

TABLA VIII

EXPERIMENTO N° 3: ANOVAS MIXTOS 2x2 CORRESPONDIENTES A LA LONGITUD MEDIA DE LA RESPUESTA DE BEBIDA REGISTRADA EN SUJETOS EXPERIMENTALES Y CONTROLES EN PRESENCIA DE COMIDA SECA. A, B Y C COMO EN TABLA VI. NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

A: LINEA BASE

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		0.31	1	0.31	0.568
B (Días)		0.81	1	0.81	5.367*
AxB		0.30	1	0.30	2.011
s/A		15.47	28	0.55	
Bxs/A		4.21	28	0.15	

B: PERIODO POSTOPERATORIO DE LESION CEREBRAL

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		1.04	1	1.04	1.118
B (Días)		0.91	1	0.91	4.525*
AxB		0.26	1	0.26	1.296
s/A		26.06	28	0.93	
Bxs/A		5.65	28	0.20	

C: PERIODO POSTOPERATORIO DE LESION CEREBRAL+DUCTO PAROTIDEO SECCIONADO

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		10.10	1	10.10	13.022***
B (Días)		0.55	1	0.55	5.785**
AxB		0.30	1	0.30	3.150
s/A		21.72	28	0.78	
Bxs/A		2.64	28	0.09	

EXPERIMENTO Nº 4

Del experimento anterior puede concluirse, según se desprende de los datos presentados, que el funcionamiento de las glándulas submandibulares y sublinguales ha resultado afectado como consecuencia de las lesiones cerebrales efectuadas en los animales experimentales. De lo contrario sería difícil explicar por qué la desalivación parotídea de este grupo induce prandialidad. En los sujetos controles, sin embargo, la sección del ducto de Stenon no modifica la frecuencia de bebida, lo que sugiere que los animales no presentan ningún otro déficit salival adicional.

Así, pues, si las glándulas submandibulares de las ratas lesionadas cerebralmente reciben un "input" neural significativamente menor que las de los animales controles, tal y como se sigue de los resultados obtenidos en el experimento anterior, cabría esperar el desarrollo de supersensitividad en las glándulas mencionadas de los sujetos experimentales. El presente experimento fue diseñado con la intención de comprobar la posibilidad anteriormente expuesta.

Aunque todavía no se ha demostrado la naturaleza simpática, parasimpática o mixta de la zona cerebral destruida en el presente estudio, anatómicamente existen pruebas que sugieren su carácter parasimpático (Hosoya et al., 1983). Por otro lado, diversos estudios han demostrado repetidamente un fenómeno de supersensitividad principalmente colinérgico, tras la sección a nivel periférico de las fibras preganglionares salivatorias parasimpáticas (Emmelin y Muren, 1951; Ekström y Malmberg, 1981). Estos hechos, han inducido a que en el estudio presentado a continuación se haya empleado pilocarpina, fármaco parasimpaticomimético que presenta un potente y prolongado efecto secretor.

METODO

Sujetos.

En este experimento se utilizaron las mismas 30 ratas empleadas en los tres estudios anteriores. Las condiciones ambientales a que estuvieron sometidos los animales fueron similares a las descritas previamente.

Procedimiento experimental.

Finalizado el experimento anterior, tanto los sujetos experi-

mentales como los controles recibieron durante 5 días consecutivos agua y comida ad libitum. En el día siguiente, es decir, 39-40 días después de la cirugía cerebral, y tras ser anestesiados con éter etílico (Quimón, Barcelona), los animales eran inyectados intraperitonealmente con Tiopental (Fentothal Sódico, Abbott Laboratorios S.A., Madrid) a una dosis de 42 mgrs./kgr. Cuando los sujetos se encontraban profundamente anestesiados, se medía la saliva basal introduciendo en la cavidad oral del animal dos unidades de algodón hidrófilo de 10 mgrs. de peso cada una que permanecían durante 3 minutos a cada lado de la cavidad bucal. A continuación, estas unidades eran extraídas de la boca pesándose nuevamente en una balanza de precisión (Cobos, Barcelona). La cantidad de saliva secretada durante este estado de reposo previamente a la estimulación farmacológica de las glándulas submandibulares-sublinguales, fue empleada como una medida de línea base.

Seguidamente, tanto experimentales como controles eran inyectados intraperitonealmente con nitrato de pilocarpina (Sigma, U.S.A.) a una dosis de 0.32 mgrs./kgr. Esta dosis fue empleada debido a su capacidad secretora media tal y como se comprobó con antelación en un experimento piloto realizado por el autor. Posteriormente los sujetos eran colocados en decúbito prono, posición en la que permanecieron a lo largo de todo el experimento. El efecto secretor provocado por la pilocarpina fue medido a los 10, 20, 30, 40, 60, 90 y 120 minutos tras la inyección del fármaco, utilizando un procedimiento idéntico al descrito más arriba para la determinación de la saliva basal secretada. No obstante, en cada una de las medidas tomadas con posterioridad a la administración de pilocarpina, siempre se empleó una tercera unidad de algodón hidrófilo mediante la cual se obtenía la saliva que no había impregnado las dos unidades previas. Seguidamente, eran pesadas nuevamente en una balanza de precisión, computándose a continuación la saliva secretada para un punto temporal determinado. Concluido el proceso descrito, los sujetos experimentales eran colocados en su jaula habitual para ser perfundidos posteriormente.

Histología.

Todos los animales lesionados cerebralmente fueron perfundidos cardíacamente con el fin de examinar con precisión la localización neuroanatómica de la región troncoencefálica afectada por las 4 lesiones

electrolíticas. Con este propósito, los sujetos experimentales eran inyectados i.p. con una sobredosis letal de Tiopental. Profundamente anestesiados, se abría la pared torácica izquierda para acceder al corazón. Una vez expuesto éste, se realizaba una incisión de 2-3 mm. en la aurícula derecha, inyectando a continuación a través del ventrículo izquierdo 10 c.c. de suero fisiológico isotónico, seguido de 5-10 c.c. de formaldehído al 10 por ciento.

Finalizada la perfusión intracardíaca, el encéfalo era extraído mediante la apertura del cráneo por su región dorsal, introduciéndolo a continuación en una solución de formaldehído al 10 por ciento para su fijación durante un periodo de dos semanas, aproximadamente. Transcurrido este tiempo, la zona troncoencefálica donde estaban localizadas las lesiones efectuadas, era separada del resto del encéfalo mediante dos cortes coronales localizados posterior y rostralmente a la zona lesionada. Estos cortes incidían sobre la superficie dorsal del encéfalo describiendo un ángulo de 70 grados con relación a la dimensión rostral. De este modo, las láminas histológicas obtenidas de los animales experimentales que participaron en la presente serie de estudios, pudieron compararse fácilmente con los diagramas anatómicos presentados en el atlas de Pellegrino et al. (1979), los cuales fueron confeccionados empleando el mismo ángulo de corte. Este hecho facilitó enormemente la localización anatómica de la región afectada por las lesiones.

El bloque troncoencefálico separado del resto del encéfalo según el procedimiento antes expuesto, era laminado mediante un microtomo de congelación (Erma, Japón). Los cortes obtenidos presentaban un grosor de 80 micras, montándose en portaobjetos para su posterior examen bajo microscopio óptico (PZO-LM2, Polonia) a fin de comprobar la localización y extensión de las lesiones. Las láminas histológicas más representativas fueron dibujadas y microfotografiadas (Olympus Optical Co., mod. PM-6. Japón).

Análisis de los datos.

Con la finalidad de evaluar el efecto de la lesión de la región Parvocelular sobre la cantidad de saliva secretada tras la administración de pilocarpina, se realizó un análisis de varianza mixto 2x7 (Keppel, 1973). En este análisis el factor entre grupos se ha manipulado a dos niveles (lesión+ducto parotídeo seccionado versus no lesión+ducto parotídeo

seccionado) y la variable intrasujetos a 7 niveles (tiempo: 10, 20, 30, 40, 60, 90 y 120 minutos).

Para comparar estadísticamente la cantidad media de saliva secretada por los animales controles y experimentales en cada uno de los puntos temporales en los que se registraba la respuesta salival, se emplearon pruebas *t* de Student para muestras independientes. Esta misma prueba fue utilizada durante la línea base, a fin de contrastar cualquier posible diferencia (McGuigan, 1968).

RESULTADOS

Tras la inyección de pilocarpina, los animales lesionados secretaron una cantidad media de saliva significativamente superior a la registrada en los sujetos controles ($F_{1,28} = 9.074$, $p < 0.01$. Tabla X. Figuras 17 y 18). No obstante, un estudio detenido de la curva representada en la figura 17 indica que esta diferencia sólo se observaba durante los puntos iniciales de la curva, desapareciendo dicho efecto una vez habían transcurrido 40 minutos tras la administración de pilocarpina. Este hecho determinó que el efecto de interacción entre la lesión y el tiempo alcanzara un valor altamente significativo ($F_{6,168} = 7.777$, $p < 0.001$. Tabla X).

Asimismo, las diferentes pruebas *t* efectuadas señalaban únicamente diferencias significativas para los tres puntos iniciales de la curva obtenida. Así, a los 10 minutos de inyectar la pilocarpina, los sujetos experimentales secretaron una cantidad media de saliva significativamente mayor que la registrada en los controles ($t = 2.874$, $p < 0.01$. Tabla IX y figura 17). A los 20 y 30 minutos, los resultados obtenidos fueron similares ($t = 3.879$, $p < 0.001$ y $t = 3.477$, $p < 0.01$, respectivamente. Véase tabla IX y figura 17). Sin embargo, la saliva media secretada por experimentales y controles en los restantes puntos de medición, no alcanzó diferencias significativas (véase tabla IX). Tampoco la secreción basal de ambos grupos fue significativamente distinta ($t = 0.780$, N.S. Tabla IX).

Con referencia a los análisis anatómicos realizados en los cerebros de los 15 animales experimentales que participaron en los 4 experimentos del presente capítulo, un estudio detallado del Tronco Cerebral de cada uno de estos sujetos reveló que, en todos los casos, las lesiones destruyeron masivamente neuronas de la Formación Reticular Lateral Parvo-

celular bulbopontina. No obstante, dependiendo de los cerebros que se consideren, la región reticular fue afectada en mayor o menor extensión, alcanzando sólo esporádicamente las estructuras próximas.

En todos los cerebros, el centro de la lesión se hallaba situado entre -2.2 y -2.4 mm. posterior al punto cero estereotáxico, según el atlas anatómico de Pellegrino et al. (1979). A este nivel, las lesiones se situaban dorsalmente a la mitad lateral del núcleo motor del Facial. La región afectada quedaba restringida al área Parvocelular de la Formación Reticular, aunque en algunos cerebros y unilateralmente, el borde medial del núcleo del Tracto Espinal contiguo resultó también lesionado (en un 20 por ciento de los casos). En otros animales, el extremo dorsal del núcleo motor del Facial resultó igualmente dañado (20 por ciento de los casos estudiados).

Dorsomedialmente al área ocupada por las lesiones podía observarse el genu del Facial (véanse figuras 19 y 20).

Por lo general, la zona más rostral alcanzada por estas lesiones troncoencefálicas se extendía dorsalmente al borde posterior de la Oliva Superior, a una dimensión anteroposterior de -1.8, según el atlas de Pellegrino y colaboradores. A este nivel el área dañada quedaba prácticamente comprimida entre la estructura mencionada y el núcleo motor del Trigémino no afectando a ninguna de ellas. Por su parte, el punto más posterior del área destruida era observado, en la mayoría de los casos, dorsalmente al núcleo motor del Facial a -2.8 mm. posterior al meato auditivo, según Pellegrino y colaboradores.

Así, pues, aparentemente la región troncoencefálica activada y posteriormente lesionada en los 4 experimentos descritos en la presente serie, parece coincidir estrechamente con la ubicación neuroanatómica del n.S.s. de la rata, tal y como ha sido descrito recientemente tras el empleo de peroxidasa (véase apartado 5º de la Introducción General).

FIGURA 17

Cantidad media de saliva secretada por el grupo experimental (————) y control (-----) durante las dos horas siguientes tras la administración de nitrato de pilocarpina intraperitonealmente (0.32 mgrs./kgr.). Justamente antes de la inyección del fármaco se efectuó una medida de línea base. Nivel de significación como en figura 11.

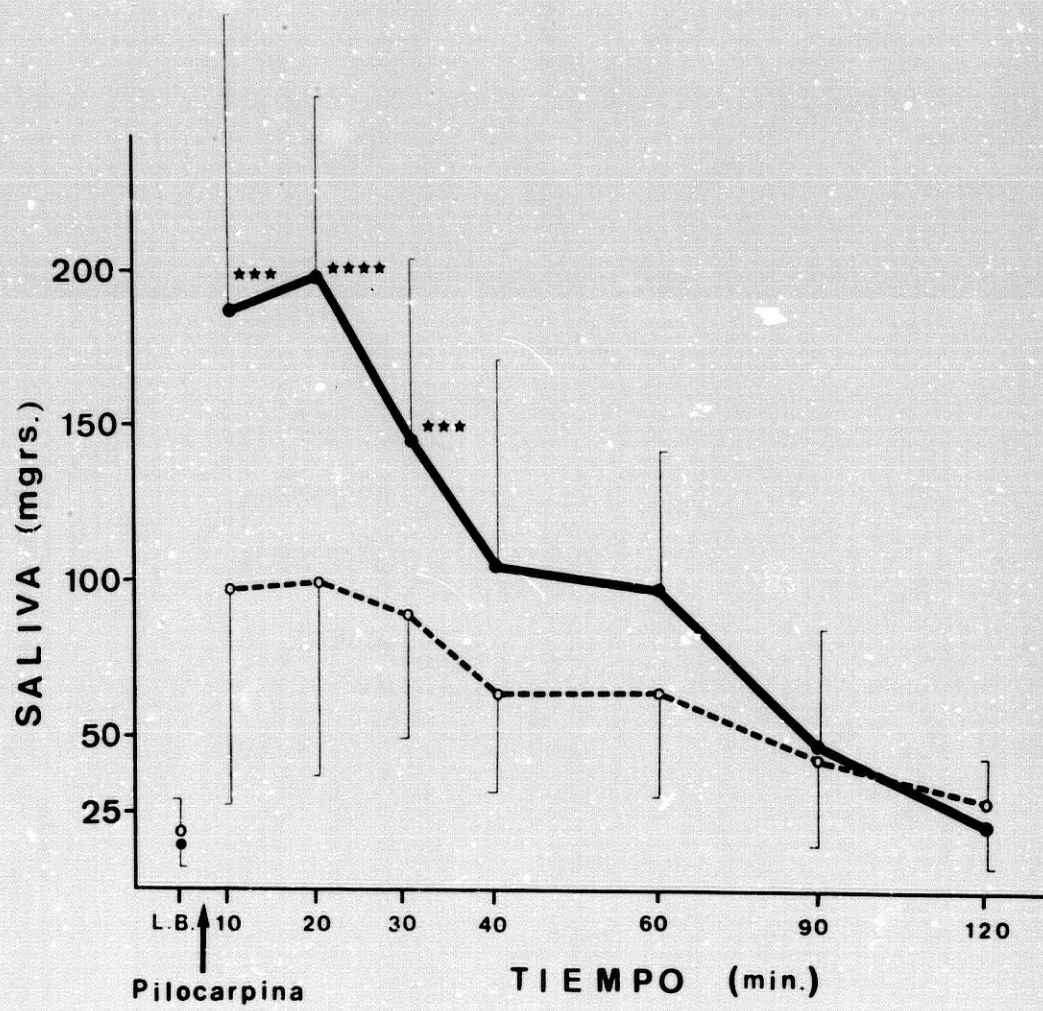


FIGURA 18

Cantidad media total de saliva secretada por el grupo experimental (E) y control (C) durante las dos horas siguientes a la administración intraperitoneal de nitrato de pilocarpina (0.32 mgrs./kgr.). Nivel de significación como en figura 11.

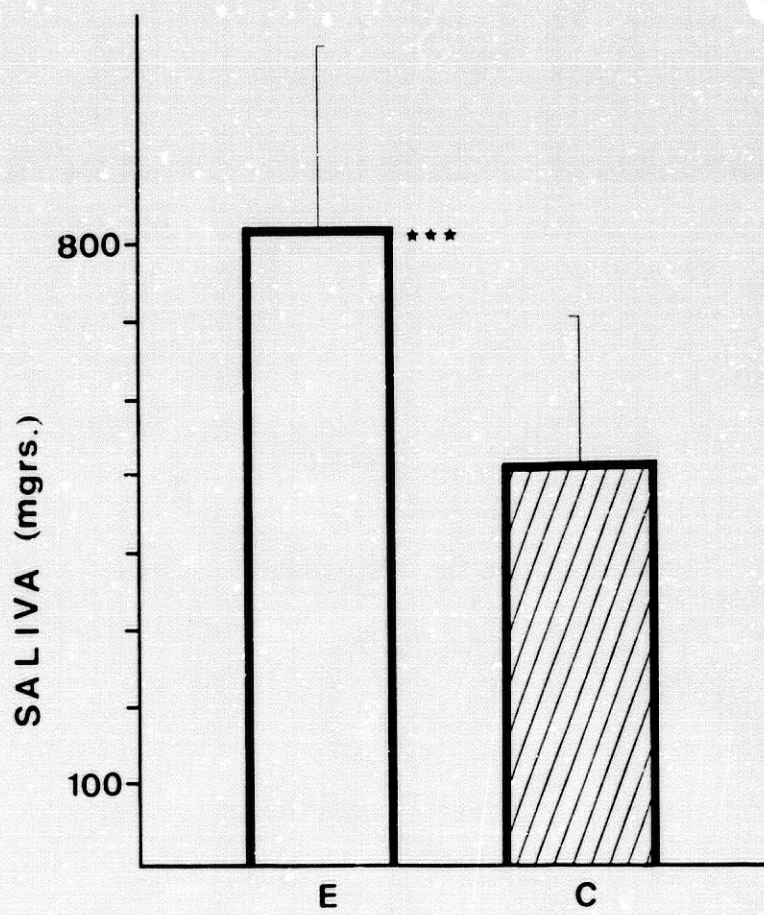


TABLA IX

EXPERIMENTO Nº 4: CANTIDAD MEDIA DE SALIVA SECRETADA POR EXPERIMENTALES Y CONTROLES (EN MGRS.) TRAS LA ADMINISTRACION DE NITRATO DE PILOCARPINA (0.32 mgrs./kgr. i.p.).

PILOCARPINA



		Tiempo: L.B.	10	20	30	40	60	90	120
Exp.	\bar{x}	13.33	185.33	197.33	144.00	105.33	98.00	48.66	28.00
	SD	9.42	80.57	63.08	53.14	60.86	40.85	38.09	21.66
Cont.	\bar{x}	16.00	98.66	100.66	81.33	68.00	69.33	47.33	35.33
	SD	8.79	79.82	69.32	42.08	35.62	40.90	34.92	18.92
	t	0.780	2.874	3.879	3.477	1.990	1.865	-	-
	p	N.S.	<0.01	<0.001	<0.01	N.S.	N.S.	-	-

TABLA X

EXPERIMENTO Nº 4: ANOVA MIXTO 2x7. NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		100324.30	1	100324.30	9.074***
B (Tiempo)		355102.80	6	59183.80	38.049****
AxB		72579.25	6	12096.54	7.777****
s/A		309575.50	28	11056.27	
Bxs/A		261317.80	168	1555.46	

FIGURA 19

Microfotografía de un corte frontal de la región bulbopontina en la que se observa bilateralmente el centro de las lesiones efectuadas en un animal experimental representativo (rata nº 36, total saliva: 280 mgrs.). Localización anteroposterior a -2.6 mm. posterior al meato auditivo, según el atlas neuroanatómico de Pellegrino et al. (1979). Ampliación x10. Abreviaturas: véase Apéndice.

