioepiteliales. Mecanismos neurotransmisores.

Las influencias simpáticas en el control de la salivación son particularmente variables en diversos aspectos fundamentales. Por una parte, éstas son muy diferentes en relación a la especie y glándula que se considere. Así, por ejemplo, la función secretora de estos nervios es escasa en la glándula submandibular del conejo (Moreno, Martínez de Victoria y López, 1984a), en la parótida del gato (Emmelin y Garrett, 1986) y en la glándula sublingual de la rata (Templeton y Thulin, 1978). Por el contrario, la submandibular y parótida de la rata (Ohlin, 1965; Thulin, 1976a) y la parótida del conejo (Martínez de Victoria, 1977), son significativamente sensibles a la estimulación simpática.

En segundo lugar, como se verá más adelante, los receptores adrenérgicos que median los diversos efectos ejercidos por los nervios simpáticos son diferentes en numerosas ocasiones, en función de la especie y glándula estudiada.

En la rata, tanto la glándula submandibular como la parótida segregan abundantemente en respuesta a la estimulación simpática. No obstante, la contribución parasimpática, al menos en lo que a cantidad de flujo salival se refiere, es significativamente superior a aquella aportada por influencia simpática (Ohlin, 1965; Thulin, 1976a). Por otra parte, la saliva simpática es mucho más rica en componentes orgánicos que la parasimpática (véase más adelante, Abe y Nitta, 1984).

Con respecto a la glándula submandibular de este animal experimental, la administración de dihidroergotamina reduce en algo más de la mitad el efecto secretor simpático, lo que supone la existencia de otros receptores implicados además de los alfa adrenérgicos (Ohlin, 1965). En efecto, la administración conjunta del fármaco anterior junto a un beta bloqueante (propranolol) abole totalmente la secreción simpática (Thulin, 1976b). Además, la respuesta secretora alfa debe ser mediada por receptores alfa₁, ya que la administración de prazosin, un antagonista específico de este tipo de receptores, bloquea la secreción inducida por norepinefrina. Por el contrario, la metoxamina, un agonista selectivo de los receptores alfa₁, evoca una respuesta sustancial (Elverdin et al., 1984). Por otra parte, como ya se indicó anteriormente, hasta el momento no se han detectado en la glándula submandibular receptores beta₂ (véase, Medina et al., 1984) por lo que el efecto secretor simpático debe ser re-

gulado por receptores del tipo β_1 . Reforzando esta idea, Thulin (1972) observó que el salbutamol, un estimulante de los receptores β_2 , presentaba un efecto prácticamente nulo sobre la secreción de saliva.

Asimismo, en la parótida de la rata la secreción salival tras la activación simpática viene mediada por receptores alfa y beta. En esta glándula la mayor parte de la secreción, hasta un 70 por ciento aproximadamente, es modulada por receptores alfa adrenérgicos (Thulin, 1976a).

La glándula sublingual de la rata, presenta también efectos secretorios simpáticos, aunque su potencia es marcadamente inferior a la de las glándulas anteriores. En apoyo de esta idea, Templeton y Thulin (1978) sólo observaron un pequeño flujo secretor sublingual en dos de los seis animales empleados. En estos casos, la secreción no era reducida ni por atropina, ni tras la administración de dihidroergotamina pero sí por propranolol, lo que sugiere que en esta glándula la secreción simpática es mediada exclusivamente por receptores beta adrenérgicos.

En el conejo, ambos tipos de receptores adrenérgicos intervienen en la modulación de la actividad secretora de la glándula parótida aunque de manera diferente a la ya comentada para la rata. Así, la estimulación del ganglio cervical superior induce una rápida secreción salival que es bloqueada en un 90 por ciento, aproximadamente, mediante antagonistas alfa adrenérgicos. La administración de propranolol inducía sólo una pequeña reducción en el flujo salival (Martínez de Victoria y López, 1979a y 1979b). Por otra parte, cabe señalar que, a igualdad de flujo la actividad amilásica de la saliva parotídea segregada tras estimulación simpática es menor en los animales inyectados con propranolol que en aquellos otros no tratados con dicho agente bloqueante (Martínez de Victoria, 1977). Este último hecho sugiere que la influencia simpática sobre la secreción enzimática actúa preferentemente a través de los beta receptores apoyando, por otra parte, una acción secretora de las fibras simpáticas sobre las células acinares.

También en la parótida de la rata, la actividad amilásica más elevada registrada tras la administración de fármacos parasimpático y simpaticomiméticos correspondía a aquellos de acción beta adrenérgica (isoprenalina), seguida por la evocada tras estimulación alfa adrenérgica (fenilefrina). La menor actividad amilásica detectada era la provocada por diversos agonistas colinérgicos (Abe y Nitta, 1984).

Más recientemente, Asking y Gjørstrup (1986) han demostrado "in

vivo" en la parótida de la rata, la importancia de los nervios simpáticos glandulares en la secreción de amilasa durante la nutrición. En este estudio, la sección de los nervios simpáticos, o bien la administración de un agente bloqueante beta adrenérgico, eliminaban casi por completo la secreción de amilasa salival durante la ingestión de alimentos. De hecho, la cantidad de amilasa parotídea registrada tras el periodo de alimentación en los dos grupos anteriores, fue equivalente a la observada en animales privados de alimento, en los que los depósitos de amilasa se encontraban intactos. Por su parte, los sujetos controles no tratados quirúrgica ni farmacológicamente a los que se les ofreció comida, presentaban al final del periodo de alimentación una cantidad de amilasa parotídea significativamente inferior a la observada en los dos grupos experimentales antes señalados. Así, pues, en conjunto estos resultados sugieren, una vez más, que la estimulación de los receptores beta adrenérgicos parotídeos constituye uno de los principales mecanismos responsables de la elevada concentración de amilasa salival durante la nutrición.

Como es sabido, la activación simpática produce una marcada vasoconstricción que actúa en contra del proceso secretor. Esta mútua influencia ha sido demostrada por Moreno, Martínez de Victoria y López (1984a) en la glándula submandibular del conejo. Según estos autores, la estimulación del ganglio cervical superior evocaba una significativa secreción salival mediada tanto por receptores alfa como beta adrenérgicos, aunque estos últimos parecen de mayor importancia en esta glándula. La vasoconstricción glandular, en cambio, dependía de la actuación simpática sobre los receptores alfa, ya que la fentolamina, un potente antagonista alfa adrenérgico, bloqueaba el efecto vasomotor. Lógicamente, la estimulación simpática afecta tanto a fibras secretoras como vasoconstrictoras, lo que produce una fuerte secreción al comienzo del periodo de estimulación seguida de un descenso progresivo del flujo salival, que llega a igualarse al observado durante los niveles basales.

Dicho descenso en secreción parece ser debido a la actuación vasoconstrictora, máxime cuando el bloqueo alfa adrenérgico mantiene estable la secreción de fluido durante el tiempo que dura la estimulación. Por el contrario, la administración de propranolol, dejando la vía vasoconstrictora libre, produce un descenso rápido en la secreción, la cual resulta reducida a cero a los tres minutos del comienzo de la activación simpática.

También en las glándulas salivales de la rata se han observado efectos vasoconstrictores tras la estimulación de las vías simpáticas. Esta respuesta es modulada, como es habitual en otras especies, por receptores alfa adrenérgicos (Thulin, 1976b; Templeton y Thulin, 1978).

Fisiológicamente no existe ninguna razón para pensar que los nervios vasoconstrictores sean activados por los mismos estímulos que ponen en funcionamiento las fibras secretoras, por ejemplo, durante la ingestión de alimentos. La actividad vasoconstrictora simpática podría constituir, entre otras funciones, un mecanismo inhibitorio de la secreción salival que, como sugiere la anatomía, resultaría controlado por el Sistema Nervioso Central. De hecho, la secreción salival evocada por la estimulación de la cuerda del tímpano es totalmente eliminada mediante la activación simultánea del simpático (Gjörstrup, 1982). Bajo estimulación parasimpática de fondo, esta reducción en la secreción inducida por la superposición simpática no se observa si previamente a la estimulación simpática se bloquea la vía vasoconstrictora tras la aplicación de fentolamina, lo que confirma, una vez más, la potencia vasoconstrictora sobre la secreción salival (Moreno, Martínez de Victoria y López, 1984b).

Así, pues, y puesto que la activación simultánea de las fibras secretoras y vasoconstrictoras, hecho inevitable experimentalmente, origina efectos antagónicos, es probable que en condiciones fisiológicas normales ambos sean modulados independientemente pudiendo desempeñar la acción vasoconstrictora un papel activo en el cese de la actividad secretora en curso.

La inervación simpática de las células mioepiteliales ha sido demostrada también fisiológicamente. La función de estos elementos contráctiles es especialmente relevante durante la nutrición, ya que si la saliva formada en las glándulas no dispusiera de mecanismos que la expulsaran rápidamente hacia la cavidad oral no podría ejercer su función digestiva, dado el poco tiempo que el alimento permanece en la boca.

La glándula submandibular del perro es un buen modelo experimental para el estudio de la inervación simpática sobre las células mioepiteliales. En esta glándula el efecto secretor simpático cursa a través de receptores beta adrenérgicos, mientras que la estimulación alfa adrenérgica evoca vasoconstricción y elevación de la presión intraductal (Emmelin y Gjörstrup, 1973). Según estos autores, la estimulación de los receptores beta adrenérgicos con isoprenalina, evoca salivación tras una

larga latencia, registrándose sólo una moderada presión intraductal causada por el paso de la saliva a través del ducto. La saliva era recogida mucho más rápidamente cuando la estimulación secretora era combinada con la contracción mioepitelial provocada por la administración de agonistas alfas, observándose, en estos casos, una elevada presión ductal.

En la rata, a diferencia de lo observado durante la estimulación parasimpática, la activación del tronco cervical simpático sólo inducía un aumento en la presión intraductal cuando la frecuencia de estimulación se hallaba por encima del umbral secretor (Thulin, 1976a). Tanto en la glándula submandibular como en la parótida, se observaba una típica curva bifásica al registrar la presión ductal durante el periodo de estimulación. El primer componente, siempre más pronunciado, era bloqueado por dihidroergotamina, pero no por la aplicación de propranolol (componente mioepitelial). El segundo, que comenzaba justamente cuando se iniciaba la secreción, requería la presencia tanto de bloqueantes alfa como beta adrenérgicos para su desaparición, atribuyéndose a la acción simpática propiamente secretora.

En la glándula submandibular del perro, la estimulación de la cuerda del tímpano o de los nervios simpáticos con frecuencias bajas, también produce la aparición de una curva bifásica al registrar la presión ductal. Igualmente, en estos casos, la primera fase de la curva ha sido atribuida al componente mioepitelial y el segundo al secretor (Emmelin, Gjørstrup y Theleff, 1977).

En relación a la posible existencia de otros mediadores neuroquímicos además de la norepinefrina, en la glándula submandibular del gato, la cual es extremadamente sensible a la estimulación simpática, la activación de estas vías con frecuencias elevadas en presencia de antagonistas alfa y beta adrenérgicos bloquea totalmente la secreción de fluido. Bajo estas condiciones todavía puede evocarse una considerable vasoconstricción que demuestra la existencia de un efecto vasoconstrictor resistente al bloqueo adrenérgico (véase Lundberg y Hökfelt, 1983). Al parecer, el mediador de la vasoconstricción no adrenérgica inducida por la estimulación simpática podría ser el neuropéptido Y o un análogo, sustancia contenida en algunos nervios adrenérgicos que no presenta efectos secretores pero sí vasoconstrictores. No obstante, todavía no existen pruebas directas de esta posibilidad.

A modo de resumen, la inervación simpática de las glándulas sa-

liviales parece modular la actividad de células secretoras, de elementos mioepiteliales y de estructuras vasomotoras. Generalmente, en la mayoría de las especies estudiadas el efecto secretor es mediado por receptores alfa y beta adrenérgicos conjuntamente, siendo estos últimos los de mayor importancia en relación a la secreción de componentes orgánicos. La respuesta mioepitelial y vasoconstrictora simpática suele cursar a través de receptores alfa. A diferencia de la estimulación parasimpática, la simpática produce una fuerte secreción salival sólo inicialmente, que disminuye progresivamente a lo largo del periodo de estimulación. Este descenso parece depender de la vasoconstricción glandular provocada, la cual coexiste con el efecto secretor que resulta, finalmente, ensombrecido.

Interacción Simpático-Parasimpático.

Como se ha visto hasta ahora, en el laboratorio es posible disociar funcionalmente ambas divisiones autonómicas, pudiéndose conseguir independientemente, bien efectos simpáticos o bien parasimpáticos exclusivamente. En condiciones normales o fisiológicas, durante la nutrición, por ejemplo, ambos sistemas interactúan, lo cual facilita la respuesta glandular en diversos aspectos. Estas interacciones han sido descritas entre elementos mioepiteliales y secretores así como entre fibras secretoras de ambas ramas. En la exposición que sigue nos ocuparemos fundamentalmente de estas últimas, considerando la cooperación observada entre las dos divisiones autonómicas en la secreción de amilasa.

Hace un siglo que Langley describió lo que él mismo llamó "secreción salival aumentada". Este fenómeno consiste en una potenciación del efecto secretor simpático si este es aplicado sobre una estimulación parasimpática de fondo (Emmelin y Gjørstrup, 1976a), aunque en los experimentos iniciales de Langley la estimulación parasimpática precedía a la simpática sin llegar a superponerse. A fin de observar dicho efecto, las frecuencias de estimulación simpáticas empleadas deben ser bajas, de lo contrario la vasoconstricción evocada disminuye significativamente el flujo.

La existencia de dicha cooperación mútua entre los nervios de ambas ramas autonómicas, sugiere que tanto las fibras simpáticas como las parasimpáticas probablemente incidan sobre los mismos mecanismos intracelulares. Algunos autores han comprobado que si la estimulación parasim-

pática produce una respuesta secretora máxima, esta no puede ser incrementada por estimulación simpática adicional (véase Emmelin, 1981), hecho que apoya la actuación sobre un mismo mecanismo celular.

Esta idea viene respaldada, asimismo, por el efecto sinérgico que la actuación conjunta de las dos ramas nerviosas produce sobre la secreción de fluido. Uno de los primeros experimentos que demostró la mútua interacción existente entre las fibras secretoras de ambos sistemas autonómicos, fue realizado por Emmelin y Gjørstrup (1976b) en la glándula submandibular del perro. En este animal, como ya se indicó previamente, el efecto mioepitelial y vasoconstrictor simpático es mediado por receptores alfa adrenérgicos. Con la finalidad de observar exclusivamente la influencia secretora simpática sobre la estimulación parasimpática de fondo evocada por la activación a baja frecuencia de la cuerda del tímpano, los autores administraron dihidroergotamina eliminando, de este modo, la actuación mioepitelial y vasoconstrictora. Tras la estimulación simpática a diferentes frecuencias, la respuesta secretora observada presentaba varias características significativas. Por un lado, en presencia de la actividad parasimpática de fondo, la frecuencia umbral simpática necesaria a fin de incrementar la secreción resultó significativamente reducida pasando de 1.8 hertzios (simpático sólo) a 0.22 hertzios (parasimpático más simpático). En segundo lugar, la secreción obtenida durante la estimulación simpática y parasimpática aplicada simultáneamente era, bajo todas las frecuencias empleadas, superior a la suma de las cantidades registradas individualmente, cuando ambas ramas eran estimuladas por separado. Finalmente, el efecto potenciador simpático sobre la secreción era abolido, como era lógico esperar, tras el bloqueo beta adrenérgico.

En la glándula parótida del perro, la estimulación simpática aplicada en solitario no provoca secreción. Sin embargo, la estimulación simpática sobreimpuesta a un flujo parasimpático bajo causaba una marcada secreción salival. En este caso, a los animales les era administrado, igualmente, dihidroergotamina, por lo que el efecto potenciador era puramente secretor (Emmelin y Gjørstrup, 1976b).

Como puede comprobarse, por tanto, en aquellos experimentos en los que sólo se estimulan las fibras simpáticas, el efecto secretor de este tipo de inervación suele ser subestimado. Téngase en cuenta que en condiciones fisiológicas siempre existe algún grado de actividad parasim-

pática provocada reflejamente desde la cavidad oral. Así, pues, en muchas ocasiones la denervación parasimpática deteriora la función secretora de las fibras simpáticas. En estos casos, la actividad simpática observada no es la que en condiciones normales estos nervios llevan a cabo, por lo que cualquier inferencia sobre su función reguladora glandular debe realizarse con precaución extrema.

En cierto modo, podría pensarse que la función simpática es dependiente hasta cierto grado, y siempre en función de la glándula y especie que se considere, de la actividad parasimpática a la que continuamente parece estar sometida la glándula. Por tanto, la denervación parasimpática en muchas ocasiones impide que el simpático pueda actuar, aunque este último permanezca funcionalmente intacto.

En comparación con el perro, tanto en la rata como en el conejo, la secreción simpática parece menos dependiente de la actividad parasimpática de fondo. De hecho, tras la sección de la cuerda del tímpano, todavía puede observarse en la glándula submandibular de la rata secreción salival refleja mediada, según parece, a través de la ruta simpática (Ohlin, 1968). A pesar de ello, debe de existir algún grado de dependencia con respecto a la actividad parasimpática, ya que la estimulación simultánea de ambos tipos de nervios, en estas dos especies, da lugar a una potenciación en la secreción de amilasa (Gjörstrup, 1979; Asking et al., 1979).

Este hecho ha sido ilustrado detalladamente por Asking (1985) en la glándula parótida de la rata. Separadamente, la estimulación eléctrica del nervio auriculotemporal en unos casos, o bien la del tronco simpático en otros, evocaba una secreción de amilasa equivalente. No obstante, la secreción de amilasa observada tras la estimulación simultánea de los dos nervios, era significativamente superior a la suma de la obtenida tras la estimulación nerviosa individual. Es más, la estimulación simpática con frecuencias secretoras subumbrales sobreimpuesta a una actividad parasimpática mediana de fondo, producía ya el efecto antes comentado. Por parte simpática la interacción descrita parecía depender por completo de los receptores beta₁, ya que la administración de pafenolol, un antagonista de este tipo de receptores, impedía el efecto multiplicativo observado por la superposición simpática.

Como se desprende de los trabajos previamente comentados, la actuación de ambas ramas autonómicas sobre las glándulas salivales es si-

nérgica, a excepción de su control vascular. De hecho, hoy se acepta una doble inervación en muchos de los elementos glandulares. Sin embargo, el mecanismo celular que une ambas influencias potenciando la respuesta celular constituye todavía un problema no resuelto.

Al parecer, en las células acinares existen dos vías básicas intracelulares que median la respuesta secretora. Una de ellas es puesta en funcionamiento por los receptores beta adrenérgicos estimulando, principalmente, la exocitosis de amilasa mediante un mecanismo en el que se encuentra implicado directamente el AMP-c. Así, por ejemplo, la inhibición de las fosfodiesterasas asociadas al AMP-c, con lo que se incrementan los niveles intracelulares de este neuromediador, potencia la secreción de amilasa (véase Putney, 1986). Los distintos pasos implicados temporalmente en este proceso celular, han sido esquematizados en la figura 1.

Por su parte, la vía del calcio es activada por receptores muscarínicos, alfa adrenérgicos y por receptores peptidérgicos (sustancia P). La actuación del neurotransmisor sobre estos receptores activa un enzima amplificador presente en la membrana celular (fosfodiesterasa PDE), el cual transforma al PIP_2 (4,5-difosfato-inositol), un lípido localizado en la membrana, en un par de segundos mensajeros: el IP_3 (trifosfato de inositol) y el DG (diacilglicerol).

El trifosfato de inositol provoca la movilización de otro mensajero intracelular, los iones calcio, lo que conduce, a su vez, a un incremento en la permeabilidad de la membrana al potasio y sodio para producir un "potencial secretor" que estimula, finalmente, la secreción de electrolitos y agua (Gallacher, 1985).

El DG, el otro mensajero intracelular resultado de la hidrólisis del PIP_2 , actúa activando una protein-quinasa específica, la quinasa C (figura 1). Esta última interactúa con el calcio movilizado de algún modo no conocido regulando, en cierto grado, la secreción enzimática (Berridge, 1985; Putney, 1986).

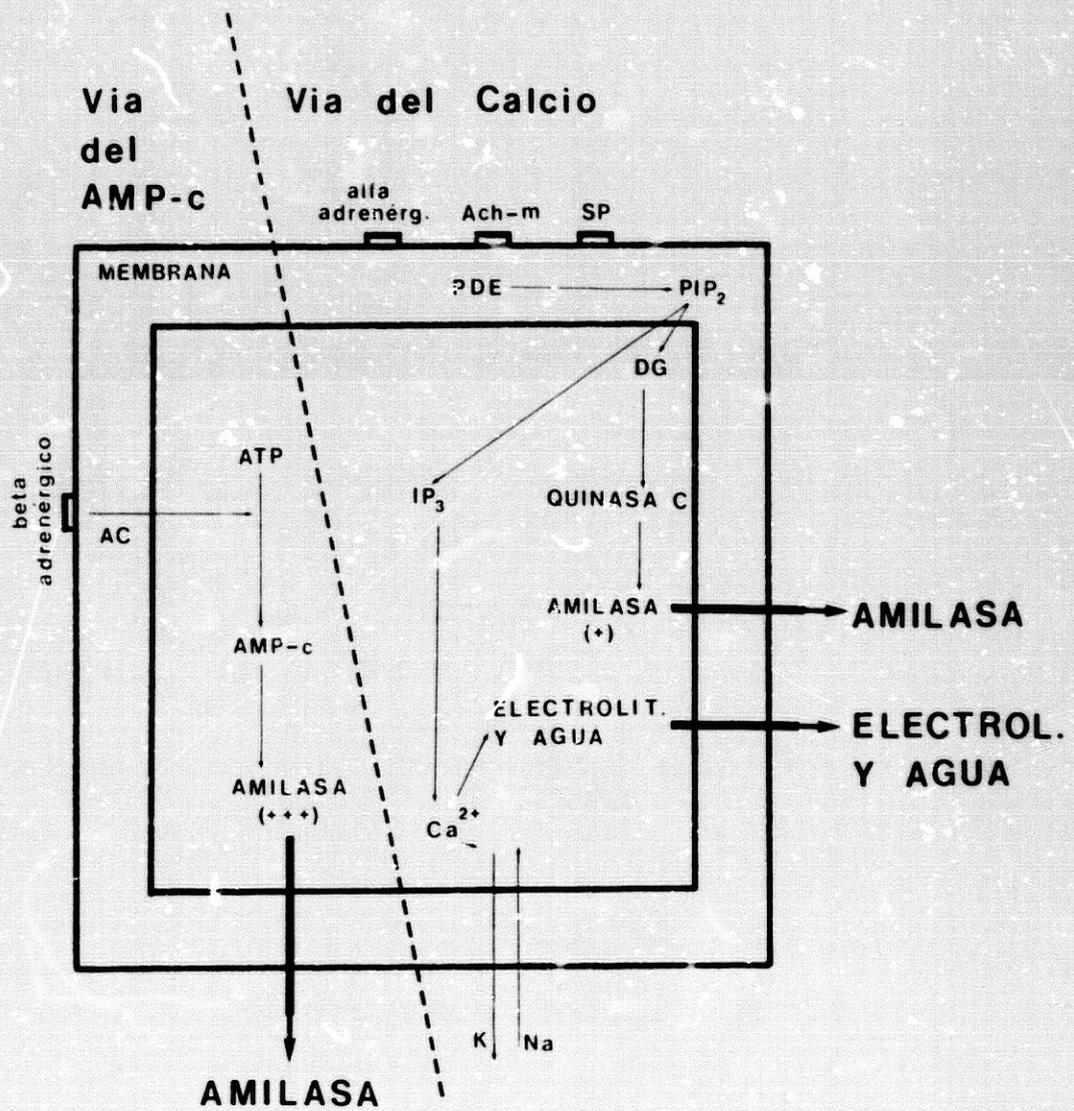
Así, pues, es posible que la actuación simultánea de estas dos vías intracelulares potencie el efecto secretor, particularmente en lo referente al contenido de los componentes orgánicos de la saliva. No obstante, se requieren pruebas experimentales que demuestren que la manipulación directa de ambas vías celulares da lugar a un incremento de la respuesta final. Otro problema vendría constituido por los mecanismos mo-

leculares encargados de promover dicha potenciación cuando ambas vías actúan juntas.

No solamente las influencias simpáticas y parasimpáticas deben converger a nivel glandular, sino que la modulación simultánea de uno y otro sistema eferente en función de las necesidades secretoras presentes en un momento dado, debe ser coordinado por un mismo centro o sistema neurobiológico que ejerza al unísono el oportuno control neural sobre estas dos vías finales de actuación glandular. Debido a la ventaja fisiológica que la activación simultánea de ambas ramas trae consigo, el sistema cerebral modulador debe conocer las necesidades secretoras en cada momento dado, sincronizando un sistema con otro a un nivel de actividad efectivo a fin de inducir las interacciones oportunas. No obstante, como se verá más adelante, no existen pruebas experimentales directas sobre la existencia de un mecanismo nervioso de características a las anteriormente descritas.