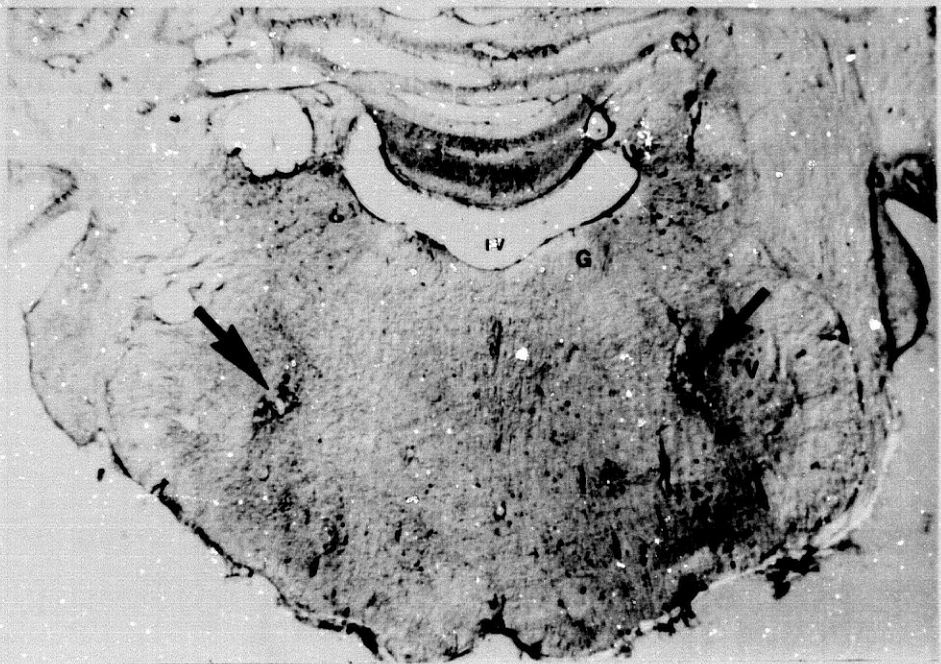
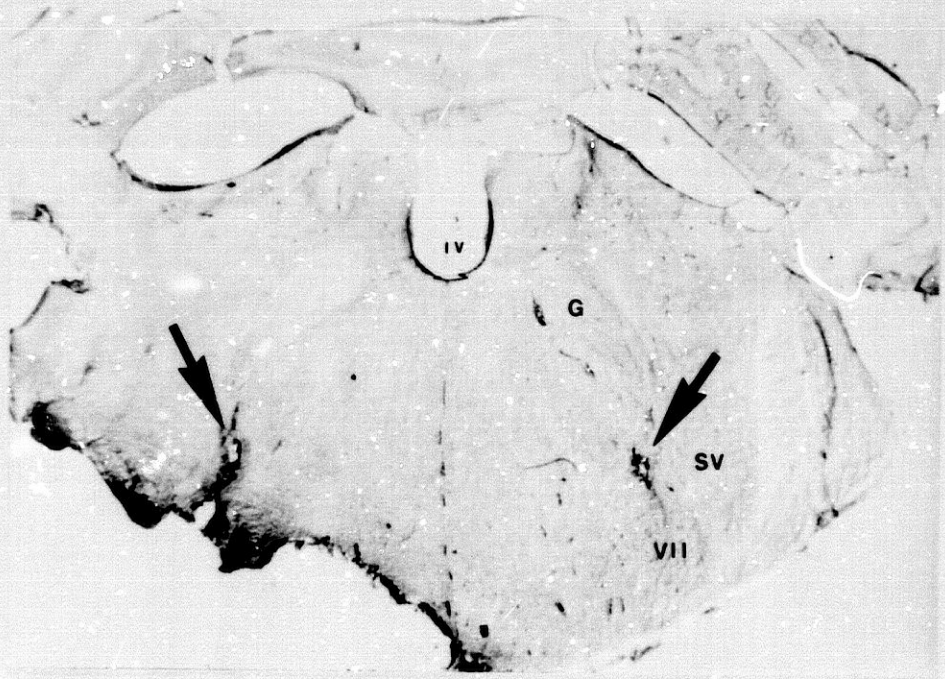


FIGURA 20

Microfotografía de un corte frontal de la región bulbopontina en la que se observa bilateralmente el centro de las lesiones efectuadas en un animal experimental representativo (rata nº 11, total saliva: 130 mgrs.). Localización anteroposterior a -2.4 mm. posterior al meato auditivo, según el atlas neuroanatómico de Pellegrino et al. (1979). Ampliación x10. Abreviaturas: véase Apéndice.



Los resultados presentados anteriormente, muestran una diferencia clara y significativa entre los dos grupos de animales utilizados a lo largo de los cuatro experimentos ya mencionados. Uno de estos grupos, el experimental, fue sometido a lesiones electrolíticas del núcleo Parvocelular bulbopontino. Por su parte, el grupo control fue operado intracerebralmente pero no lesionado. El resto de las operaciones quirúrgicas a que ambos grupos fueron sometidos, así como el procedimiento experimental que recibieron en los cuatro experimentos descritos anteriormente, permaneció constante en todos los casos, por lo que las diferencias detectadas entre experimentales y controles deben atribuirse exclusivamente al efecto de la lesión intracerebral.

En general, y dada la sucesiva capacidad activadora y lesiva de cualquier lesión electrolítica, la lesión del núcleo reticular Parvocelular bulbopontino ha provocado diversos efectos temporales sobre la secreción salival. En efecto, justamente tras el paso de la corriente eléctrica, los animales experimentales secretaban una cantidad de saliva significativamente superior a la registrada en controles no lesionados, hecho que sugiere un efecto activador temporal, a corto plazo, causado por la lesión electrolítica. Dicha hipersecreción podía observarse a los 0, 20 y 60 minutos tras la realización de la última de las lesiones efectuadas.

Posteriormente, cuando los sujetos ya se habían recuperado de la cirugía estereotáxica, se detectaron diversas anomalías comportamentales que indicaban, como se analizará más adelante en la presente discusión, que las lesiones efectuadas habían destruido una zona cerebral con funciones salivatorias. Entre estos efectos crónicos causados por la lesión intracerebral, que parecen debidos a su efecto propiamente lesivo sobre el tejido cerebral, destacan la aparición de una conducta consumatoria ineficaz y el desarrollo de prandialidad.

Este último comportamiento no era observado tras la sola lesión del área Parvocelular bulbopontina, tratamiento experimental que, teóricamente, provocaría un déficit parcial de saliva preferentemente submandibular y sublingual. Así, pues, en este caso hubo que incrementar y completar el déficit salivatorio inducido cerebralmente, mediante la extirpación bilateral de las glándulas parótidas (dependientes del sistema Salivatorio inferior del troncoencéfalo), con lo que la desalivación ex-

perimentada por los sujetos alcanzó un supuesto umbral crítico para el desarrollo de un modelo prandial de bebida. Los animales controles, a los que también se les extirparon las parótidas, no manifestaron cambio alguno en la frecuencia de bebida, hecho que indica una participación directa de la región destruida cerebralmente en el desarrollo de este comportamiento.

Finalmente, las lesiones efectuadas han alterado la respuesta secretora normal de las glándulas submandibulares y sublinguales en presencia de dosis medianas de pilocarpina, un agonista colinérgico. Bajo estas condiciones, las glándulas mencionadas de los sujetos experimentales secretan una cantidad de saliva significativamente superior a la registrada en controles sugiriéndose, una vez más, la influencia moduladora de la región Parvocelular bulbopontina sobre las glándulas salivales. A pesar de ello, el mecanismo concreto que subyace a este cambio en responsividad glandular provocado por las lesiones, no ha sido estudiado en el presente trabajo, discutiéndose más adelante las distintas alternativas posibles según los conocimientos existentes.

En relación al primer experimento de la serie ahora discutida, podría concluirse que el simple paso del tiempo produce un efecto significativo sobre la hipersecreción salival registrada durante la hora siguiente a la cirugía intracerebral, independientemente de que los animales hayan sido lesionados cerebralmente o no. Efectivamente, los resultados muestran un valor significativo del factor "tiempo" para el conjunto de los sujetos, tanto experimentales como controles. Sin embargo, el análisis de la interacción entre ambos factores (lesión y tiempo) podría restringir el efecto positivo del factor tiempo al grupo experimental. No obstante, la interacción alcanza un valor marginal al nivel de significación (a una centésima), lo que prácticamente sugiere la idea de que sólo en el grupo experimental se produce un aumento significativo en la secreción salival a lo largo de los tres puntos de medición postoperatorios.

En apoyo de la idea anterior, se ha comprobado que no existe ninguna diferencia significativa en los animales controles durante el periodo postoperatorio. De hecho, la mayor cantidad de saliva secretada por este grupo es la obtenida en la medición de línea base. En cambio, en el grupo experimental se observa un poderoso cambio tras la lesión en la cantidad de saliva secretada durante los tres puntos de medición ya men-

cionados.

Inicialmente podría pensarse que la secreción salival observada en el grupo experimental a consecuencia de las lesiones efectuadas, es resultado de la destrucción de un área troncoencefálica inhibidora de la salivación. Así, la eliminación de dicha influencia inhibitoria favorecería la actuación de otras áreas cerebrales de naturaleza excitatoria, con lo que el resultado final de la lesión podría consistir en un fuerte efecto hipersecretor más o menos similar al obtenido en este trabajo. Esta interpretación no se ve apoyada por los resultados obtenidos en los experimentos anteriormente descritos, ya que de ser cierta dicho efecto hipersecretor debería mantenerse permanentemente. No obstante, tras la recuperación de la cirugía intracerebral los animales experimentales desarrollan diversas anomalías en su comportamiento nutritivo que parecen sugerir, como más adelante se verá, un déficit secretor salival. Así, pues, tal y como se había propuesto al comienzo de esta serie experimental, la propia lesión ha debido activar la estructura cerebral sobre la que ha incidido el paso de corriente provocando, inicialmente, hipersecreción salival.

En efecto, existen numerosas pruebas que demuestran la activación del sistema secretor salival mediante lesiones electrolíticas. Así, por ejemplo, Grijalva et al. (1983) observaron hipersalivación en ratas a las que les había sido lesionado electrolíticamente el Hipotálamo Lateral 24 horas antes. Este hecho sugiere, según estos autores, un incremento en la actividad neuronal del área lesionada. Transcurrido algún tiempo, esta actividad hipersecretora salival provocada por la lesión hipotalámica desaparece, observándose un déficit crónico en secreción salival, el cual parece ser el causante del modelo prandial de bebida característico de estos animales con lesiones en el HL (Kissileff y Epstein, 1969).

También Schallert et al. (1978) observaron un efecto hipersecretor salival inmediatamente después de la lesión electrolítica del HL, seguido por hiposalivación a los 6 días tras la intervención cerebral. Esta misma secuencia temporal de hipersecreción seguida por hiposalivación, ha sido observada en la presente serie experimental tras la lesión electrolítica del núcleo Parvocelular reticular del Tronco Cerebral sugiriéndose, por tanto, un efecto estimulante de la lesión previamente a la destrucción neuronal.

Conclusiones análogas a las expuestas más arriba pueden extraerse cuando el sistema neurobiológico sobre el que incide la lesión presenta otras características funcionales. Así, Blessing et al. (1982) han demostrado claramente que la lesión electrolítica de las células circunscritas en el centro noradrenérgico bulbar A1, el cual proyecta directamente hacia el núcleo Supraóptico y Paraventricular del Hipotálamo, provoca una rápida hipersecreción de vasopresina. Los niveles de vasopresina plasmáticos registrados en el grupo lesionado comenzaban a ser significativos a los 5 minutos tras la lesión, conservándose esta diferencia incluso una hora después. Este efecto hipersecretor causado por la lesión de A1, parece ser evocado por la activación momentánea de dicha zona y no por la lesión de un sistema inhibitor de la secreción de vasopresina. Esta posibilidad ha sido demostrada tras la administración en esta región bulbar de L-glutamato, un potente neuroexcitador que producía efectos similares a los observados tras la lesión electrolítica (Blessing et al., 1985).

Por último, resultados semejantes a los comentados anteriormente pueden observarse cuando la lesión incide sobre zonas cerebrales implicadas en el control del sistema muscular. Así, en el conejo, McCormick y Thompson (1984) han demostrado que la lesión del núcleo Dentado Interpósito del Cerebelo provoca ipsilateralmente una secuencia de respuestas nictitantes seguida, más tardíamente, por un déficit en su producción bajo condiciones experimentales especiales.

En conclusión, y según los estudios mencionados anteriormente, puede asumirse que la corriente continua directa suministrada por una lesión electrolítica actúa durante cierto tiempo como agente estimulante de las neuronas a quienes se aplica, ejerciendo un efecto similar al producido por la corrientepulsante directa habitualmente empleada para la estimulación eléctrica cerebral. Por tanto, la lesión electrolítica supone activación neuronal temporal seguida de una lesión irreversible o permanente. El mecanismo a través del cual la lesión electrolítica produce uno u otro efecto no es bien conocido (Thompson, 1971; Schallert et al., 1977).

Resumiendo lo expuesto hasta ahora, en el primer experimento de la presente serie se ha observado un incremento significativo en secreción salival como resultado de las lesiones troncoencefálicas efectuadas. En segundo lugar, esta hipersecreción parece ser debida a una activación

temporal, causada por la lesión electrolítica, de una zona cerebral salivatoria. Por otra parte, se ha demostrado que este fenómeno no es debido al mero transcurso del tiempo, una vez efectuadas las lesiones.

Según los análisis histológicos realizados en los cerebros de los 15 animales experimentales empleados en esta serie de experimentos, el efecto secretor así como las subsiguientes alteraciones comportamentales discutidas más adelante, parecen venir causadas por la lesión de la región Parvocelular troncoencefálica, ubicada en la Formación Reticular lateral bulbopontina. Generalmente, en el conjunto de los animales experimentales, la lesión se extendía a lo largo de la Formación Reticular bulbopontina, situándose entre el genu del Facial, y el núcleo motor del VII par craneal. Así, la situación anatómica de las neuronas salivatorias lesionadas electrolíticamente en estos experimentos no se corresponde, por lo general, con las localizaciones neuroanatómicas propuestas para el n.S.s. mediante técnicas anatómicas tradicionales. Los datos aportados en esta serie experimental, por tanto, proponen inicialmente una nueva localización para las neuronas salivatorias del troncoencéfalo, distinta a las comunicadas hasta ahora en base a técnicas anatómicas de tinción histoquímica (colinesterasa) y de degeneración retrógrada celular.

Sin embargo, la zona anatómica afectada en los estudios fisiológicos aquí presentados parece coincidir estrechamente con la región delimitada como n.S.s. por la totalidad de los estudios que han utilizado peroxidasa, tanto en la rata como en otras especies (véase figura 5).

Así, la zona dañada en los animales experimentales empleados en este capítulo, coincide con el área troncoencefálica propuesta inicialmente por Hiura (1977) como n.S.s. Sin embargo, el nivel más rostral y posterior del núcleo sólo es alcanzado esporádicamente por la lesión.

Igualmente, la distribución de células marcadas observada por Contreras et al. (1980) es concordante con la zona de la Formación Reticular Parvocelular lesionada en los experimentos de la presente serie. En este caso, las lesiones efectuadas ocupan la mitad rostral del núcleo Salival superior, tal y como viene delimitado por Contreras y su grupo.

El centro de la zona lesionada electrolíticamente en los experimentos aquí comunicados se corresponde, asimismo, con la región anteroposterior de mayor porcentaje de células marcadas hallado por Nicholson et al. (1981). No obstante, los somas teñidos con peroxidasa en el estu-

dio anatómico de Nicholson y colaboradores se extienden hasta regiones más anteriores y más posteriores al lugar de la lesión.

Por su parte, la localización más rostral de las neuronas salivatorias que sugieren Mitchell y Temperton (1981) en su estudio neuroanatómico, sólo es afectado esporádicamente por estas lesiones electrolíticas, situándose más caudalmente tanto el mayor número de células marcadas como el centro de las lesiones.

En relación al estudio de Hosoya et al. (1983) empleando peroxidasa en la rata, las lesiones efectuadas en los experimentos de este capítulo se corresponden muy fielmente con la distribución de las células teñidas identificadas por estos autores como n.S.s. En este caso, tanto las lesiones como la zona central marcada con peroxidasa ocupan el área situada medialmente al núcleo Espinal del Trigémino y lateralmente a la raíz ascendente del nervio Facial. Nuevamente en esta ocasión, anteroposteriormente las lesiones realizadas se superponen a la mitad rostral del n.S.s., según la distribución de células marcadas observada por Hosoya y colaboradores.

En conclusión, por tanto, los exámenes histológicos llevados a cabo en los cerebros de los animales lesionados de la presente serie experimental permiten afirmar que la región activada y posteriormente destruida por las lesiones electrolíticas a que fueron sometidas las ratas experimentales, coincide con la mitad rostral del área troncoencefálica recientemente definida como n.S.s. mediante técnicas neuroanatómicas fiables (peroxidasa).

La región reticular Parvocelular bulbopontina lesionada en los experimentos ya descritos, no había sido definida funcionalmente hasta ahora como núcleo Salival superior en la rata. Pese a que en este capítulo no se disocia la saliva secretada por cada glándula salival individual tras la lesión cerebral, el hecho de que sólo se produzca prandialidad en los sujetos lesionados tras la extirpación bilateral de las glándulas parótidas, sugiere la posibilidad de que la zona troncoencefálica lesionada controle, fundamentalmente, la actividad secretora de las glándulas submandibulares y sublinguales correspondiéndose, por tanto, con el n.S.s. De este modo, la desalivación parotídea unida al déficit salival submandibular y sublingual provocado, al parecer, centralmente por las lesiones, ha debido dar lugar a un déficit secretor lo suficientemente elevado como para que los sujetos experimentales puedan desarrollar un

modelo prandial de bebida (véase experimento nº 3).

Además, como se ha demostrado en los experimentos anteriores, ni la desalivación parotídea (grupo control del experimento nº 3), ni la lesión del núcleo Parvocelular exclusivamente (grupo experimental, experimento nº 2), parecen inducir prandialidad, hecho que sugiere una vez más, la necesidad de un déficit salival global a fin de evocar el comportamiento mencionado, el cual sólo es producido en la presente serie tras la manipulación cerebral y periférica aludida conjuntamente.

Por otro lado, el modelo prandial de bebida observado en los sujetos lesionados del experimento nº 3, sólo es observado en presencia de alimento seco. Por el contrario, durante el consumo de alimento húmedo, en donde la sequedad oral es mínima, la sed prandial previamente observada en los animales experimentales era eliminada, no observándose bajo estas condiciones diferencias significativas entre controles y experimentales en el número de respuestas de bebida emitidas durante el consumo del alimento. Estos resultados sugieren claramente que el comportamiento prandial mencionado es provocado, específicamente, por la suma de tratamientos experimentales cuyo resultado final ha sido la aparición de un marcado déficit salivatorio. Por lo tanto, mientras que la intervención periférica provoca un déficit parotídeo, las lesiones cerebrales han debido afectar significativamente a las glándulas submandibulares y sublinguales.

Es improbable que las lesiones troncoencefálicas hayan afectado sustancialmente al núcleo Salival inferior, ya que de haberlo hecho estas lesiones habrían denervado significativamente a las glándulas parótidas. Bajo estas condiciones, por tanto, no hubiera sido necesario extirpar periféricamente las glándulas mencionadas a fin de que los sujetos lesionados desarrollasen un patrón prandial de bebida. No obstante, y en base a la demostrada superposición de somas salivatorios superiores e inferiores ya estudiada (véase apartado 5º de la Introducción General), es posible que las lesiones efectuadas hayan afectado al n.S.i., aunque siempre en menor grado que al superior. Esta idea, que será abordada en capítulos próximos, concuerda con los datos neuroanatómicos existentes sobre ambos núcleos salivales, dada la diferente densidad anteroposterior de unas y otras neuronas.

Al haberse demostrado histológicamente una estrecha concordancia entre la zona cerebral lesionada en la presente serie y aquella co-

municada recientemente como n.S.s., parece evidente que tanto la secreción salival evocada tras las lesiones como el resto de los fenómenos observados a largo plazo, son mediados por la actuación directa sobre somas celulares salivatorios, y no por la intervención específica sobre los sistemas aferentes o eferentes de los núcleos salivales troncoencefálicos propuestos anatómicamente.

Como ya se expuso anteriormente, los estudios clásicos de estimulación eléctrica localizaron los núcleos salivales en la región dorsal y lateral bulbopontina debido, principalmente, al fuerte efecto secretor evocado tras la estimulación de estas zonas (véase apartado 6º de la Introducción General). Sin embargo, según se desprende de los conocimientos anatómicos actuales, parece claro que en estos primeros estudios las zonas estimuladas se correspondían con regiones de paso de axones salivatorios eferentes, los cuales recorren una franja oblícuo dorsolateral hasta alcanzar la periferia (Contreras et al., 1980). De este modo, la zona reticular Parvocelular bulbopontina fue totalmente descartada como región de asiento de los cuerpos celulares salivatorios. De hecho, en ninguno de estos estudios se comunican puntos reactivos restringidos en esta zona, salvo en una publicación presentada por Chatfield (1941). En este último trabajo, las áreas bulbopontinas sensibles a secreción submandibular y sublingual aparecen difusamente diseminadas ocupando una región que podría corresponderse con el borde más rostral del n.S.s., tal y como ha sido definido recientemente con peroxidasa.

En relación a los estudios publicados últimamente por Donaldson, Mitchell y Templeton (1984a y b) sobre la localización funcional de los centros salivales del troncoencefalo, el área estimulada por estos autores no coincide anatómicamente con la zona intervenida en la presente serie experimental. En primer lugar, como se ha indicado más arriba, la zona lesionada en este trabajo se corresponde con la presentada como n.S.s. en los distintos trabajos efectuados con peroxidasa; esta zona lesionada, coincide incluso con la región delimitada neuroanatómicamente por estos mismos autores como n.S.s. (Mitchell y Templeton, 1981). Por su parte, sorprendentemente la zona estimulada por Donaldson et al. (1984a y b) y definida funcionalmente como centro salival, está localizada fuera de la Formación Reticular Lateral, quedando circunscrita, en todos los casos presentados, en el núcleo del Tracto Espinal del Trigémino. Según los conocimientos anatómicos existentes hasta este momento parece eviden-

te, por tanto, que el grupo de Donaldson no ha estimulado propiamente un núcleo salival, bien superior o inferior.

Sin embargo, tal y como demuestran Donaldson et al. (1984a y b), la estimulación del núcleo del Tracto Espinal del Trigémico evoca secreción salival, principalmente de la glándula parótida. Estos autores explican dicho efecto sugiriendo que la región estimulada constituye el origen de la inervación parasimpática de esta glándula. No obstante, la explicación propuesta carece de base anatómica que la sustente, no correspondiéndose tampoco con la zona presentada por Contreras et al. (1980) como n.S.i. y a la que Donaldson y colaboradores hacen referencia como sustrato neuroanatómico de su estimulación.

Podría proponerse aquí una posible explicación teórica de los hallazgos de Donaldson et al. (1984a y b). Estos resultados podrían deberse a la activación de fibras aferentes de la cuerda del tímpano que atraviesan el ángulo dorsolateral del núcleo del Tracto Espinal del Trigémico (Hiura, 1977; Contreras et al., 1980 y 1982; Whitehead et al., 1983), o bien a la estimulación del propio núcleo Espinal del Trigémico. De hecho, como han demostrado diversos estudios, las neuronas del núcleo Salival superior e inferior responden a la estimulación de ramas sensoriales del Trigémico que inervan la cavidad oral (Murakami et al, 1982 y 1983; Izhizuka et al., 1986), o tras la activación de aferencias gustativas por medios electrofisiológicos o fisiológicos (Eisenman y Azmitia, 1982). Así, pues, podría evocarse secreción salival tras la estimulación intracerebral de alguno de estos sistemas de fibras aferentes, los cuales discurren exactamente a través de la región activada por Donaldson y colaboradores.

Por otra parte, la estimulación eléctrica del núcleo del Tracto Espinal del Trigémico ha podido afectar, en los trabajos comentados, no sólo aferencias a ambos núcleos salivales, sino también axones secretomotores (Nomura y Mizuno, 1981 y 1982. Véase figura 5). De este modo, la amplia zona por la que transcurren los axones de las neuronas salivatorias antes de su salida del troncoencéfalo, atravesando el núcleo del Tracto Espinal del Trigémico, principalmente, sugiere también una posible explicación neuroanatómica a los resultados obtenidos por Donaldson et al. (1984a y b), no concordantes con los datos neuroanatómicos más recientes.

En conclusión, por tanto, los diversos estudios efectuados a

fin de localizar funcionalmente el n.S.s., confirman la existencia de una extensa zona bulbopontina implicada en el control neural de la salivación. Sin embargo, en todos estos estudios las regiones presentadas como n.S.s. coinciden con zonas de paso de vías aferentes o eferentes relacionadas directamente con los núcleos salivales del Tronco Cerebral, tal y como recientemente ha podido demostrarse al disociar anatómicamente los somas salivatorios de sus múltiples vías de conexión (véase apartado 5º de la Introducción General). En efecto, en los estudios anatómicos realizados con peroxidasa es fácil apreciar una localización diferente para los somas, por un lado, o bien para las fibras eferentes de dichas neuronas salivatorias. En el presente trabajo, los distintos efectos secretorios demostrados, tanto temporales (experimento nº 1) como permanentes o crónicos (experimentos nº 2, 3 y 4), han sido provocados por la lesión electrolítica de la región ocupada por los somas salivatorios sin afectar a los tractos de salida de estas neuronas, hecho que apoya funcionalmente la vieja y polémica idea que concedía a la Formación Reticular Parvocelular troncoencefálica una función secretomotora. Quizá sea esta una de las aportaciones fundamentales presentadas en esta serie experimental, dada la perfecta concordancia existente entre las zonas lesionadas en el presente estudio y aquellas otras que, en la rata, han sido descritas como asiento de somas salivatorios superiores mediante la aplicación de peroxidasa.

Asimismo, la zona cerebral lesionada en el presente conjunto de experimentos y definida como n.S.s. funcionalmente, representa la "vía final común" de un sistema cerebro-glandular. Efectivamente, como ya se comentó con anterioridad, si las fibras preganglionares eferentes de la cuerda del tímpano son estimuladas eléctricamente justamente antes de su entrada a la glándula submandibular, pueden registrarse potenciales antidrómicos restringidos en el n.S.s

La hipersecreción salival observada en el presente estudio como resultado de la lesión del área Parvocelular bulbopontina, parece deberse específicamente a la activación directa de somas salivatorios superiores fundamentalmente, y no debida a la estimulación de cualquier otro sistema que a su vez provoque un efecto salivatorio secundario. Igualmente, la secreción observada no puede ser atribuida a un efecto activador generalizado.

La idea de que la hipersalivación obtenida en estos casos es primaria, se ve apoyada por diversos hechos experimentales observados en esta serie experimental. En efecto, una vez los animales se habían recuperado de la cirugía estereotáxica, los sujetos lesionados manifestaban diversas alteraciones en su comportamiento nutritivo desarrolladas, según parece, por un profundo déficit en secreción salival. Así, pues, dado que la lesión electrolítica del área Parvocelular provoca un déficit permanente en secreción salival, es lógico suponer que la hipersalivación inicial registrada inmediatamente después de la cirugía cerebral, sea debida a una activación directa de la corriente eléctrica sobre neuronas salivatorias, las cuales resultan destruidas irreversiblemente con posterioridad.

Como ya se ha mencionado, uno de los comportamientos a través del cual parece poder inferirse un déficit en secreción salival, consiste en la aparición de numerosos restos alimenticios (véase Stricker, 1970). Así, tal y como cabría esperar, los animales lesionados intracerebralmente en este capítulo, presentaban dicha anomalía consumatoria en un grado significativamente superior al registrado en sujetos controles (véase experimento nº 2). Este fenómeno era observado una vez habían transcurrido 15 días tras la cirugía estereotáxica, periodo de tiempo suficientemente largo como para que el efecto lesivo del tratamiento electrolítico haya sustituido a la capacidad activadora de la lesión, puesta de manifiesto en el experimento nº 1 (véase Schallert et al., 1978).

Otros autores han demostrado, asimismo, una conducta consumatoria ineficaz como resultado de la lesión de la zona situada medialmente al complejo amigdalino (Dacey y Grossman, 1977). En estos casos, las ratas experimentales solían presentar una eficiencia alimenticia unas tres veces inferior a la observada en sujetos controles, caracterizada por un incremento en la cantidad de alimento residual. Este déficit consumatorio remite al 6-8 día postoperatorio siendo provocado, según parece, por la interrupción de fibras piramidales con dirección a la musculatura oral. En este mismo trabajo, la lesión del Globus Pallidus producía un déficit afágico temporal (6-7 días), sin embargo, aunque los animales experimentales comían menor cantidad de alimento durante estos días no se registró déficit consumatorio alguno, lo que demuestra que la aparición de restos alimenticios no es un efecto postoperatorio generalizado. Asimismo, la lesión del núcleo amigdalino central no inducía afagia, ni tam-

poco una disminución en la eficacia alimenticia.

El efecto comunicado en el experimento nº 2 de la presente serie, no puede ser explicado en base a un déficit en la coordinación sensoriomotora necesaria durante la nutrición, tal y como propone Grossman (véase Dacey y Grossman, 1977). En primer lugar, las lesiones realizadas no afectan a zonas troncoencefálicas implicadas directamente en los reflejos linguomandibulares. Así, el núcleo motor del Trigémino y sus fibras eferentes de salida se encuentran localizados rostródorsalmente al área lesionada, no habiendo sido alcanzados en ninguno de los 15 cerebros examinados. Por otro lado, las lesiones efectuadas se encontraban muy alejadas del tracto Piramidal, el cual presenta una localización medial.

En segundo lugar, el curso temporal del fenómeno comunicado por Dacey y Grossman es muy diferente al observado en este estudio. De este modo, mientras que el déficit consumatorio descrito en el trabajo mencionado desaparece a los 6-8 días postoperatorios, los datos presentados en el experimento nº 2 de este capítulo fueron registrados 15-16 días después de la lesión del área Parvocelular.

Un comportamiento similar al comentado más arriba, ha sido observado también por Zeigler (1983 y 1984) tras la sección periférica de ramas sensoriales del Trigémino, o bien como consecuencia de lesiones cerebrales que afectaban al Lemniscus del Trigémino en algún punto comprendido entre su origen, en el núcleo Sensorial del Trigémino, y su terminación en el complejo ventrobasal talámico. Las ratas afectadas por el "síndrome del Trigémino" manifiestan un periodo de afagia cuya duración y gravedad es proporcional a la magnitud del déficit sensorial producido. Es más, estos animales dedican gran parte del tiempo total empleado en comer manipulando el alimento, lo que da lugar a un aumento significativo en la cantidad de restos alimenticios.

A pesar de la enorme similitud entre el fenómeno anterior presentado por Zeigler y el observado en la presente investigación como resultado de las lesiones realizadas en la Formación Reticular Lateral bulbopontina, parece improbable que la conducta consumatoria ineficaz descrita en ambos estudios sea causada por los mismos mecanismos. Por una parte, las lesiones efectuadas en los sujetos experimentales de esta serie sólo alcanzaban parcial y unilateralmente el núcleo Sensorial del Trigémino en algunos casos aislados (en 3 de 15 ratas lesionadas). Además, si dichas lesiones hubieran afectado en mayor o menor grado al sis-

tema del Trigémino cabría esperar un comportamiento afágico proporcional al daño neural producido. No obstante, 15-16 días después de haber sido lesionada el área Parvocelular, momento en el que los animales afectados por el síndrome del Trigémino todavía manifiestan una profunda afagia, no se observaron diferencias significativas entre experimentales y controles en la cantidad media de comida seca consumida. A pesar de ello, la eficiencia alimenticia registrada en los sujetos experimentales, tal y como ha sido definida con antelación, era significativamente inferior a la observada en controles no lesionados. Por tanto, esta disociación entre la conducta nutritiva y la eficiencia alimenticia demostrada claramente en los sujetos experimentales de la presente serie y ausente en los animales afectados por el síndrome del Trigémino (véase Zeigler, 1983), sugiere que los mecanismos neurales que median en uno y otro caso la conducta estudiada son diferentes.

Es posible, por tanto, que el fenómeno comentado sea debido a un déficit en secreción salival inducido por la lesión del área reticular Parvocelular. Esta interpretación está en consonancia con los resultados obtenidos por otros autores (Stricker, 1970; Lawson et al., 1974), tras la extirpación parcial o total de las glándulas salivales. Es más, en la presente serie se aporta un dato que demuestra claramente que la conducta alimenticia ineficaz manifestada por los sujetos experimentales viene determinada por un profundo déficit salival. En efecto, como ya se ha mencionado previamente, la extirpación bilateral de las glándulas parótidas provoca en estos animales lesionados el desarrollo de un modelo prandial de bebida. Este hecho sugiere que la lesión cerebral ha debido de causar un déficit secretor salival, fundamentalmente de origen submandibular y sublingual, de lo contrario no podría explicarse la aparición de la prandialidad tras la intervención periférica. Por tanto, parece lógico atribuir el déficit consumatorio presentado en el experimento nº 2 de este trabajo a la lesión de un centro cerebral implicado directamente en secreción salival.

Igualmente, la prandialidad observada en los sujetos lesionados durante el tercer experimento de esta serie parece deberse a un déficit específico en secreción salival. En efecto, como ya se comentó anteriormente, esta conducta alternante de bebida es totalmente eliminada cuando la comida seca es sustituida por alimento húmedo, lo que demuestra que dicho modelo comportamental sólo se manifiesta dependiendo de las necesi-

dades secretoras a que experimentalmente se exponen los animales.

En resumen, por tanto, hasta ahora se ha demostrado que la secreción salival evocada como consecuencia de la lesión Parvocelular es específica, producida por la activación de una región cerebral con funciones salivatorias. Por otra parte, su lesión da lugar a déficits permanentes o crónicos en secreción salival asociados fundamentalmente con las glándulas submandibulares y sublinguales, tal y como se desprende de las alteraciones comportamentales anteriormente expuestas. La zona activada y posteriormente destruida por las lesiones, coincide exactamente con el n.S.s. según la nueva localización anatómica recientemente propuesta para esta estructura neuronal. Así, pues, en base a los exámenes histológicos realizados, las lesiones electrolíticas efectuadas en la presente serie de experimentos parecen haber afectado principalmente a somas y no a fibras salivatorias.

Existe una prueba experimental directa que sugiere que las glándulas submandibulares-sublinguales han sido afectadas sustancialmente por la intervención cerebral realizada. Efectivamente, la respuesta salival observada tras la estimulación colinérgica con pilocarpina de las glándulas submandibulares y sublinguales, es significativamente diferente en función de que los sujetos presenten lesiones en la región Parvocelular del Tronco Cerebral o pertenezcan al grupo control. Para la misma dosis, los animales experimentales secretan una cantidad media de saliva significativamente superior a la registrada en controles, hecho que sugiere que las lesiones reticulares han debido de afectar una zona cerebral relacionada directamente con el normal funcionamiento de las glándulas antes mencionadas.

Este mismo fenómeno ha sido observado repetidamente tras la denervación de las glándulas submandibulares y sublinguales mediante la sección periférica de la cuerda del tímpano (Emmelin y Muren, 1951; Ekström y Malmberg, 1981). Por tanto, los resultados obtenidos en este estudio podrían ser explicados por el desarrollo de supersensitividad en las glándulas submandibulares y sublinguales como consecuencia de la denervación glandular causada por las lesiones troncoencefálicas. De hecho, esta interpretación es concordante con los datos obtenidos en los experimentos previos del presente capítulo.

Sin embargo, más que supersensitividad, fenómeno que implica un cambio en las células postsinápticas, una explicación alternativa a los

resultados del experimento comentado podría proponer que la denervación submandibular y sublingual provocada por la lesión central, haya reducido significativamente los niveles de acetilcolinesterasa presentes en las sinapsis glandulares, permitiendo la actuación de la pilocarpina durante periodos de tiempo más prolongados. Este mayor tiempo de actuación se traduciría fisiológicamente en una respuesta secretora salival incrementada. De hecho, tanto en las glándulas salivales como en otras vísceras y órganos periféricos inervados normalmente, la disminución de los niveles de acetilcolinesterasa tras la administración de agentes farmacológicos anticolinesterásicos produce, en presencia de agonistas colinérgicos, una respuesta incrementada similar a la observada en un caso típico de supersensitividad (Westfall et al., 1974; McConnell et al., 1976). En estos casos, en cambio, el efecto desaparece una vez cesa la acción anticolinesterásica, por lo que no se puede hablar de una auténtica supersensitividad postsináptica.

Al parecer, los niveles glandulares de este enzima son muy sensibles a la denervación, ya que sólo 2 días después de este tratamiento experimental la magnitud de acetilcolinesterasa submandibular disminuye significativamente (Nordenfelt, 1964), hecho que apoya todavía más la hipótesis alternativa expuesta líneas más arriba.

A pesar de esta posible argumentación, frecuentemente presentada en este tipo de estudios, Strömblad (1957) demostró funcionalmente en la glándula submandibular del gato que la pilocarpina, el agonista colinérgico empleado en el presente estudio, no era susceptible a la degradación por acetilcolinesterasa. La inhibición de dicho enzima unilateralmente mediante la administración de agentes anticolinesterásicos inyectados en la glándula submandibular a través de su ducto excretor principal, no producía tras la aplicación de pilocarpina una secreción salival significativamente superior a la registrada en la glándula control, cuyos niveles enzimáticos normales no habían sido modificados. En cambio, la administración de pilocarpina algunos días después de la denervación parasimpática submandibular, sí evocaba una respuesta salival significativamente superior a la observada en la glándula control.

Por tanto, puede asumirse que la respuesta secretora aumentada descrita en el experimento nº 4 viene mediada por un incremento en la sensibilidad glandular, fenómeno que hace su aparición tras la denervación parasimpática o simpática de una estructura periférica dada. Este

hecho constituye una prueba más a partir de la cual puede inferirse una función secretora salival para la Formación Reticular Parvocelular. No obstante, el mecanismo postsináptico mediante el cual las glándulas submandibulares y sublinguales adquieren mayor capacidad de respuesta, no ha sido estudiado en el presente trabajo.

En general se acepta que la supersensitividad submandibular inducida tras la denervación simpática viene mediada por un incremento de los receptores beta adrenérgicos, principalmente (Arnett y Davis, 1979). En cambio, la descentralización parasimpática de esta glándula no produce un incremento en el número de receptores muscarínicos submandibulares, como tampoco en la afinidad de los mismos (Ekström, datos no publicados. Véase Ekström et al., 1982). Igualmente, la sección del nervio auriculotemporal no aumenta el número de receptores muscarínicos detectados en la glándula parótida; al contrario, dicho tratamiento parece disminuir significativamente la densidad de los mismos en comparación con controles no operados, lo que sugiere, por otra parte, la existencia de receptores colinérgicos de este tipo en las fibras salivatorias indicadas antes de su degeneración (Talamo et al., 1979).

A partir de estos estudios, por tanto, podría concluirse la existencia de otros mecanismos distintos a los expuestos líneas más arriba como posibles mediadores de la supersensitividad glandular. Es probable que estos mecanismos alternativos se basen en cambios en la permeabilidad iónica de la membrana de las células receptoras, tal y como ocurre en otros sistemas periféricos, el músculo cardíaco, por ejemplo (véase Thesleff et al., 1980).

Los resultados anteriormente expuestos no concuerdan con los datos publicados por Hedlund, Abens y Bartfai (1983), quienes han demostrado un claro aumento en el número de receptores muscarínicos detectados en los tres pares de glándulas salivales, tras el bloqueo farmacológico glandular (con atropina) durante un periodo prolongado de tiempo (14 días).

Asimismo, en consonancia con el estudio de Hedlund y colaboradores, si el input nervioso submandibular es incrementado durante varias semanas mediante la administración periódica de anticolinesterasas, por ejemplo, se observa la aparición de un fenómeno de subsensitividad funcional asociado a una reducción específica de la densidad de receptores muscarínicos glandulares (Costa y Murphy, 1985).

Este último dato, pues, unido al de Hedlund et al. (1983) antes mencionado, sugiere que no puede descartarse un cambio en la densidad de los receptores postsinápticos glandulares como base explicativa del fenómeno aquí comentado. En conclusión, por tanto, se requieren nuevas pruebas que determinen la validez de los trabajos efectuados hasta ahora, presentando resultados unánimes sobre este problema.

A modo de resumen, los diferentes experimentos presentados en este capítulo sugieren individualmente una función secretora salival para la Formación Reticular Parvocelular bulbopontina. A pesar de que las conclusiones que se desprenden de los distintos estudios anteriormente expuestos son comunes, el procedimiento seguido en cada uno de los 4 experimentos presentados difiere marcadamente. Por tanto, a partir de datos fisiológicos (experimento nº 1), comportamentales (experimentos nº 2 y 3) y farmacológicos (experimento nº 4), parecen extraerse idénticas conclusiones. Globalmente, el hecho de que se aborde un mismo problema desde perspectivas biológicas diferentes, como ha ocurrido aquí, permite que los distintos datos obtenidos se complementen entre sí, lo que puede ayudar, por otra parte, a interpretar en un solo sentido los resultados observados. Así, aunque a partir de los datos expuestos en el primer experimento de este capítulo no se puede concluir una activación directa fundamentalmente sobre las neuronas salivatorias superiores, los experimentos 3º y 4º, en cambio, sí apoyan esta interpretación. Al mismo tiempo, los experimentos nº 2 y 3, en los que se demuestra un déficit salival crónico o permanente, sugieren que la hipersalivación observada en el primer experimento de la presente serie es mediada por la intervención específica y directa sobre neuronas salivatorias, y no debida a la activación de cualquier otro sistema neural implicado secundariamente en secreción salival. De no ser así, las lesiones troncoencefálicas probablemente no habrían provocado un déficit secretor a largo plazo.

Pese a las diversas conclusiones obtenidas sobre las funciones secretoras del área Parvocelular a partir de los estudios anteriormente comentados, las preguntas que todavía quedan por contestar en relación a este tema son numerosas. En los capítulos sucesivos se exponen y desarrollan las principales cuestiones experimentales que el presente capítulo ha generado.