FIGURA 1

Esquema de los acontecimientos intracelulares (células acinares) más importantes que parecen mediar entre la activación del receptor por el neurotransmisor y la respuesta secretora. Como se ve, la estimulación de los receptores beta adrenérgicos pone en funcionamiento la vía del AMP-c dando lugar a la secreción de amilasa, fundamentalmente. Los receptores alfa, muscarínicos y peptidérgicos actúan, en cambio, sobre la vía del calcio implicada, principalmente, en la secreción de electrolitos y agua. Esquema elaborado a partir de Gallacher (1985), Berridge (1985) y Putney (1986). Abreviaturas: véase texto.



3. SECRECION REFLEJA DE SALIVA.

.Características y funciones.

.Mecanismos neurobiológicos.

Características y funciones.

En condiciones fisiológicas normales, la actividad de los nervios salivatorios eferentes previamente estudiados, está modulada por las sustancias presentes en la cavidad oral (secreción refleja de saliva), o bien por las características sensoriales de los alimentos que el sujeto se dispone a consumir (el olor, por ejemplo; secreción cefálica de saliva). En cualquiera de estos dos casos, la respuesta salival que se produce es altamente adaptativa y siempre está en función de las características físicas y químicas de un estímulo dado.

En relación a la secreción refleja de saliva, ésta es secretada tras la introducción en la cavidad oral de cualquier producto, ya sea comestible o no. Bajo estas condiciones la secreción observada sigue demostrando su característica especificidad, la cual se manifiesta en tres aspectos distintos: su cantidad, composición química y tipo de glándula que la evoca.

Este fenómeno de especificidad secretora refleja fue muy estudiado por Pavlov y sus colaboradores a finales del siglo pasado (véase Pavlov, 1910). Sus estudios, todavía vigentes, constituyen un necesario punto de partida a fin de estudiar el comportamiento de las glándulas salivales ante los estímulos que normalmente las activan: los alimentos.

De la obra de Pavlov (1910) pueden extraerse numerosas pruebas que sugieren una estimulación específica de las diferentes glándulas salivales, según el tipo de sustancia que es introducida en la boca. Por ejemplo es posible evocar reflejamente secreción submandibular y sublingual de saliva depositando en la cavidad oral del animal (perros) trozos de carne fresca, arena o soluciones ácidas. La glándula parótida, en cambio, no responde a la carne, a no ser que ésta se presente en polvo.

En este último caso, las parótidas secretan una saliva muy concentrada, rica en componentes orgánicos. Asimismo, las parótidas producen una secreción semejante, muy rica en material proteico, cuando se le da al animal ácido que debe rechazar; de este modo se reducen en gran medida los efectos dañinos que puede ocasionar sobre la mucosa oral.

Por su parte, las glándulas submandibulares y sublinguales responden ante sustancias nocivas o desagradables produciendo una secreción de saliva fluida y acuosa. Así, su participación es complementaria a la de las parótidas, ya que esta saliva diluye los productos nocivos, debilitando su acción irritativa y limpiando la boca de dichas sustancias perjudiciales, lo que evitará que cualquier material adherido a la mucosa oral pueda pasar a la sangre produciendo efectos nocivos para el sujeto.

Por otro lado, la composición química de la saliva no es siempre la misma, variando según el tipo de nutriente de que se trate. De ello se sigue, que la saliva parece adaptarse específicamente a la función digestiva concreta que deba llevar a cabo. Un claro ejemplo de esta adaptación de la saliva a los nutrientes que se ingieren, es la "saliva de la leche" (Pavlov, 1910). En efecto, en contra de lo que aparentemente cabría esperar, cuando se toma este alimento se secreta una elevada cantidad de saliva. De hecho, se evoca mayor cantidad de saliva para la leche que, por ejemplo, para la carne. Este aumento en secreción salival se produce a expensas de la glándula submandibular, que incrementa su flujo en comparación con la parótida alterando la proporción que normalmente se observa. No obstante, lo que parece ser más importante para la adecuada digestión de la leche, es el cambio específico en la composición química de la saliva observado en estos casos. Así, se produce una mayor secreción de sólidos orgánicos siendo, por tanto, una saliva muy concentrada. Al parecer, la finalidad de estos cambios adaptativos es conseguir un coágulo más fácilmente digerible cuando el jugo gástrico actúe sobre el mismo.

En resumen, según Pavlov (1910) el funcionamiento reflejo de las glándulas salivales varía específicamente en cuanto a la cantidad y composición de la saliva secretada, dependiendo de las características físicas y químicas del estímulo que la provoque. Además, las variaciones en cantidad y composición no siempre ocurren paralelamente.

Las conclusiones principales obtenidas por Pavlov acerca de la

adaptación específica de la saliva refleja al estímulo con el que interactúa, han sido confirmadas en seres humanos por diversos autores. Uno de los estudios más recientes ha sido llevado a cabo por Dawes (1984). Este autor ha investigado el efecto sobre la composición de la saliva parotídea humana ejercido por los cuatro tipos clásicos de estímulos gustativos (agrio, salado, dulce y amargo). Sus resultados indican que sólo la sal producía una concentración significativamente superior de proteínas y calcio en la saliva. Por otra parte, al igual que el resto de los estímulos gustativos empleados, tampoco la sal evocaba cambios significativos en las concentraciones salivales de potasio, sodio, cloro y magnesio.

Una respuesta refleja tan perfectamente adaptada al estímulo que la provoca, sugiere que deben existir en la cavidad oral diversos tipos de sistemas receptores encargados de informar al Sistema Nervioso Central de las características más significativas de las sustancias introducidas oralmente. Efectivamente, además del sabor de los alimentos (Gjörstrup, 1980a), otras características como su textura (Gjörstrup, 1980b; Anderson et al., 1985) o la estimulación somatosensorial que la comida, u otros productos, pueden ejercer sobre las regiones intra y periorales (Matsuo et al., 1981; Kawamura y Yamamoto, 1982), parecen evocar secreción refleja de saliva.

Una prueba de la abundante inervación sensorial que presenta la cavidad oral, ha sido comunicada recientemente por Dong et al. (1985). Estos autores han demostrado la existencia de mecanorreceptores intradentales en los dientes caninos del gato, inervados por fibras sensoriales del trigémino. Los cuerpos celulares del ganglio semilunar sensibles a la estimulación intradental, sólo aumentaban significativamente su actividad nerviosa si el diente era golpeado suavemente de manera intermitente (con un diapasón). La presión constante no modificaba la respuesta celular. Aunque no se conoce todavía la significación funcional de estos receptores intradentales, los autores sugieren que éstos podrían informar sobre la textura de los alimentos durante la masticación. Así, pues, cabría la posibilidad de que este sistema aferente mediara secreción refleja de saliva, máxime cuando recientemente se ha puesto de manifiesto una relación entre la actividad masticatoria y la secreción parotídea ipsilateral (Anderson et al., 1985).

Aunque el trabajo de Anderson y colaboradores no disocia la saliva secretada por los distintos sistemas aferentes orales que en un mo-

mento dado se están activando durante la alimentación, los autores demuestran claramente una correlación entre el grado de masticación, manipulado mediante la dureza de los alimentos presentados a los conejos (comida seca, húmeda y zanahorias), y el flujo parotídeo ipsilateral a la región oral empleada para la masticación. No obstante, sus datos son de tipo correlacional y no funcional por lo que el cambio en secreción podría depender exclusivamente de las características gustativas del estímulo, por ejemplo, y no de la potencia masticatoria. De todos modos, sus resultados son compatibles con la hipótesis de la existencia de un reflejo masticatorio-salival mediado por mecanorreceptores intraorales.

Según parece, el control reflejo de la secreción de saliva no sólo es modulado por los alimentos cuando estos se encuentran en la cavidad oral. Desde hace algún tiempo, se sabe que la entrada de los nutrientes en el estómago puede también influir sobre la actividad glandular oral. Uno de los estudios más recientes en donde se ha demostrado, una vez más, este fenómeno, ha sido comunicado por Grovum y Leek (1985). Este estudio, llevado a cabo en ovejas, demuestra que es posible evocar secreción refleja parotídea tras el ensanchamiento de la región terminal del esófago, cardias y orificio retículo-omasal. Por el contrario, la estimulación táctil o la presión ejercida sobre estas zonas, lo cual incrementaba las contracciones reticulares, no evocaba salivación. Es más, la estimulación de estos receptores de tensión provocaba un incremento en la actividad neural de las fibras vagales aferentes. El efecto podía ser bloqueado tras la sección del nervio vago.

Según el estudio anterior, por tanto, existen mecanismos nerviosos que podrían modular la actividad salival, al menos, desde la región superior del estómago. Sus funciones y la especificidad en la secreción que dichos sistemas podrían alcanzar, es una cuestión todavía pendiente.

En la oveja y otros rumiantes, Carr (1984) ha sugerido una función digestiva para dicha modulación gástrico-salival. Este autor comprobó en ovejas que la mayor cantidad de saliva parotídea secretada a lo largo del día, lo era no durante periodos asociados a la ingestión directa de la dieta, sino asociada con periodos posteriores coincidentes con la rumiación. Probablemente, durante la rumiación estos receptores gastrointestinales resultan activados causando, de este modo, secreción parotídea refleja. La saliva así secretada puede desempeñar una función

decisiva en la digestión de los alimentos, los cuales sólo han sido sometidos, hasta ese momento, a un leve proceso digestivo.

Además de esta posible función digestiva propuesta por Carr (1984), la secreción refleja de saliva evocada desde el estómago, podría mediar otras funciones relacionadas con la nutrición. De hecho, este reflejo gástrico-salival no es exclusivo de los rumiantes.

Así, Hellekant (1971) comunicó en la rata, una relación entre la distensión del estómago y la actividad neural de las fibras eferentes de la cuerda del tímpano, la cual resultaba reducida tras la manipulación gástrica. Este efecto debía ser mediado por fibras aferentes vagales, ya que la vagotomía lo eliminaba. A pesar de que sus resultados sugieren una modulación de los nervios salivales desde el propio tracto gastrointestinal, no se sabe si la influencia observada afecta o no a fibras eferentes de tipo secretor. Por otro lado, no se demuestra la naturaleza específica del sistema aferente estimulado a nivel gastrointestinal. De hecho, aunque Hellekant sugiere una activación preponderante de los mecanorreceptores gástricos, a través de balones introducidos en el estómago, es posible que su manipulación experimental haya producido, por ejemplo, malestar gastrointestinal (véase Deutsch, Molina y Puerto, 1976). A pesar de estos graves inconvenientes, el estudio de Hellekant indica la posibilidad de un reflejo gástrico-salival.

Este mismo fenómeno antes comentado, ha sido comunicado recientemente en seres humanos (Richardson et al., 1986).

Mecanismos neurobiológicos.

Temporalmente las primeras estructuras implicadas en la mediación del reflejo incondicionado salival, son aquellos sistemas aferentes que inervan la mucosa oral.

Así, pues, el funcionamiento reflejo normal de las glándulas salivales viene determinado por una serie de influencias sensoriales específicas, a las cuales estas glándulas parecen adaptarse perfectamente. Las aferencias gustativas, debido a su mayor capacidad informativa, parecen desempeñar una función más relevante en la especificidad de este reflejo en comparación con el resto de las aferencias orales.

Este hecho fue puesto de manifiesto por Sellheim en el laboratorio de Pavlov (véase Pavlov, 1910; página 82). En este estudio se seccionaba el nervio lingual y glossofaríngeo de los perros. Después de este

tratamiento se administraban en la cavidad oral diversas soluciones ácidas y básicas. Como se sabe, en animales normales estos productos evocan una secreción refleja de saliva que contiene siempre una proporción mucho mayor de sustancias orgánicas que inorgánicas. No obstante, tras la sección de los nervios gustativos este efecto específico sobre la composición de la saliva desaparece, aunque la cantidad de fluido secretado es prácticamente idéntico al anterior. Así, pues, el reflejo general evocado desde la mucosa oral todavía se mantiene, aunque su respuesta específica química queda alterada. Es curioso señalar, sin embargo, que cuando el perro recibe sustancias comestibles la saliva secretada es casi tan rica en materiales orgánicos como la observada antes de la sección de los nervios. En este caso la secreción no debe estar mediada únicamente de manera refleja; por tanto, la estimulación de otros sistemas sensoriales (visión de la comida o su olfacción), que inevitablemente resultan activados durante el procedimiento experimental seguido, podrían haber contribuido a este efecto.

El Tronco Cerebral parece ser suficiente en sí mismo para llevar a cabo este proceso reflejo (Kawamura y Yamamoto, 1978). No obstante, debido a las diferencias cuantitativas y cualitativas observadas en la saliva refleja evocada en función de la naturaleza del estímulo gustativo empleado, lo que demuestra la complejidad de este fenómeno, suele atribuirse cierta función moduladora a estructuras superiores del Sistema Nervioso Central. Así, la lesión de áreas relacionadas con el procesamiento de la información gustativa, la corteza gustativa, por ejemplo, puede reducir significativamente la magnitud de saliva refleja secretada en perros por estimulación gustativa (véase Yamamoto, 1983). A pesar de ello, desde los estudios de Heymann (véase Pavlov, 1910; página 81) se sabe que los déficits secretores reflejos manifestados por los perros con la neocorteza extirpada suelen remitir transcurridos algunos meses tras la cirugía.

El Hipotálamo Lateral parece, igualmente, desempeñar cierta función en el control de la salivación refleja. La destrucción de esta estructura en perros eliminaba inmediatamente después de la operación el reflejo incondicionado salival. En cambio, 4 meses después de la intervención quirúrgica, la magnitud de saliva secretada reflejamente ya alcanzaba el 50 por ciento a la observada con antelación a las lesiones. En estos casos la respuesta salival condicionada siempre resultaba sustan-

cialmente más afectada (Rozkowska y Fonberg, 1972).

En resumen, cuando la secreción refleja de saliva es mediada por aferencias fundamentalmente gustativas, durante la alimentación, por ejemplo, la respuesta secretora alcanza un grado de adaptación muy elevado por lo que en su modulación podrían intervenir estructuras de cierto rango.

Es bien conocida la participación tanto de estructuras eferentes simpáticas como parasimpáticas durante la secreción refleja de saliva, provocada por estimulación gustativa. Gjørstrup (1980b) observó en conejos con los ductos parotídeos canulados, una reducción del 50 por ciento en la secreción de amilasa salival tras la denervación simpática pre o postganglionar. En cambio, la secreción de fluido durante la ingestión de alimentos, parecía depender de la actividad parasimpática, ya que su secreción no era reducida por fármacos bloqueantes adrenérgicos o tras la simpatectomía.

Previamente, Schneyer (1974) ya había sugerido una modulación simpática para la secreción refleja de amilasa en la rata. Tras la administración de atropina, esta autora observó una reducción del 25 por ciento en la cantidad de amilasa parotídea secretada durante el consumo de una dieta seca. Estos datos, por tanto, indican la participación de otros sistemas, además de las vías parasimpáticas colinérgicas, en la secreción refleja de amilasa si bien sus resultados no demuestran directamente una función simpática.

En la glándula submandibular de la rata, se ha comprobado también la posible participación de los nervios simpáticos en la secreción refleja. De hecho, la administración intraoral de ácido cítrico no abolía totalmente la secreción salival en ratas conscientes con la cuerda del tímpano seccionada. La posterior denervación simpática eliminaba completamente la respuesta secretora (Ohlin, 1968).

En el ser humano este fenómeno secretor reflejo ha sido demostrado en diversas ocasiones (Kemmer y Malfertheiner, 1985). Es más, en este trabajo se ha comprobado que la activación de la vía eferente parasimpática o de otros posibles sistemas secretores, los nervios simpáticos, por ejemplo, depende en gran medida de las características químicas del producto estimulante empleado.

En conclusión, por tanto, durante la secreción salival refleja normal, ambas ramas nerviosas interactúan en sus funciones secretoras. La

inervación adrenérgica parece centrarse, generalmente, sobre la secreción de proteínas y otros componentes orgánicos. En cambio, los nervios parasimpáticos secretan una saliva menos viscosa, rica en electrolitos y agua, principalmente.

La participación de estas últimas estructuras parasimpáticas en la secreción refleja de saliva, independientemente de las influencias que los centros salivales del tronco-cérebro puedan recibir desde niveles más rostrales, ha sido muy estudiada por Kawamura y Yamamoto (1978). En este trabajo, ya clásico, se ha demostrado la relación existente entre la actividad sensorial de la cuerda del tímpano, la actividad eferente del mismo nervio y la salivación. Su estudio, realizado en conejos anestesiados decerebrados a nivel supracolicular describe, por tanto, el comportamiento de las vías parasimpáticas periféricas durante el reflejo gustativo-salival.

Según el trabajo anterior, el volumen de saliva submandibular secretado reflejamente en presencia de diversos sabores, estaba directamente relacionado con la actividad neural global de los nervios gustativos. Por otro lado, se ha observado también una correlación muy elevada y de tipo positivo entre el grado de actividad unicelular registrado en las fibras salivales preganglionares y la magnitud de la secreción (Yamamoto y Kawamura, 1977). Es más, la frecuencia de impulsos nerviosos registrados en los axones salivatorios de la cuerda del tímpano, correlacionaban significativamente con la actividad neural registrada en las fibras gustativas, ante la presencia de una gran variedad de estímulos gustativos que evocaban secreción refleja (Kawamura y Yamamoto, 1978).

El hecho de que en animales decerebrados exista una alta correlación entre la actividad aferente gustativa que es transmitida hacia el Tronco Cerebral y el comportamiento eferente de las fibras salivales parasimpáticas, sugiere que la programación de la respuesta salival es llevada a cabo de acuerdo con unas reglas en donde las características sensoriales del estímulo desempeñan un papel primordial. Además, esta estrecha correspondencia entre la información entrante y saliente tiene lugar, hasta cierto grado, en el Tronco Cerebral.

4. SECRECION CEFALICA DE SALIVA.

.Características y funciones.

.Mecanismos neurobiológicos. Sed Prandial.

Características y funciones.

La fase cefálica de la digestión está constituida por un conjunto de respuestas secretoras, observadas a diferentes niveles del sistema gastrointestinal, que anteceden temporalmente al comienzo de la digestión e incluso a la ingestión de los propios alimentos. Aunque desde el siglo XVIII se postulaba su existencia, fue Pavlov (1910) quien demostró, bajo condiciones experimentales controladas, las características principales de esta serie de secreciones, llamándolas "secreciones psíquicas".

Las respuestas cefálicas de la digestión definidas clásicamente son: la secreción salival, la gástrica, la pancreática exocrina y la pancreática endocrina (insulina y glucagón), fundamentalmente.

Dichas respuestas presentan, al menos, tres características fundamentales. Por un lado, los sistemas aferentes que las inician son de localización cefálica (visión, olfacción o gustación de los alimentos). De este modo, la sola visión de la comida en un animal hambriento (Pavlov, 1910) o la olfacción de ésta (Elsberg et al., 1942; Shannon, 1974) provocan secreción salival. Asimismo, Lin y Alphin (1958), han observado un aumento en la cantidad de jugo gástrico secretado en ratas bajo condiciones experimentales de "ingestión ficticia" (sham feeding). En estos casos, la comida ingerida oralmente no alcanzaba el estómago del animal, siendo desviada hacia el exterior a través de una fístula esofágica. Incluso la sola visión de la comida, evoca secreción de jugo gástrico si el perro está hambriento (Pavlov, 1910). Finalmente, en seres humanos, se ha demostrado un incremento significativo en el nivel de insulina plasmático sólo cuatro minutos después del comienzo de la toma de alimentos. La curva de glucemia, en cambio, permanecía constante durante los primeros

veinte minutos, por lo que se considera que la secreción de insulina, en estos casos, tiene lugar antes de la absorción de los nutrientes viniendo causada por la estimulación de los receptores orofaríngeos en el acto de la ingestión (Bellisle et al., 1983). En la rata, la secreción cefálica de insulina, provocada tras la ingestión de glucosa, es bloqueada por la sección del nervio vago (Louis-Sylvestre et al., 1981).

Estos hechos demuestran que el factor clave que modula este tipo de secreciones es resultado de las influencias sensoriales de los nutrientes y no de los eventos fisiológicos que siguen a su ingestión. Así, por ejemplo, la administración de los alimentos directamente en el estómago, sin la estimulación previa de los receptores cefálicos mencionados, no estimula este conjunto de secreciones.

En segundo lugar, además de las características sensoriales propias del alimento, la magnitud de estas respuestas secretoras suele ser influenciada por otros factores externos e internos. De esta manera, el grado de apetencia por un alimento determinado, la posibilidad de consumirlo y el nivel nutritivo (saciedad), fundamentalmente, son variables que afectan significativamente a estas secreciones (Pavlov, 1910; Brand, Cagan y Naim, 1982).

Por último, en tercer lugar, tradicionalmente se acepta que las secreciones cefálicas se desarrollan progresivamente en los individuos como resultado de un proceso de aprendizaje. El propio Pavlov (1910) comprobó que las respuestas viscerales evocadas mediante un procedimiento de "ingestión ficticia" terminan extinguiéndose tras la aplicación repetida de esta situación experimental en la que el animal no se ve reforzado, lo que sugiere la naturaleza aprendida de las secreciones cefálicas. Por tanto, la ingestión del alimento puede asociarse con estímulos medioambientales neutros presentes en la situación experimental, ofreciendo así la posibilidad de condicionar dicha actividad secretora mediante un procedimiento pavloviano o clásico (véase Weingarten y Powley, 1981; Storlien, 1985a).

Filogenéticamente, las respuestas incluidas en la fase cefálica de la digestión se encuentran presentes en numerosas especies. Además de en mamíferos superiores, algunos autores las han observado incluso en aves (Mosher et al., 1985). El hecho de que estos procesos secretores estén presentes en especies tan distantes, demuestra la gran importancia

funcional que tales respuestas desempeñan durante la digestión de los alimentos. Las secreciones cefálicas, al producirse con antelación a la llegada de los alimentos al tracto gastrointestinal, preparan a éste para que digiera y absorba adecuadamente la comida consumida. Asimismo, estas respuestas secretoras preparan a las vísceras a fin de metabolizar y almacenar los nutrientes.

La significación funcional del fenómeno comentado, ha sido puesta de manifiesto claramente en antiguos estudios clínicos realizados en seres humanos que, por exigencia médica, debían ser alimentados intragástricamente. Uno de los ejemplos más conocidos es el "caso Tom", comunicado por Wolf y Wolf en 1943 (véase Powley, 1977). Estos autores observaron que dicho sujeto se encontraba pobremente nutrido cuando la comida administrada era depositada directamente en el estómago, vía fístula. En cambio, cuando el paciente por propia iniciativa degustaba la comida previamente a su administración intragástrica, procedimiento que provocaría la fase cefálica además de proporcionar la consiguiente adición de saliva a los alimentos, éste comenzó a ganar peso presentando, por otro lado, buen apetito.

Los niños nacidos prematuramente ofrecen, igualmente, una buena oportunidad para comprobar los efectos beneficiosos de la fase cefálica sobre la digestión de los nutrientes, y por tanto, sobre la maduración física en general. Como se sabe, en estos niños la conducta de amamantamiento no está coordinada con la deglución de la comida, por lo que suelen ser alimentados rutinariamente administrando intragástricamente los nutrientes vía fístula nasogástrica. Pues bien, Bernbaum et al. (1983) han comprobado que el "amamantamiento ficticio" no nutritivo (succión de un chupete) por parte de estos sujetos antes y durante la administración intragástrica del alimento, acelera el crecimiento y maduración de los niños. En estos casos, el peso corporal observado a las dos semanas tras el comienzo del "amamantamiento ficticio", ya era significativamente superior en los niños estimulados oralmente en comparación al registrado en aquellos no estimulados. A pesar de ello, ambos grupos consumían una cantidad de calorías equivalente.

Entre otros estudios, los realizados recientemente por Ramírez (1985) en ratas sugieren que el efecto anteriormente comentado sea debido, entre otras posibles causas, a una mejora en la digestión de los nutrientes administrados. Este autor, que ha seguido un procedimiento

experimental muy parecido al de Bernbaum y colaboradores, ha demostrado que las grasas administradas directamente en el estómago pueden ser digeridas normalmente si al animal se le permite ingerir oralmente una pequeña cantidad de la dieta que a continuación era inyectada. En efecto, aunque ambos grupos reciben la misma cantidad de alimento intragástricamente, cuatro horas después de su administración los animales que recibieron estimulación oral presentaban una concentración significativamente mayor de triglicéridos en sangre.