CAPITULO II

PARTICIPACION DE LA FORMACION RETICULAR PARVOCELULAR BULBOPONTINA EN LA SECRECION DE SALIVA SUBMANDIBULAR Y SUBLINGUAL.

.Introducción.

.Experimento nº 5

Método

Sujetos

Cirugía

Procedimiento experimental

Análisis de los datos

Resultados

.Experimento nº 6

Método

Sujetos

Procedimiento experimental

Análisis de los datos

Resultados

.Experimento nº 7

Método

Sujetos

Procedimiento experimental

Análisis de los datos

Resultados

.Experimento nº 8

Método

Sujetos

Procedimiento experimental

Histología

Análisis de los datos

Resultados

.Discusión.

INTRODUCCION

En el capítulo anterior se demostró que la región Parvocelular de la Formación Reticular bulbopontina presenta claras funciones salivatorias. Diversas pruebas presentadas en dicho capítulo, indicaban que las lesiones electrolíticas habían destruido neuronas salivales superiores. En la presente serie experimental se ha estudiado con mayor detalle y desde una perspectiva funcional, la relación existente entre la Formación Reticular Parvocelular y las glándulas submandibulares y sublinguales.

El esquema general seguido en esta serie experimental, es esencialmente idéntico al que guió el capítulo anterior. Así, pues, mediante una sola intervención cerebral, la lesión electrolítica de la región reticular ya mencionada, se ha tratado de provocar efectos temporales y permanentes o crónicos, directamente asociados a las glándulas salivales submandibulares y sublinguales. A diferencia de la serie anterior, todos los experimentos presentados en este capítulo fueron realizados en animales a los que les habían sido extirpadas bilateralmente las glándulas parótidas antes de la cirugía estereotáxica.

Si como parece deducirse a partir del capítulo primero, la Formación Reticular Parvocelular constituye el n.S.s., cabe suponer que la lesión de dicha área evoque una elevada hipersecreción de saliva submandibular y sublingual, ahora disociada de la secreción parotídea, como resultado del efecto activa or temporal inherente a cualquier tratamiento electrolítico (Schallert et al., 1977). Posteriormente, una vez el efecto estimulante de la lesión haya sido sustituido por el propiamente lesivo, se esperaría que los animales lesionados desarrollasen prandialidad. Como se sabe, este comportamiento es exclusivo de los sujetos con un déficit

salival submandibular y parotídeo simultáneo (observación personal no publicada), que en el caso presente se alcanzaría mediante la desalivación parotídea periférica previa a la cirugía estereotáxica sumada al déficit en secreción submandibular-sublingual provocado cerebralmente por las lesiones.

Es muy probable que las lesiones cerebrales restringidas a la zona Parvocelular no afecten a la totalidad del n.S.s., aunque sí a su mayor parte. De hecho, los diversos estudios neuroanatómicos realizados recientemente sobre esta estructura cerebral en la rata, sugieren que su longitud aproximada oscila alrededor de los 2 mm. (Mitchell y Templeton, 1981). No obstante, la longitud media anteroposterior de las lesiones efectuadas en la serie anteriormente expuesta sólo alcanzaban 1 mm., aproximadamente. Así, pues, la denervación submandibular-sublingual inducida cerebralmente por estas lesiones podría ser aumentada mediante el bloqueo farmacológico de dichas glándulas, lo que debería provocar, a su vez, un cambio paralelo en prandialidad. De hecho, la prandialidad inducida en ratas tras la lesión bilateral del Hipotálamo Lateral, puede ser incrementada si el déficit salival provocado por las lesiones es aumentado como resultado de la extirpación de los tres pares de glándulas salivales (Kissileff y Epstein, 1969).

Cabe suponer que las dosis farmacológicas necesarias para producir un aumento en el comportamiento prandial de los sujetos experimentales de este capítulo, sean inferiores a las requeridas para provocar dicha conducta en las ratas controles, dada la denervación ya existente en el primer grupo indicado. Probablemente, esta potenciación farmacológica de la lesión reticular podría ser conseguida mediante la inyección de un agente parasimpaticolítico, dada la posible naturaleza parasimpática sugerida por la neuroanatomía para este centro secretor (véase apartado 5º de la Introducción General).

Por otro lado, si la región Parvocelular troncoencefálica se corresponde con el n.S.s., su lesión debe afectar a las glándulas submandibulares y sublinguales en diversos aspectos fundamentales. Efectivamente, las glándulas salivales son estructuras muy sensibles a los cambios que se producen en su inervación. Ya se señalaron previamente las distintas alteraciones en sensibilidad glandular provocadas como resultado de un aumento o disminución de la actividad nerviosa que alcanza las glándulas salivales, subsensibilidad y supersensibilidad, respectivamen-

te.

Incluso tras la sección unilateral de los nervios glandulares simpáticos, la actividad nerviosa de las fibras parasimpáticas ipsilaterales incrementa significativamente en comparación con las glándulas contralaterales no denervadas, lo que demuestra la plasticidad del sistema nervioso salivatorio ante cualquier alteración que afecte el funcionamiento glandular (Asking y Emmelin, 1985).

Estos cambios en la actividad funcional de las glándulas salivales producen, por ejemplo, cambios paralelos en el peso glandular. En efecto, si la actividad secretora glandular disminuye como resultado de la denervación simpática (Ekström y Malmberg, 1984), parasimpática (Peronace et al., 1964; Hall et al., 1973; Mark et al., 1983), o bien debido al consumo de alimento húmedo durante un periodo prolongado de tiempo (Hall y Schneyer, 1964), tanto las glándulas submandibulares-sublinguales como las parótidas experimentan una marcada atrofia que se manifiesta, entre otras características, a través de una clara y significativa reducción del peso glandular. Al parecer, esta reducción de peso es debida a una disminución en el tamaño de las células acinares, no observándose cambio alguno en la cantidad de unidades celulares (Hall y Schneyer, 1969).

Por otro lado, la reducción de peso observada en cualquiera de las glándulas salivales tras la denervación parasimpática, siempre es significativamente superior a la registrada como resultado de la simpantectomía (Ekström, 1980; Ekström et al., 1981).

Por el contrario, cuando la actividad glandular es incrementada durante un prolongado periodo de tiempo mediante la presentación diaria de alimento extremadamente seco, suele presentarse hipertrofia glandular, la cual puede detectarse con facilidad debido al aumento significativo en el peso de las glándulas. Este fenómeno hipertrófico está mediado por los nervios salivatorios parasimpáticos, principalmente, ya que la sección de estas fibras nerviosas impide la aparición del efecto (Wells y Peronace, 1967; Hall y Schneyer, 1978).

Por tanto, según se desprende de los datos anteriormente expuestos, el peso de las estructuras glandulares constituye en sí mismo un índice sensible a partir del cual puede inferirse el efecto que un tratamiento experimental dado ha tenido sobre la actividad glandular. Así, la lesión masiva de la región troncoencefálica definida recientemente

como n.S.s. (véase Tramonte et al., 1986) debe ir seguida, además de los efectos comentados en las páginas anteriores, por la aparición de una marcada atrofia submandibular y sublingual.

En resumen, la presente serie experimental ha sido efectuada con la intención de aportar pruebas funcionales que demuestren que la Formación Reticular Parvocelular bulbopontina constituye un centro secretor salival submandibular-sublingual correspondiéndose, por tanto, con el núcleo Salival superior.

EXPERIMENTO Nº 5

En el experimento nº 1 se demostró un incremento significativo en secreción salival como resultado de las diversas lesiones electrolíticas efectuadas en la región Parvocelular. Sin embargo, en dicho estudio no se disoció la cantidad de saliva secretada por cada uno de los tres pares de glándulas salivales mayores. Como parece seguirse del experimento nº 3 ya comentado, la zona activada y posteriormente lesionada podría corresponderse con el n.S.s. Por tanto, la activación de dicha área troncoencefálica debería evocar hipersalivación submandibular y sublingual, fundamentalmente. Este quinto experimento ha sido realizado con la finalidad de demostrar la hipótesis anterior.

METODO

Sujetos.

En el presente experimento se han utilizado 26 ratas machos de raza Wistar, nacidas y criadas en el Servicio de animales de la Universidad de Granada. Cada animal fue colocado individualmente en jaulas experimentales de las mismas características que las descritas previamente en el experimento nº 1. Asimismo, tanto la alimentación como las condiciones ambientales a que estuvieron sometidas las ratas de este estudio fueron idénticas a las mencionadas con anterioridad (véase "Sujetos" del experimento nº 1).

El peso de las ratas en el momento de la cirugía estereotáxica oscilaba entre 280 y 330 gramos. De los 26 sujetos empleados, 15 fueron asignados aleatoriamente al grupo experimental, realizándose en ellos las lesiones cerebrales correspondientes. Los 11 animales restantes pasaron a formar parte del grupo control, siendo operados intracerebralmente pero no lesionados electrolíticamente.

Cirugía.

Quince días antes de efectuarse la cirugía estereotáxica, tanto a los animales experimentales como a los controles les fue seccionado bilateralmente el conducto de Stenon, según el procedimiento quirúrgico descrito en el experimento nº 3. De este modo la saliva recogida en la cavidad oral durante la hora siguiente a la cirugía estereotáxica, era únicamente secretada por las glándulas submandibulares-sublinguales.

A los quince animales experimentales de la presente serie les fue lesionada electrolíticamente la región Parvocelular de la Formación Reticular bulbopontina. Los animales controles fueron operados, pero no lesionados. Ambas operaciones cerebrales se realizaron según el procedimiento quirúrgico ya descrito en el apartado de "Cirugía" del experimento nº 1, empleándose las mismas coordenadas estereotáxicas.

Procedimiento experimental.

El sistema seguido en el presente experimento para medir la cantidad de saliva secretada por experimentales y controles, durante la línea base y a lo largo de la hora siguiente a la cirugía estereotáxica, fue idéntico al empleado en el experimento nº 1.

Análisis de los datos.

A fin de evaluar el efecto de la lesión electrolítica de la región Parvocelular bulbopontina sobre la cantidad de saliva submandibular y sublingual secretada a lo largo de la hora siguiente a la cirugía cerebral, se realizó un análisis de varianza mixto 2x3. Puesto que los grupos presentaban un número desigual de sujetos, el procedimiento estadístico seguido para el cálculo de los correspondientes valores de F del análisis de varianza mencionado, se ajustó al método de medias no ponderadas descrito por Keppel (véase Keppel, 1973; capítulo 17). En este análisis el factor entre grupos se ha manipulado a dos niveles (lesión versus no lesión) y el factor intrasujetos, correspondiente a los tres puntos postoperatorios de medición, a tres niveles (tiempo: 0, 20 y 60 minutos).

Asimismo, con la intención de comparar estadísticamente la cantidad media de saliva secretada por controles y experimentales en cada uno de los puntos temporales postoperatorios en los que se registraba la

respuesta salival, se emplearon pruebas t de Student para muestras independientes. Esta misma prueba fue empleada a fin de contrastar cualquier posible diferencia en secreción submandibular-sublingual durante la línea base (McGuigan, 1968).

RESULTADOS

Tal y como muestran los resultados del presente experimento, la cantidad media de saliva submandibular y sublingual secretada por los sujetos lesionados durante la hora siguiente a la cirugía cerebral, es significativamente superior a la registrada en animales controles operados, pero no lesionados ($F_{1,24} = 5.954$, $p < 0.025$. Tablas XI y XII y figuras 21 y 22).

Por otro lado, las distintas pruebas t efectuadas señalaban únicamente diferencias significativas para los dos últimos puntos representados en la figura 21. Así, 20 minutos después de finalizada la cirugía intracerebral, el valor de t calculado detectaba un efecto hipersecretor salival a favor de los sujetos experimentales ($t=2.552$, $p < 0.025$. Tabla XI y figura 23). Igualmente, la cantidad media de saliva submandibular y sublingual secretada por los sujetos experimentales en el tercer punto de medición postoperatorio, fue significativamente superior a la registrada en animales controles no lesionados ($t=2.558$, $p < 0.025$. Véase figura 23 y tabla XI). Por el contrario, la cantidad de saliva medida en las ratas experimentales durante la línea base o inmediatamente después de realizar las lesiones electrolíticas (tiempo "0"), no fue significativamente diferente a la registrada en los sujetos controles ($t=0.535$, N.S. y $t=1.413$, N.S., respectivamente. Véase tabla XI y figura 23).

FIGURA 21

Cantidad media de saliva submandibular-sublingual 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). Algunos días antes de la cirugía estereotáxica tanto a los sujetos experimentales como a los controles les fue seccionado bilateralmente el conducto de Stenon. Nivel de significación como en figura 11.

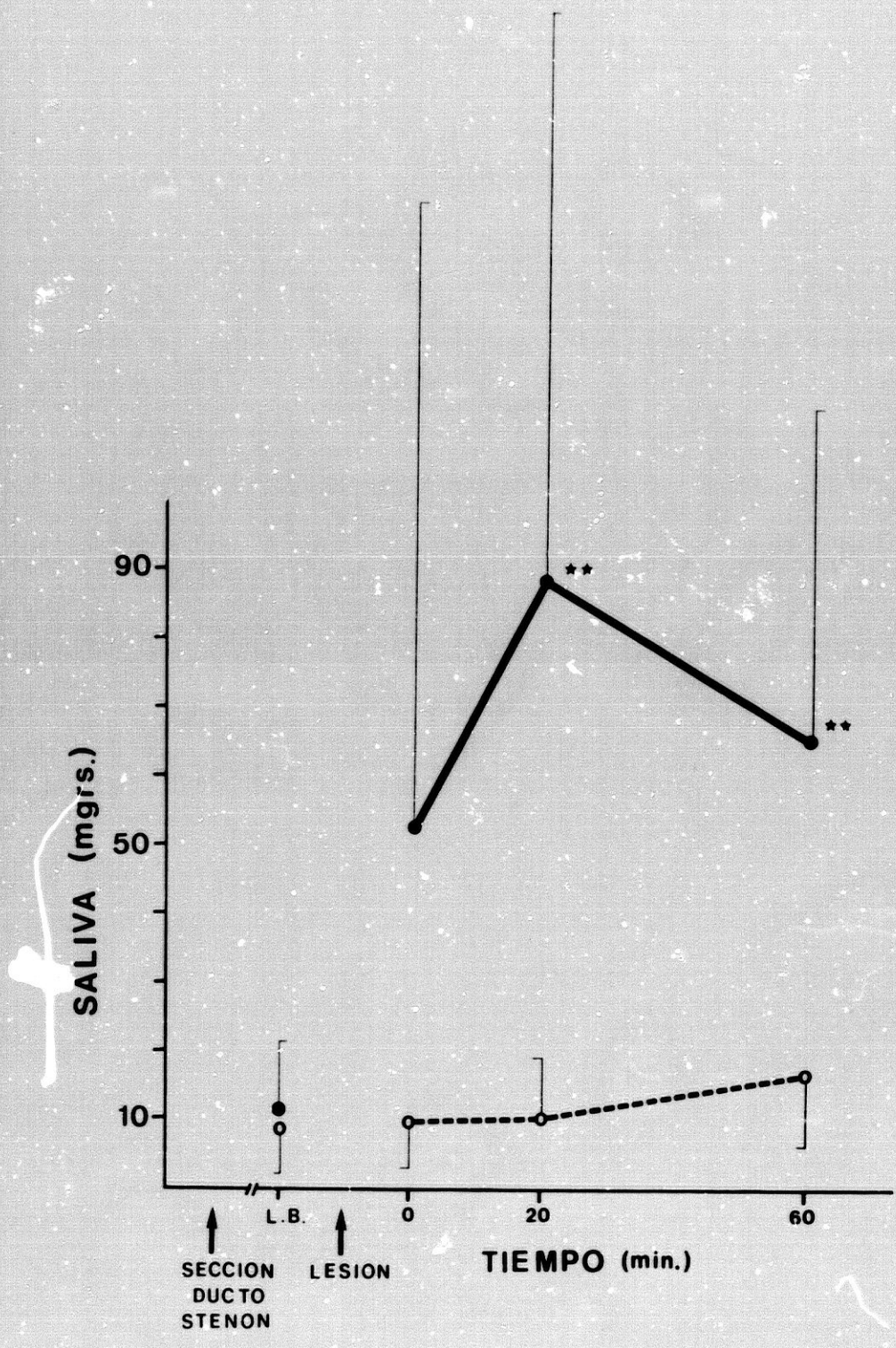


FIGURA 22

Cantidad media total de saliva submandibular-sublingual secretada por el grupo experimental (E) y control (C) durante la hora siguiente a las lesiones. A ambos grupos de animales les fue seccionado el conducto de Stenon con antelación a la cirugía cerebral. Nivel de significación como en figura 11.

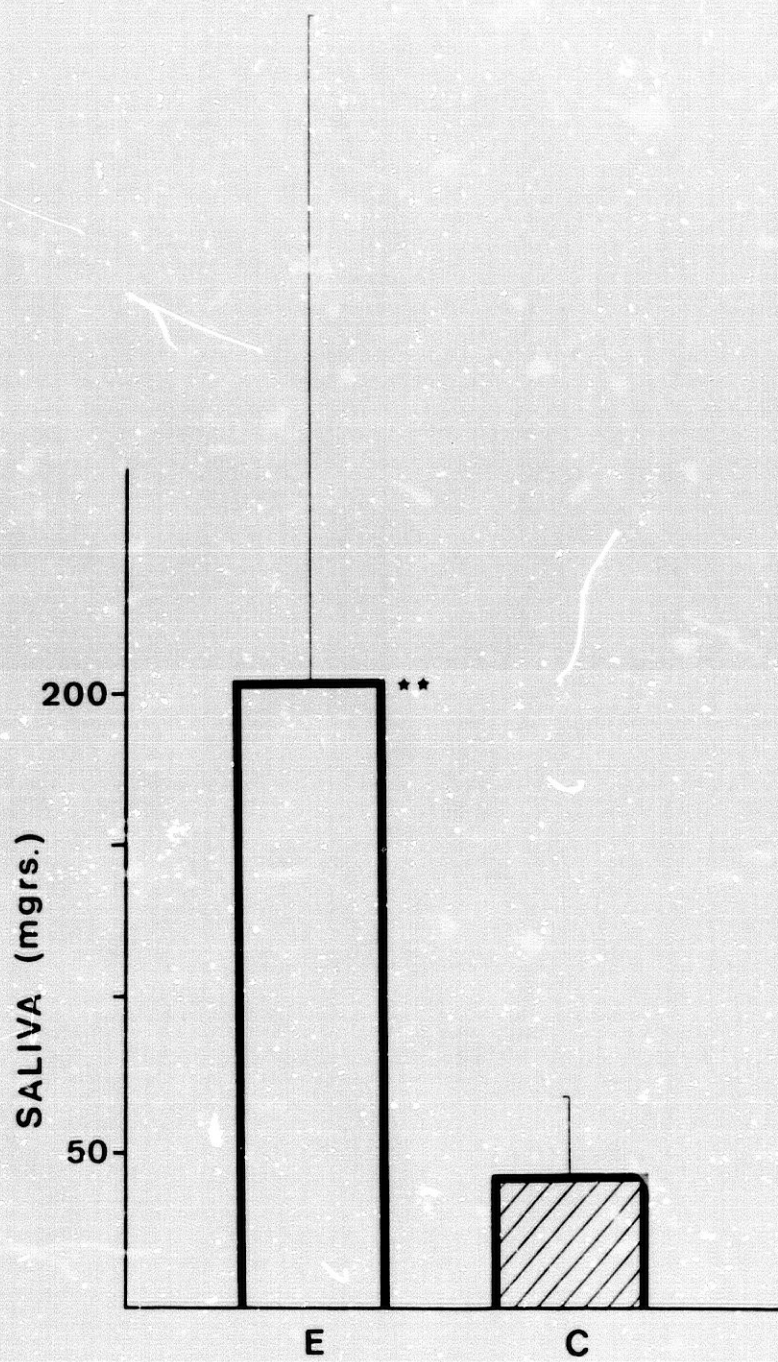


FIGURA 23

Cantidad media de saliva submandibular-sublingual 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 5. 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.

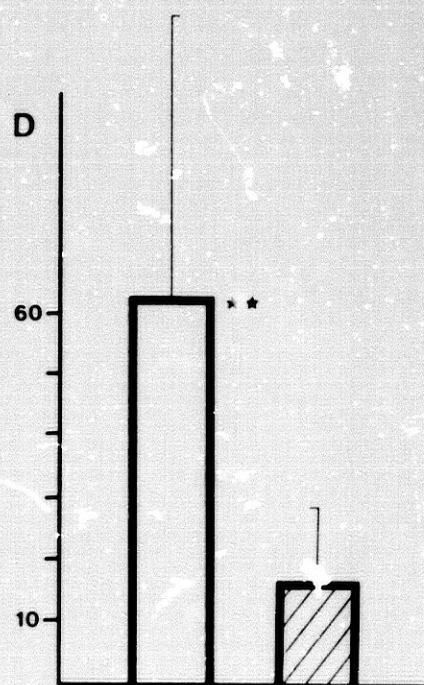
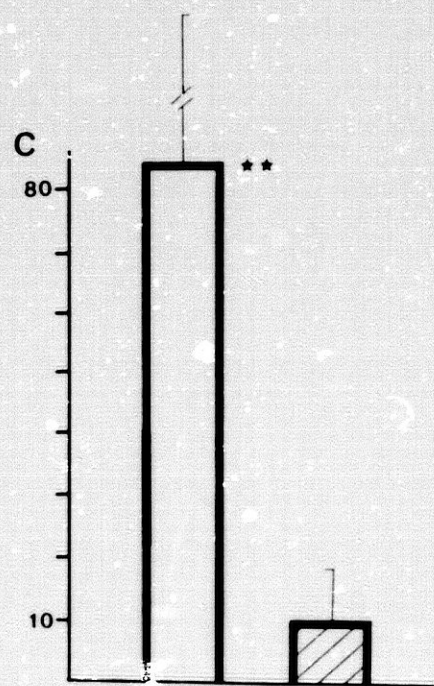
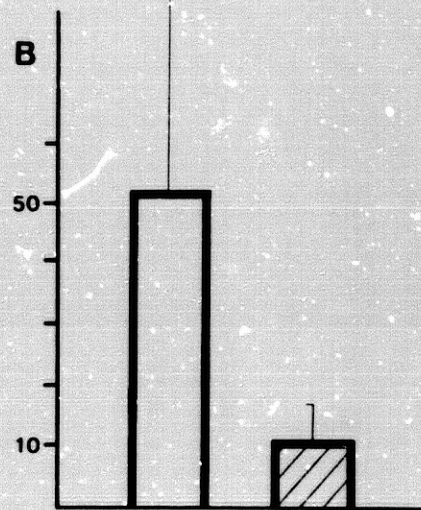
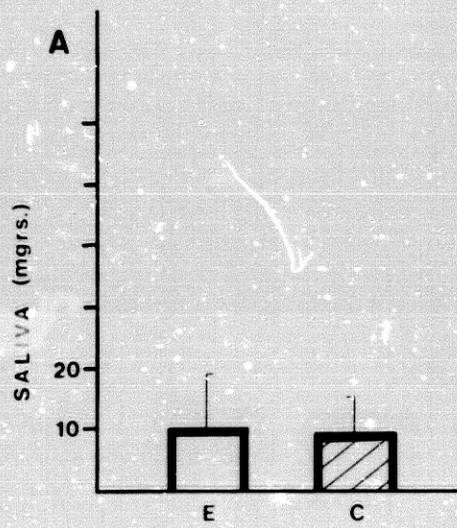


TABLA XI

EXPERIMENTO Nº 5: CANTIDAD MEDIA DE SALIVA (MGRS.) SECRETADA POR ANIMALES EXPERIMENTALES Y CONTROLES ANTES DE LA LESION CEREBRAL Y DURANTE LOS TRES PUNTOS POSTOPERATORIOS DE MEDIDA.

LESION
CEREBRAL



		Tiempo: L.B.	0	20	60	TOTAL
Exp.	\bar{x}	11.33	53.33	87.33	63.33	204.00
	SD	11.46	97.68	94.97	50.21	215.24
Cont.	\bar{x}	9.09	10.00	10.90	18.18	39.09
	SD	7.92	7.38	10.83	12.66	20.65
	t	0.535	1.413	2.552	2.558	2.433
	p	N.S.	N.S.	< 0.025	< 0.025	< 0.025

TABLA XII

EXPERIMENTO N° 5: ANOVA MIXTO 2x3. NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		57858.001	1	57858.001	5.954**
B (Tiempo)		3889.240	2	1944.620	0.986
AxB		4419.498	2	2209.749	1.121
s/A		233216.970	24	9717.373	
Bxs/A		94597.590	48	1970.783	

EXPERIMENTO Nº 6

Según se desprende de los datos obtenidos en el experimento anterior, la zona reticular activada constituye un centro secretor submandibular y sublingual. Una vez el efecto estimulante de las lesiones electrolíticas sea sustituido por el propiamente lesivo (véase Schallert et al., 1978), cabe esperar que los animales experimentales presenten un marcado déficit salivatorio asociado a las glándulas antes mencionadas.

Por tanto, y puesto que a los sujetos del presente experimento les fue seccionado bilateralmente el conducto de Stenon con antelación a la cirugía intracerebral, cabe suponer que tras la lesión cerebral los animales experimentales desarrollen un modelo prandial de bebida. De este modo, la desalivación parotídea sumada a la denervación de las glándulas submandibulares y sublinguales inducida cerebralmente, provocaría un déficit secretor salival próximo a la desalivación global, condición imprescindible para que pueda desarrollarse la conducta alternante de bebida antes mencionada. Por el contrario, en las ratas controles no lesionadas cerebralmente, el déficit parotídeo producido como resultado de la sección del conducto de Stenon sería insuficiente para provocar un aumento significativo en la frecuencia de bebida, ya que en estos sujetos las glándulas submandibulares y sublinguales siguen funcionando normalmente.

Aunque la hipótesis propuesta en este sexto experimento fue confirmada anteriormente (véase experimento nº 3), en el presente estudio el orden de las distintas intervenciones quirúrgicas, periférica y central, ha sido invertido en relación al experimento previo ya mencionado, lo que supone una novedad con respecto a aquel. Así, en este estudio, el mero paso del tiempo una vez concluida la cirugía estereotáxica debe provocar el efecto sugerido sin ninguna otra manipulación quirúrgica, resultados que pueden reforzar aún más las conclusiones obtenidas en el tercer experimento del capítulo I.

Por otro lado, existe otra razón que justifica la realización de este estudio. Así, la hipótesis ahora propuesta debe ser demostrada nuevamente, ya que los datos obtenidos van a ser empleados como punto de partida para el planteamiento y realización del experimento nº 7 de la presente serie.

METODO

Sujetos.

En este experimento se emplearon las mismas 26 ratas machos ya utilizadas en el estudio anterior. Quince animales presentaban lesiones bilaterales del área Parvocelular troncoencefálica (2 lesiones a cada lado). Los 11 sujetos restantes eran controles operados cerebralmente pero no lesionados. Tanto a controles como a experimentales les había sido seccionado bilateralmente el conducto de Stenon con anterioridad a la cirugía estereotáxica. Las condiciones medioambientales a que estaban sometidos los sujetos fueron análogas a las descritas en el experimento nº 1.

Procedimiento experimental.

Finalizado el experimento anterior los animales eran colocados en sus cajas experimentales, permaneciendo durante 12 días con agua y comida ad libitum. A partir del décimo tercer día postoperatorio, ambos grupos eran habituados a comer alimento seco ("Sandermus", Sanders, S.A.) 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 de habituación, se registraba durante dos días consecutivos (días 20 y 21 postoperatorios) el número de respuestas de toma de agua ocurridas a lo largo de las 2 horas diarias de exposición a alimento. Durante el vigésimo día postoperatorio, la mitad de los animales experimentales y controles recibieron comida húmeda, preparada mediante la mezcla de 2 partes de comida seca en polvo ("Sandermus") con tres partes de suero fisiológico isotónico. A la otra mitad de los sujetos se les ofreció comida seca ("Sandermus"). A lo largo de las 2 horas de alimentación correspondientes al vigésimo primer día, aquellos animales que recibieron el día anterior comida seca les fue ofrecido alimento húmedo y viceversa.

Durante los días previos a la cirugía estereotáxica y una vez todos los sujetos se habían recuperado de la sección bilateral del ducto parotídeo, las 26 ratas que participaron en este experimento fueron sometidas a una prueba de prandialidad (con comida seca) análoga a la descrita anteriormente. De este modo, los datos obtenidos con antelación a la intervención cerebral en los animales parcialmente desalivados, fueron utilizados como medida de línea base.

A lo largo de los dos días de prueba postoperatorios se midió

también la cantidad de agua y comida ingerida por todos los sujetos. Igualmente, se calculó la longitud media de la respuesta de bebida de cada animal ante comida seca y comida húmeda, según el procedimiento ya explicado en el experimento nº 3.

Análisis de los datos.

Con la intención de evaluar el efecto de la lesión del área Parvocelular troncoencefálica sobre la frecuencia media de bebida, se realizó un análisis de varianza mixto 2x2 según el procedimiento de medias no ponderadas descrito por Keppel (1973). En este ANOVA, el factor entre grupos se manipuló a dos niveles (ducto parotídeo seccionado+lesión versus ducto parotídeo seccionado+no lesión). Igualmente el factor intra-sujetos fue variado en dos ocasiones (tipo de comida: comida seca versus comida húmeda). El efecto de la lesión sobre la longitud media de la respuesta de bebida, fue tratado estadísticamente mediante un ANOVA mixto de las mismas características al indicado más arriba.

Para comparar en un mismo grupo el efecto de la intervención cerebral sobre la frecuencia de bebida, se emplearon dos pruebas t para grupos relacionados (Arnau, 1978): una aplicada al grupo experimental y otra al control. También se utilizaron pruebas t de Student para muestras independientes con la finalidad de comparar estadísticamente la frecuencia media de bebida registrada en los sujetos experimentales y controles en cada uno de los distintos días de prueba de los que consta el presente experimento (McGuigan, 1968).

RESULTADOS

Durante la línea base no se detectaron diferencias significativas en el número de respuestas de bebida emitidas por los sujetos controles y experimentales en presencia de alimento seco ($t=0.841$, N.S. Figura 2⁴). Tras la intervención cerebral, los animales experimentales manifestaron un aumento significativo en su frecuencia media de bebida en relación al valor medio de este parámetro registrado previamente, durante la línea base, cuando estos sujetos sólo presentaban un déficit salival parotídeo (t muestras relacionadas = 3.602, $p < 0.01$). En el grupo control, en cambio, no se observó un incremento significativo en el número de respuestas de bebida tras la cirugía cerebral (t muestras relacionadas = 1.342, N.S.).

Estos datos, por tanto, parecen sugerir que las lesiones cerebrales efectuadas son imprescindibles para el desarrollo de un patrón prandial de bebida. Efectivamente, en el análisis global de varianza efectuado para el periodo postoperatorio siguiente a la cirugía estereotáxica, se obtuvo un valor de F para el factor entre grupos (ducto parotídeo seccionado+lesión versus ducto parotídeo seccionado+no lesión) estadísticamente significativo ($F_{1,24} = 4.871$, $p < 0.05$. Véase tabla XIV y figura 24), lo que demuestra el desarrollo de un comportamiento prandial de bebida exclusivamente en los animales lesionados cerebralmente.

El patrón de bebida observado en los sujetos experimentales difería significativamente en función del tipo de alimento ofrecido a los animales, tal y como sugiere la F de interacción ($F_{1,24} = 5.772$, $p < 0.025$. Véanse tablas XIII y XIV). Así, en presencia de alimento seco, las ratas lesionadas cerebralmente presentaban una frecuencia media de bebida significativamente superior a la observada en controles ($t = 2.307$, $p < 0.05$. Véase tabla XIII y figuras 24 y 25). Por el contrario, cuando ambos grupos de animales recibían comida húmeda, la prandialidad previamente registrada en los sujetos experimentales era totalmente eliminada, no observándose bajo estas condiciones diferencias significativas entre controles y experimentales en el parámetro comentado ($t = 0.571$, N.S., véase tabla XIII y figuras 24 y 25).

La cantidad de agua bebida por los sujetos lesionados y los controles durante los dos días de prueba postoperatorios fue prácticamente equivalente ($F_{1,24} = 0.195$, N.S.). No obstante, a lo largo de estos dos días, la longitud media de la respuesta de bebida calculada en los animales experimentales fue significativamente inferior a la observada en controles ($F_{1,24} = 8.802$, $p < 0.01$. Tabla XIV y figura 26). En este caso, dicho efecto sólo era observado en presencia de alimento seco ($t = 3.631$, $p < 0.01$. Véase tabla XV y figura 26). Por su parte, cuando la dieta seca era sustituida por comida húmeda, la cantidad de agua bebida por respuesta en los sujetos experimentales y controles fue similar ($t = 1.882$, N.S. Tabla XV y figura 26).

Por último, la cantidad de alimento seco o húmedo consumido por los animales experimentales y controles durante los dos días de prueba postoperatorios fue análoga (t comida seca = 0.389, N.S.; t comida húmeda = 0.217, N.S.).

FIGURA 24

Frecuencia media de bebida observada en el grupo experimental (——) control (-----) durante la fase de prueba correspondiente al periodo de línea base y al periodo postoperatorio de lesión cerebral. Previamente al registro de los datos que aparecen representados en esta figura, tanto a experimentales como a controles les fueron seccionados bilateralmente ambos conductos de Stenon. Durante el vigésimo día postoperatorio, a la mitad de los animales lesionados y controles les fue ofrecida comida seca (C.S.). La otra mitad recibieron alimento húmedo (C.H.). A lo largo de las dos horas de comida pertenecientes al vigésimo primer día postoperatorio, el tipo de comida que recibió cada animal fue el opuesto a la consumida durante el día anterior. Nivel de significación como en figura 11.

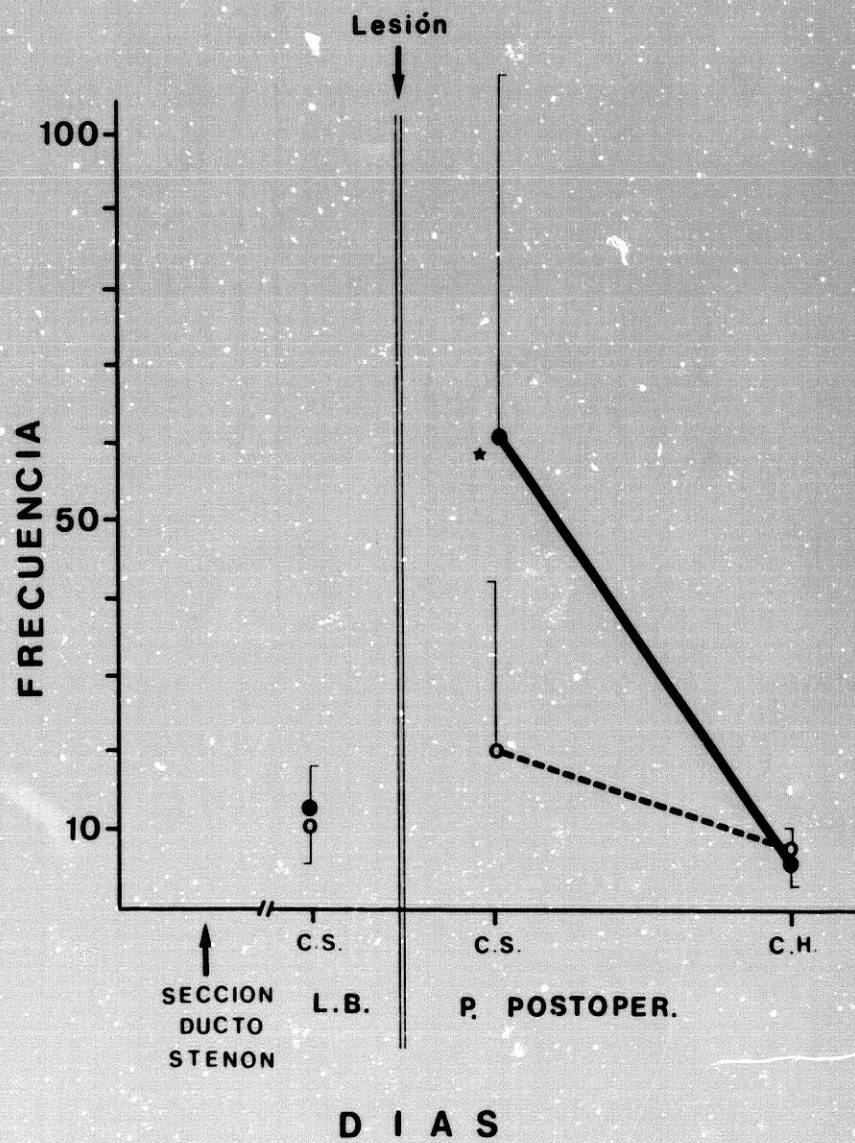


FIGURA 25

Frecuencia media de bebida registrada en animales experimentales (E) y controles (C) durante el periodo postoperatorio en presencia de alimento seco o húmedo. Como se ve, el déficit comportamental comunicado en este experimento no se manifiesta cuando los sujetos lesionados ingieren comida húmeda. Nivel de significación como en figura 11.

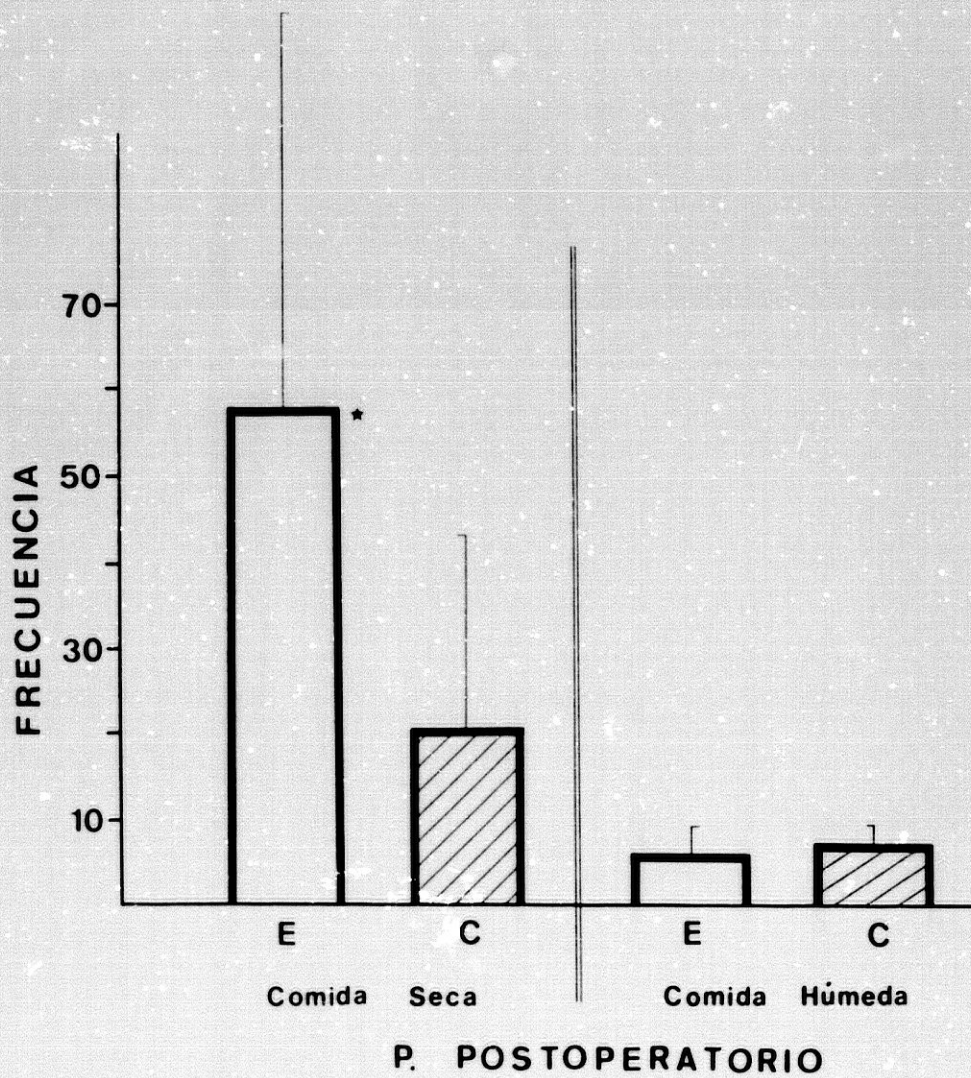


TABLA XIII

EXPERIMENTO Nº 6: FRECUENCIA MEDIA DE BEBIDA (PRANDIALIDAD).

		SECCION DUCTOS ↓	LESION CEREBRAL ↓		
		Línea Base		Periodo Postoperatorio	
FASE:		com. seca	com. seca com. húmeda		
Exp.	\bar{x}	12.33	58.60	5.60	
	SD	5.88	49.85	3.70	
Cont.	\bar{x}	10.36	20.09	6.36	
	SD	5.38	22.01	2.63	
		t	0.841	2.307	0.571
		p	N.S.	< 0.05	N.S.