Con anterioridad, Molina, Thiel, Deutsch y Puerto (1977) ya habían demostrado claramente los efectos negativos que la administración intragástrica de los alimentos acarrea sobre los procesos digestivos. Los autores anteriores han comparado la lipólisis sufrida por grasas nutritivas en dos grupos de ratas, uno que tomaba el alimento siguiendo el proceso habitual y otro al que se le administraba intragástricamente, vía fístula. En este último grupo la lipólisis era significativamente menor que en el grupo que tomaba el nutriente normalmente. Incluso 15 minutos después de ser inyectados intragástricamente, la proporción de ácidos grasos libres presentes en el contenido gástrico seguía siendo significativamente más pequeña en comparación con los animales alimentados oralmente. Estos resultados señalan la importancia de la fase cefálica para el desdoblamiento apropiado de los alimentos, en particular de las grasas y, por tanto, su relevancia en los procesos digestivos y en la nutrición.

Por otra parte, además de su función digestiva, las secreciones cefálicas mezcladas con el alimento ingerido permiten que los nutrientes interactúen adecuadamente con el sistema gastrointestinal. Así, y dada la capacidad sensorial que presenta el sistema digestivo (Puerto y Molina, 1977), al igual que otros sistemas sensoriales éste requiere para su normal funcionamiento la presencia de estímulos adecuados. Por tanto, cuando se suprime la fase cefálica, los nutrientes alcanzan el sistema gastrointestinal sin haber experimentado una serie de cambios físicos y enzimáticos promovidos por dichas secreciones. En estos casos, los alimentos se hacen aversivos y suelen ser rechazados por el animal.

Este hecho ha sido puesto de manifiesto por Puerto, Deutsch, Molina y Roll (1976a y b). En esta serie de estudios se comprobó que las ratas aprendían a discriminar entre dos estímulos gustativos no nutritivos presentados al mismo tiempo. La ingestión de uno de ellos era pareada

simultáneamente con la inyección intragástrica, vía fístula, de alimentos predigeridos obtenidos del estómago de animales donantes. La elección de otro estímulo gustativo iba acompañada por la administración de suero fisiológico a través de una segunda fístula gástrica. Pues bien, los animales aprendían dicha discriminación gustativa en sesiones experimentales que sólo duraban diez minutos, consumiendo mayor cantidad del sabor asociado a la inyección de productos predigeridos, lo que sugiere, dada la alternancia entre ambos estímulos gustativos, el carácter nervioso del fenómeno comentado.

Igualmente, en un paradigma de discriminación gustativo a corto plazo idéntico al anterior, Puerto y Molina (en preparación) han demostrado este mismo efecto reforzando cuando el nutriente que iba a ser inyectado intragástricamente (dextrina), era mezclado "in vitro" con las secreciones cefálicas gástricas y salivales puras obtenidas del estómago de animales donantes que habían consumido sacarina.

Por su parte, las secreciones asociadas a la fase gástrica no son suficientes por sí solas para generar un efecto reforzante positivo como el descrito anteriormente. En efecto, en un paradigma de discriminación similar al indicado más arriba, la administración intragástrica de alimentos que sólo habían sido sometidos a la fase gástrica de la digestión en el estómago de un animal donante (y no a la fase "psíquica" o cefálica), no producían efectos reforzantes positivos en comparación con el suero fisiológico (Molina, 1978; Molina y Puerto, 1986). Así, pues, la fase gástrica es incapaz en sí misma de sustituir química y fisiológicamente los procesos secretorios cefálicos originados al comienzo de la ingestión.

Los resultados hallados por Puerto y colaboradores, demuestran el carácter reforzante de sólo aquellos alimentos que han sido sometidos a la fase cefálica. Estos estímulos, fisiológica y bioquímicamente adecuados, pueden influir sobre el Sistema Nervioso Central, dada la capacidad sensitiva específica del sistema gastrointestinal, modulando a corto plazo la conducta nutritiva del animal.

La importancia de las secreciones cefálicas en la digestión de los alimentos y en el comportamiento nutritivo en general, se debe a la elevada especificidad observada en estas secreciones en relación al tipo de alimento consumido. En lo referente a la secreción salival, este hecho

es bien conocido desde los trabajos originales de Pavlov (1910). Así, numerosos experimentos llevados a cabo en su laboratorio, muestran que el fenómeno de adaptación que ocurre en la saliva cuando las sustancias son depositadas en la cavidad oral, tal y como se expuso en el apartado anterior, también ocurre antes de que éstas sean introducidas en la boca, cuando alguno de los sistemas sensoriales no gustativos del animal (olfato o visión) resultan excitados.

En sus experimentos, Pavlov (1910) empleó perros con los ductos submandibulares y sublinguales aislados. A los perros, que estaban hambrientos, se les ofrecía diferentes clases de comida, las mismas que se depositaban en la boca en los experimentos realizados en "condiciones fisiológicas" (secreción refleja), anteriormente mencionados. De este modo, Pavlov observó como la secreción salival se ajustaba, en cantidad y composición, a los diferentes nutrientes presentados. Así, por ejemplo, la visión de un trozo de carne evocaba una secreción de saliva viscosa. Más acuosa y en mayor cantidad es la saliva secretada por la visión de una solución ácida, si el perro está familiarizado con sus efectos secretadores. En conclusión, por tanto, parece que existe tanto excitabilidad como adaptabilidad específica de la saliva a los diferentes estímulos, ya sean éstos introducidos en la boca, ya sean vistos por el animal.

La secreción cefálica de jugo gástrico, también varía en cantidad y composición según el tipo de alimento presentado. Ante la leche, por ejemplo, se secreta menos jugo gástrico que ante la vista de carne o pan y, además, este jugo gástrico de la leche contiene menos pepsina que el de otros alimentos (Pavlov, 1910).

Volviendo a la secreción cefálica de saliva, diversos trabajos presentados en los últimos años, han confirmado muchos de los resultados originales de Pavlov extendiendo sus conclusiones a seres humanos.

Recientemente, Christensen et al. (1984) han observado un aumento significativo del flujo salival, en sujetos no obesos, en respuesta a la visión de diferentes tipos de alimentos. No obstante, sus resultados no concuerdan, en algunos aspectos, con los datos preexistentes. Fundamentalmente, el grupo de Christensen no encontró diferencias en salivación en función del grado de privación de los sujetos, una variable de primera importancia, según parece, para el desarrollo de este tipo de respuesta. En animales, sí se ha demostrado claramente que el nivel de privación alimenticio influye decisivamente en la magnitud de la saliva

cefálica secretada (Pavlov, 1910; Soltysik, 1971; Martínez de Victoria, comunicación personal). Posiblemente, la poca fiabilidad existente entre los distintos métodos de recogida de saliva en humanos, así como diferencias en los hábitos alimenticios y otros factores inherentes al procedimiento experimental de difícil control en seres humanos, podrían explicar los resultados parcialmente discordantes de Christensen y su grupo. En animales, en cambio, estos factores son controlados más fácilmente por lo que pueden permanecer constantes de experimento en experimento.

Otros autores, en cambio, sí han comprobado en seres humanos el efecto favorable de la privación alimenticia sobre la secreción salival de origen cefálico. Así, Wooley et al. (1976) han demostrado que, en individuos no obesos, la salivación evocada por la presencia de estímulos alimenticios sólo es incrementada significativamente en sujetos privados. En los obesos, por su parte, siempre se produce un aumento en secreción salival, independientemente de que estén privados o no. Además, tanto los obesos como los normales parecen salivar más en presencia de alimento cuando los sujetos esperan consumirlo, en comparación a cuando no lo esperan. Todos estos resultados han sido repetidos en numerosas ocasiones por este grupo.

Como se ha expuesto hasta ahora, en presencia de alimento suelen producirse simultáneamente un amplio conjunto de secreciones de origen cefálico. A pesar de ello, no son frecuentes aquellos estudios en los que se han medido a la vez varias respuestas de este tipo. En seres humanos, Sahakian et al. (1981) han sido los primeros autores en demostrar este hecho. Efectivamente, en dicho estudio se observó en sujetos sometidos a privación de comida durante 17 horas, un aumento significativo en secreción salival y en los niveles de insulina plasmáticos en respuesta a la presentación (visión y olfato) de una comida apetitosa. El incremento en ambas secreciones era observado inmediatamente después de la presentación del alimento. En el caso de la insulina, sus valores máximos eran registrados a los 6 minutos una vez presentada la comida, a pesar de ello, el nivel de glucemia no resultó afectado.

En relación a la insulina, estos resultados han sido repetidos recientemente en sujetos normales por Osuna et al. (1986).

Mecanismos neurobiológicos.

Los estudios realizados en torno a los mecanismos neurobiológicos de las secreciones cefálicas han sido muy escasos y, por tanto, los sistemas cerebrales implicados directamente en tales respuestas anticipatorias son poco conocidos. Más que datos definitivos, se cuenta con un conjunto de pruebas experimentales indirectas que sugieren la posible delineación cerebral de los centros y vías más importantes relacionados con el control de la fase cefálica de la digestión. En este sentido, numerosos estudios han demostrado, mediante el empleo de técnicas de activación cerebral, principalmente, la existencia de diversos centros de características secretoras. No obstante, la inmensa mayoría de estos trabajos no han comprobado si la capacidad secretora de estas estructuras puede ponerse de manifiesto en condiciones fisiológicas, es decir, bajo las circunstancias ambientales que promueven estas secreciones anticipatorias.

En resumidas cuentas, por tanto, para que un área cerebral pueda ser relacionada inequívocamente con la fase cefálica, ha de demostrarse, en primer lugar, que presenta una capacidad o función secretora. En un segundo paso, habría que comprobar que la actividad secretora generada por dicha estructura viene modulada por estímulos medioambientales adecuados, fundamentalmente, por las características sensoriales del alimento y el grado de privación y expectación del sujeto. Como se verá más adelante, la mayoría de los datos existentes sólo cumplen la primera condición.

Ya se expusieron con anterioridad los centros troncoencefálicos fundamentales implicados directamente en algunas de las secreciones digestivas. Desde hace algunos años, se vienen presentando diversas pruebas experimentales que indican que la actividad secretora de tales estructuras es modulada, principalmente, por centros superiores, en particular por el Hipotálamo.

En efecto, por una parte, se ha demostrado secreción salival tras la activación eléctrica del Hipotálamo Lateral (Grijalva, Tordoff, Geiselman y Novin, 1983). Por el contrario, la lesión hipotalámica lateral o la destrucción de la región Preóptica de la rata, da lugar a un profundo déficit salival (véase más adelante, Kissileff, 1969c y Toth, 1973). Estos resultados son concordantes con los datos presentados por Wang (1980), quien ha observado también salivación tras la estimulación

eléctrica del área Preóptica en gatos.

En relación al Hipotálamo posterior, Ranson comunicó en el año 1935 que la estimulación de este área conduce a un aumento de la secreción de saliva. Asimismo, Hess en 1957 describió un incremento en salivación asociado a la estimulación de distintas áreas hipotalámicas, si bien en un caso la respuesta salival estaba relacionada con rechazo de la comida y en otro con su aceptación. Este hecho sugiere una independencia a nivel hipotalámico, entre los sistemas neurales implicados en secreción y aquellos otros que regulan la ingestión de comida.

En general, estas mismas regiones hipotalámicas regulan también la secreción de jugo gástrico. Este es el caso de la región Preóptica y la zona hipotalámica rostromedial adyacente, cuya activación incrementa el volumen de secreción gástrica así como su contenido de pepsina (Sen y Anand, 1957a).

Igualmente, la región Supraóptica, localizada ligeramente ventral a las zonas anteriormente estudiadas, ha sido implicada en este tipo de secreción. En efecto, Zawoiski y Koplovitz (1977) han observado un incremento significativo en el volumen de jugo gástrico y saliva, secretados simultáneamente, tras la estimulación química de dicha región hipotalámica mediante agonistas colinérgicos. Este aumento en las secreciones gástrica y salival comienza entre los tres y doce minutos después de la administración de los agentes parasimpaticomiméticos, lo que indica la naturaleza neural de estas respuestas. De hecho, la vagotomía abolía la respuesta secretora gástrica.

Con respecto a la participación del Hipotálamo Lateral en secreción gástrica, aunque en la actualidad se admite un control directo por parte de este centro sobre el núcleo Dorsomotor del vago con fines secretores (véase más adelante, Shirahishi, 1980), se han comunicado resultados discordantes en relación a las zonas que, dentro de esta estructura lateral hipotalámica, evocan secreción. Así, Misher y Brooks (1966) sólo han demostrado actividad secretora gástrica tras la estimulación eléctrica de las células laterales que provocan nutrición, no observando efecto alguno cuando la estimulación incidía sobre otras zonas del Hipotálamo Lateral.

Por su parte, Wanda Wyrwicka ha obtenido resultados opuestos a los comentados más arriba. Esta autora sólo observaba secreción cuando la activación neural alcanzaba células del Hipotálamo Lateral cuya estimu-

lación no provocaba la ingestión espontánea de comida. Además, esta misma organización funciones se observa en niveles hipotalámicos más anteriores (Wyrwicka, 1976 y 1978).

Finalmente, tanto la estimulación eléctrica como la microinyección de norepinefrina en el Hipotálamo Lateral, provocan secreción de insulina. Este efecto es bloqueado por la administración periférica de atropina, sugiriendo así la participación de estructuras parasimpáticas (Steffens, et al., 1984).

En base a los datos presentados hasta ahora, cabría pensar que la región hipotalámica lateral y las zonas adyacentes, podrían constituir una de las posibles estructuras implicadas en la génesis o mantenimiento de la secreción cefálica de saliva, así como del resto de las respuestas secretoras mencionadas. De hecho, aún sin decantarse por esta interpretación, diversos autores empleando técnicas de registro unicelular en animales conscientes, han observado células localizadas en esta región hipotalámica y en sus inmediaciones (zona incierta e innominata, fundamentalmente), cuya actividad nerviosa parece depender estrechamente de aquellas condiciones medioambientales e interoceptivas que evocan la fase cefálica. Entre los resultados más significativos obtenidos en esta serie de estudios, destacan los siguientes:

- Un 10 por ciento de las neuronas registradas en la región hipotalámica lateral alteran su tasa de actividad ante la visión o gustación de alimentos. Otro conjunto de células de esta misma zona cerebral, en cambio, sólo parece influido por la visión de la comida (un 3 por ciento del total de células estudiadas). El cambio en la actividad neural detectado en ambos tipos de unidades celulares es específico, no estando mediado por la emisión de movimientos (corporales u oculares), ni por la presencia de estímulos aversivos o activadores. Tampoco la olfacción de los alimentos modificaba el comportamiento neural (Rolls, Burton y Mora, 1976; Ono et al., 1981).
- El comportamiento de las células mencionadas depende del grado de saciedad del sujeto. Una vez los animales se encontraban saciados, no se observaba cambio alguno en la actividad basal de estas neuronas tras la gustación o visión de comida (Burton, Rolls y Mora, 1976).
- Por otro lado, la actividad nerviosa de las células hipotalámicas

descritas puede ser modulada por estímulos visuales neutros, siempre que estas señales exteroceptivas sean asociadas con la presentación de la comida y su posterior ingestión mediante un procedimiento pavloviano de condicionamiento (Mora, Rolls y Burton, 1976).

- En la oveja, la magnitud de la respuesta neuronal registrada en las células hipotalámicas con características semejantes a las mencionadas anteriormente, es proporcional al grado de preferencia manifestado previamente por los animales ante diversos tipos de alimentos: los alimentos más preferidos evocaban siempre la mayor respuesta nerviosa. Asimismo, si la visión de la comida no era seguida por su consumo, la respuesta neuronal terminaba extinguiéndose. Así, pues, además del grado de apetencia por un alimento determinado, la expectación por consumirlo parece desempeñar, igualmente, un papel significativo en la modulación de las respuestas neuronales hipotalámicas (Kendrick y Baldwin, 1986).

En conclusión, por tanto, algunas neuronas hipotalámicas son moduladas por los mismos estímulos medioambientales e interoceptivos que, en condiciones normales, provocan un efecto secretor cefálico. Este hecho sugiere, al parecer, que dicha actividad hipotalámica podría constituir uno de los eventos neurofisiológicos implicados en la manifestación de las secreciones cefálicas.

Por otro lado, desde hace algún tiempo es sabido que las lesiones del Hipotálamo Lateral producen un deterioro en las reacciones salivatorias, fundamentalmente en la respuesta salival condicionada, aunque incluso el reflejo salival incondicionado queda reducido en un 50 por ciento en comparación al valor que presentaba con antelación a la intervención cerebral (Rozkowska y Fonberg, 1972). Estos resultados, en consonancia con los datos neurofisiológicos comentados anteriormente, permiten considerar razonablemente la participación del Hipotálamo Lateral en la secreción cefálica de saliva.

Asimismo, como prueba del control que el Hipotálamo Lateral ejerce sobre la actividad secretora salival, diversos estudios han demostrado que la lesión de dicha zona provoca una alteración comportamental específica asociada, al parecer, a un profundo déficit salivatorio. Este comportamiento ha sido denominado Sed Prandial (Epstein et al., 1964; Kissileff, 1969a).

La conducta prandial presente en los sujetos con un significativo déficit salivatorio (periférico o central), sólo es observada bajo condiciones de comida seca, en donde el grado de sequedad oral es máximo. En estas circunstancias los animales prandiales alternan el consumo de pequeñas unidades de comida con la bebida de diminutas cantidades de agua. Este hecho determina que la frecuencia de bebida y la cantidad total de agua consumida por estos sujetos a lo largo de una comida, sea muy superior a la registrada en animales normales. Asimismo, la cantidad media de agua bebida por respuesta en los animales desalivados resulta significativamente inferior a la observada en sujetos controles (Kissileff, 1970).

En este sentido y, en una serie experimental realizada acerca de los efectos de la desalivación sobre la toma de alimentos y fluidos, Vance (1965) comprobó que este comportamiento prandial desaparecía cuando la comida seca era sustituida por dieta líquida (dos partes de agua por una de comida seca en polvo). Este hecho condujo al autor a sugerir que la excesiva frecuencia de bebida observada en los animales desalivados, era causada por la necesidad de un agente lubricante exógeno que, en ausencia de saliva, facilitara la deglución de la comida seca ingerida. Apoyando esta idea presentó datos experimentales que indicaban un descenso en el consumo de alimento seco más allá del que habitualmente se observa en animales normales, cuando el agua era retirada de la situación experimental; tan pronto como ésta era reintroducida los totales de alimento consumido por los animales desalivados regresaban a los niveles controles. Según parece, por tanto, el modelo prandial de bebida desarrollado en las ratas desalivadas es vital para el mantenimiento de una conducta alimenticia.

El déficit salival necesario para que se desarrolle la prandialidad debe ser elevado y no ha sido asociado a ninguna glándula en particular. Este aspecto del fenómeno ha sido estudiado por Stricker (1970) en ratas, quien ha evaluado el efecto de la desalivación parcial sobre la ingestión prandial de agua. En este estudio la función salival era progresivamente eliminada por una serie de intervenciones quirúrgicas que resultaban, finalmente, en una total desalivación. Según Stricker, los parámetros típicos de la prandialidad, elevada frecuencia de bebida e hiperdipsia asociada a alimento seco, eran observados únicamente cuando los animales eran desalivados por completo. En efecto, ni la sección bilate-

ral, a nivel de la membrana timpánica, de las fibras preganglionares secretomotoras que inervan las glándulas submandibulares y sublinguales (cuerda del tímpano), ni la extirpación de las propias glándulas indicadas, modificaban ninguno de los parámetros antes mencionados. La prandialidad sólo se conseguía cuando a la desalivación ya existente se añadía la provocada por la extirpación de las glándulas parótidas. Del mismo modo, la extirpación parotídea no causaba sed prandial a no ser que se le sumara la desalivación provocada tras la extirpación de las glándulas submandibulares y sublinguales.

Aunque el déficit salival resultante de la inactivación parcial de las glándulas salivales no es suficiente para producir en el sujeto el desarrollo de un modelo prandial de bebida, sí puede provocar la aparición de otros déficits comportamentales cuya observación permite inferir la existencia de una anomalía en secreción salival aunque de menor magnitud a la sugerida por la prandialidad. En los experimentos de Stricker (1970) antes mencionados, este autor observó tras la desalivación parcial inducida, bien por la extirpación de las parótidas o bien por la de las glándulas submandibulares-sublinguales, un incremento en la cantidad de restos alimenticios depositados sobre el suelo de la caja experimental en comparación con el registrado previamente durante la línea base. Una vez se ha efectuado la extirpación de cualquier glándula salival mayor, los restos de comida ascienden unas tres veces manteniéndose, por lo general, estables a pesar de que se incremente el grado de desalivación existente tras la extirpación de las restantes glándulas. Stricker denominó a este aspecto del comportamiento nutritivo de los animales desalivados "ineficacia alimenticia", debiéndose a una incapacidad para manipular intraoralmente la comida seca en ausencia de saliva. También Gjørstrup, 1980b) ha observado este comportamiento en conejos inyectados con atropina, con lo que se reduce marcadamente el flujo salival.

Así, pues, cualquier manipulación experimental que disminuya bien parcial o totalmente la secreción de saliva, tendrá como resultado la aparición de uno de los comportamientos anteriores. Esta información es muy útil a fin de investigar los mecanismos neurobiológicos que median la salivación, ya que posibilita el estudio de este sistema secretor en animales conscientes con libertad de movimientos. Por tanto, la interrupción a nivel cerebral de los sistemas anatómicos relacionados funcionalmente con el control de las glándulas salivales provocaría un déficit en

la secreción de saliva que podría ser evaluado a partir de los comportamientos descritos más arriba. Si el sistema anatómico afectado controla los tres pares de glándulas salivales se esperaría que el animal desarrollase sed prandial.

Pues bien, tras lesiones cerebrales se ha observado sed prandial a dos niveles distintos, en el Hipotálamo Lateral y en la región Preóptica (Kissileff y Epstein, 1969b y Toth, 1973, respectivamente), lo que sugiere que ambas estructuras están relacionadas con un sistema neurobiológico implicado en el control de la salivación durante la ingestión de alimentos.

La modulación salival por parte del Hipotálamo Lateral (HL) ha sido estudiada con cierto detalle. Como es sabido, en los animales recuperados del síndrome del HL la ingestión de agua está regulada por factores no homeostáticos ya que no responden a tratamientos dipsogénicos que evocan en animales controles respuestas de bebida (véase Stricker, 1983). En particular, la sequedad oral producida por la lesión y el consiguiente desarrollo de un modelo prandial de bebida parece ser el factor decisivo en el control de la toma de agua en estos sujetos.

En efecto, Kissileff (1969c) ha comprobado que la administración de agua intraoralmente en ratas hipotalámicas mientras éstas ingerían alimento seco, eliminaba el modelo prandial de bebida. En cambio, cuando la ruta de administración del agua era intragástrica, el estilo prandial de bebida no resultaba afectado. En este último caso, el total de agua prandial bebida a lo largo del día no experimentó cambio alguno, pese a que el volumen de agua inyectada fuese cuádruple al que habitualmente beben estas ratas durante todo un día.

Diversos estudios han demostrado claramente que el HL es un centro directamente relacionado con la secreción salival, lo que confirma la idea sugerida por Kissileff y Epstein que sostiene que la prandialidad registrada tras la lesión hipotalámica lateral viene determinada por la interrupción de un sistema salival cerebral. En efecto, Schallert et al. (1978) y posteriormente Grijalva et al. (1983) han observado hipersecreción salival tras la activación hipotalámica lateral. Asimismo, Hainsworth y Epstein (1966) comunicaron diferencias significativas en la cantidad de saliva secretada entre ratas hipotalámicas y normales en respuesta a un aumento en la temperatura ambiental, un estímulo que induce secreción salival (Hainsworth, 1967; Nakayama et al., 1986). La saliva-

ción observada en las primeras resultó ser muy inferior a la registrada en las ratas controles.

Posiblemente, estos centros o vías que al ser lesionados cerebralmente inducen sed prandial, el Hipotálamo Lateral, por ejemplo, actúan sobre los núcleos salivatorios parasimpáticos del troncoencéfalo, ya que la administración de atropina en animales intactos justo antes del comienzo de la ingestión de comida (alimento seco) desarrolla, en un plazo de dos o tres días, un modelo prandial de bebida idéntico al observado en ratas desalivadas (Chapman y Epstein, 1970).

Finalmente, queda por determinar si los efectos observados sobre la función salival tras la manipulación hipotalámica, prandialidad y secreción de flujo, principalmente, son causados por la actuación sobre somas celulares o bien fibras de paso. Los trabajos de Hosoya y colaboradores (véanse al final de esta página) sugieren la primera posibilidad, ya que los aminoácidos marcados radioactivamente son captados, como es sabido, exclusivamente por los cuerpos celulares. A pesar de ello, diversos estudios realizados tras la microinfusión intrahipotalámica de productos neurotóxicos que destruyen específicamente los somas y no los axones de paso, ácido kaínico e iboténico, principalmente, no han abordado esta cuestión (véase Grossman y Grossman, 1982; Winn et al., 1984; Markowska et al., 1985).