TABLA XIV

EXPERIMENTO Nº 6: ANOVAS MIXTOS 2x2 CORRESPONDIENTES A LA FRECUENCIA DE BEBIDA Y A LA LONGITUD DE LA RESPUESTA DE BEBIDA, REGISTRADAS DURANTE LOS 2 DIAS DE PRUEBA DEL PERIODO POSTOPERATORIO. NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

FRECUENCIA DE BEBIDA (PRANDIALIDAD)

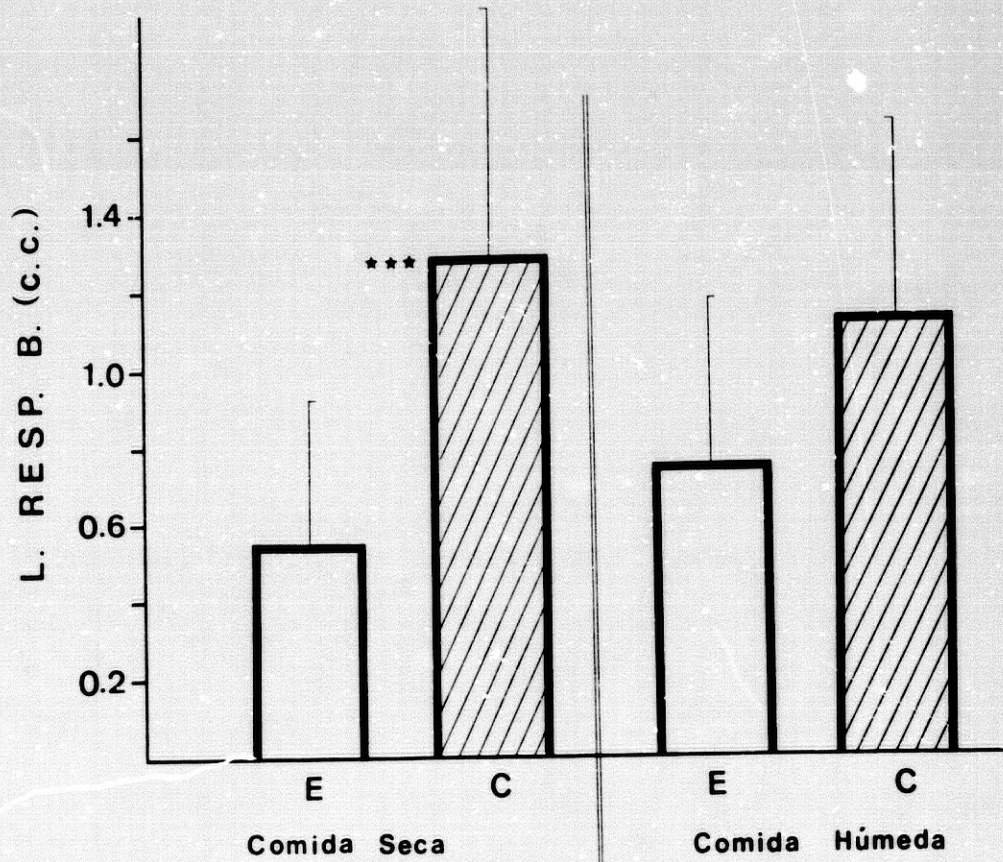
	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		4549.924	1	4549.924	4.871*
B (Tipo de comida)		14216.933	1	14216.933	16.657****
AxB		4923.603	1	923.603	5.772**
s/A		22413.570	24	933.898	
Bxs/A		20471.090	24	852.962	

LONGITUD DE LA RESPUESTA DE BEBIDA (CANTIDAD DE AGUA POR RESPUESTA).

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		3.248	1	3.248	8.802***
B (Tipo de comida)		0.002	1	0.002	0.021
AxB		0.343	1	0.343	3.688
s/A		8.870	24	0.369	
Bxs/A		2.250	24	0.093	

FIGURA 26

Longitud media de la respuesta de bebida observada en el grupo experimental (E) y control (C) durante el periodo postoperatorio en función del tipo de comida ofrecida a los animales. Nivel de significación como en figura 11.



P. POSTOPERATORIO

TABLA XV

EXPERIMENTO Nº 6: LONGITUD MEDIA DE LA RESPUESTA DE BEBIDA (c.c.).

LESION
CEREBRAL

↓

PERIODO POSTOPERATORIO

DIAS:		comida seca	comida húmeda
Exp.	\bar{x}	0.58	0.78
	SD	0.40	0.40
Cont.	\bar{x}	1.27	1.10
	SD	0.57	0.49
	t	3.631	1.882
	p	<0.01	N.S.

EXPERIMENTO Nº 7

Del experimento anterior parece concluirse que la lesión del área Parvocelular del Tronco Cerebral ha afectado sustancialmente a neuronas salivatorias superiores directamente relacionadas, por tanto, con el control de las glándulas submandibulares y sublinguales. Sin embargo, dada la gran extensión del n.S.s. (Way, 1981), es improbable que las lesiones realizadas hayan alcanzado la totalidad del mencionado núcleo. De hecho, de los exámenes histológicos realizados en la serie experimental anterior, se desprende que las lesiones cerebrales efectuadas ocupan solamente la mitad rostral de la zona anatómica en donde se cree está ubicado el n.S.s., según los últimos estudios realizados con peroxidasa (véase Discusión del Capítulo I). A pesar de ello, como muestran los datos presentados en los experimentos nº 3 y 6, el grado de desalivación inducido cerebralmente unido a la extirpación parotídea, ha sido suficiente como para que los animales lesionados desarrollen prandialidad. No obstante, es posible que el comportamiento alternante de bebida observado en los sujetos lesionados del experimento anterior, pueda ser incrementado si la desalivación submandibular-sublingual es aumentada, por ejemplo, a través del bloqueo farmacológico de las glándulas.

Aunque por el momento no se ha demostrado todavía funcionalmente el carácter simpático o parasimpático del centro salival circunscrito en la Formación Reticular Lateral bulbopontina y lesionado en esta serie, las diversas pruebas anatómicas existentes apoyan su naturaleza parasimpática (Tramonte et al., 1986; Whitehead et al., 1983). Por esta razón, si realmente las lesiones reticulares no han denervado totalmente las glándulas submandibulares-sublinguales, la administración de un antagonista colinérgico específico como la atropina, debe potenciar el déficit salival existente aumentando, a su vez, el comportamiento prandial característico de estos animales lesionados. De hecho, la prandialidad es un comportamiento flexible y altamente adaptativo, que puede ser aumentado si se produce un incremento del déficit salival preexistente (Kissileff y Epstein, 1969).

Sin embargo, y puesto que los sujetos experimentales presentan ya un profundo déficit secretor, cabría esperar que las dosis farmacológicas necesarias a fin de incrementar la prandialidad en estos animales fueran significativamente inferiores a las requeridas en las ratas controles, cuyas glándulas submandibulares-sublinguales se encuentran fun-

cionalmente intactas. En efecto, mientras que en los sujetos experimentales la atropina ha de bloquear sólo la actividad secretora residual resultante de las lesiones cerebrales, en los animales controles dicho antagonista colinérgico debe bloquear un número de receptores postsinápticos glandulares lo suficientemente elevado como para que el déficit salival evocado alcance un umbral crítico con el fin de que tales animales desarrollen prandialidad.

Este séptimo experimento ha sido realizado con la finalidad de comprobar la hipótesis anteriormente expuesta.

METODO

Sujetos.

En este estudio se han empleado los mismos animales utilizados en los experimentos previos de esta serie. Dos de estos sujetos murieron a mitad del presente experimento, por lo que los datos obtenidos de dichos animales hasta ese momento no fueron incluidos en los correspondientes análisis estadísticos. Por tanto, de las 24 ratas restantes empleadas en este estudio, 14 presentaban lesiones cerebrales pasando a formar parte del grupo experimental. Las otras 10 ratas constituían el grupo control.

Además de los dos grupos ya indicados, en este séptimo experimento se empleó un segundo grupo control adicional, compuesto por 11 ratas machos de raza Wistar nacidas y criadas en el Animalario de la Universidad de Granada. Estos últimos animales, de peso similar al resto de los sujetos que participaron en el presente experimento, fueron sometidos a las mismas intervenciones quirúrgicas y al mismo procedimiento experimental postoperatorio seguido en el primer grupo control anteriormente indicado. Así, pues, al comienzo del presente estudio los tres grupos de animales ahora empleados sólo diferían en relación al factor lesión. Por tanto, mientras que los sujetos experimentales presentaban una serie de lesiones centradas en la Formación Reticular bulbopontina, ambos grupos controles fueron operados, pero no lesionados electrolíticamente.

Como se verá más adelante, este segundo grupo control adicional fue empleado para evaluar hasta qué punto el efecto producido por la administración de atropina en el primer grupo control era debido a la acción del propio fármaco, o resultado de otras variables inherentes al procedimiento experimental seguido en el presente experimento.

Las condiciones ambientales a que estuvieron sometidos los 35 sujetos finalmente empleados en este estudio, fueron similares a las ya indicadas en el experimento nº 5.

Procedimiento experimental.

Concluida la fase experimental descrita en el estudio anterior de esta serie, todos los animales empleados en el presente experimento recibieron durante 10 días consecutivos agua y comida ad libitum. Durante los 18 días siguientes, tanto experimentales como el primer grupo control sólo recibieron alimento (comida seca "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. A lo largo de esta fase experimental de 18 días, los animales de los dos grupos mencionados recibieron, cinco minutos antes de que le fuera ofrecido el alimento, dosis progresivamente superiores de sulfato de atropina (Compañía de productos farmacológicos "Sucesores de J. Escuder", Barcelona) administradas intraperitonealmente. Durante los tres primeros días, la dosis administrada era de 0.1 mgrs./kgr. En el bloque siguiente de 3 días, la dosis fue incrementada hasta 0.25 mgrs./kgr. La tercera dosis utilizada fue de 0.45 mgrs./kgr. Por último, durante los días 16, 17 y 18 de esta fase experimental los sujetos recibieron 1.0 mgrs./kgr. de atropina intraperitonealmente. Cada bloque de 3 días, en el que siempre se administraba la misma dosis, iba seguido por 2 días de descanso en los que los animales no eran inyectados con ningún producto.

La frecuencia media de bebida bajo las condiciones anteriormente descritas, sólo se registraba en el tercer día de cada bloque. De este modo, si cualquiera de las dosis de atropina inyectadas fuera lo suficientemente elevada como para producir un déficit salival capaz de aumentar la frecuencia de bebida, los animales dispondrían de dos días para aprender el patrón prandial de bebida adecuado a fin de adaptarse a la nueva situación. Al parecer, dos días es un periodo de tiempo suficiente para que dicho aprendizaje pueda ocurrir (véase Kissileff, 1969c).

Los 11 animales pertenecientes al segundo grupo control anteriormente indicado, fueron tratados durante el presente estudio según el procedimiento experimental descrito líneas más arriba. No obstante, a estos sujetos no se les administró atropina sino agua destilada intraperitonealmente, en un volumen equivalente al disolvente asociado a las dosis

ya mencionadas.

Durante el tercer día de cada bloque, se midió también la cantidad de alimento seco consumido en los tres grupos de animales a lo largo de las dos horas de comida.

Análisis de los datos.

Con la intención de evaluar las posibles diferencias estadísticas en prandialidad entre los 2 grupos a los que se les administró atropina, se efectuó un ANOVA mixto 2x4 siguiendo el método de medias no ponderadas para grupos con desigual número de sujetos descrito por Keppel (1973). En dicho análisis el factor entre grupos se manipuló a dos niveles: lesión+atropina versus no lesión+atropina. El factor intrasujetos fue variado a 4 niveles (dosis de atropina: 0.1, 0.25, 0.45 y 1.0 mgrs./kgr.). En este caso, y de acuerdo con la hipótesis anteriormente formulada en la introducción de este experimento, cabe esperar que durante las dosis bajas las diferencias entre ambos grupos sean máximas, desapareciendo en la dosis más elevada.

Asimismo, se efectuó otro ANOVA 2x4 a fin de demostrar que el programa de privación de alimento al que fueron sometidos los animales de este estudio no afectaba en sí mismo la frecuencia de bebida. Igualmente, en esta ocasión el factor entre grupos se manipuló a dos niveles (control+atropina versus control+agua destilada). El factor intrasujetos fue variado a 4 niveles (dosis: 0.1, 0.25, 0.45 y 1.0 mgrs./kgr.). En esta ocasión se esperaba que los sujetos que recibieron intraperitonealmente la inyección de agua, no modificasen su frecuencia de bebida a lo largo de los 18 días de duración del presente experimento. Los controles administrados con atropina, tal y como se supuso para el ANOVA anterior, deben aumentar progresivamente el número de respuestas de bebida hasta alcanzar un comportamiento prandial de bebida típico.

Por otro lado, para cada uno de los tres grupos empleados, se realizó un ANOVA intrasujetos a fin de evaluar estadísticamente los cambios producidos en prandialidad a lo largo de los cuatro puntos temporales de medición (Keppel, 1973).

Puesto que en el presente experimento no se registró línea base, se realizaron diversas pruebas t para muestras relacionadas (Arnau, 1978) con el propósito de comprobar si en un mismo grupo la administración de la primera dosis de atropina producía un cambio en prandialidad

en relación a la frecuencia media de bebida registrada previamente, es decir, durante la presentación de comida seca en la fase experimental postoperatoria siguiente a las lesiones cerebrales (correspondiente al experimento nº 6).

Por último, en el presente experimento se utilizaron también pruebas t de Student para muestras independientes (McGuigan, 1968).

RESULTADOS

Como cabría esperar, los animales experimentales emitieron a lo largo de las 4 sesiones de prueba un número de respuestas de bebida significativamente superior al registrado en controles+atropina ($F_{1,22} = 6.720$, $p < 0.025$. Figura 27 y tabla XVII). Considerando por separado cada dosis temporal de la curva representada en la figura 27, los valores de t obtenidos al comparar las medias de ambos grupos fueron los siguientes:

- t en 0.1 mgrs./kgr. = 3.321, $p < 0.01$
- t en 0.25 mgrs./kgr. = 2.962, $p < 0.01$
- t en 0.45 mgrs./kgr. = 2.425, $p < 0.025$
- t en 1.0 mgrs./kgr. = 0.829, N.S.

Tal y como se sigue de los resultados anteriormente expuestos, en los animales controles inyectados con atropina la frecuencia media de bebida aumentaba progresivamente conforme éstos recibían dosis de atropina cada vez más elevadas. En efecto, el ANOVA intrasujetos efectuado para este grupo arrojó un valor de F claramente significativo ($F_{3,27} = 10.478$, $p < 0.001$. Tablas XVI y XVIII). De este modo, en el día de prueba correspondiente a la última dosis administrada, los animales experimentales y controles inyectados con atropina prácticamente se igualan en prandialidad ($t=0.829$, N.S. Tabla XVI).

Por su parte, los sujetos experimentales no demostraron un aumento significativo en prandialidad tras la administración de dosis de atropina progresivamente superiores (ANOVA intrasuj. $F_{3,39} = 0.889$, N.S. Figura 27. Tablas XVI y XVIII). Al parecer, en este último grupo de animales el único incremento en prandialidad observado se producía al administrar la dosis más baja de atropina de las cuatro utilizadas. Así, tras la administración de 0.1 mgrs./kgr. de dicho antagonista colinérgico, los sujetos experimentales incrementaban significativamente el número de respuestas de bebida, en relación a los valores registrados para este

mismo parámetro durante el consumo de alimento seco en la fase postoperatoria siguiente a las lesiones cerebrales (correspondiente al experimento nº 6; t muestras relacionadas = 2.503, $p < 0.05$. Véase figura 28 y tabla XVI). La inyección de cantidades equivalentes de atropina en el grupo control, no producían cambio alguno en dicho parámetro (t muestras relacionadas = 0.954, N.S. Figura 28 y tabla XVI).

Según se desprende de los resultados obtenidos en el presente estudio, el aumento progresivo en prandialidad observado en los animales controles inyectados con atropina a lo largo de los 4 bloques temporales descritos anteriormente, no puede explicarse como un efecto resultante del programa de privación impuesto a los animales. Así, la administración de agua destilada intraperitonealmente, en vez de sulfato de atropina, no modifica la frecuencia media de bebida en un segundo grupo control adicional (ANOVA intrasuj. $F_{3,30} = 1.958$, N.S. Tablas XVI y XVIII. Figura 29). Además, estos últimos animales emiten un número de respuestas de bebida significativamente inferior al registrado en los controles inyectados con atropina ($F_{1,19} = 4.609$, $p < 0.05$. Figura 29 y tabla XVII). Sin embargo, el efecto prandial provocado por la atropina en uno de los grupos controles, sólo parece manifestarse en función de la dosis utilizada, tal y como sugiere el valor de la F de interacción obtenido ($F_{interacción} = 3,57 = 12.425$, $p < 0.001$. Tabla XVII). Efectivamente, al comparar estadísticamente las medias de ambos grupos controles en cada uno de los puntos temporales representados en la figura 29, los valores de t obtenidos fueron los siguientes:

- t en 0.1 mgrs./kgr. de atropina versus agua destilada = 0.267, N.S.
- t en 0.25 mgrs./kgr. de atropina versus agua destilada = 0.486, N.S.
- t en 0.45 mgrs./kgr. de atropina versus agua destilada = 1.437, N.S.
- t en 1.0 mgrs./kgr. de atropina versus agua destilada = 4.181, $p < 0.001$

Por último, la cantidad de alimento seco consumido por experimentales y controles inyectados con atropina a lo largo de los 4 días de prueba de que constaba el presente experimento, fue prácticamente equivalente:

- t en 0.1 mgrs./kgr. = 0.290, N.S.
- t en 0.25 mgrs./kgr. = 1.936, N.S.
- t en 0.45 mgrs./kgr. = 2.241, $p < 0.05$
- t en 1.0 mgrs./kgr. = 0.628, N.S.

Asimismo, la cantidad media de comida seca ingerida por ambos grupos controles fue similar:

t en 0.1 mgrs./kgr. = 0.384, N.S.

t en 0.25 mgrs./kgr. = 1.284, N.S.

t en 0.45 mgrs./kgr. = 1.014, N.S.

t en 1.0 mgrs./kgr. = 0.591, N.S.

FIGURA 27

Frecuencia media de bebida registrada en animales experimentales y controles en función de la dosis de atropina inyectada intraperitonealmente. En la mitad izquierda de esta gráfica pueden apreciarse los valores medios de este parámetro observados en los grupos mencionados durante las fases experimentales previas, ya expuestas en los experimentos anteriores de este capítulo. Nivel de significación como en figura 11. Abreviaturas: C.S. comida seca, L.B. línea base, P.P. período postoperatorio.

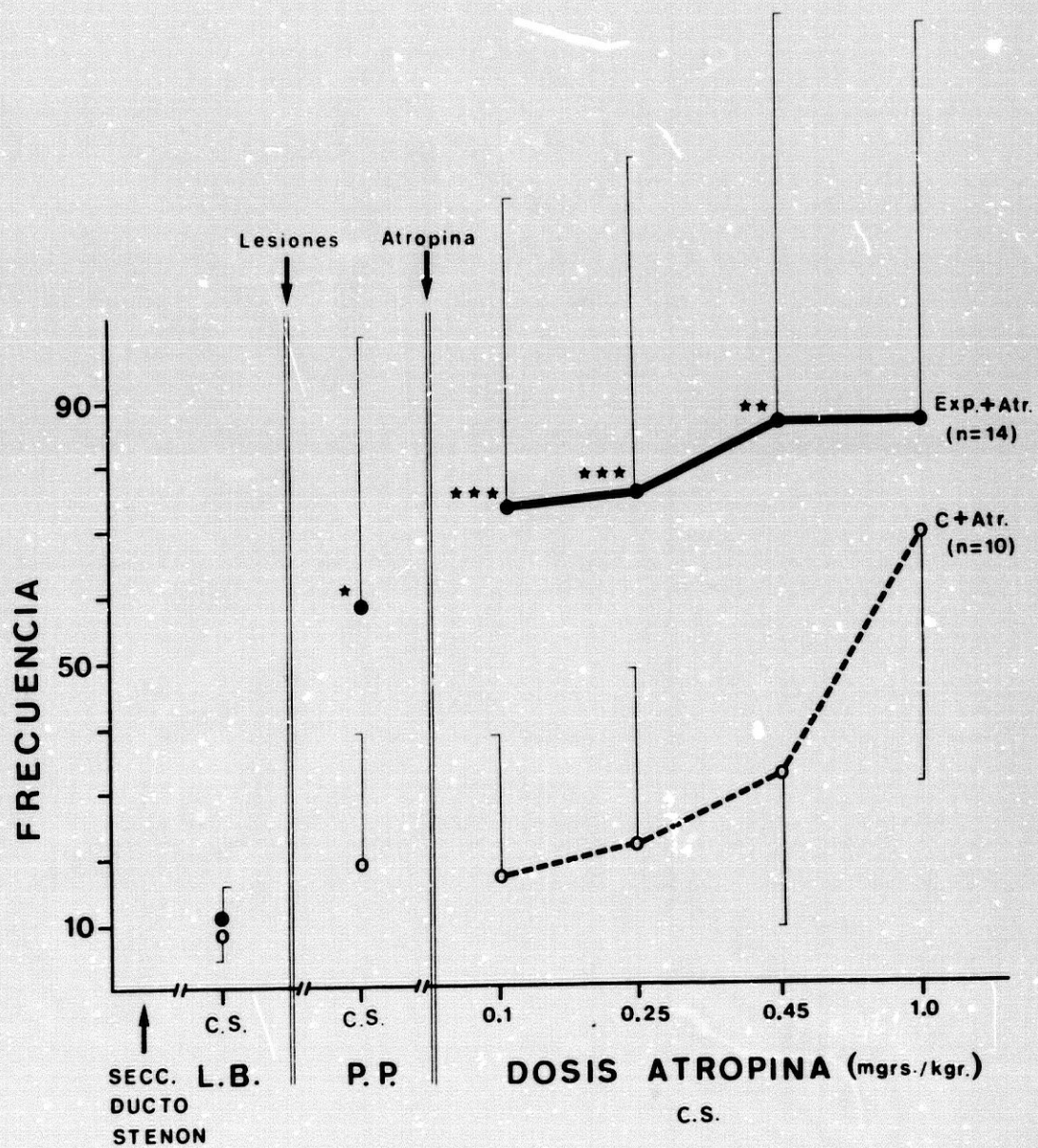


FIGURA 28

Como puede apreciarse claramente en la presente figura, una dosis de 0.1 mgrs./kgr. de atropina era suficiente para provocar un incremento significativo en prandialidad en el grupo experimental, en comparación con el valor medio de este mismo parámetro registrado durante el periodo postoperatorio. En el grupo control dicha dosis no modificaba el comportamiento de los animales. Nivel de significación como en figura 11.