En resumidas cuentas, la prandialidad es un índice comportamental que revela un profundo déficit salival provocado por el tratamiento experimental aplicado al sujeto. Cuando esta conducta es observada tras lesiones cerebrales, el caso del HL, puede concluirse que la intervención quirúrgica ha deteriorado parte de un sistema neural implicado en el control de la totalidad de las glándulas salivales. Este déficit en el comportamiento nutritivo del animal está asociado al sistema parasimpático, cuya interrupción afecta poco a los componentes orgánicos de la saliva aunque sí influye decisivamente sobre el factor lubricante de la misma.

Las vías anatómicas a través de las cuales las neuronas del Hipotálamo Lateral podrían influir sobre los núcleos salivales y el resto de los centros troncoencefálicos directamente relacionados con el control de las secreciones digestivas, han sido delineados recientemente. Hosoya et al. (1981 y 1985), mediante el empleo de técnicas de marcaje neuronal anterógrado (autorradiografía), han descrito repetidamente en los últimos

años las zonas de paso y de terminación de dichas fibras descendentes hipotalámicas. Una de estas vías descendentes directas, discurre a través del área hipotalámica posterior, para terminar en la Sustancia Gris Central del Mesencéfalo. Un segundo haz de fibras marcadas desciende a través del Fascículo Prosencefálico Medial (MFB) hasta el área Tegmental Ventral. Desde aquí algunas fibras continúan descendiendo hasta terminar en los núcleos Parabraquial Lateral y Medial y en el núcleo Reticular Parvocelular, situado a nivel del polo rostral del núcleo motor del Facial (región sugerida por diversos autores como zona de ubicación del núcleo Salival Superior). También se observan terminales de este haz en el núcleo del Tracto Solitario, en el área lateral de la Formación Reticular bulbar (región sugerida por diversos autores como zona de ubicación del núcleo Salival Inferior), en el núcleo Dorsomotor del vago y en el área Postrema (véase figura 2).

Otros estudios, como los efectuados por Berk et al. (1982) en ratas y Shen (1983) en cobayas, empleando también la autorradiografía, han descrito, igualmente, la terminación de fibras procedentes directamente del Hipotálamo Lateral en el núcleo Reticular Parvocelular (núcleo Salival Superior).

También Horst et al. (1984), administrando peroxidasa en los núcleos Ambiguo y Dorsomotor del vago, han demostrado proyecciones directas desde el Hipotálamo Lateral hasta dichas regiones bulbares. Este mismo núcleo diencefálico junto al Hipotálamo Ventromedial, parecen proyectar también indirectamente hacia las dos estructuras troncoencefálicas mencionadas previo relevo en la Sustancia Gris del Mesencéfalo.

A pesar de que la existencia de las conexiones anatómicas mencionadas constituye un hecho fuera de toda duda, es necesario demostrar si dichos sistemas descendentes presentan funciones secretoras, y si éstas participan en las respuestas secretoras cefálicas. Esta cuestión ha sido parcialmente contestada por Shirahishi (1980) en el caso de la secreción gástrica. En dicho estudio se demostraba que la estimulación eléctrica del Hipotálamo Lateral provocaba secuencialmente activación de unidades celulares en el núcleo Dorsomotor vagal, seguida por la activación del nervio vago y, finalmente, secreción de jugo gástrico. Las neuronas registradas a nivel del núcleo Dorsomotor vagal tras la estimulación hipotalámica, presentaban una latencia de activación corta, lo que sugiere que la influencia hipotalámica es directa. A excepción del estu-

dio de Shirahishi, hasta la fecha y desde un punto de vista funcional, existe un desconocimiento general en relación a los centros y vías troncoencefálicas aferentes a los tres "núcleos secretores finales" ya mencionados, no habiéndose comunicado ni un solo trabajo acerca de este tema.

En relación a la participación del Hipotálamo Ventromedial, en general, se acepta cierta modulación por parte de esta región sobre las secreciones cefálicas. No obstante, su función específica no ha sido todavía aclarada.

En este sentido es bien conocida la teoría de Powley (1977), que trata de explicar la hiperfagia y obesidad descrita tras las lesiones en esta zona por una desinhibición de estas respuestas cefálicas. La mayoría de los autores han rechazado actualmente esta explicación. En primer lugar, la vagotomía, que bloquea la secreción cefálica gástrica y de insulina, no siempre elimina la obesidad hipotalámica, particularmente cuando se efectúa con antelación a las lesiones ventromediales (King et al., 1982). Por otro lado, Storlien (1985b) ha demostrado recientemente que la lesión del Hipotálamo Ventromedial no da lugar a una secreción incrementada de insulina durante la alimentación, tal y como la teoría de Powley hipotetizaría. De hecho, las ratas lesionadas no aprenden a responder ante estímulos audiovisuales, asociados temporalmente con la comida, mediante una respuesta condicionada insulínica; no obstante, es posible que sí puedan aprenderla pero que no les sea posible manifestarla. En cualquier caso, el comportamiento de estos animales es contrario al que predice la teoría de Powley.

Por otra parte, ni la respuesta salival condicionada ni la incondicionada resultan afectadas en perros como consecuencia de las lesiones ventromediales. A pesar de ello, este tratamiento producía una exagerada salivación en presencia de estímulos condicionados negativos (Rozkowska y Fonberg, 1973; véase también, Flynn et al., 1980). Así, pues, aunque dicha estructura ejerce cierta influencia sobre la respuesta salival, entre otras secreciones, se requiere más investigación a fin de conocer su participación específica sobre este conjunto de respuestas viscerales.

Además del Hipotálamo, se conocen otras regiones cuya manipulación afecta el desarrollo normal de algunas secreciones. En este sentido, Hassan y Al-Ubaidy (1981) han comunicado secreción de saliva en ratas

tras la estimulación eléctrica del núcleo Vestibular del Cerebelo. La saliva recogida era muy viscosa, siendo secretada tanto por las glándulas submandibulares como por las parótidas. Estos autores sugieren que este núcleo forma parte de una vía simpática, ya que la administración de dihidroergotamina reduce casi a la mitad la cantidad de saliva submandibular secretada. La administración de beta bloqueantes disminuyen aún en mayor magnitud la saliva evocada por estimulación cerebelosa.

A nivel cortical, la estimulación eléctrica del Giro Sigmoides y Proneus en gatos anestesiados evoca flujo salival (Velo y Hoff, 1961).

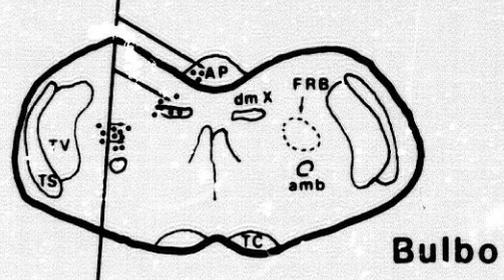
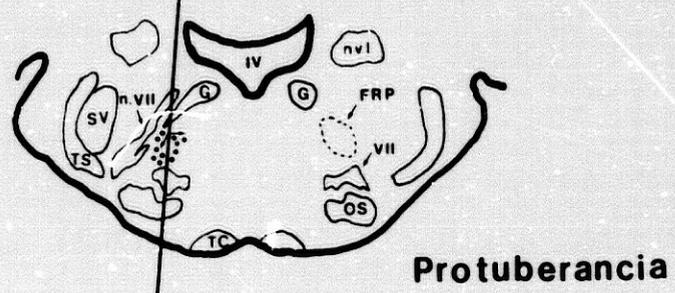
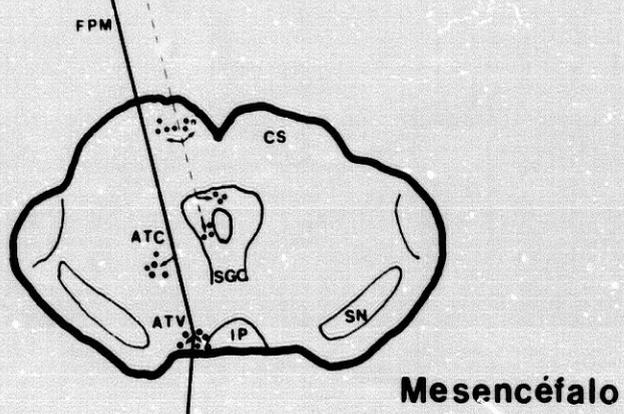
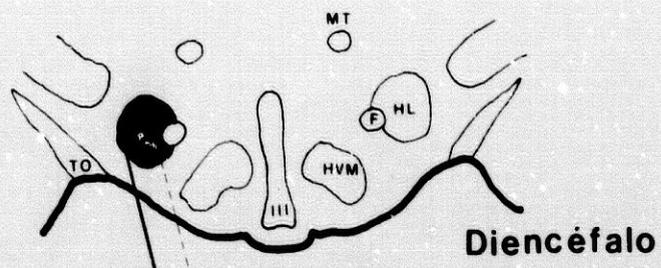
Por otra parte, la activación de la corteza fronto-orbital y la de algunas regiones amigdalinas, es seguida de un aumento en secreción de jugo gástrico (Sen y Anad, 1957b).

Así, pues, esta nueva información plantea la cuestión de si el Hipotálamo Lateral actúa paralelamente con otras estructuras o si es una parte más de un solo sistema. En este caso, cabría preguntarse por el modo como se relacionan los diferentes centros implicados, así como la función propia que cada uno de estos elementos neurales lleva a cabo a fin de controlar las secreciones anticipatorias.

De cualquier modo, la información generada en las regiones rostrales del cerebro debe ser proyectada hacia los núcleos secretores troncoencefálicos y medulares, única vía de salida hacia las estructuras viscerales. A nivel troncoencefálico; los diferentes centros con capacidad secretora se encuentran disociados anatómicamente. No obstante, la ubicación de los núcleos salivales ha presentado diversos problemas. A continuación se expondrán los diferentes intentos neuroanatómicos encaminados a identificar estas estructuras, trabajos que fueron comenzados hace más de ochenta años y que sólo en el momento presente parecen estar alcanzando conclusiones fiables sobre su localización anatómica.

FIGURA 2

Secciones coronales de un cerebro de rata a diferentes niveles anteroposteriores, donde se muestran las principales regiones de terminación de las fibras descendentes con origen en el Hipotálamo Lateral. En el corte coronal superior puede observarse la zona afectada por la inyección de los aminoácidos marcados (sombreada en negro). Como se ve, existen dos sistemas independientes que proyectan directamente hacia el Tronco Cerebral. Una de estas vías presenta terminales nerviosos (puntos negros) en la Formación Reticular pontina y en la bulbar, regiones en donde se cree están ubicados los núcleos salivales superior e inferior, respectivamente. Dibujo realizado a partir de Saper et al. (1979), Hosoya y Matsushita (1981), Berk y Finkelstein (1982) y Hosoya (1985). Véanse abreviaturas en Apéndice.



MEDULA
ESPINAL

5. LOS NUCLEOS SALIVALES DEL TRONCOENCEFALO: NEUROANATOMIA.

.Estudios con técnicas de degeneración.

.Tinción de colinesterasa.

.Transporte retrógrado de peroxidasa (HRP).

El estudio de los centros troncoencefálicos de los que depende directamente la secreción parasimpática de saliva, comenzó a principios del presente siglo y desde entonces hasta hace apenas una década su localización anatómica ha sido objeto de numerosas discrepancias entre los distintos autores.

El núcleo salival más estudiada y que mayor polémica ha suscitado ha sido el núcleo Salival superior (n.S.s.), región de origen de las neuronas preganglionares que inervan las glándulas submandibulares y sublinguales. No obstante, a pesar de los resultados divergentes obtenidos por diversos autores desde las primeras comunicaciones hasta el momento presente, parece existir conformidad con respecto al nivel troncoencefálico en donde dicha estructura secretora podría enclavarse: la región fronteriza entre la Protuberancia y el Bulbo Raquídeo.

Históricamente, desde un punto de vista neuroanatómico, los conocimientos sobre la localización y estructura del n.S.s. han sido generados a través de diferentes técnicas de estudio, que se han sucedido consecutivamente a lo largo del presente siglo.

En una primera época que finaliza en la década de los setenta, las pruebas anatómicas se obtuvieron, principalmente, mediante el empleo del método de degeneración retrógrada celular y por el procedimiento histológico de la tinción de colinesterasa. El procedimiento seguido en la primera técnica, consistía en seccionar la cuerda del tímpano y observar posteriormente los cambios cromatolíticos producidos en los somas de dichas neuronas eferentes. Sin embargo, y como característica general, entre los numerosos estudios realizados con esta técnica, cabe señalar el desacuerdo existente entre las diversas comunicaciones presentadas por los autores. Así, algunos trabajos como los realizados por Yagita et al.

(1909), Torvik (1957), Lorente de Nó (1922) y Papez (1929), coincidieron en situar el n.S.s. en la Formación Reticular Lateral bulbopontina. Otros estudios, sin embargo (Kohnstamm, 1902; Szentágothai, 1952; Kaida, 1929 y Bijlani y Keswani, 1970), no confirmaron dicha localización, situando este núcleo en regiones distintas a la mencionada, si bien dentro de la zona bulbopontina (véase figura 3).

Tampoco los estudios anatómicos realizados con técnicas histoquímicas de tinción de colinesterasa han aportado datos unánimes sobre la localización de un posible centro salival en el troncoencéfalo. Los principales trabajos efectuados mediante este procedimiento histoquímico localizaron los centros salivales en la región dorsal de la Protuberancia (Shute y Lewis, 1960; Brown y Howlett, 1968 y 1970), no observando fibras ni somas teñidos en la Formación Reticular Lateral. Estos resultados, más que aclarar la controversia existente, acrecentaron aún más la polémica planteada sobre la posible participación de la Formación Reticular bulbopontina en el control de la actividad de las glándulas salivales, proponiendo nuevas zonas anatómicas como regiones de origen de las fibras preganglionares salivatorias (véase figura 4).

En resumen, pues, ni los estudios anatómicos basados en la técnica de degeneración retrógrada celular ni aquellos basados en técnicas histoquímicas, han aportado datos unánimes sobre el emplazamiento neuroanatómico del n.S.s.

Recientemente se han propuesto algunas razones que podrían explicar la disparidad de resultados obtenidos en los diferentes trabajos ya comentados. En relación a la técnica de degeneración retrógrada celular, se han hallado signos cromatolíticos en neuronas normales, lo que hace muy difícil la identificación de los cambios retrógrados degenerativos inducidos experimentalmente. Por otra parte, la intervención directa sobre una estructura nerviosa periférica (la cuerda del tímpano, por ejemplo), supone inevitablemente la lesión de las regiones próximas (piel, tejido muscular, etc.) lo que puede ocasionar la sección de fibras nerviosas de paso o de terminales nerviosos, dando lugar a un proceso degenerativo que contaminaría el efecto deseado.

Con respecto a las técnicas de tinción de acetilcolinesterasa, hoy se sabe que las reacciones positivas no están restringidas a las estructuras parasimpáticas, sino que son comunes a todos los núcleos motores. De esta forma, una reacción positiva no necesariamente implica la

existencia de una estructura parasimpática secretomotora. Por otra parte, existen dificultades para diferenciar si las reacciones positivas se han producido en los somas neuronales o en los axones.

Esta polémica neuroanatómica antigua parece haber comenzado a resolverse a partir de la década de los setenta, con la aplicación de la técnica de transporte retrógrado de peroxidasa. El empleo de esta técnica permite distinguir claramente entre cuerpos celulares y fibras afectadas por la reacción enzimática. A la vez, proporciona un alto grado de selectividad gracias a la especificidad de la peroxidasa para ser captado exclusivamente por las terminales nerviosas (La Vall, 1975).

El primer autor en describir la localización de los somas del n.S.s. teñidos con peroxidasa fue Hiura (1977) y hasta la fecha se han comunicado, empleando la misma técnica, trece estudios más realizados en diversas especies animales. Al contrario de lo que era norma hasta aquí, este conjunto de trabajos coinciden todos en localizar el n.S.s. en la misma región neuroanatómica, independientemente de la zona en la que se administró la peroxidasa (glandularmente, ducto submandibular-sublingual u oído medio, principalmente), hecho que define a estos estudios como ejemplares dentro de este área de investigación, dada la divergencia de resultados obtenidos hasta entonces.

Resumiendo las conclusiones unánimes de estos estudios, los cuerpos celulares que constituyen el n.S.s. se localizaban ipsilateralmente en la región lateral de la Formación Reticular bulbopontina (Formación Reticular Parvocelular; Eisenman y Azmitia, 1982; Tramonte y Bauer, 1986). Esta zona, como se ha comentado anteriormente, ya había sido sugerida como lugar de asiento de neuronas salivatorias por algunos neuroanatomistas de la primera época (por ejemplo, Yagita et al., 1909).

En la rata, la región más anterior de este núcleo está situada dorsalmente al borde posterior de la Oliva Superior. Estas células salivatorias forman una columna longitudinal que discurre caudalmente a través de la Formación Reticular bulbopontina, ocupando la región dorsolateral al núcleo motor del Facial. El límite posterior de este núcleo salival viene representado por la terminación del núcleo motor del nervio Facial y por el comienzo del núcleo del Tracto Solitario (Contreras et al., 1980). Lateralmente, el n.S.s. definido mediante peroxidasa, limita con el núcleo Espinal del Trigémino, del cual se encuentra separado unas 800 micras, aproximadamente (Mitchell y Templeton, 1981). Finalmente, en

su límite medial pueden observarse las fibras ascendentes del núcleo motor del Facial (Hosoya et al., 1983). Algunas de estas fibras atraviesan ventrodorsalmente el núcleo salival en su trayecto hacia el genu del Facial. En la figura 5 puede apreciarse la localización precisa del n.S.s. a la que ha conducido esta serie de estudios.

Resultados similares a los obtenidos en la rata se han observado, empleando esta misma técnica, en otras especies animales. Tal es el caso del hamster (Whitehead et al., 1983), el cobaya (Way, 1981), el perro (Chibuzo y Cummings, 1980a), el gato (Satomi et al., 1979a), el conejo (Matsuo et al., 1980) y el mono (Perwaiz et al., 1982), principalmente. En estos casos la peroxidasa era también depositada a diferentes niveles de la cuerda del tímpano, según el estudio que se considere. No obstante, la zona marcada cerebralmente permanecía constante a lo largo de todos los trabajos comunicados.

Los cuerpos celulares que componen el n.S.s. suelen presentar un tamaño mediano (Mitchell y Templeton, 1981), perteneciendo al tipo multipolar (Hiura, 1977).

En numerosas ocasiones, no toda la peroxidasa captada por un terminal axónico es conducida al soma celular. Parte de este enzima puede depositarse a diferentes niveles del cilindroeje. Este hecho ha sido aprovechado por algunos autores a fin de describir el recorrido intracerebral de los axones secretomotores originados en los somas salivatorios superiores, antes de que éstos se incorporen al nervio Intermediario.

Así, en la rata, las fibras eferentes de dichas neuronas salivatorias ascienden paralelamente a las fibras motoras procedentes del núcleo del VII par craneal, hasta alcanzar la zona lateral al genu del Facial. En este nivel dorsal del troncoencéfalo, los axones salivatorios se arquean lateralmente formando un genu secretomotor. Desde aquí, este haz de fibras secretoras desciende lateralmente y atravesando el núcleo Espinal del Tracto del Trigémino, alcanza el borde ventrolateral de la unión bulbopontina para formar parte del nervio Intermediario de Wrisberg (Contreras et al., 1980. Véase también, Whitehead et al., 1983). En el gato, el genu secretomotor anteriormente descrito presenta mayores proporciones, rodeando completamente al genu del Facial (Nomura y Mizuno, 1981).

En algunos de los estudios efectuados con peroxidasa ya mencionados se sugiere, asimismo, la localización anatómica del núcleo Sali-

val inferior (n.S.i.), región de origen de las neuronas preganglionares parasimpáticas que inervan la glándula parótida. Tras la aplicación de peroxidasa a diferentes niveles del nervio timpánico (oído medio o ganglio ótico), se ha observado una distribución de neuronas marcadas muy similar a la hallada en el caso del n.S.s. No obstante, los somas de las neuronas preganglionares parotídeas alcanzan su mayor densidad en una zona más caudal y dorsal al centro de eferencias submandibulares (Sato-mi et al., 1979b; Nicholson y Severin, 1981). Por tanto, aunque se ha descrito una superposición anatómica entre ambos núcleos salivales, en los niveles anteriores e intermedios predominan las neuronas salivatorias superiores. A niveles más posteriores, en cambio, y coincidiendo con la Formación Reticular Lateral bulbar, existe un predominio de somas salivatorias inferiores (véase figura 5). Del mismo modo, el genu secretomotor formado por las fibras eferentes originadas en el n.S.i. está localizado a un nivel anatómico algo más posterior al ocupado por el genu secretomotor superior (Contreras et al., 1980; Nomura y Mizuno, 1982).

Además de las glándulas salivales, la Formación Reticular Lateral bulbopontina inerva, igualmente, otras estructuras secretoras periféricas. Así, algunos autores han demostrado proyecciones ipsilaterales desde dicha zona troncoencefálica hasta los ganglios autonómicos que inervan las glándulas intralinguales (Chibuzo et al., 1980b; Yu et al., 1980). Por otra parte, recientemente Hosoya et al. (1984), tras la administración de peroxidasa en el nervio petroso mayor, han descrito la localización de un centro lacrimal coincidente con la zona ventral del n.S.s. Por tanto, no sería de extrañar que la activación de este centro salival superior evocara diversos efectos secretores.

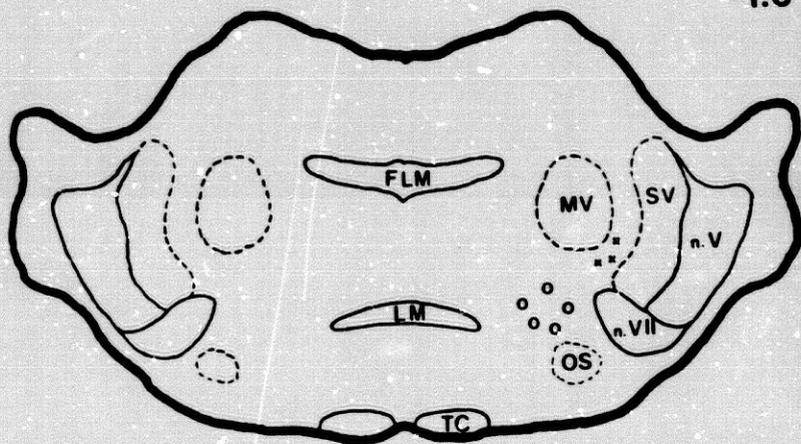
En conclusión, como se ha expuesto a lo largo del presente apartado, la estrecha concordancia obtenida entre los diferentes estudios que han empleado la técnica de peroxidasa parece haber resuelto la polémica planteada desde principios de siglo sobre la localización neuroanatómica del n.S.s. La región definida por estos trabajos como n.S.s. se corresponde con la Formación Reticular Parvocelular. Sin embargo, antes de conceder a dicha zona troncoencefálica funciones salivatorias, es necesario demostrar fisiológicamente su participación en este proceso secretor.

FIGURA 3

Localización a nivel bulbopontino del núcleo Salival superior, según los estudios efectuados con la técnica de degeneración retrógrada celular. Las proyecciones ipsilaterales se representan en la mitad derecha; las bilaterales y contralaterales, en la izquierda. Como puede apreciarse, Yagita et al. en 1909 (+), Lorente de Nó en 1922 (+), Papcz en 1929 (+) y Torvik en 1957 (o) coincidían en localizar el n.S.s. en la Formación Reticular Lateral bulbopontina, mientras que otros como Kohnstamm en 1902 (·), Szentágothai en 1952 (*) y Bijlani y Keswani en 1970 (•), entre otros, lo localizaban en regiones distintas, generalmente bastante amplias, si bien dentro de la región bulbopontina. Diagrama realizado a partir de los datos aportados por los autores citados, adaptados al atlas de Pellegrino et al. (1979). Véanse abreviaturas en Apéndice.

A

-1.6



B

-2.8

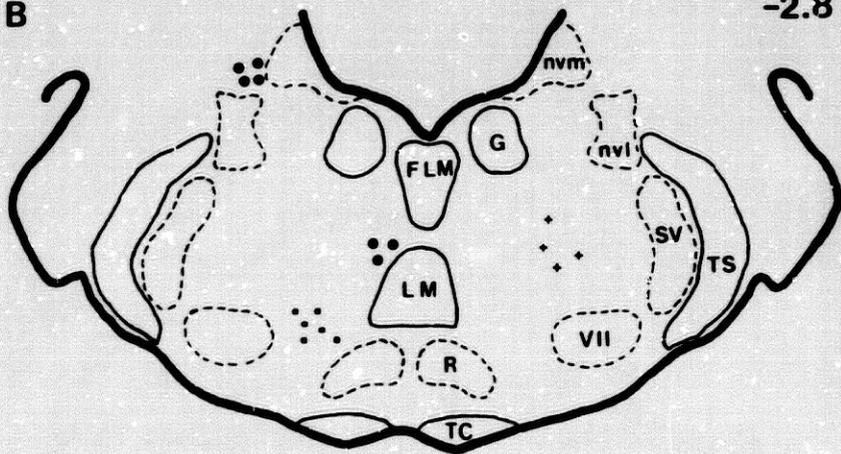


FIGURA 4

Localización a nivel bulbopontino del núcleo salivatorio según los estudios realizados con la técnica de tinción de colinesterasa. En la mitad derecha (zona punteada) se representa la localización sugerida por Brown y Howlett (1968). En la mitad izquierda (zonas punteadas), las sugeridas por Shute y Lewis (1960). Diagrama realizado a partir de los datos aportados por los citados autores, adaptados al atlas neuroanatómico de Pellegrino et al. (1979). Véanse abreviaturas en el Apéndice.

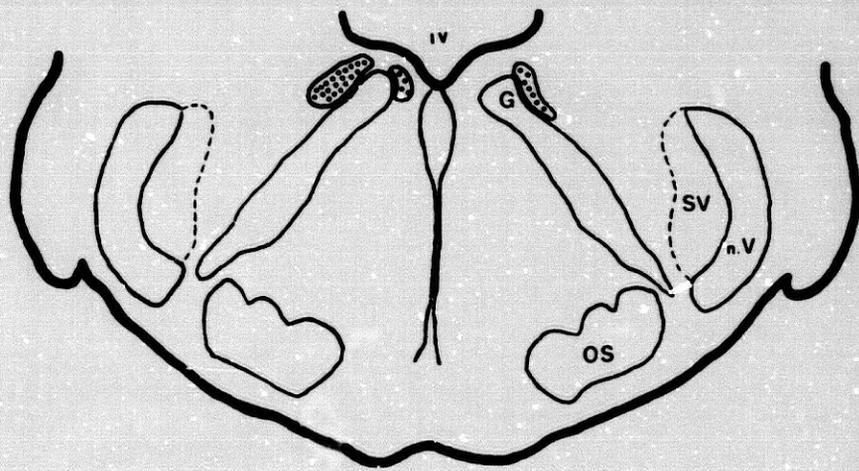
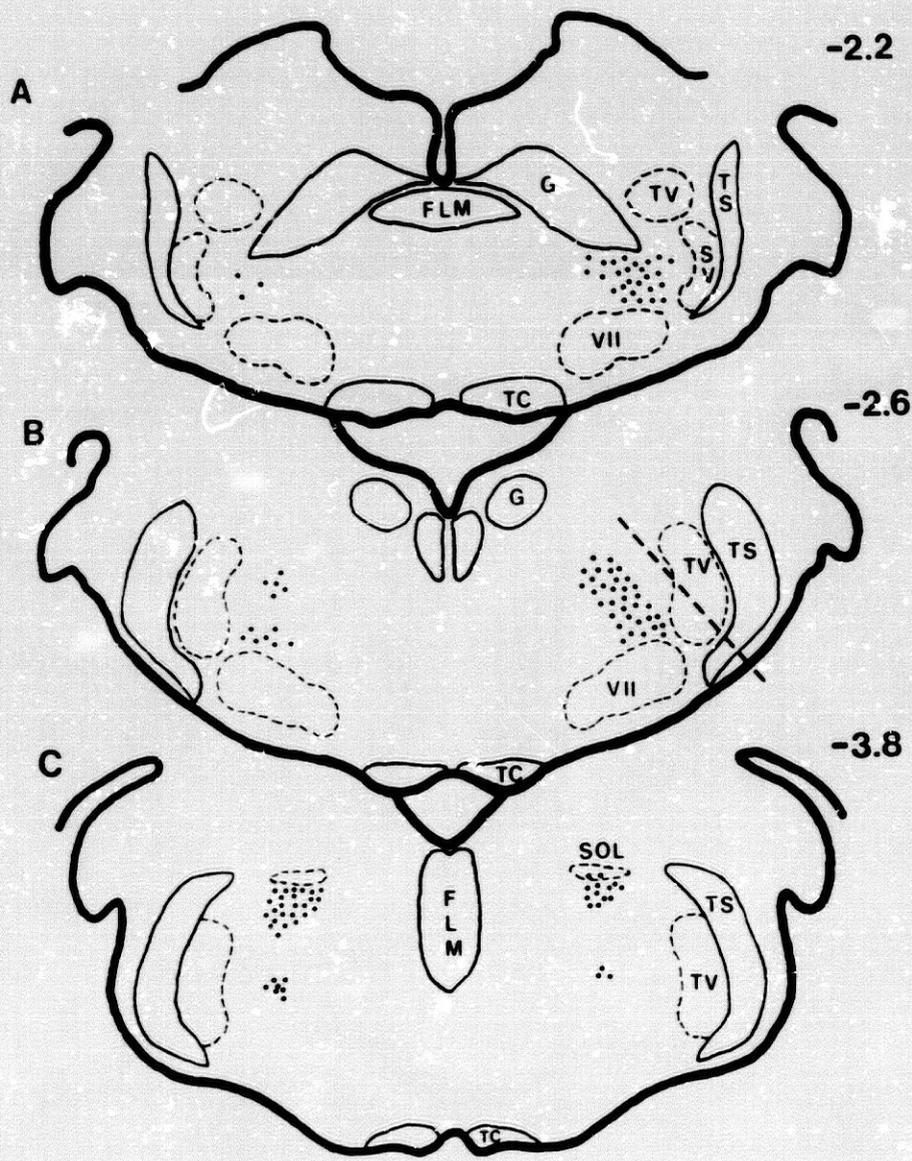


FIGURA 5

Localización a distintos niveles de la región bulbopontina del núcleo Salival superior e inferior, observados tras la aplicación de peroxidasa en las fibras salivatorias preganglionares. A, B y C: en la mitad derecha se representa el núcleo Salival superior (•) y sus axones secretomotores (véase en el corte B:-----). En la mitad izquierda se representa el núcleo Salival inferior (•). Diagrama realizado a partir de las observaciones de Hiura, Contreras, Mitchell, Nicholson y Hosoya, según las coordenadas estereotáxicas de Pellegrino et al. (1979). Véanse abreviaturas en Apéndice.



6. CELULAS SALIVALES EN EL TRONCOENCEFALO: ELECTROFISIOLOGIA.

.Registros unicelulares.

.Estimulación eléctrica.

Como sugieren los estudios anatómicos realizados con peroxidasa, los núcleos salivales del Tronco Cerebral representan la "vía final común" parasimpática a través de la cual las influencias nerviosas generadas a distintos niveles del cerebro alcanzan las glándulas salivales.

Esta idea ha sido demostrada en los últimos años mediante técnicas de registro uniceleular. En efecto, las células salivales circunscritas en la zona definida como n.S.s. según los estudios de peroxidasa, son activadas antidrómicamente tras la estimulación de las fibras salivatorias preganglionares a diferentes niveles periféricos, particularmente a la altura del hilio glandular (Murakami et al., 1982; Eisenman, 1983). Estas mismas neuronas superiores registradas a nivel troncoencefálico suelen ser activadas ortodrómicamente tras la estimulación periférica de ramas sensoriales del Trigémino (Murakami et al., 1983). Al parecer, esta conexión trigémino-salival es polisináptica debido a las latencias de activación intermedias observadas en los somas salivales (Matsuo, Yamamoto y Kawamura, 1982).

En el núcleo Salival inferior, Ishizuka y Murakami (1986) han demostrado un fenómeno similar al descrito anteriormente. En este caso, la estimulación del nervio timpánico a nivel del oído medio evocaba respuestas antidrómicas en neuronas localizadas en la Formación Reticular bulbar, área coincidente con la zona de ubicación del n.S.i. según los estudios efectuados con peroxidasa, ya mencionados. Igualmente, la estimulación de diversas ramas sensoriales pertenecientes al Trigémino provocaban potenciales de acción ortodrómicos en dichas neuronas salivales.

En resumen, por tanto, el valor de estos estudios neurofisiológicos estriba en haber demostrado una conexión directa entre las células salivales del Tronco Cerebral y las vías periféricas con dirección hacia las glándulas salivales. Por otro lado, estos trabajos sugieren un

posible sustrato neurobiológico a través del cual las aferencias sensoriales procedentes de la región perioral podrían modular el reflejo trigémino-salival, previamente comentado.

Si la localización neurofisiológica y anatómica de las células salivales que constituyen el n.S.s. parece quedar restringida a una franja inmersa en la región Parvocelular del Tronco, cabe suponer que la activación eléctrica de esta región evoque secreción de saliva submandibular y sublingual. No obstante, diversos estudios realizados con estimulación eléctrica durante los últimos setenta y cinco años, han sugerido que los puntos troncoencefálicos que evocan secreción no coinciden ni quedan restringidos, en la mayoría de los casos, a la zona bulbopontina que recientemente se ha definido como n.S.s. mediante el empleo de técnicas neuroanatómicas fiables (peroxidasa).

La mayoría de estos estudios se realizaron a mediados del presente siglo, en una época en la que los conocimientos anatómicos existentes sobre la localización del n.S.s. era objeto de controversia. Este hecho condujo a los distintos autores a no centrarse en áreas concretas del Tronco Cerebral, explorando la capacidad secretora de amplias zonas pontinas y bulbares.

Así, Chatfield (1941) describió en gatos una extensa zona situada entre el núcleo motor del VI par craneal y la Oliva Superior muy sensible a secreción submandibular. Asimismo, la estimulación de la región del genu del Facial parecía evocar salivación.

Por su parte, Magoun y Beaton (1942) y Wang (1943), describieron en gatos una franja oblicua muy sensible a secreción submandibular y parotídea que se extendía desde la región medial del genu del Facial hasta la zona ventrolateral de la unión bulbopontina próxima a los puntos de salida de los pares craneales VII y IX. Las áreas intermedias de esta franja salivatoria se correspondían con los puntos dorsolaterales de la Formación Reticular y con el núcleo del Tracto Espinal del Trigémino.

En estos tres trabajos anteriormente mencionados, existe acuerdo en situar las zonas sensibles a la secreción submandibular y sublingual en la posición más anterior de la unión bulbopontina. Las zonas intermedias parecen evocar tanto secreción submandibular como parotídea. Finalmente, en la región posterior se observa un predominio de puntos parotídeos. Asimismo, la salivación registrada era de naturaleza parasim-

pática ya que la simpatectomía no anulaba la secreción.

Con anterioridad, Miller en el año 1913 ya había señalado en las zonas dorsales del troncoencéfalo, ventralmente al suelo del IV ventrículo y en las proximidades del genu del Facial, la existencia de un posible centro salival. La estimulación de esta región era seguida por un fuerte efecto secretor.

A partir de estos estudios ha sido imposible obtener conclusiones definitivas sobre la localización de las neuronas preganglionares que forman el n.S.s., ya que con esta técnica jamás se ha podido determinar si el efecto secretor era evocado por la estimulación de fibras o de cuerpos celulares. No obstante, puesto que los efectos secretores más poderosos siempre eran observados en las regiones dorsales (junto al genu del Facial) y laterales (núcleo Espinal del Trigémino, principalmente) de la unión bulbopontina, se asumió que los centros salivales debían estar ubicados en estas zonas. Hoy se sabe, en cambio, que estas regiones troncoencefálicas se corresponden con las rutas de paso de los axones eferentes salivatorios, lo que explica que la estimulación de estas eferencias agrupadas en fascículos siempre evoque mayor salivación que la que sigue a la activación de somas dispersos.

A pesar de las conclusiones incorrectas sobre la localización de los núcleos salivales a que llegaron estos estudios iniciales, todavía se mantiene la idea sugerida por dichos trabajos que sostenía una posición predominantemente rostral para aquellos puntos reactivos a la secreción submandibular, seguida por una franja intermedia mixta y un tercer bloque caudal con predominio de puntos parotídeos. En la figura 6 pueden observarse las zonas cuya activación eléctrica provoca secreción salival según las observaciones comunicadas por los distintos autores señalados.

Desde el año 1943, fecha en la que se publicó el trabajo de Wang, hasta la década de los ochenta, no se han comunicado estudios funcionales sobre el n.S.s. Sólo en estos últimos años, y dada la enorme precisión aportada por la peroxidasa en la localización de este núcleo, ha resurgido nuevamente cierto interés por demostrar si la zona Parvocelular propuesta por la anatomía presenta funciones secretoras.

En esta línea Matsuo et al. (1980), en un estudio principalmente histológico ya mencionado realizado en conejos, han señalado que la microestimulación de diferentes puntos restringidos a la Formación Reti-

cular Lateral y en las proximidades del genu del Facial, evoca un incremento en la temperatura submandibular (índice sustitutivo de la vasodilatación). Este efecto, que se obtiene en animales simpatectomizados, se halla correlacionado significativamente con un aumento en secreción submandibular. Estos resultados, por tanto, sugieren que el origen de las fibras secretoras y vasodilatadoras que inervan la glándula submandibular del conejo se localiza en una amplia zona troncoencefálica parte de la cual coincide con la Formación Reticular Lateral.

La información aportada por este trabajo es muy incompleta. En primer lugar, falta por demostrar la especificidad de su efecto secretor. Asimismo, sus resultados no determinan las regiones reticulares estimuladas ni el grado en el que la secreción parotídea resultada afectada. Por tanto, y dada la demostrada superposición de neuronas salivales superiores e inferiores, es posible que la región activada pertenezca predominantemente al n.S.i., con lo que las conclusiones inferidas a partir de las respuestas submandibulares no se ajustarían a la realidad. Así, pues, el aspecto más relevante del estudio de Matsuo y colaboradores consiste en haber comunicado un efecto submandibular tras la estimulación de puntos circunscritos en la Formación Reticular, entre otras zonas; fuera de esto, su comunicación no deja de ser polémica.

En un segundo trabajo de estimulación eléctrica presentado recientemente, Donaldson, Mitchell y Templeton (1984a y b) han intentado confirmar funcionalmente la localización anatómica del n.S.s. según las nuevas coordenadas sugeridas por la peroxidasa. En ratas con los ductos submandibulares y parotídeos canulados así como con el tronco simpático seccionado, los autores estimularon diferentes regiones bulbopontinas. Según los propios resultados histológicos presentados por este grupo, el centro salival parecía extenderse a todo lo largo del núcleo del Tracto Espinal del Trigémino. Al parecer, la estimulación eléctrica de esta zona provocaba secreción salival de la glándula parótida ipsilateral (\bar{x} = 18 miligramos por minuto de estimulación), apreciándose sólo un lento flujo de saliva en la glándula submandibular.

Un análisis detenido de estos resultados revela diversas contradicciones con los datos neuroanatómicos más recientes. No obstante, estas discrepancias parecen ser fácilmente explicables. En primer lugar, estos mismos autores (véase Mitchell y Templeton, 1981) habían localizado con anterioridad el n.S.s. circunscrito a la región Parvocelular de la

Formación Reticular. A pesar de ello, en este estudio funcional los puntos de estimulación se sitúan más lateralmente, incidiendo directamente en el núcleo del Tracto Espinal del Trigémino (véase figura 7). No sería de extrañar, por tanto, que la activación del núcleo mencionado afectase a las fibras secretomotoras que discurren intracerebralmente por esta ruta en su trayecto hacia la periferia (Contreras et al., 1980; Nomura y Mizuno, 1981 y 1982). De hecho, la estimulación de estas zonas, tal y como demostró anteriormente Wang (1943) en gatos, da lugar a un efecto secretor desproporcionado ya que, según parece, la activación incide sobre fascículos de fibras y no sobre algunos somas aislados.

En segundo lugar, no puede descartarse que una parte del efecto secretor observado por Donaldson y col. pudiera deberse a la activación de las fibras aferentes de la Cuerda del Tímpano, que cursan a través del ángulo dorsal del núcleo del Tracto Espinal del Trigémino (Contreras et al., 1982; Whitehead, et al., 1983). Así, pues, y dado que electrofisiológicamente se ha demostrado una conexión gustativa-salival (Kawamura y Yamamoto, 1978), parece probable que la estimulación cerebral de estas fibras aferentes, situadas exactamente en el área activada por Donaldson et al. (1984a y b), pueda suponer una explicación alternativa a la activación directa de somas salivales tal y como defiende este grupo inglés.

Finalmente, el hecho de que Donaldson y colaboradores no hayan observado secreción submandibular en esta zona relativamente rostral de la unión bulbopontina, se encuentra en abierta contradicción con los resultados comunicados anteriormente por otros autores (véase Magoun y Beaton, 1942; Wang, 1943). Existe la posibilidad, por tanto, de que la canulación del ducto submandibular en este estudio, haya seccionado la inmensa mayoría de las fibras salivatorias que discurren sobre la superficie ductal (véase Delfs y Emmelin, 1979).

De acuerdo con la revisión anterior, y aunque existen intentos, hasta la fecha no se ha comunicado ningún trabajo que confirme desde una perspectiva funcional, la relación existente entre el área troncoencefálica propuesta recientemente como n.s.s. a partir de estudios anatómicos fiables (peroxidasa), y la secreción salival.

En efecto, a fin de demostrar inequívocamente que la región Parvocelular de la Formación Reticular Lateral bulbopontina constituye la

zona de ubicación del n.S.s., la intervención directa sobre dicha área debe ir seguida de una serie de efectos fisiológicos concretos. Los distintos fenómenos que han de demostrarse antes de asignar funciones secretoras a la región en cuestión, son los siguientes:

- 1º) La activación de una zona amplia de la región Parvocelular ha de evocar una respuesta submandibular-sublingual inmediata, a ser posible de tipo secretor.
- 2º) Es necesario demostrar, asimismo, que la lesión de esta zona provoca un déficit salival a largo plazo, asociado fundamentalmente a las glándulas submandibulares y sublinguales.
- 3º) Dada la superposición anatómica descrita recientemente entre somas salivales superiores e inferiores, si realmente la activación cerebral incide sobre el n.S.s. debe observarse también una respuesta parotídea, si bien de menor magnitud a la registrada en las glándulas submandibulares-sublinguales.
- 4º) Ha de demostrarse que las respuestas submandibulares evocadas tras la estimulación troncoencefálica son de tipo parasimpático.
- 5º) Tanto el efecto activador como el déficit secretorio deben ser específicos, viniendo causados por la intervención directa sobre estructuras neuronales salivatorias.
- 6º) En todos los casos anteriores es necesario comprobar histológicamente que la región cerebral manipulada queda restringida y coincide exactamente con la ubicación neuroanatómica definida recientemente para el n.S.s.
- 7º) Por último, una vez dadas las condiciones anteriores, la sección de las vías nerviosas de conexión entre el Tronco Cerebral y las glándulas salivales, debe bloquear las respuestas salivales evocadas tras la estimulación troncoencefálica. Asimismo, si realmente la región manipulada cerebralmente se corresponde con el n.S.s., la sección de estas vías parasimpáticas salivatorias a nivel periférico debería reproducir los posibles déficits salivales causados por la lesión reticular.

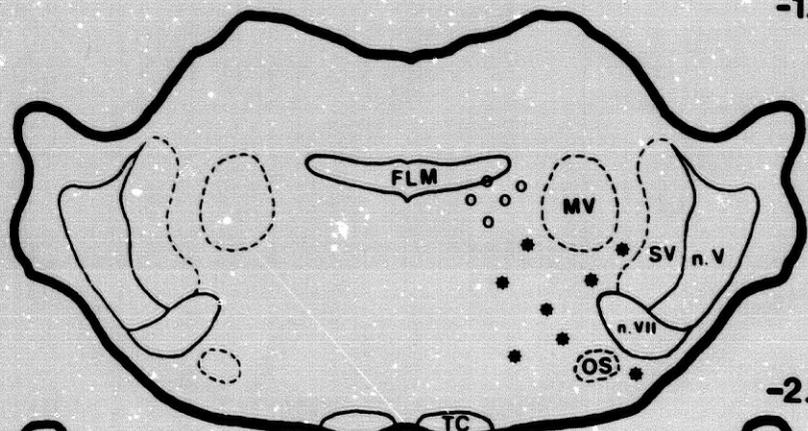
Las exigencias funcionales anteriormente expuestas, no han sido demostradas todavía en el caso de la región troncoencefálica propuesta como n.S.s. Este hecho ha sido el principal motivo que ha orientado e impulsado la presente Tesis Doctoral. Los objetivos inmediatos de cada uno

de los experimentos que siguen, así como sus resultados y conclusiones más significativas, se exponen a lo largo de los próximos capítulos.

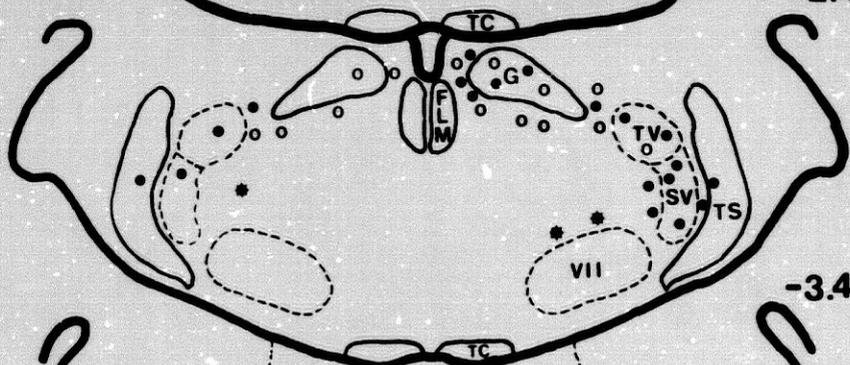
FIGURA 6

Localización a distintos niveles bulbopontinos de las zonas cuya estimulación eléctrica evoca secreción de saliva submandibular (mitad derecha) y secreción salival parotídea (mitad izquierda). Diagrama adaptado al Troncoencéfalo de la rata, según el atlas neuroanatómico de Pellegrino et al. (1979), a partir de los trabajos de Chatfield en 1941 (●), Magoun et al. en 1942 (○) y Wang en 1943 (●). Véanse abreviaturas en Apéndice.

-1.6



-2.4



-3.4

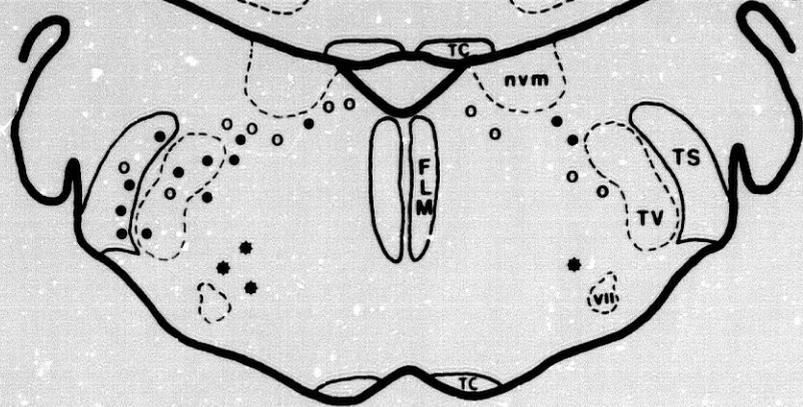
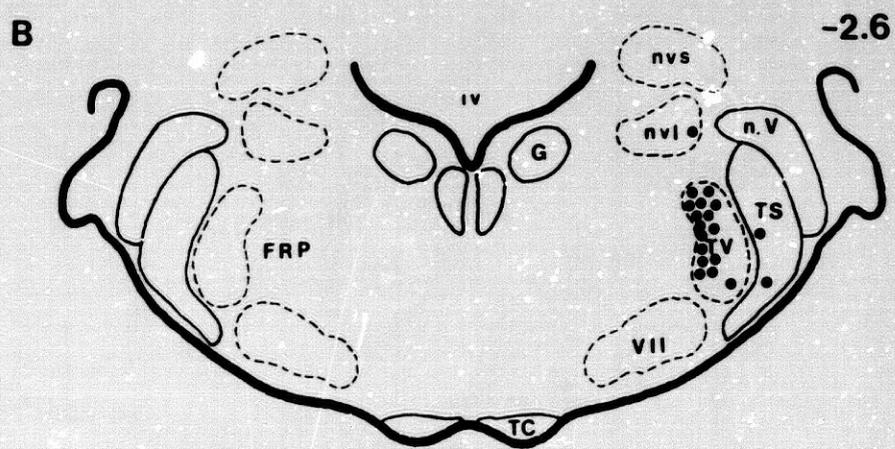
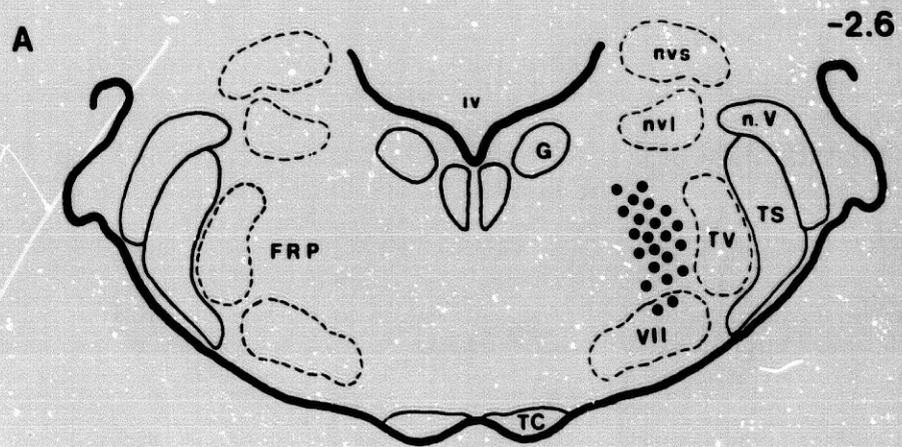


FIGURA 7

En A puede apreciarse la localización anatómica del n.S.s. presentada por Mitchell y Templeton (1981) tras la aplicación de peroxidasa en la Cuerda del Tímpano. En B se representan los distintos puntos bulbopontinos cuya activación iba seguida de secreción salival (fundamentalmente parotídea), según los resultados obtenidos por Donaldson, Mitchell y Templeton (1984a y b). Obsérvese la diferente localización de las neuronas salivatorias presentadas por un mismo grupo de autores en las dos comunicaciones referidas. Véanse abreviaturas en Apéndice.