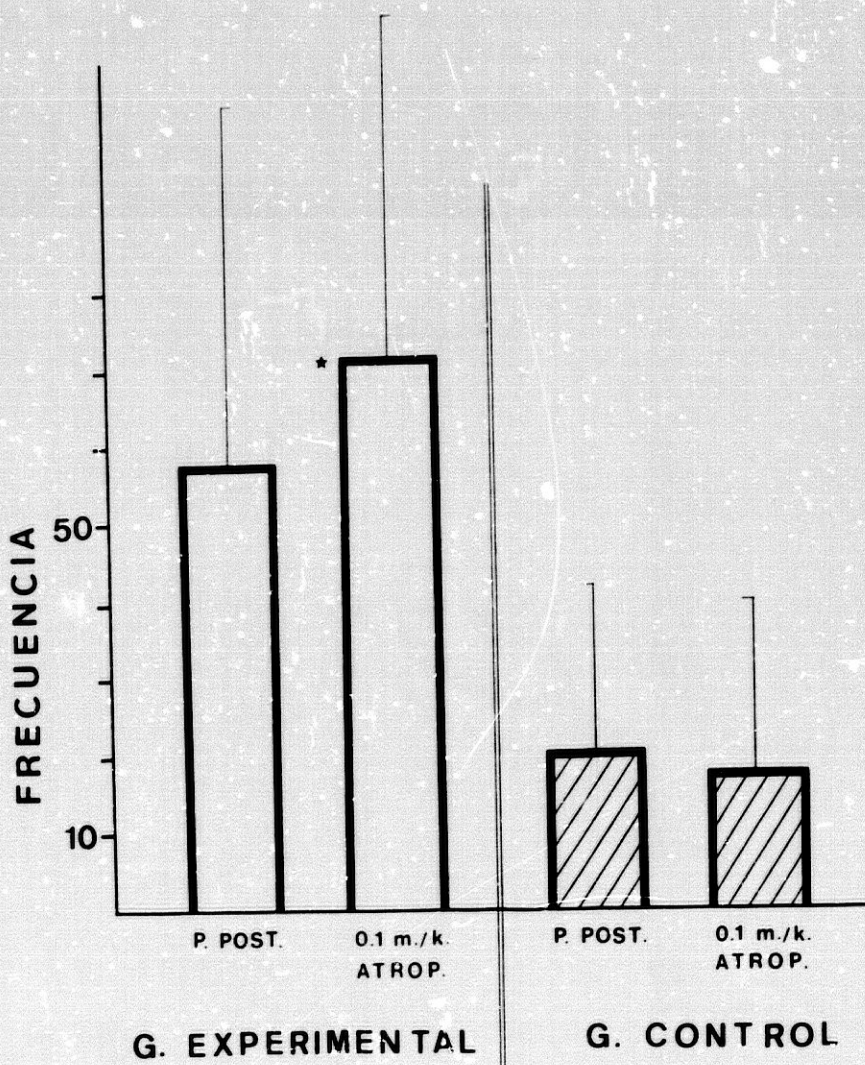


FIGURA 29

Frecuencia media de bebida registrada en los sujetos controles inyectados con atropina y los controles inyectados con agua destilada, en función de la dosis empleada. En la mitad izquierda de esta gráfica pueden apreciarse los valores medios de este mismo parámetro observados en los dos grupos mencionados durante las fases experimentales previas. Nivel de significación como en figura 11. Abreviaturas: C.S. comida seca, L.B. línea base, P.P. periodo postoperatorio.

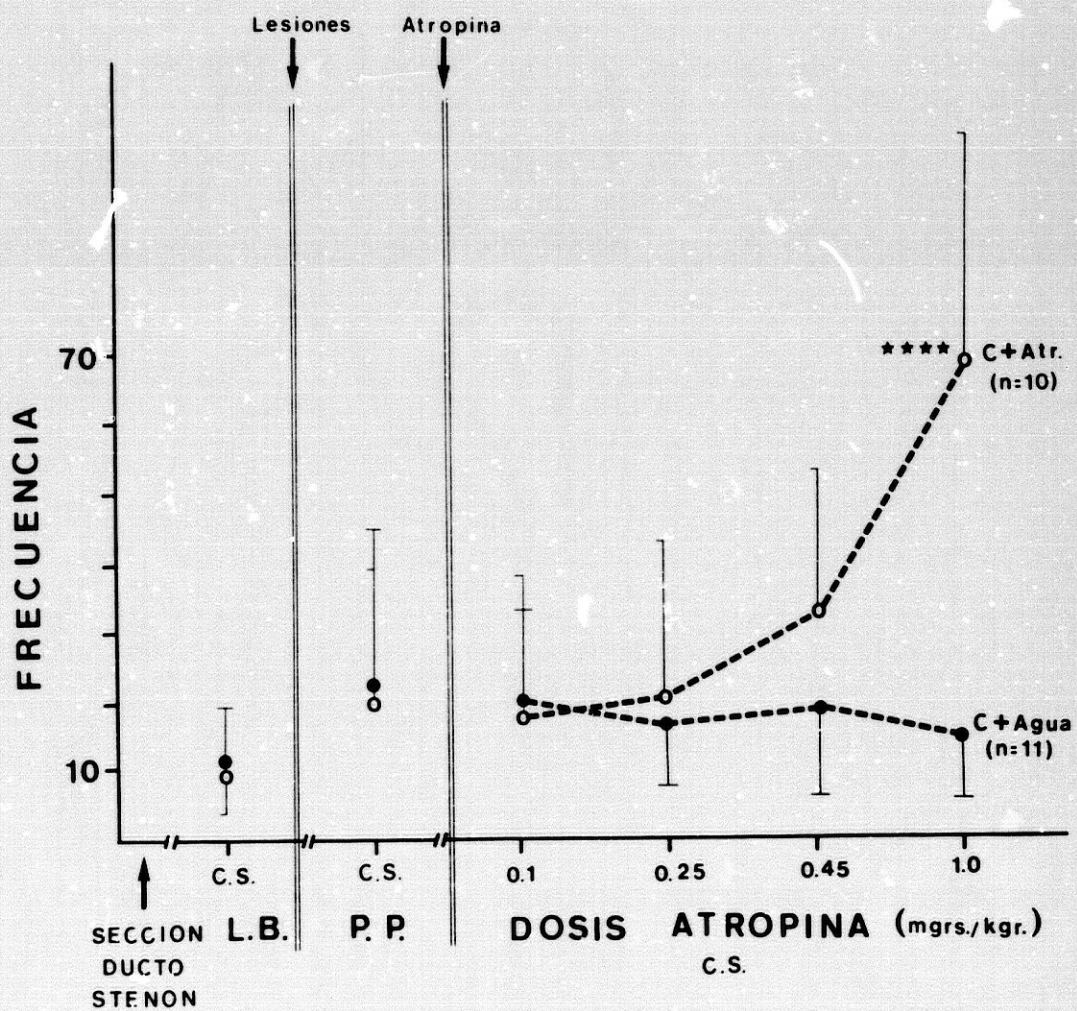


TABLA XVI

EXPERIMENTO Nº 7: FRECUENCIA MEDIA DE BEBIDA REGISTRADA DURANTE LA ADMINISTRACION DE ATROPINA. EN A: LESION VERSUS NO LESION. EN B: ATROPINA VERSUS AGUA DESTILADA.

DOSIS DE ATROPINA mgrs./kgr.

A		DOSIS DE ATROPINA mgrs./kgr.				ANOVA INTRA
		0.1	0.25	0.45	1.0	
Exp.+Atrop. (n = 14)	\bar{x}	73.57	75.42	87.14	87.71	F = 0.889
	SD	46.15	50.95	66.02	58.93	N.S.
Cont.+Atrop. (n = 10)	\bar{x}	18.70	21.00	32.10	69.20	F = 10.478
	SD	22.87	26.41	22.47	39.14	< 0.001
	t	3.321	2.962	2.425	0.829	
	p	< 0.01	< 0.01	< 0.025	N.S.	

DOSIS DE ATROPINA mgrs./kgr.

B		DOSIS DE ATROPINA mgrs./kgr.				ANOVA INTRA
		0.1	0.25	0.45	1.0	
Cont.+Atrop. (n = 10)	\bar{x}	18.70	21.00	32.10	69.20	F = 10.478
	SD	22.87	26.41	22.47	39.14	< 0.001
Cont.+Agua (n = 11)	\bar{x}	21.09	16.63	19.18	15.72	F = 1.958
	SD	15.73	9.83	16.50	9.34	N.S.
	t	0.267	0.486	1.437	4.181	
	p	N.S.	N.S.	N.S.	< 0.001	

TABLA XVII

EXPERIMENTO Nº 7: ANOVAS MIXTOS 2x3. NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

LESION+ATROPINA VERSUS NO LESION+ATROPINA

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		48800.143	1	48800.143	6.720**
B (Dosis)		15359.139	3	5119.713	6.941****
AxB		5761.107	3	1920.369	2.603
s/A		159742.430	22	7261.019	
Bxs/A		48675.600	66		

NO LESION+ATROPINA VERSUS NO LESION+AGUA DESTILADA

	FV	SC	gl	MC	F
A (Atropina)		6125.350	1	6125.350	4.609*
B (Dosis)		7503.396	3	2501.132	9.449****
AxB		9866.343	3	3288.781	12.425****
s/A		25249.636	19	1328.928	
Bxs/A		15086.250	57	264.671	

TABLA XVIII

EXPERIMENTO Nº 7: ANOVAS INTRASUJETOS CORRESPONDIENTES A LOS GRUPOS EXPERIMENTAL+ATROPINA, CONTROL+ATROPINA y CONTROL+AGUA DESTILADA. NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

EXPERIMENTAL+ATROPINA

	FV	SC	gl	MC	F
A (Dosis)		2366.50	3	789.83	0.889
s		141233.90	13	10864.15	
Axs		34593.50	39	887.01	

CONTROL+ATROPINA

	FV	SC	gl	MC	F
A (Dosis)		16394.90	3	5464.97	10.478****
s		18508.50	9	2056.50	
Axs		14082.10	27	521.56	

CONTROL+AGUA DESTILADA

	FV	SC	gl	MC	F
A (Dosis)		196.61	3	65.54	1.958
s		6741.14	10	674.11	
Axs		1004.14	30	33.47	

EXPERIMENTO Nº 8

Los resultados obtenidos hasta ahora en los tres experimentos anteriores ya expuestos en el presente capítulo, sugieren la participación de la Formación Reticular Parvocelular bulbopontina en la regulación nerviosa de la secreción de saliva submandibular y sublingual. Por tanto, si esta región troncoencefálica constituye la zona de origen de las neuronas preganglionares parasimpáticas con dirección a las glándulas salivales mencionadas, tal y como los datos anteriores y las últimas publicaciones anatómicas parecen indicar (Tramonte et al., 1986), las lesiones restringidas a este área bulbopontina deben provocar una profunda atrofia submandibular y sublingual. Este fenómeno ha sido observado en diversas ocasiones tras la sección de las fibras eferentes de la cuerda del tímpano (Peronace et al., 1964; Ekström y Malmberg, 1981).

Este octavo experimento fue llevado a cabo con el fin de comprobar la idea anterior, mediante la determinación del peso glandular.

METODO

Sujetos.

Se utilizaron las 24 ratas machos que durante el experimento anterior recibieron sulfato de atropina. Catorce de estos animales presentaban lesiones en la Formación Reticular bulbopontina. Los otros 10 sujetos eran controles operados, pero no lesionados electrolíticamente.

Procedimiento experimental.

Finalizado el experimento nº 7, a todos los animales que participaron en el presente estudio se les ofreció comida y agua ad libitum durante 2 días. Transcurrido este periodo de tiempo, tanto a experimentales como a controles les fueron extirpadas bilateralmente las glándulas submandibulares-sublinguales. Con dicho fin los animales eran inyectados intraperitonealmente con una sobredosis de Tiopental. Seguidamente, se efectuaba una incisión anteroposterior de 2 cm. de longitud, aproximadamente, a lo largo de la línea media de la región ventral del cuello. Tras esta intervención pueden observarse con facilidad las glándulas submandibulares y sublinguales rodeadas por tejido conjuntivo.

Una vez las glándulas eran separadas cuidadosamente del tejido conjuntivo que las envuelve, se ligaban con hilo de seda dos puntos del

ducto submandibular-sublingual próximos al hilio glandular. A continuación, el punto medio comprendido entre ambos extremos ligados era seccionado.

Tan pronto como las glándulas submandibulares-sublinguales eran extirpadas según el procedimiento antes descrito, éstas eran pesadas en una balanza de precisión (Cobos, Barcelona). Dicha operación fue efectuada bilateralmente.

Finalizado el proceso anterior, se registró tanto el peso corporal de los sujetos experimentales como el de los controles.

Histología.

Concluido el procedimiento experimental descrito previamente, los sujetos experimentales fueron perfundidos cardíacamente siguiendo los mismos pasos ya expuestos en el experimento nº 4. Extraído el encéfalo, éste era laminado y la localización de las lesiones determinada tal y como se indicó con anterioridad (véase "Histología" del experimento nº 4).

Análisis de los datos.

En el presente experimento sólo se emplearon pruebas t de Student para muestras independientes (McGuigan, 1968).

RESULTADOS

Los resultados de este octavo experimento indican que los animales a los que les fue destruida electrolíticamente la Formación Reticular Lateral del Tronco Cerebral, presentaban una clara atrofia glandular en comparación con los sujetos controles no lesionados. Efectivamente, el peso medio de las glándulas submandibulares y sublinguales registrado en las ratas lesionadas era significativamente inferior al observado en las controles ($t=2.839$, $p < 0.01$. Figura 30 y tabla XIX).

A pesar de estas claras diferencias entre el peso glandular, el peso corporal medio de ambos grupos de sujetos era similar, no observándose diferencias significativas en este último parámetro ($t=0.440$, N.S. Figura 30 y tabla XIX).

Por otra parte, analizados histológicamente los cerebros de los 14 animales perfundidos en este experimento, tanto la zona neuroanatómica

afectada por las lesiones como la extensión de las mismas fue semejante a la ya expuesta en el capítulo anterior. En las figuras 31, 32 y 33 pueden observarse muestras histológicas de las lesiones efectuadas en algunos animales experimentales representativos utilizados a lo largo de la presente serie experimental.

FIGURA 30

Peso corporal y peso glandular submandibular-sublingual registrado en animales experimentales (E) y controles (C). Ambos grupos de sujetos habían recibido durante el experimento nº 7 de esta serie, cantidades de atropina equivalentes. Nivel de significación como en figura 11.

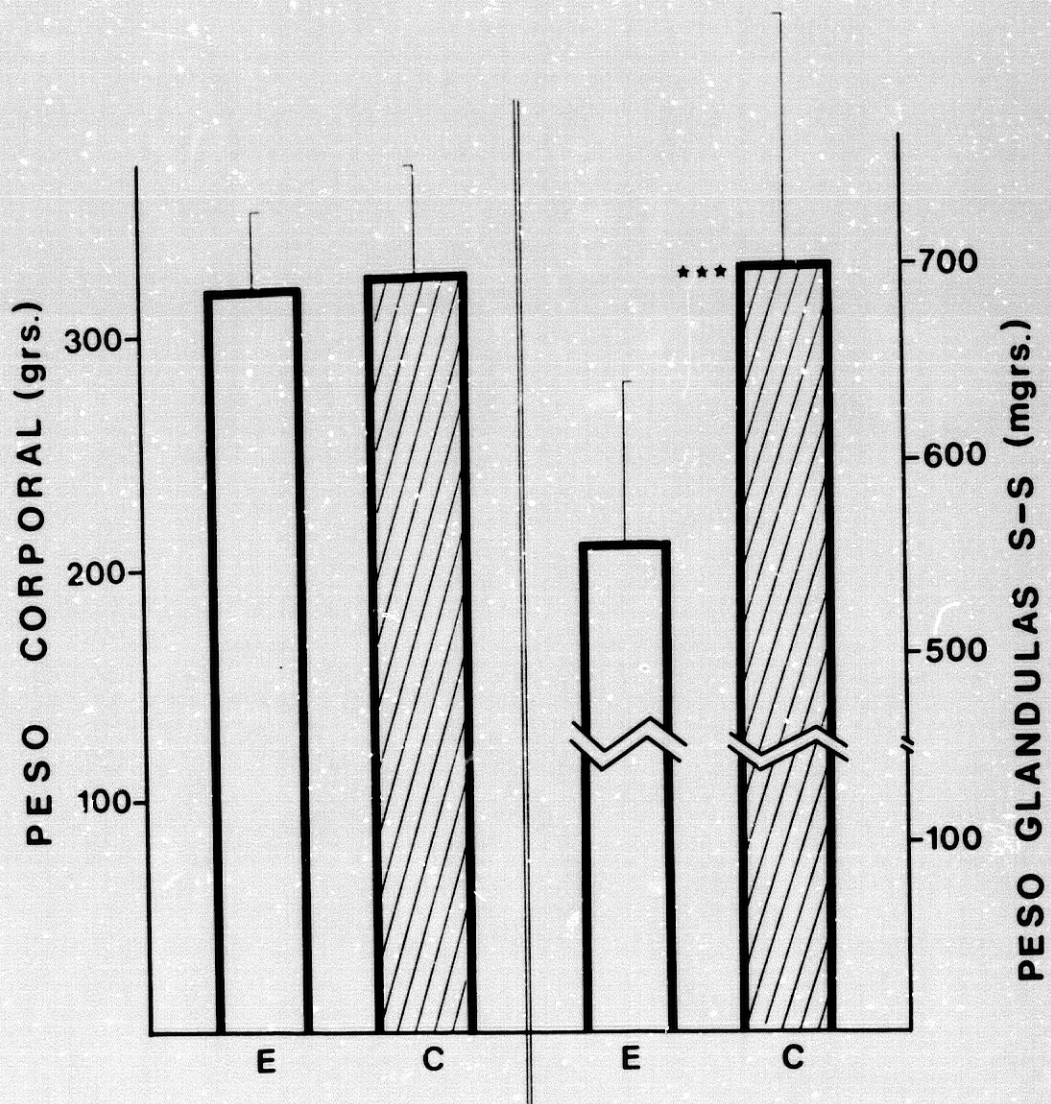


TABLA XIX

EXPERIMENTO Nº 8: PESO DE LAS GLANDULAS SUBMANDIBULARES Y SUBLINGUALES (MGRS.) Y PESO CORPORAL (GRAMOS). NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

		Peso Glándulas S-S	Peso Corporal
Exp. +	\bar{x}	567.85	326.42
	SD	78.02	34.76
Cont. +	\bar{x}	697.00	334.00
	SD	134.31	45.86
t		2.839	0.440
p		< 0.01	N.S.

+Ambos grupos recibieron cantidades equivalentes de atropina durante el experimento nº 7.

FIGURA 31

Microfotografía de un corte frontal de la región bulbopontina en la que se observa bilateralmente el centro de las lesiones efectuadas en un animal experimental representativo (Rata nº 127. Total saliva: 150 mgrs.). Localización anteroposterior a -2.2 mm. posterior al meato auditivo, según el atlas neuroanatómico de Pellegrino et al. (1979). Ampliación x10. Véanse abreviaturas en Apéndice.