CAPITULO I

NEURONAS SALIVATORIAS EN LA FORMACION RETICULAR PARVOCELULAR
BULBOPONTINA: UN ESTUDIO EXPERIMENTAL CON LESIONES ELECTROLITI-
CAS EN LA RATA.

.Introducción.

.Experimento nº 1.

Método

Sujetos

Cirugía

Procedimiento experimental

Análisis de los datos

Resultados

.Experimento nº 2.

Método

Sujetos

Procedimiento experimental

Análisis de los datos

Resultados

.Experimento nº 3.

Método

Sujetos

Cirugía

Procedimiento experimental

Análisis de los datos

Resultados

.Experimento nº 4.

Método

Sujetos

Procedimiento experimental

Histología

Análisis de los datos

Resultados

.Discusión.

INTRODUCCION.

Como se ha expuesto hasta ahora, no existen pruebas funcionales que permitan definir a la Formación Reticular Parvocelular bulbopontina como núcleo Salival superior. En la presente serie experimental se ha investigado si dicha zona troncoencefálica presenta funciones secretoras o no.

Diversos estudios han demostrado la eficacia de la lesión electrolítica como un potente instrumento activador de las neuronas salivatorias cerebrales (Schallert et al., 1978; Grijalva et al., 1983). Dicho efecto excitador puede también obtenerse tras la lesión electrolítica de centros cerebrales que modulan la secreción de jugo gástrico, observándose el desarrollo de úlceras gástricas durante las horas siguientes a la lesión (Nobrega et al., 1980). En estos casos, la respuesta secretora puede obtenerse con idéntica efectividad, tanto cuando se emplea corriente anódica como catódica, siempre que los parámetros de lesión sean equivalentes (Schallert et al., 1977).

Estos hechos son especialmente relevantes en el presente estudio, ya que mediante una única intervención cerebral puede registrarse un amplio conjunto de datos. Así, la lesión de la zona bulbopontina delimitada en los últimos trabajos neuroanatómicos como n.S.s., debe ir seguida a corto plazo de hipersecreción salival como efecto directo de la capacidad activadora de la lesión.

A largo plazo, en cambio, una vez los animales se hayan recuperado de la intervención quirúrgica, es lógico esperar un déficit en secreción salival, resultado de la destrucción masiva de las neuronas salivales que se han visto afectadas por el paso de la corriente. Comportamentalmente, y siempre en función de la magnitud del déficit salival pro-

ducido como consecuencia de las lesiones cabría observar, bien prandialidad, si la lesión cerebral ha afectado sustancialmente a los tres pares de glándulas salivales, o bien una conducta alimenticia ineficaz caracterizada por un incremento en la cantidad de restos alimenticios depositados sobre el suelo de la caja experimental, como resultado de un déficit parcial de saliva inducido cerebralmente (véase Stricker, 1970).

Por otro lado, si realmente la región Parvocelular troncocefálica es el lugar de origen de las eferencias parasimpáticas hacia las glándulas salivales submandibulares y sublinguales, la lesión de esta zona debe provocar cambios histológicos, enzimáticos y farmacológicos a largo plazo asociados a las glándulas salivales mencionadas. Dicha transformación y readaptación de las glándulas se desarrollaría como resultado de un proceso degenerativo de las vías eferentes que las inervan, que en el caso presente podría producirse como consecuencia de la lesión cerebral.

A nivel periférico se han demostrado repetidamente los tres efectos anteriormente indicados, bien tras la sección de los nervios salivatorios parasimpáticos (Talamo et al., 1979; Ekström y Malmberg, 1981), o bien reduciendo durante un periodo prolongado de tiempo la actividad salivatoria mediante la administración de antagonistas colinérgicos u ofreciendo al animal dieta líquida (Ekström, 1973 y 1974; Ekström y Templeton, 1977; Hand et al., 1981).

Entre los fenómenos farmacológicos más estudiados observados tras la lesión periférica de un nervio eferente, destaca el conocido con el nombre de supersensitividad por denervación (Thesleff y Sellin, 1980). Este fenómeno, dado a conocer por Cannon en la primera mitad del presente siglo, suele presentarse cuando una estructura periférica, músculo o víscera, resulta denervada. En las glándulas salivales, la interrupción quirúrgica o química de los nervios parasimpáticos o simpáticos que las inervan da lugar al desarrollo del fenómeno comentado. Así, transcurridas algunas semanas tras la denervación de la glándula, puede observarse secreción salival con dosis subumbrales de agonistas farmacológicos que, por lo general, no excitan una respuesta secretora en glándulas controles normalmente inervadas. Asimismo, la administración de fármacos agonistas en dosis moderadas por encima del nivel umbral, evocan significativamente mayor respuesta secretora en la glándula denervada en comparación con la normal. En cambio, si la dosis farmacológica empleada es muy elevada, la

respuesta secretora máxima registrada en la glándula aislada, siempre es menor a la observada en aquella normalmente inervada, ya que la atrofia glandular desarrollada tras la denervación impide que dicha glándula pueda funcionar en el límite de sus posibilidades (Emmelin, 1965).

Además de las características antes mencionadas, otros autores han señalado que la supersensitividad observada en las glándulas salivales tras su denervación es mayor si la sección del nervio tiene lugar a nivel postganglionar (denervación) que si dicha lesión ocurre preganglionarmente (descentralización).

Finalmente, la supersensitividad desarrollada tras la sección de estos nervios salivatorios suele ser inespecífica, desconociéndose con exactitud los mecanismos básicos por los que la membrana postsináptica se vuelve supersensitiva tras la denervación (Stefano y Pereg, 1981).

Así, pues, cuando la actividad nerviosa que modula las glándulas salivales es alterada mediante procedimientos fisiológicos o farmacológicos, la sensibilidad de las células efectoras glandulares se modifica a fin de compensar el déficit (supersensitividad) o exceso (subsensitividad) de información neural que alcanza la glándula. Por tanto, la destrucción cerebral de los somas preganglionares parasimpáticos con dirección a las glándulas submandibulares-sublinguales debe provocar algún grado de supersensitividad en dichas glándulas. De este modo, este fenómeno ahora comentado unido a otros índices demostradamente sensibles a un déficit salival, puede ser utilizado como un medio que permita inferir la capacidad secretora de las estructuras nerviosas lesionadas cerebralmente.

En resumen, el objetivo de la presente serie experimental consiste en demostrar si el área Parvocelular de la Formación Reticular Lateral presenta funciones secretoras salivales. Si esta posibilidad es cierta, inmediatamente después de la lesión de dicha zona troncoencefálica debería observarse hipersecreción salival como efecto a corto plazo generado por la lesión electrolítica, seguido de un déficit salival profundo una vez hayan transcurrido algunos días tras la operación cerebral.

EXPERIMENTO Nº 1

Como se ha comentado anteriormente, las lesiones electrolíticas parecen evocar una activación del sistema neuronal sobre el que incide el paso de corriente previamente a que el tejido resulte dañado. Por tanto, cabe esperar que la lesión del área Parvocelular de la Formación Reticular Lateral bulbopontina produzca una rápida hipersecreción salival. Este primer experimento ha sido efectuado con la intención de demostrar la hipótesis anterior.

METODO

Sujetos.

En este experimento se han empleado 30 ratas machos de la raza Wistar, nacidas y criadas en el Servicio de Animales de la Universidad de Granada. Cada uno de estos animales fue colocado en una jaula experimental de 20 x 20 x 22 cm., en la que permaneció con agua y comida ad libitum (pienso compuesto "Sandermus". Sanders, S.A., Madrid) a lo largo de los cuatro experimentos reseñados en el presente capítulo, salvo en aquellas circunstancias en las que se indique lo contrario.

Las condiciones ambientales a que estuvieron sometidos los animales, fueron las siguientes: temperatura media de 20-22 grados centígrados y un ciclo luz-oscuridad de 12/12 horas, comenzando el periodo de luz a las 9.00 a. m. y terminando a las 9.00 p. m. El peso de las ratas en el momento de la cirugía oscilaba entre 280 y 320 gramos.

Cirugía.

Una vez inducida la anestesia con éter etílico (Quimón, Barcelona), los animales eran inyectados intraperitonealmente con Tiopental (Pentothal Sódico, Abbott Laboratorios S.A., Madrid) a una dosis de 42 mgrs./kgr. Seguidamente, el animal era fijado en un instrumento estereotáxico (David Kopf Instruments, mod. 900, U.S.A.) de forma que el plano horizontal de los incisivos quedase 5 mm. por encima del meato auditivo, de este modo la posición de la cabeza se ajustaba al sistema de coordenadas estereotáxicas empleado por Pellegrino et al. (1979) en su atlas neuroanatómico. A fin de evitar una posible lesión de las vías eferentes salivatorias durante su trayecto a través del oído medio, se empleó un sistema de sujeción lateral de la cabeza del animal desarrollado en nuestro laboratorio, que aseguraba un mínimo trauma auditivo (véase figura 8).

Una vez el sujeto había sido montado adecuadamente en el marco estereotáxico, se trazaba una incisión longitudinal en la piel, músculo y tejido perióstico de la región dorsal de la cabeza. Expuesta ya la zona quirúrgica craneana se realizaban dos trepanaciones con un microtaladro manual, localizando cada orificio (de 1-1.5 mm. de diámetro) bilateralmente a unos 2 mm. del seno sagital y a una altura anteroposterior de 2.0 a 3.0 mm. posterior al punto cero estereotáxico. Así, pues, los orificios por los que debía descender el electrodo estaban situados sobre los senos transversos (figura 9), por lo que una vez retirada la Duramadre, utilizando para ello una aguja de 200 micras de diámetro, se solía producir una intensa hemorragia que era reducida lentamente mediante taponamientos a base de esponja de fibrina (Zimospuma, Laboratorios Baldacci, Barcelona). Cesada la hemorragia y extraídos del orificio los restos de membranas meníngeas, a través de éste descendía un electrodo monopolar de acero inoxidable de 200 micras de diámetro (pin insect "CO"). Este electrodo estaba aislado en toda su longitud con INSL-X, salvo en su extremo distal que había sido cortado, presentando este punto no aislado forma de V. Los brazos oblicuos de dicha V siempre fueron orientados en un sentido anteroposterior, con lo que se aseguraba una lesión más homogénea.

A esta altura del procedimiento quirúrgico, los animales eran asignados aleatoriamente al grupo experimental o control. Si un animal pasaba a formar parte del grupo experimental, éste recibía las correspondientes lesiones electrolíticas. De los treinta animales empleados en este experimento, quince fueron lesionados formando la otra mitad el grupo control.

En cada uno de los animales experimentales se realizaron cuatro lesiones electrolíticas. Las coordenadas estereotáxicas empleadas para efectuar las lesiones fueron extraídas a partir de las publicaciones presentadas últimamente sobre la localización anatómica del n.S.s. en la rata realizadas con el método de la peroxidasa (Hiura, 1977; Contreras et al., 1980; Nicholson y Severin, 1981; Mitchell y Templeton, 1981; Hosoya et al., 1983). Una vez determinada la situación de las neuronas salivatorias en los estudios anteriores, esta posición era trasladada al atlas estereotáxico de Pellegrino et al. (1979). Puesto que en un corte frontal el n.S.s. presenta una orientación oblicua, a partir del atlas de Pellegrino y colaboradores se establecieron cuatro zonas de lesión situadas todas ellas a -2.6 mm. posterior al punto cero estereotáxico (meato audi-

tivo). Así, en cada lado del cerebro se realizaron dos lesiones, una en la zona dorsal del n.5.s. (área dorsomedial de la Formación Reticular Lateral) y otra en la región ventral del núcleo (área ventrolateral de la Formación Reticular Lateral), con lo que se conseguía lesionar completamente dicha franja salivatoria oblicua (véase figura 10).

Las lesiones más laterales de cada hemisferio estaban situadas a ± 2.2 mm. lateral al seno sagital y 0.1 mm. ventral al punto cero estereotáxico; las otras dos lesiones, más mediales y dorsales, fueron efectuadas a ± 1.8 mm. lateral al seno sagital y 0.3 mm. por encima del punto cero.

La lesión más lateral y ventral era la primera en efectuarse. Una vez el electrodo había descendido hasta esta zona, el polo negativo de un Generador de Lesiones (Grass Instruments, mod. DCLMS, U.S.A.) era conectado al electrodo. El polo positivo de la batería o masa, por su parte, era situado periféricamente sobre el animal. A continuación se pasaba a través del electrodo una corriente continua de 0.5 mA durante 7 segundos. Seguidamente se lesionaba la zona más medial y superior de esa misma mitad cerebral empleando el mismo tipo de corriente, si bien en esta ocasión se pasaron 0.5 mA durante 13 segundos. El mismo procedimiento y orden se seguía en el lado contrario del troncoencéfalo.

Los animales controles recibían el mismo tratamiento quirúrgico, excepto que en ellos no se efectuaba el paso de corriente continua a través del electrodo. Este descendía cuatro veces en cada animal, según las coordenadas estereotáxicas anteroposterior y lateral ya expuestas, quedando siempre a 0.6 mm. por encima del punto cero estereotáxico.

Una vez extraído el electrodo, los animales eran desmontados del instrumento estereotáxico comenzando la etapa de medición de la actividad secretora salival. Finalizado este periodo todos los animales, tanto experimentales como controles, eran introducidos en cajas individuales con agua y comida ad libitum, para su recuperación y posterior participación en otros experimentos de la presente serie.

Conviene señalar que ni los animales experimentales ni los controles recibieron ningún otro fármaco adicional al Tiopental, tanto durante el desarrollo de la cirugía como tampoco a lo largo del procedimiento que se describe a continuación.

FIGURA 8

Sistema de sujeción lateral de la cabeza utilizado en todos los experimentos del presente trabajo durante la cirugía estereotáxica, salvo en aquellos en los que se indique lo contrario. Las barras auditivas empleadas (Trent Wells, mod. 3-0180, U.S.A.) fueron rodeadas en toda su extensión salvo en sus 2 mm. mediales, como puede apreciarse en la figura adjunta, por tres cilindros de silástico de diferente diámetro y longitud. De este modo, debido al reducido diámetro del extremo no aislado, esta zona constituía la única parte del sistema descrito que penetraba a través del canal auditivo externo con lo que se evitaba una posible lesión de la membrana timpánica y, por tanto, de los sistemas neurales eferentes asociados. A pesar de esta mínima penetración, la sujeción lateral de la cabeza del animal era adecuada.

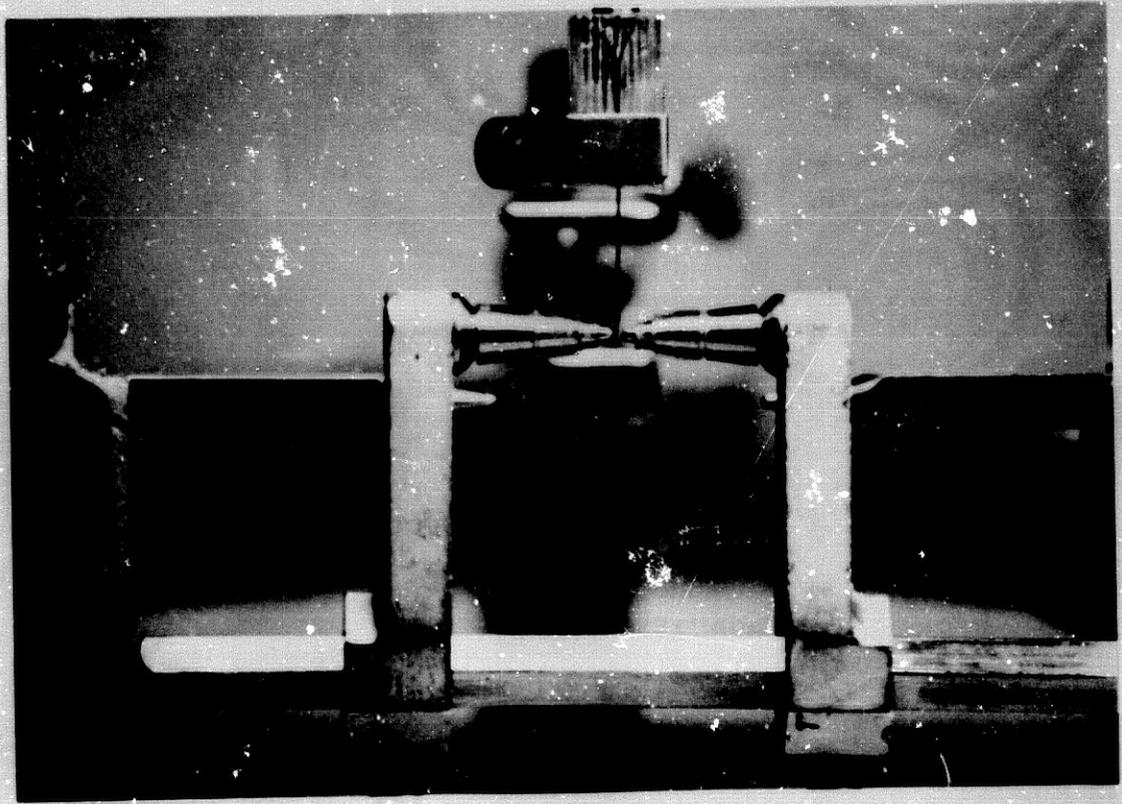


FIGURA 9

Zona quirúrgica en la que pueden apreciarse los dos orificios trepanados sobre el cráneo a través de los cuales descendía el electrodo. Como se observa en esta figura, ambos orificios se sitúan sobre los senos transversos.

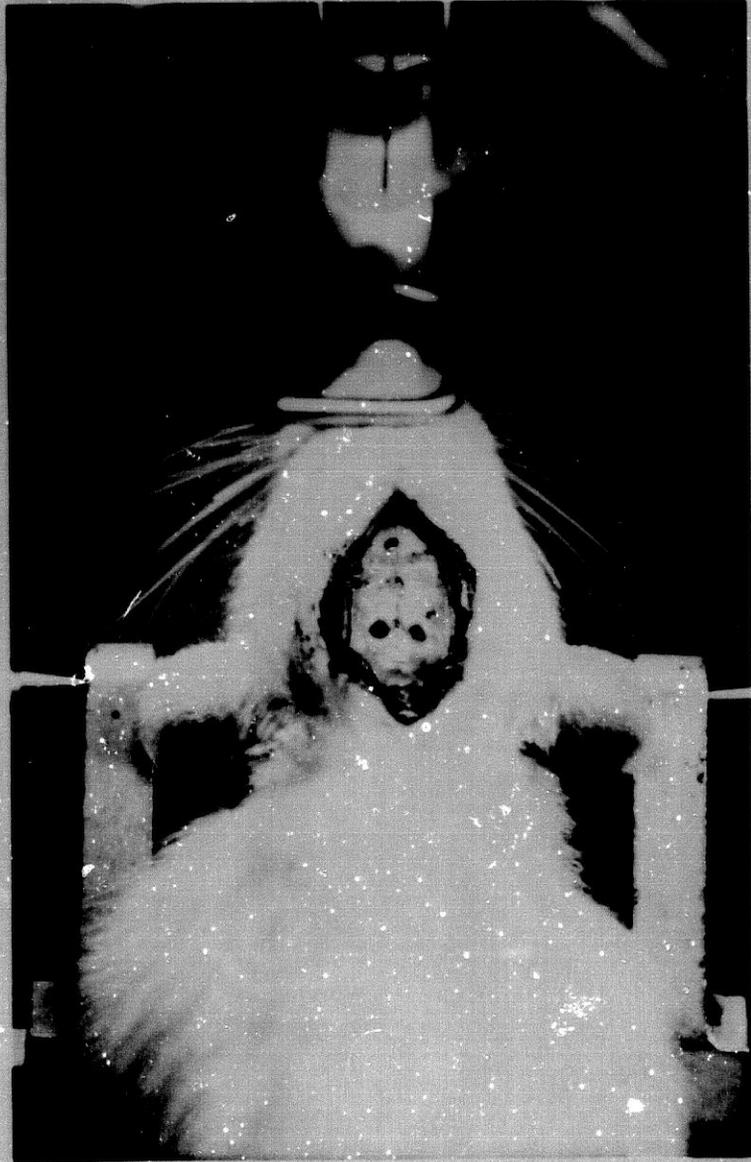
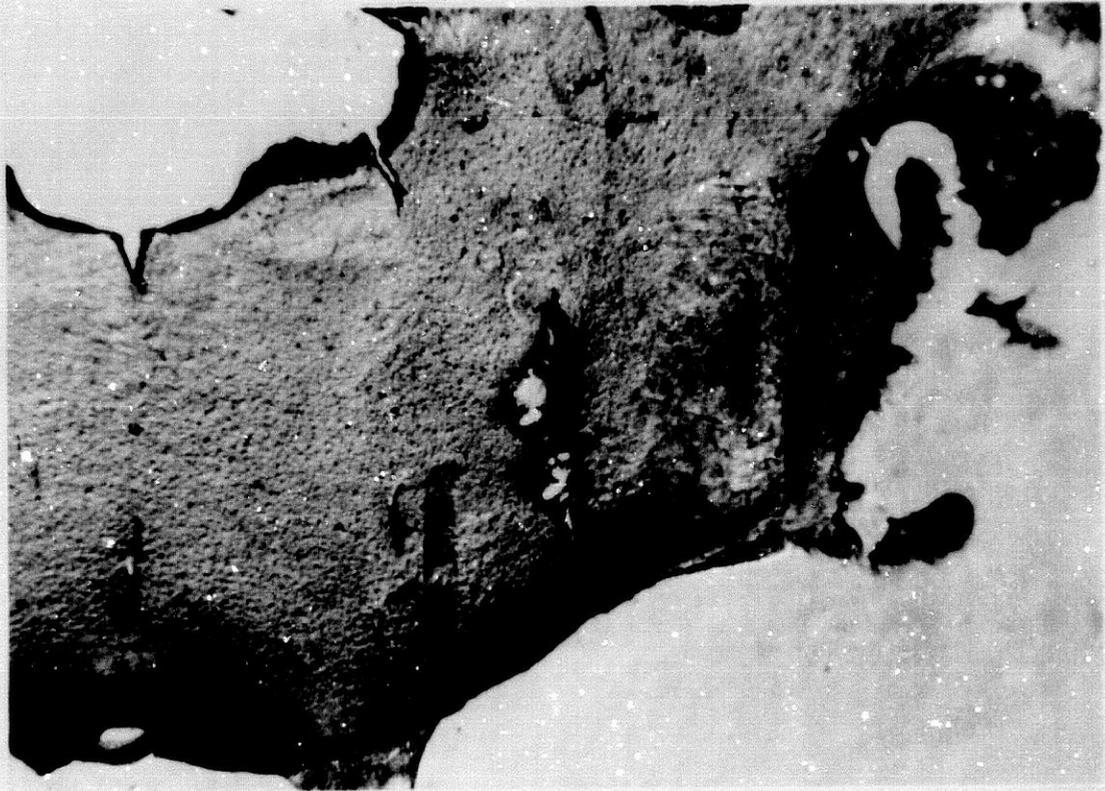


FIGURA 10

Microfotografía de la mitad derecha de un corte frontal de la región bulbopontina de la rata. Obsérvense las dos lesiones realizadas en la Formación Reticular Parvocelular. Lateralmente, entre el centro de ambas lesiones distan 0.4 mm., con lo que se conseguía destruir una franja oblicua de tejido nervioso supuestamente relacionada con funciones secretoras salivales. Localización anteroposterior a -2.6 según Pellegrino et al. (1979). Ampliación x16.



Procedimiento experimental.

Una vez fijado el animal en el instrumento estereotáxico, y antes de comenzar el proceso quirúrgico propiamente dicho, se introducían en la cavidad oral del sujeto dos unidades de algodón hidrófilo de 10 mgrs. de peso cada una. Los algodones permanecían en las zonas laterales de la cavidad oral, uno en la mitad izquierda y otro en la región derecha de la boca, hasta momentos antes de introducir el electrodo en el cerebro. Las dos piezas de algodón eran entonces extraídas y pesadas nuevamente en una balanza de precisión (Cobos, Barcelona). La diferencia de peso, medida en miligramos, constituía la cantidad de saliva secretada por el animal durante un periodo inicial de no activación o línea base.

La segunda medición de saliva se realizaba inmediatamente después de ser retirado el animal del estereotáxico, una vez efectuadas las cuatro lesiones electrolíticas en el caso de los sujetos experimentales, o cuando el electrodo había descendido hasta el área dorsal a la Formación Reticular Lateral en las ratas controles. En ese momento (tiempo "0") se introducían en la boca del animal tres unidades de algodón de 10 mgrs. de peso cada una, depositándose dos de ellas en la misma región oral ya mencionada durante la medición de línea base. El tercer algodón era situado en la base de la boca, justamente debajo de la lengua. Estas zonas de la cavidad oral fueron escogidas para el registro del flujo salival, por constituir el lugar de apertura de los ductos salivales en la boca (los ductos parotídeos en la región masetérica interna y los ductos submandibular y sublingual en el suelo de la boca). Los tres algodones permanecían en estas posiciones intraorales durante 3 minutos, extrayéndolos y pesándolos inmediatamente después a fin de calcular la cantidad de saliva secretada de modo semejante a como se indicó anteriormente para el establecimiento de la línea base.

El procedimiento de medida seguido en este experimento para calcular la cantidad de flujo salival secretado en respuesta al tratamiento experimental, fue ideado a partir de los sistemas de medición desarrollados por Schallert et al. (1978) y Flynn et al. (1980), los cuales fueron sólo parcialmente modificados. Tanto durante los periodos de medición de saliva como durante aquellos de descanso, los sujetos permanecían en decúbito prono.

Calculada la saliva secretada en el "tiempo 0", se suturaba la incisión de la piel del cráneo. A continuación, en el "tiempo 20", es de-

cir, 20 minutos después del momento en el que el animal fue desmontado del instrumento estereotáxico, se introducían nuevamente en la cavidad oral del sujeto otras tres unidades de algodón de 10 mgrs. de peso cada una, siguiéndose el mismo proceso indicado más arriba para la medición de la cantidad de saliva secretada.

La última medición de saliva se realizaba, según el método ya explicado, en el "minuto 60", o sea, una hora después de haber sido desmontado el animal del estereotáxico, una vez finalizada la cirugía.

El procedimiento experimental descrito para la recogida y medición de saliva fue el mismo en todos los animales, tanto lesionados como controles.

Análisis de los datos.

Para comparar el efecto de la lesión del área Parvocelular sobre la cantidad de saliva secretada a lo largo del tiempo en uno y otro grupo de animales, se realizó un análisis de varianza mixto 2×3 (Keppel, 1973). En este análisis el factor entre grupos se ha manipulado a dos niveles (lesión versus no lesión) y el factor intrasujetos a tres niveles (tiempo: 0, 20 y 60 minutos).

El resto de los análisis que se creyeron convenientes se efectuaron aplicando ANOVAS intrasujetos y pruebas t de Student para muestras independientes (McGuigan, 1968).

RESULTADOS

Los resultados del presente experimento indican que los animales a los que les ha sido destruida la zona lateral de la Formación Reticular, secretan durante la hora siguiente a las lesiones una cantidad media de saliva significativamente mayor a la registrada en los sujetos controles operados, pero no lesionados ($F_{1,28} = 22.304$, $p < 0.001$. Véanse figuras 11 y 12. Tablas I y II).

Por otro lado, el efecto del factor tiempo sobre la cantidad de saliva secretada arrojaba, igualmente, un valor de F significativo ($F_{2,56} = 4.580$, $p < 0.025$. Tabla II). La interacción entre las dos variables antes mencionadas no alcanzaba el nivel de significación por una centésima (véase tabla II). No obstante, un ANOVA intrasujetos no revelaba ningún cambio en el grupo control a lo largo del tiempo ($F_{2,28} = 1.528$,

N.S.). En cambio, el incremento progresivo en salivación observado en los animales experimentales a lo largo de los tres puntos temporales de medición, sí alcanzaba valores significativos (ANOVA intrasujetos, $F_{2,28} = 3.922$, $p < 0.05$. Véase tabla II).

A fin de completar la información proporcionada por el análisis de varianza anterior, se compararon las medias de cada grupo a lo largo de los 4 periodos de medición de saliva. En esta ocasión se emplearon pruebas t de Student para grupos independientes, no observándose diferencias significativas en la cantidad de saliva secretada entre ambos grupos durante la línea base ($t = 0.881$, N.S. Tabla I y figura 13). Por el contrario, los valores de t obtenidos en los restantes puntos de la curva representada en la figura 11 resultaron altamente significativos. Así, en el "tiempo 0" los sujetos lesionados secretaron una cantidad media de saliva significativamente superior a la observada en animales controles ($t = 2.847$, $p < 0.01$. Tabla I y figura 13). En el "minuto 20" la hipersecreción evocada en el grupo experimental alcanzaba su valor máximo en relación a los sujetos controles ($t = 4.478$, $p < 0.001$. Véase tabla I y figura 13). Igualmente, la magnitud media de saliva secretada por experimentales y controles resultó ser significativamente diferente a los 60 minutos tras la finalización de la cirugía ($t = 3.368$, $p < 0.01$. Tabla I, figura 13).

FIGURA 11

Cantidad media de saliva secretada por el grupo experimental (—) y control (-----) antes de la lesión (línea base) y durante la hora siguiente a ésta (0, 20 y 60 minutos). Nivel de significación: $p < 0.05$ (*), $p < 0.025$ (**), $p < 0.01$ (***), $p < 0.001$ (****).

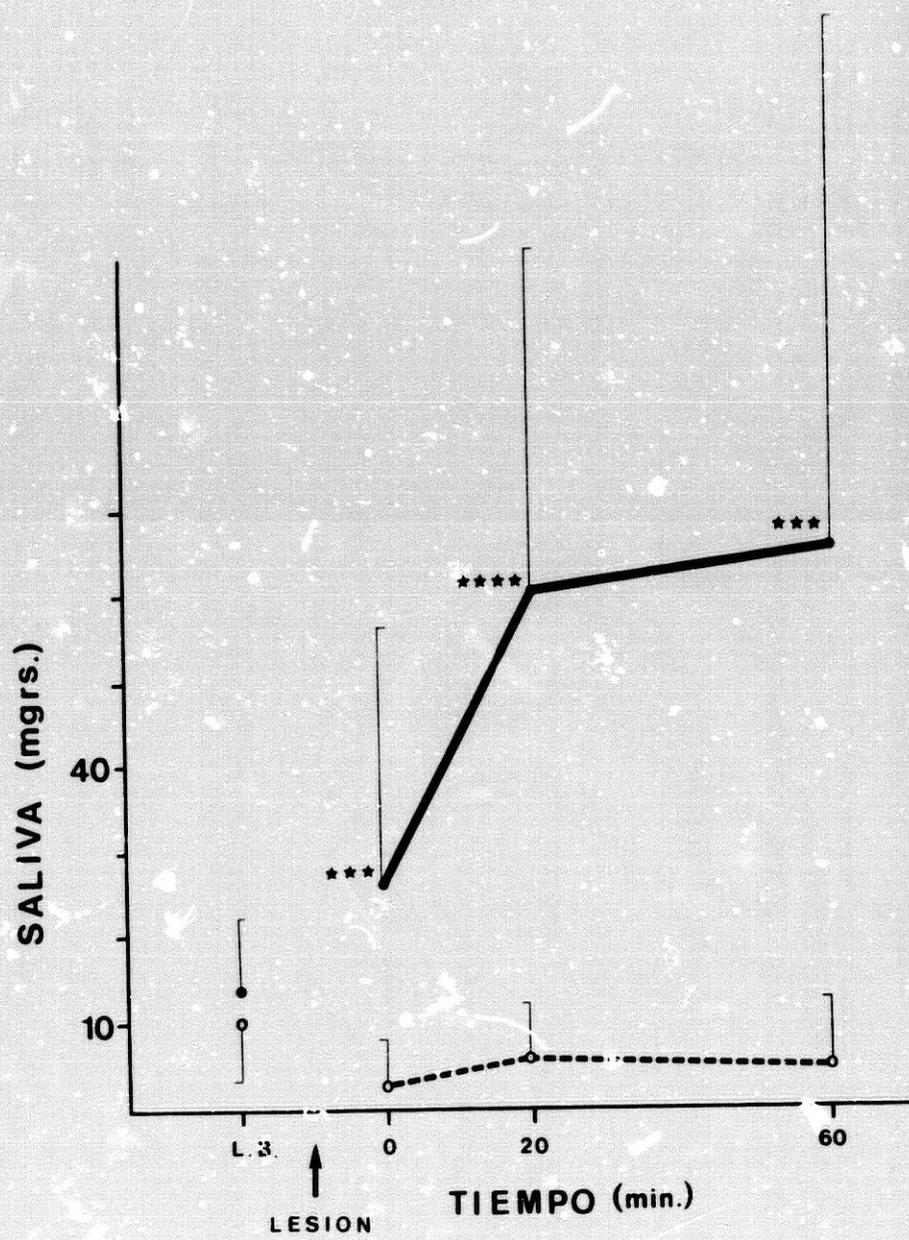


FIGURA 12

Cantidad media total de saliva secretada por el grupo experimental (E) y control (C) durante la hora siguiente a las lesiones. Nivel de significación como en figura 11.

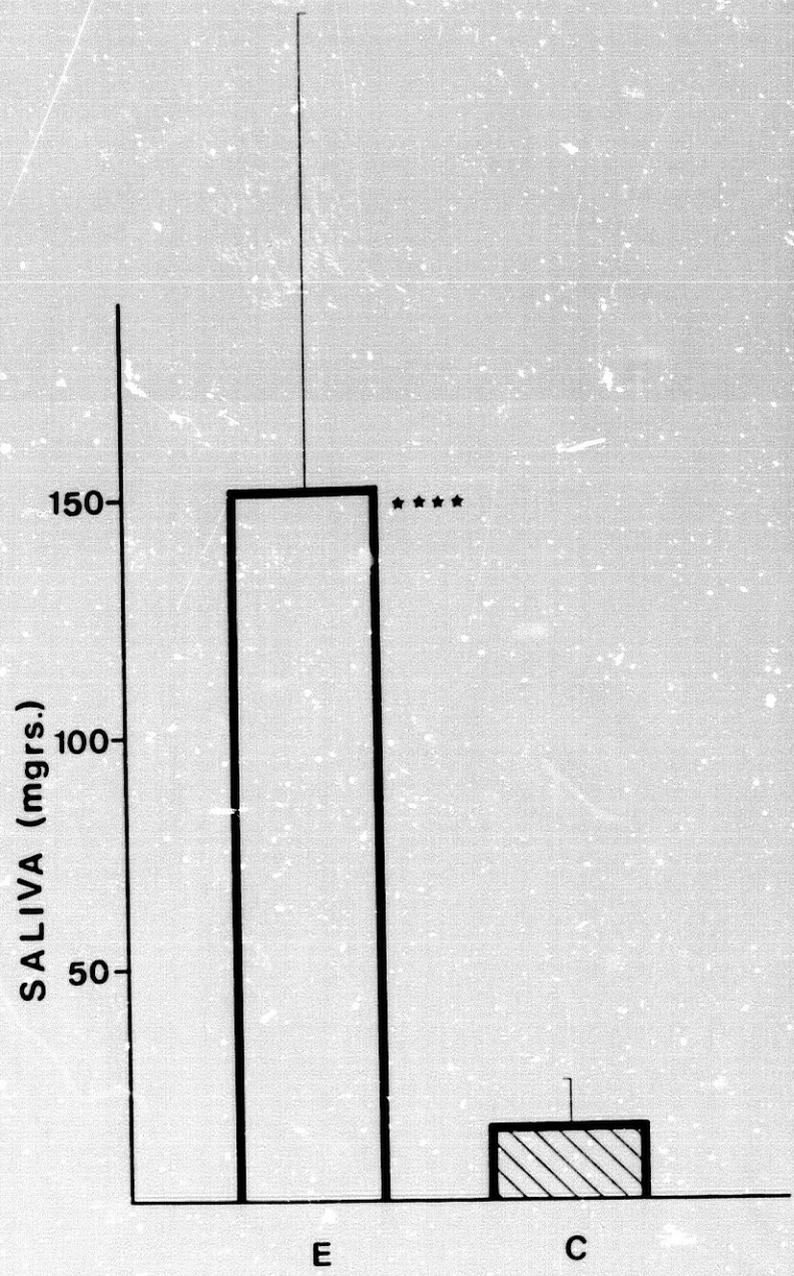


FIGURA 13

Cantidad media de saliva secretada por el grupo experimental (E) y control (C) a lo largo de los diferentes puntos de medición de los que constaba el experimento nº 1. En A: cantidad media de saliva registrada en ambos grupos durante la línea base. En B: a los "0 minutos". En C: a los "20 minutos". En D: a los "60 minutos". Nivel de significación como en figura 11.

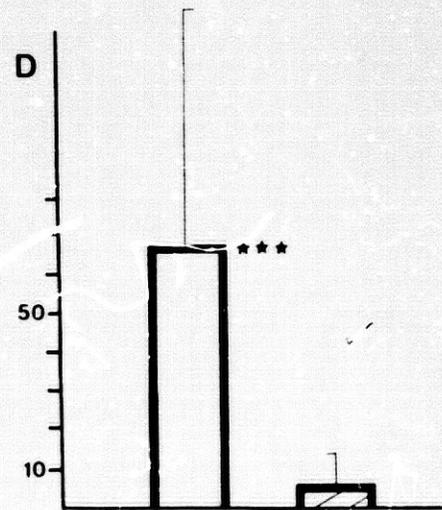
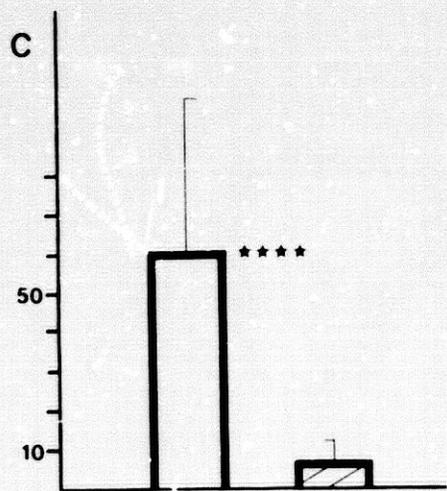
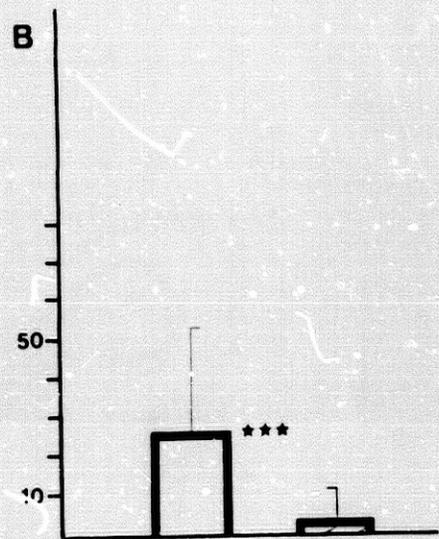
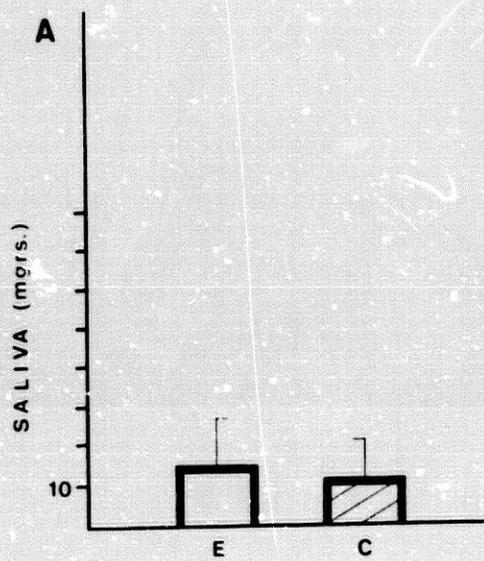


TABLA I

EXPERIMENTO Nº 1: CANTIDAD MEDIA DE SALIVA (MGRS.) SECRETADA POR EXPERIMENTALES Y CONTROLES ANTES DE LA LESION Y DURANTE LOS TRES PUNTOS POST-OPERATORIOS DE MEDIDA.

LESION



Tiempo:		L.B.	0	20	60	Total
Exp.	\bar{x}	14.00	25.33	50.00	66.00	151.33
	SD	12.00	29.63	44.27	66.51	107.07
Cont.	\bar{x}	10.67	2.67	6.67	6.00	15.33
	SD	7.71	4.42	6.99	8.00	12.03
	t	0.881	2.847	4.478	3.368	4.746
	p	N.S.	<0.01	<0.001	<0.01	<0.001

TABLA II

EXPERIMENTO Nº 1: ANOVA MIXTO 2x3 Y ANOVA INTRASUJETOS PARA EL GRUPO EXPERIMENTAL Y CONTROL. NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

ANOVA MIXTO 2x3

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		46240.00	1	46240.00	22.304****
B (Tiempo)		8648.88	2	4324.44	4.580**
AxB		5946.67	2	2973.34	3.149
s/A		58048.82	28	2073.17	
Bxs/A		52871.19	56	944.13	

ANOVA INTRASUJETOS (GRUPO EXPERIMENTAL)

	FV	SC	gl	MC	F
A (Tiempo)		14457.78	2	7228.89	3.922*
s		57324.44	14	4094.60	
Axs		51608.89	28	1843.17	

ANOVA INTRASUJETOS (GRUPO CONTROL)

	FV	SC	gl	MC	F
A (Tiempo)		137.78	2	68.89	1.528
s		724.44	14	51.75	
Axs		1262.22	28	45.08	

EXPERIMENTO Nº 2

Según se sigue del experimento anterior, la región Parvocelular del troncoencéfalo parece estar implicada en funciones secretoras de carácter salival. Así, pues, una vez los animales se hayan recuperado de la lesión previamente efectuada, cabría esperar que manifestasen déficits salivales a largo plazo.

Es lógico suponer que uno de estos posibles déficits sea una disminución de la eficacia alimenticia, tal y como fue definida por Stricker (1970). De hecho, si realmente las lesiones electrolíticas realizadas han afectado al n.S.s., en concordancia con los estudios efectuados recientemente con peroxidasa (Contreras et al., 1980; Nicholson y Severin, 1981), el déficit salival producido debe ser parcial habiendo afectado predominantemente a las glándulas submandibulares y sublinguales. Esta misma razón hace improbable el desarrollo en estos animales de un modelo prandial de bebida, comportamiento que requiere para su aparición un déficit salival global, en el que se vean implicadas significativamente tanto las glándulas submandibulares y sublinguales como las parótidas.

En resumen, por tanto, el presente experimento fue realizado a fin de demostrar la existencia de un comportamiento consumatorio ineficaz en animales con lesiones electrolíticas circunscritas a la región Parvocelular del Tronco Cerebral.

METODO

Sujetos.

Una vez los treinta animales del experimento anterior se habían recuperado de las lesiones realizadas, fueron sometidos a una serie de pruebas experimentales, las cuales serán expuestas cronológicamente a lo largo de este capítulo. Así, pues, en el presente experimento se utilizaron las mismas treinta ratas machos previamente operadas en el estudio anterior ya comentado. Quince ratas presentaban lesiones bilaterales en la Formación Reticular Lateral bulbopontina. Las otras quince eran animales controles operados, pero no lesionados. Las condiciones ambientales fueron idénticas a las descritas en el experimento anterior.

Procedimiento experimental.

Concluido el experimento nº 1, los animales eran depositados en sus cajas habituales. Tras 7 días de recuperación con agua y comida ad libitum, tanto experimentales como controles eran habituados a comer alimento seco (pienso compuesto "Sandermus") durante un periodo de 2 horas diarias comprendido entre las 10 a. m. y las 12 a. m. Los animales disponían de agua ad libitum durante todo el día. Transcurridos 7 días, las ratas se habían habituado perfectamente al programa de privación de comida, registrándose durante los dos días siguientes (días 15 y 16 del periodo postoperatorio) el número de respuestas de bebida emitidas por cada sujeto durante las 2 horas de exposición a comida. Asimismo, durante este periodo matinal de 2 horas, se midió la cantidad de restos alimenticios depositados sobre el suelo de la caja experimental, tanto en los sujetos lesionados como en los controles. Una vez obtenida la comida residual, ésta era pesada en una balanza de precisión (Cobos, Barcelona). Aquellas partículas de comida cuyo peso excedía los 20 mgrs. eran computadas como alimento no consumido y no como resto alimenticio.

Asimismo, se midió la cantidad de agua y comida ingerida por los animales a lo largo de los dos días de la fase experimental antes descrita.

Durante los días previos a la cirugía estereotáxica, se registraron todos los parámetros comentados siguiendo el mismo procedimiento experimental descrito más arriba. De este modo, los datos obtenidos con antelación a la intervención cerebral fueron utilizados como medida de línea base.

Análisis de los datos.

En los distintos análisis estadísticos globales de este experimento siempre se emplearon análisis de varianza mixtos 2x2. El factor manipulado entre grupos fue lesión/no lesión. El factor intrasujetos corresponde a los dos días en los que se midieron los parámetros anteriormente mencionados.

En algunos casos, se emplearon también pruebas t de Student para grupos independientes con la finalidad de contrastar estadísticamente si la cantidad media de restos alimenticios registrada en el grupo experimental en cada uno de los días de los que constaba la fase experimen-

tal, era significativamente diferente a la observada en el grupo control.

RESULTADOS

Durante la línea base no se detectaron diferencias significativas, en ninguno de los parámetros medidos, entre los animales que durante la cirugía estereotáxica fueron asignados aleatoriamente al grupo experimental y aquellos destinados al grupo control. Así, en lo que se refiere a la cantidad de alimento residual depositado sobre el fondo de la caja experimental, en ambos grupos se detectaron cantidades equivalentes ($F_{1,28} = 0.109$, N.S.). Sin embargo, durante el periodo postoperatorio la eficacia alimenticia observada en el grupo experimental disminuyó significativamente en comparación con el grupo control ($F_{1,28} = 22.902$, $p < 0.001$. Tabla III y IV. Figura 14). Esta misma diferencia fue observada al comparar, mediante pruebas t para muestras independientes, los restos alimenticios medidos en el grupo experimental y control durante el día decimoquinto ($t=5.235$, $p < 0.001$, tabla III) y decimosexto ($t=4.135$, $p < 0.001$, tabla III) posterior a la intervención quirúrgica.

A pesar de las marcadas diferencias producidas por la lesión en la cantidad de restos alimenticios, este mismo tratamiento no afectaba la frecuencia de bebida (prandialidad) registrada durante esta fase experimental ($F_{1,28} = 1.179$, N.S. Véase figura 15). Lógicamente, durante el periodo de línea base tampoco se observaron diferencias significativas en prandialidad entre uno y otro grupo ($F_{1,28} = 0.928$, N.S. Figura 15).

Por último, la cantidad de alimento consumido por los sujetos experimentales y controles durante los dos días de prueba de este experimento, resultó ser equivalente ($F_{1,28} = 2.502$, N.S.). Durante la línea base, tampoco se detectaron diferencias significativas entre ambos grupos en este parámetro ($F_{1,28} = 0.001$, N.S.).

FIGURA 14

Cantidad media de restos alimenticios registrados en el grupo experimental (——) y control (-----) durante los dos días de prueba anteriores a la cirugía cerebral (línea base) y durante la fase postoperatoria inicial. Nivel de significación como en figura 11.

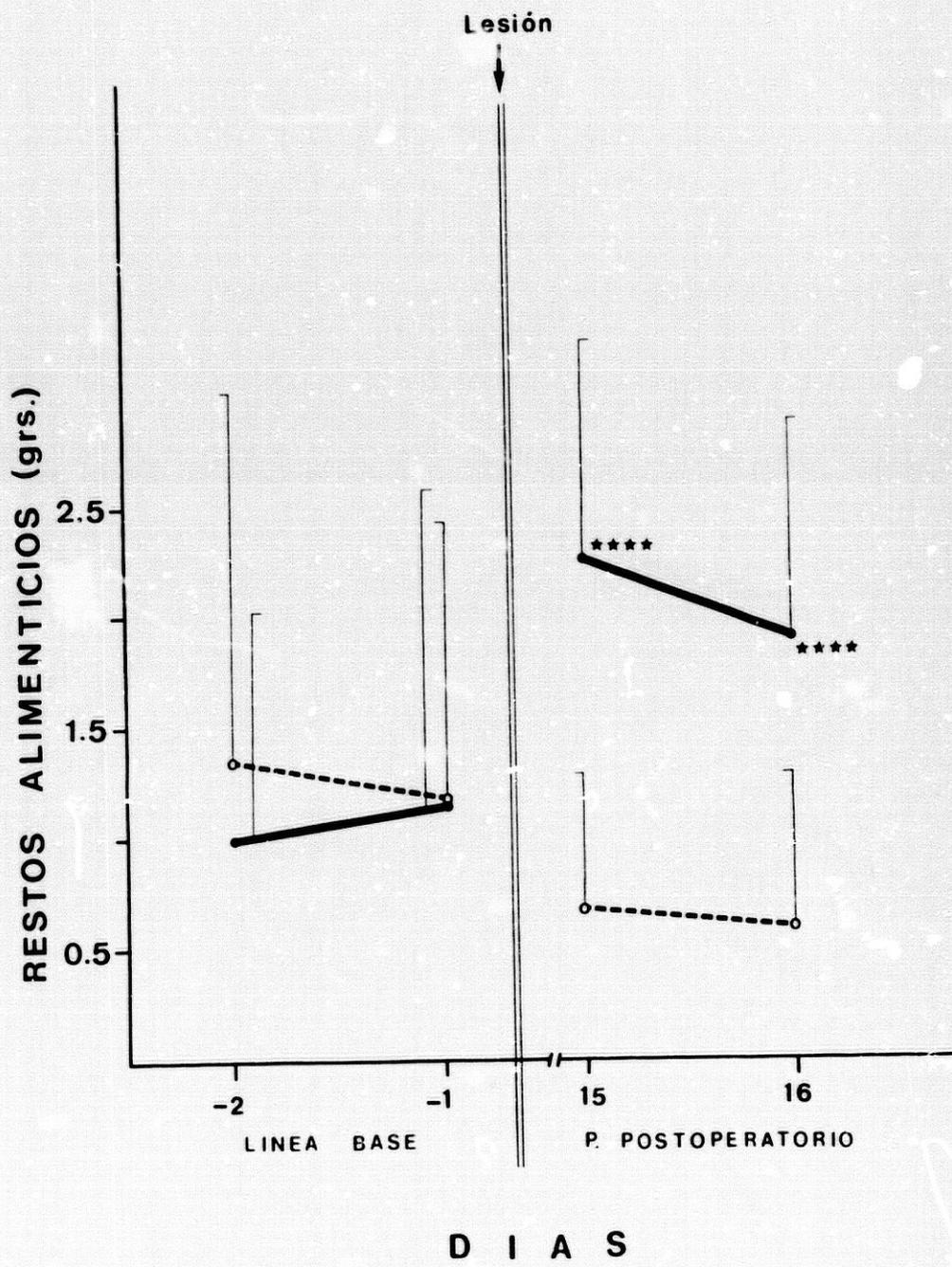


TABLA III

EXPERIMENTO Nº 2: CANTIDAD MEDIA DE RESTOS ALIMENTICIOS (GRMS.).

LESION
CEREBRAL



Días:		-2	-1	15	16
Exp.	\bar{x}	1.00	1.11	2.26	1.87
	SD	1.09	1.48	0.97	0.96
Cont.	\bar{x}	1.31	1.13	0.68	0.59
	SD	1.64	1.21	0.58	0.64
	t	0.596	0.039	5.235	4.135
	p	N.S.	N.S.	<0.001	<0.001

TABLA IV

EXPERIMENTO Nº 2: ANOVAS MIXTOS 2x2 CORRESPONDIENTES A LOS RESTOS ALIMENTICIOS. A: LINEA BASE. B: PERIODO POSTOPERATORIO (LESION CEREBRAL). NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

A: LINEA BASE

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		0.42	1	0.42	0.109
B (Días)		0.02	1	0.02	0.078
AxB		0.31	1	0.31	1.237
s/A		107.11	28	3.83	
Bxs/A		6.98	28	0.25	

B: PERIODO POSTOPERATORIO (LESION CEREBRAL)

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		30.36	1	30.36	22.902****
B (Días)		0.90	1	0.90	11.085***
AxB		0.31	1	0.31	3.854
s/A		37.12	28	1.33	
Bxs/A		2.28	28	0.08	

EXPERIMENTO Nº 3

Como se ha visto en el experimento anterior, el grado de desalivación producido por la lesión cerebral no ha sido suficientemente elevado como para que los animales experimentales desarrollasen un modelo prandial de bebida. Este comportamiento es observado únicamente, según parece, cuando el déficit salival global provocado alcanza un umbral crítico, afectando significativamente tanto a las glándulas submandibulares como a las parótidas. Así, pues, para que se desarrolle prandialidad es necesario producir, al menos, un déficit secretor simultáneo tanto submandibular como parotídeo (Stricker, 1970; Observación personal no comunicada). Por tanto, si como se ha postulado en experimentos previos, la región troncoencefálica lesionada en los animales experimentales se corresponde fundamentalmente con el n.S.s. (que controla la actividad secretora de las glándulas submandibulares-sublinguales), la extirpación de las glándulas parótidas (controladas por el n.S.i.), podría incrementar el déficit salival provocado cerebralmente. Bajo estas condiciones la desalivación inducida en el animal tras esta doble intervención, cerebral y periférica, debería estar próxima al déficit salival que sigue a la extirpación global de las glándulas, por lo que se esperaría que los sujetos manifestasen sed prandial. En las ratas controles no lesionadas cerebralmente, la extirpación de las glándulas parótidas no debe afectar la frecuencia de bebida, ya que el déficit salival inducido es sólo parcial.

Este tercer experimento ha sido efectuado con la intención de comprobar la hipótesis propuesta líneas más arriba.

METODO

Sujetos.

Se emplearon las mismas 30 ratas machos ya utilizadas en los dos experimentos anteriores. Las condiciones ambientales a que estuvieron sometidos los animales fueron idénticas a las descritas previamente.

Cirugía.

Al día siguiente de finalizar el experimento anterior, tanto experimentales como controles fueron anestesiados con éter etílico (Quimón, Barcelona) a fin de proceder a la sección bilateral del conducto de Stenon o parotídeo. Este procedimiento quirúrgico fue preferido a la extirpación de las propias glándulas debido, fundamentalmente, a la mayor

rapidez con la que se consigue la desalivación parotídea.

Una vez la zona parotídea ventrolateral de la cara y el cuello del animal era afeitada, se efectuaba sobre la piel de esta región un corte longitudinal de 2 cm., aproximadamente. A través de dicha incisión puede observarse detalladamente el conducto de Stenon, que corre sobre la superficie del masetero en paralelo al nervio Facial, localizado éste último más dorsalmente en esta misma estructura muscular. Seguidamente a 1 cm. de su entrada en la cavidad oral, el ducto parotídeo era separado cuidadosamente del masetero mediante unas pinzas de disección, ligándose con hilo de seda estéril dos extremos separados entre sí 2-3 mm. A continuación, el punto medio comprendido entre ambas zonas ligadas era seccionado.

El procedimiento quirúrgico descrito se efectuó bilateralmente, suturándose ambas incisiones una vez concluido.

Antes de colocar al animal en su jaula experimental, éste recibía vía intramuscular 0.1 c.c. de Omnicina 1.000.000 (Hoechst Ibérica S.A., Barcelona).

Procedimiento experimental.

Concluida la fase quirúrgica anterior, los animales eran depositados en sus jaulas experimentales. Tras 7 días de recuperación con agua y comida ad libitum, los dos grupos eran nuevamente habituados a comer alimento seco (pienso compuesto "Sandermus") durante un periodo de 2 horas diarias a lo largo de la mañana, disponiendo de agua ad libitum durante todo el día. Transcurridos 7 días de habituación, se registraba durante dos días consecutivos (días 31 y 32 postoperatorios) el número de respuestas de toma de agua ocurridas a lo largo de estas dos horas diarias de exposición a comida seca. Durante el día siguiente (día 33) la comida seca era sustituida por comida húmeda. Esta fue preparada mezclando dos partes de comida seca en polvo ("Sandermus") con tres partes de suero fisiológico isotónico. Ofrecido el alimento a los animales se registraba, igualmente, el número de respuestas de bebida emitidas por cada sujeto durante las dos horas de comida húmeda. Finalmente, en el cuarto y último día de prueba (día 34), los animales recibían nuevamente alimento seco durante un periodo de tiempo idéntico al de días anteriores.

A lo largo de los 4 días de prueba se midió la cantidad de agua y comida ingerida por los sujetos. Asimismo, durante este periodo se cal-

culó la longitud media de la respuesta de bebida de cada animal. Este índice es un potente indicador de prandialidad (Kissileff, 1969a), obteniéndose al dividir la cantidad total de agua bebida por un sujeto entre el número de respuestas de bebida emitidas por dicho animal durante cada periodo diario de 2 horas.

Análisis de los datos.

Los análisis estadísticos globales se realizaron mediante análisis de varianza mixtos 2x2 de características similares a los empleados en el experimento nº 2.

A fin de comparar en un mismo grupo el efecto de la sección del ducto parotídeo sobre la frecuencia de bebida, se emplearon en diversas ocasiones pruebas t para grupos relacionados (Arnau, 1978). También se utilizaron pruebas t de Student para muestras independientes con la intención de comparar estadísticamente la frecuencia media de bebida registrada en los grupos experimental y control, en cada uno de los distintos días de prueba de los que consta el presente experimento (McGuigan, 1968).

RESULTADOS

En el experimento nº 2 se demostró que la lesión de la región Parvocelular, independientemente de cualquier otro tratamiento, no afectaba la frecuencia de bebida durante el consumo de alimento seco. En el presente experimento se ha comprobado que la sección del conducto de Stenon origina el desarrollo de un modelo prandial de bebida en los animales lesionados cerebralmente (t muestras relacionadas = 3.291, $p < 0.01$. Figura 15). En el grupo control no se observó cambio alguno en dicho parámetro tras la sección del ducto parotídeo (t muestras relacionadas = 1.213, N.S. Figura 15). Por otro lado, el análisis global de varianza efectuado arrojó un valor de F significativo para el factor entre grupos (lesión+ducto seccionado versus no lesión+ducto seccionado. $F_{1,28} = 6.459$, $p < 0.025$. Tabla VI y figura 15).

A fin de completar la información proporcionada por el análisis de varianza anterior, se comparó mediante pruebas t para muestras independientes la frecuencia media de bebida observada en ambos grupos durante los dos días iniciales de la fase de prueba (días postoperato-

rios 31 y 32). En estos casos el valor de t fue de 2.515 y 2.573 respectivamente, presentando ambos una $p < 0.025$ (véase, tabla V y figura 15). Asimismo, durante el tercer día de la fase de prueba, es decir, cuando los animales recibieron únicamente comida húmeda a lo largo del periodo matinal de 2 horas, no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos ($t=0.672$, N.S. Tabla V. Figura 15). En cambio, una vez era reintroducida la comida seca al día siguiente, los animales experimentales manifestaron nuevamente un modelo alternante de bebida ($t=2.584$, $p < 0.025$. Tabla V. Figura 15).

Por otro lado, la cantidad de agua bebida por los sujetos experimentales en presencia de alimento seco durante los dos días iniciales de la fase de prueba, resultó ser prácticamente equivalente a la observada en los controles ($F_{1,28} = 1.814$, N.S.). No obstante, durante estos dos días, los animales lesionados con el ducto de Stenon seccionado presentaron una longitud media en su respuesta de bebida significativamente inferior a la observada en los controles ($F_{1,28} = 13.022$, $p < 0.01$. Véase, tabla VIII y figura 16). Al comparar separadamente los dos puntos anteriores, dichas diferencias seguían manteniéndose ($t=4.229$, $p < 0.001$ para el primer día; $t=2.720$, $p < 0.025$ para el segundo día. Véase tabla VII). En presencia de comida húmeda, los resultados obtenidos eran todavía estadísticamente diferentes aunque en menor grado a los registrados durante los días en los que las ratas tomaban alimento seco ($t=2.436$, $p < 0.025$. Tabla VII. Figura 16). Reintroducida la comida seca en el cuarto día de la fase de prueba, ambas curvas tendían a separarse nuevamente (véase figura 16 y tabla VII; $t=3.066$, $p < 0.01$).

Como era de esperar, ni durante la línea base, ni tampoco a lo largo de la fase experimental postoperatoria previa a la sección del ducto parotídeo, se observaron diferencias significativas entre experimentales y controles en la longitud media de la respuesta de bebida (línea base: $F_{1,28} = 0.568$, N.S.; periodo postoperatorio sin ductos seccionados: $F_{1,28} = 1.118$, N.S. Véase figura 16 y tabla VIII).

Para finalizar, la cantidad de alimento seco consumido a lo largo de los días de prueba por experimentales y controles, una vez seccionado el conducto de Stenon (días 31 y 32), alcanzó valores similares ($F_{1,28} = 0.973$, N.S.).

FIGURA 15

Frecuencia media de bebida observada en el grupo experimental (——) y control (-----) durante las fases de prueba correspondientes a la línea base, periodo postoperatorio de lesión cerebral y periodo de lesión cerebral+ducto parotídeo seccionado. Durante los días señalados en el eje de abscisas los animales recibieron alimento seco, salvo en el trigésimo tercer día posterior a la cirugía intracerebral, en el cual tanto a los sujetos experimentales como a los controles les fue ofrecido alimento húmedo (véase texto). Nivel de significación como en figura 11.

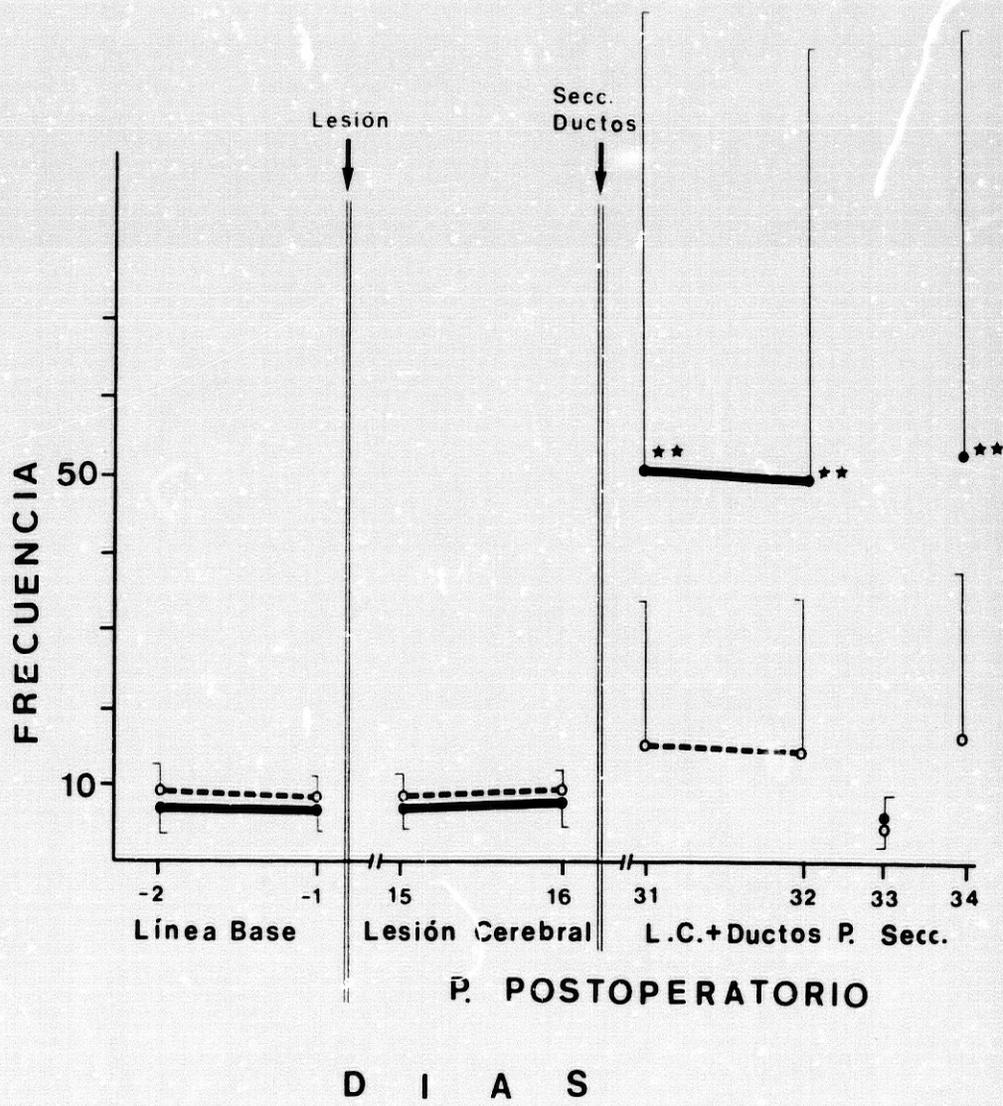


TABLA V

EXPERIMENTO Nº 3: FRECUENCIA MEDIA DE BEBIDA REGISTRADA DURANTE LAS TRES FASES TEMPORALES SEÑALADAS A CONTINUACION.

		LESION CEREBRAL				SECCION DUCTOS			
Días:		-2	-1	15	16	31	32	33 [†]	34
Exp.	\bar{x}	7.73	7.53	7.66	8.13	51.40	49.70	6.86	53.06
	SD	2.51	2.39	3.04	2.62	49.22	47.40	2.49	49.07
Cont.	\bar{x}	9.26	8.20	8.53	9.53	15.80	14.73	6.06	16.26
	SD	3.94	3.50	3.09	2.94	20.21	19.08	3.71	21.40
t		1.233	0.593	0.756	1.334	2.515	2.573	0.672	2.584
p		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	<0.025	<0.025	N.S.	<0.025

[†]Durante este día experimentales y controles recibieron comida húmeda y no alimento seco como fue establecido para el resto de los días.

TABLA VI

EXPERIMENTO Nº 3: ANOVAS MIXTOS 2x2 CORRESPONDIENTES A LA FRECUENCIA MEDIA DE BEBIDA REGISTRADA EN SUJETOS EXPERIMENTALES Y CONTROLES EN PRESENCIA DE COMIDA SECA. A: LINEA BASE. B: PERIODO POSTOPERATORIO DE LESION CEREBRAL. C: PERIODO POSTOPERATORIO DE LESION CEREBRAL+DUCTO PAROTIDEO SECCIONADO. NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

A: LINEA BASE

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		18.15	1	18.15	0.928
B (Días)		6.02	1	6.02	3.325
AxB		2.82	1	2.82	1.557
s/A		547.33	28	19.55	
Bxs/A		50.67	28	1.81	

B: PERIODO POSTOPERATORIO DE LESION CEREBRAL

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		19.27	1	19.27	1.179
B (Días)		8.07	1	8.07	3.837
AxB		1.07	1	1.07	0.507
s/A		457.67	28	16.35	
Bxs/A		58.87	28	2.10	

C: PERIODO POSTOPERATORIO DE LESION CEREBRAL+DUCTO PAROTIDEO SECCIONADO

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		18691.35	1	18691.35	6.459**
B (Días)		28.02	1	28.02	1.157
AxB		1.36	1	1.36	0.056
s/A		81021.74	28	2893.63	
Bxs/A		678.13	28	24.22	

FIGURA 16

Longitud media de la respuesta de bebida registrada en el grupo experimental (——) y control (-----) durante las distintas fases experimentales indicadas (línea base, lesión cerebral y lesión cerebral+ductos parotídeos seccionados). Este índice, expresado en c.c., se calculó al dividir la cantidad total de agua tomada por el número de respuestas de bebida emitidas por un sujeto dado durante las dos horas diarias de exposición a alimento. Durante los días señalados en el eje de abscisas, los animales recibieron alimento seco, salvo en el trigésimo tercer día posterior a la cirugía cerebral, en el cual tanto a experimentales como a controles les fue ofrecido alimento húmedo (véase texto). Nivel de significación como en figura 11.

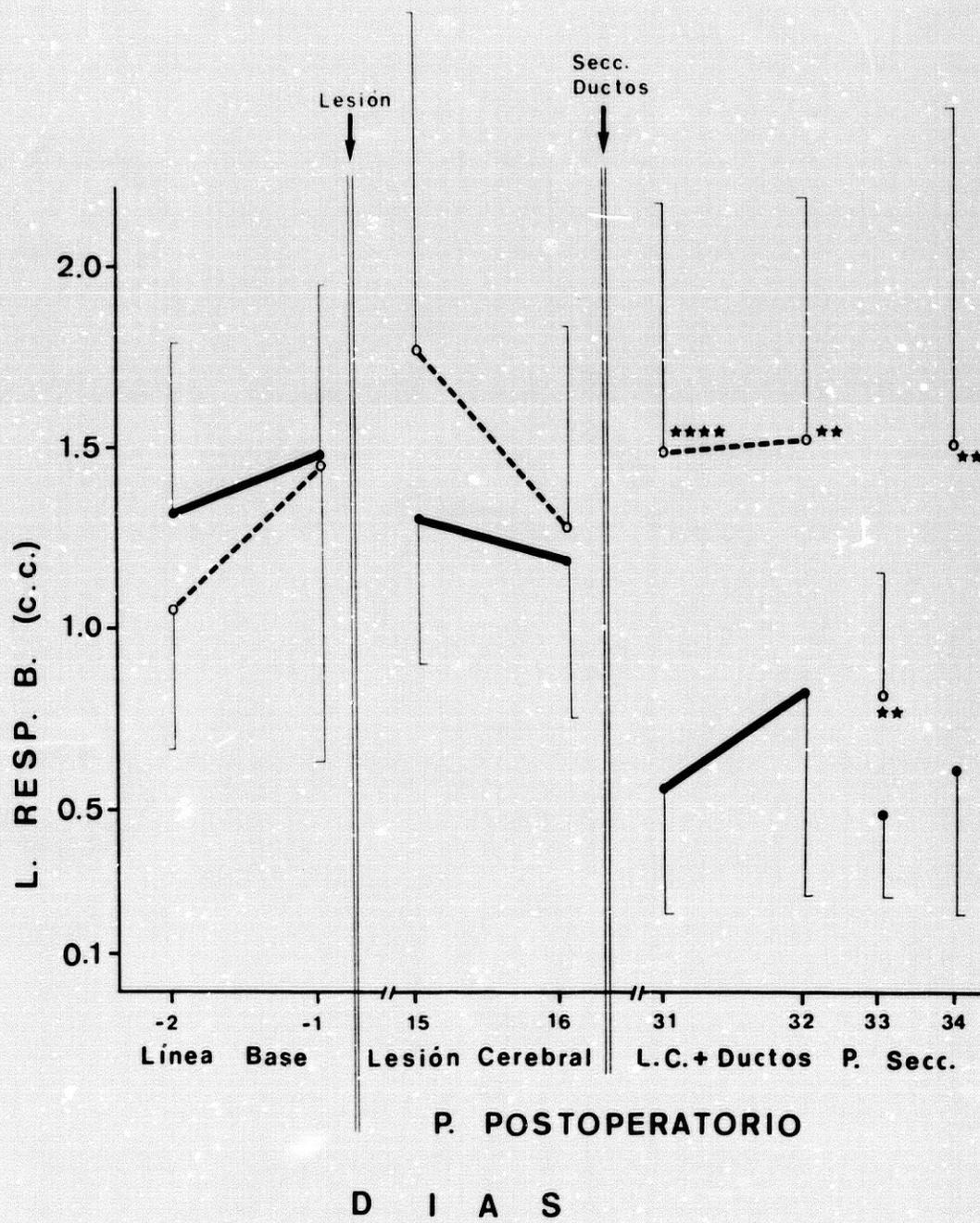


TABLA VII

EXPERIMENTO N° 3. LONGITUD MEDIA DE LA RESPUESTA DE BEBIDA OBSERVADA DURANTE LAS TRES FASES TEMPORALES SEÑALADAS A CONTINUACION.

				LESION CEREBRAL		SECCION DUCTOS			
Días:		-2	-1	15	16	31	32	33 ⁺	34
Exp.	\bar{x}	1.37	1.46	1.35	1.24	0.56	0.89	0.52	0.61
	SD	0.56	0.55	0.43	0.53	0.38	0.58	0.24	0.41
Cont.	\bar{x}	1.08	1.45	1.75	1.37	1.52	1.57	0.84	1.53
	SD	0.39	0.72	1.13	0.59	0.76	0.74	0.43	1.06
	t	1.584	0.090	1.250	0.619	4.229	2.720	2.436	3.066
	p	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	<0.001	<0.025	<0.025	<0.01

⁺Durante este día, tanto los sujetos experimentales como los controles, recibieron comida húmeda y no alimento seco como fue establecido para el resto de los días.