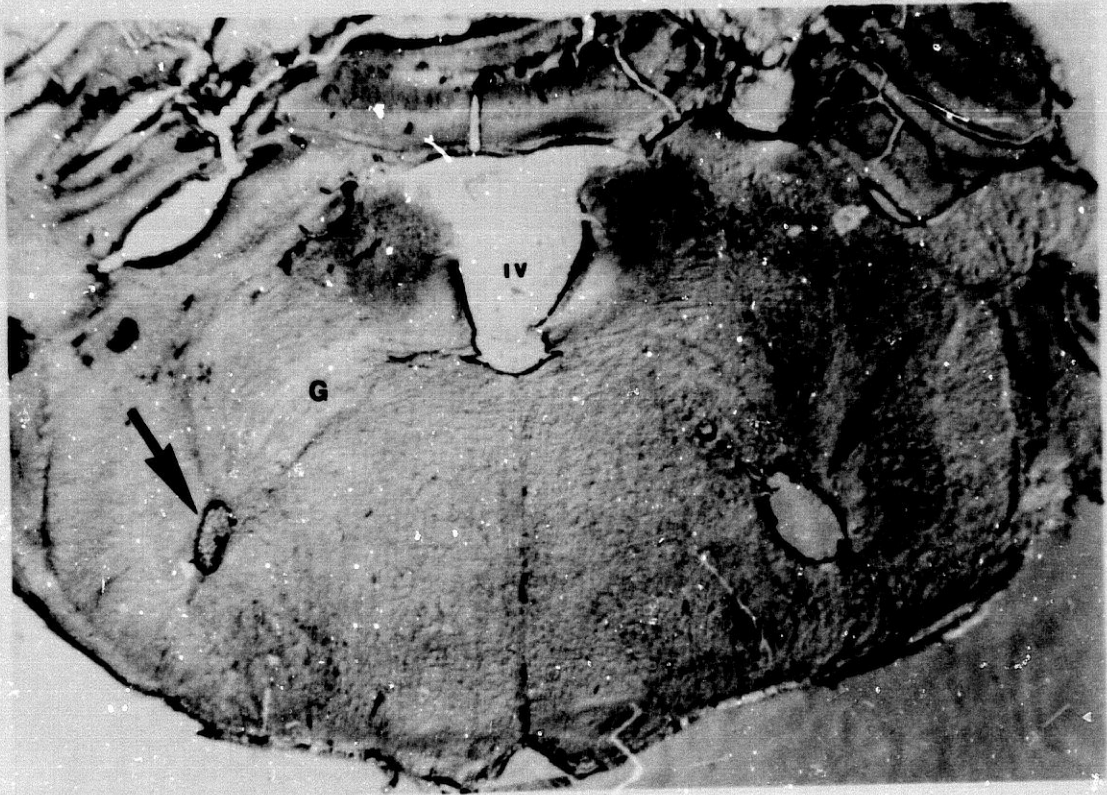


FIGURA 32

Cortes frontales de la región bulbopontina en los que se representan el tamaño y extensión del nivel anteroposterior intermedio de las lesiones electrolíticas efectuadas en un animal experimental representativo (Rata nº 145. Total saliva: 410 mgrs.). La zona dañada aparece sombreada en negro. En la parte dorsolateral derecha de cada corte se indican las coordenadas anteroposteriores localizadas a partir del atlas neuroanatómico de Pellegrino et al. (1979). Véanse abreviaturas en Apéndice.

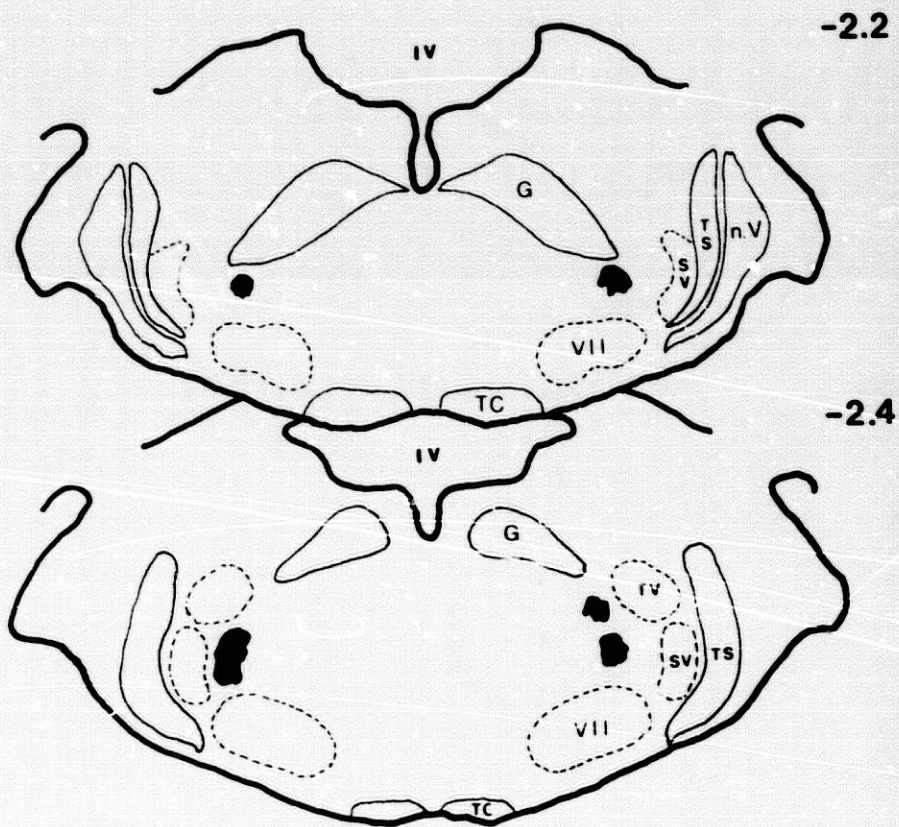
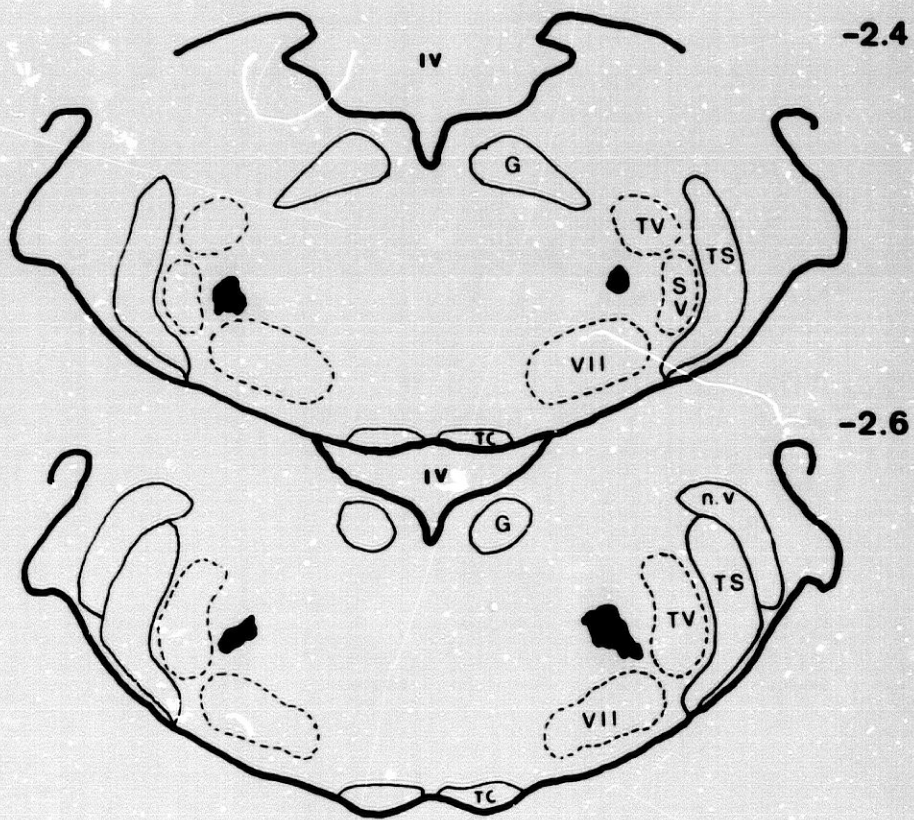


FIGURA 33

Cortes frontales de la región bulbopontina en los que se representan el tamaño y extensión del nivel anteroposterior intermedio de las lesiones electrolíticas efectuadas en un animal experimental representativo (Rata nº 178. Total saliva: 210 mgrs.). La zona dañada aparece sombreada en negro. En la parte dorsolateral derecha de cada corte se indican las coordenadas anteroposteriores localizadas a partir del atlas neuroanatómico de Pellegrino et al. (1979). Véanse abreviaturas en Apéndice.



DISCUSION

A diferencia del capítulo anterior, todos los experimentos realizados en la presente serie experimental han sido efectuados en animales a los que les habían sido seccionados los ductos parotídeos. Además de esta primera intervención quirúrgica, a cada animal del grupo experimental se le efectuaron cuatro lesiones electrolíticas restringidas al área Parvocelular troncoencefálica. Los sujetos controles fueron intervenidos cerebralmente, pero no lesionados electrolíticamente. Por tanto, puesto que el resto de las condiciones experimentales a las que fueron sometidos ambos grupos eran idénticas, todas las diferencias detectadas entre experimentales y controles a lo largo de los experimentos descritos en este capítulo deben atribuirse al efecto de la lesión cerebral.

Inicialmente, este tratamiento experimental producía un rápido incremento en secreción de saliva submandibular y sublingual, el cual resultó significativo a los 20 y 60 minutos tras la cirugía cerebral. Algunos días después, una vez los animales se habían recuperado de la intervención quirúrgica antes señalada, los sujetos lesionados presentaban un número de respuestas de toma de agua significativamente superior al detectado en los sujetos controles en presencia de alimento seco. En cambio, durante el consumo de alimento húmedo el número de respuestas emitidas por ambos grupos era similar.

Esta conducta consumatoria alternante era potenciada, en los sujetos experimentales, tras la administración de dosis bajas de un antagonista muscarínico específico como la atropina. En cambio, en los animales no lesionados, las dosis de atropina necesarias para producir un aumento significativo en la frecuencia media de bebida, eran muy superiores a las requeridas en las ratas lesionadas cerebralmente.

Por otro lado, la lesión del área Parvocelular parece haber afectado estructuralmente a las propias glándulas submandibulares y sublinguales, hecho que sugiere, igualmente, una conexión funcional entre la zona troncoencefálica mencionada y dichas estructuras glandulares. En efecto, 50 días después de haber sido operados intracerebralmente, las glándulas submandibulares-sublinguales pertenecientes a los sujetos experimentales presentaban una marcada atrofia en relación a la observada en los animales controles. Así, el peso de estas glándulas alcanzó un valor medio significativamente inferior en experimentales que en controles. Este fenómeno no parece ser resultado de una disminución global del

peso corporal de los sujetos lesionados, ya que experimentales y controles presentaron en el día de medición un peso corporal medio equivalente.

Como puede comprobarse, por tanto, en la presente serie experimental se ha seguido la misma lógica experimental desarrollada previamente a lo largo del capítulo I. Es decir, se ha evocado secreción salival como resultado del efecto activador temporal causado por las lesiones, seguida por un conjunto de cambios comportamentales, fisiológicos y estructurales (peso glandular), observados más tardíamente, que parecen indicar un profundo déficit salivatorio.

Ya se comprobó en el capítulo anterior la capacidad estimulante inicial manifestada por cualquier lesión electrolítica (Schallert et al., 1977; Blessing et al., 1985), hecho que parece explicar la secreción de saliva submandibular y sublingual observada en el experimento nº 5 de esta serie durante el periodo siguiente (60 minutos) a la intervención cerebral.

Asimismo, como indican los análisis histológicos efectuados en los animales experimentales empleados en la presente serie, la zona activada y posteriormente lesionada se corresponde con la Formación Reticular Parvocelular, por lo que puede concluirse que la región troncoencefálica manipulada es coincidente con la ubicación anatómica propuesta recientemente para el n.S.s. (Whitehead et al., 1983). Por tanto, tal y como se discutió a lo largo del Capítulo I, las lesiones electrolíticas realizadas en la presente serie han debido de afectar principalmente a los somas salivatorios superiores.

Este hecho parece explicar la hipersalivación submandibular y sublingual registrada en los sujetos experimentales a lo largo del experimento nº 5 de este capítulo. Anteriormente, Matsuo et al. (1980) demostraron un aumento en el flujo sanguíneo de la glándula submandibular del conejo, tras la estimulación de pequeños puntos restringidos en la Formación Reticular Lateral bulbopontina. Frecuentemente esta última respuesta se hallaba correlacionada con la secreción de pequeñas cantidades de saliva submandibular. No obstante, aunque en base a estas aportaciones funcionales Matsuo y colaboradores propusieron a esta región troncoencefálica como lugar de origen de la inervación parasimpática de la glándula antes indicada, sus datos no demuestran la especificidad de la secreción evocada. De hecho es posible que la secreción registrada fuese secundaria a la vasodilatación glandular.

A excepción del caso anterior, ningún otro trabajo ha relacionado funcionalmente la Formación Reticular bulbopontina con un posible centro secretor submandibular-sublingual. Todo lo contrario, los distintos estudios efectuados en la rata y otras especies han tendido a situar los centros secretores salivales en regiones dorsales y laterales a la propia área Parvocelular (véase, Discusión del Capítulo I). Así, pues, los resultados aportados por el experimento ahora discutido, unidos a los obtenidos en el resto de los estudios de la presente serie experimental, los cuales serán analizados detenidamente más adelante, parecen constituir pruebas fisiológicas que sugieren sistemáticamente una función secretomotora submandibular-sublingual para la Formación Reticular del Tronco Cerebral.

En el presente capítulo no se presentan datos referentes al grado en el que las lesiones parvocelulares han afectado a las glándulas parótidas. Es posible que la activación de la presente zona troncocefálica evoque una cantidad de saliva parotídea indeterminada. Sin embargo, la cantidad de saliva medida en el experimento nº 5 de la presente serie experimental, en donde la saliva registrada procedía exclusivamente de las glándulas submandibulares y sublinguales, es algo superior a la recogida de los tres pares de glándulas salivales durante el experimento nº 1 ya expuesto en el capítulo anterior (151.33 mgrs. versus 204 mgrs.). Este hecho, que podría explicarse por la variabilidad normal que de uno a otro experimento suele presentarse frecuentemente, sugiere la posibilidad de que la zona activada en estos estudios se corresponda fundamentalmente con el n.S.s. No obstante, y en ausencia de una medición directa de la saliva parotídea resultante de la activación del área Parvocelular, dicha cuestión será estudiada en capítulos próximos.

La secreción de saliva submandibular y sublingual observada en el presente capítulo tras la lesión de la Formación Reticular Lateral bulbopontina parece ser el resultado, una vez más, de la activación específica y primaria de somas salivatorios superiores. Efectivamente, la idea de que la hipersalivación obtenida en el experimento nº 5 de esta serie es primaria se ve apoyada por la aparición de un déficit permanente en secreción salival, una vez que la capacidad activadora de las lesiones electrolíticas ha sido sustituida por su efecto propiamente lesivo. Así, tal y como se expuso en el experimento nº 6, veinte días después de la intervención cerebral los animales lesionados manifestaban, en pre-

sencia de alimento seco, un número de respuestas de ingestión de agua significativamente superior al observado en controles. Por otro lado, como se demuestra en este mismo experimento, dicho comportamiento prandial puede ser totalmente eliminado cuando la comida seca es sustituida por alimento húmedo, lo que demuestra que el patrón alternante de bebida presente en los sujetos lesionados viene causado, al parecer, por la sequedad oral resultante de las lesiones troncoencefálicas efectuadas.

Por su parte, los animales controles no desarrollan tras la cirugía estereotáxica un modelo alternante de bebida, hecho que sugiere la necesidad de un déficit salival submandibular-sublingual simultáneo al parotídeo a fin de generar dicho comportamiento prandial.

Asimismo, en concordancia con las conclusiones extraídas del experimento nº 5, los resultados procedentes del sexto experimento del presente capítulo parecen sugerir nuevamente que las lesiones electrolíticas realizadas han debido de incidir directamente sobre el propio n.S.s. Efectivamente, como ya se ha indicado más arriba, la aparición de un modelo prandial de bebida exige un déficit salivatorio global; por tanto, si las lesiones cerebrales no hubiesen destruido masivamente neuronas salivatorias superiores sería difícil explicar el desarrollo de prandialidad en los animales experimentales. Así, pues, dado que la lesión electrolítica del área reticular bulbopontina provoca a largo plazo un déficit específico en secreción submandibular-sublingual, cabe suponer que igualmente la hipersecreción salival observada durante la hora siguiente a la cirugía cerebral (experimento nº 5), sea debida a la activación directa de neuronas salivatorias implicadas en la regulación nerviosa de las glándulas antes mencionadas.

En resumen, según se ha expuesto hasta ahora, la lesión de la Formación Reticular Lateral del Tronco Cerebral provoca hipersecreción de saliva submandibular y sublingual como efecto a corto plazo, seguida de un déficit salivatorio permanente asociado a las glándulas mencionadas. Por otro lado, según los exámenes histológicos realizados, las lesiones afectan a la misma zona definida anatómicamente como n.S.s. En conclusión, por tanto, considerados en conjunto, todos estos hechos representan pruebas funcionales congruentes con la existencia de un centro salivatorio implicado en la secreción de saliva submandibular y sublingual localizado en la región Parvocelular bulbopontina.

A pesar del elevado déficit salivatorio submandibular y sublin-

qual provocado centralmente en los animales experimentales de este segundo capítulo, es posible que una porción de los somas salivales superiores no hayan resultado lesionados. De hecho, la longitud anteroposterior del n.S.s. de la rata parece alcanzar los 2 mm. (Mitchell y Templeton, 1981). Por otra parte, como ya se comentó anteriormente, los análisis histológicos realizados en los sujetos experimentales empleados en estos estudios indican que las lesiones han incidido sobre la mitad anterior del núcleo, quedando intactos, posiblemente, los somas salivales más posteriores.

Pues bien, los datos proporcionados por el experimento nº 7 parecen apoyar funcionalmente la idea expuesta líneas más arriba. Así, en los sujetos lesionados la administración de atropina incrementaba significativamente el comportamiento prandial previamente descrito. Lógicamente, la inyección de dicho antagonista en los sujetos controles evoca también prandialidad; no obstante, en este último caso el desarrollo temporal de este comportamiento es completamente diferente al observado en el grupo experimental, requiriéndose dosis de atropina más elevadas. Mientras que en los sujetos lesionados la dosis más baja (0.1 mgrs./kgr.) de todas las empleadas en el experimento nº 7 era suficiente para producir un incremento significativo en prandialidad, en los animales controles se requería la dosis más elevada (1.0 mgrs./kgr.) a fin de evocar un déficit salival lo suficientemente elevado como para que dichos sujetos alcanzaran el umbral crítico de desalivación necesario para la aparición de este comportamiento.

Es más, los animales experimentales sólo incrementan su prandialidad con la dosis baja, la administración de dosis de atropina progresivamente superiores no producen ningún otro aumento tal y como lo demuestra la ausencia de significatividad en el correspondiente ANOVA intrasujetos efectuado. Así, pues, en este grupo 0.1 mgrs./kgr. de atropina parece suficiente para bloquear un número residual de receptores colinérgicos que todavía quedaban funcionalmente activos tras las lesiones cerebrales, con lo que parece alcanzarse un nuevo nivel de desalivación el cual da lugar a un grado de prandialidad máximo que ya no puede ser incrementado sucesivamente.

Esta interpretación está basada en la posibilidad de que las lesiones parvocelulares hayan destruido un centro esencialmente parasimpático, tal y como sugieren las diversas pruebas neuroanatómicas aporta-

das últimamente con técnicas de peroxidasa (Perwaiz et al., 1982). No obstante, hasta el momento no se ha demostrado funcionalmente la naturaleza e implicación simpática de la estructura secretora lesionada. Por tanto, sólo en el caso de que el mencionado núcleo troncoencefálico presentara un carácter exclusivamente parasimpático podría aceptarse la interpretación sugerida en el párrafo anterior. Lógicamente, si la lesión cerebral hubiera producido un déficit salival simpático, el incremento en prandialidad provocado por la atropina en los animales experimentales tendría que ser interpretado diferentemente.

En el capítulo quinto del presente trabajo se estudiará el predominio, o exclusividad, parasimpático o simpático del centro troncoencefálico afectado aquí por las lesiones electrolíticas. Hasta ese momento se aceptará la interpretación sugerida líneas más arriba, dado el enorme apoyo que la totalidad de los trabajos neuroanatómicos realizados hasta ahora con peroxidasa conceden a la Formación Reticular Parvocelular como un centro parasimpático, donde se originan las neuronas preganglionares con dirección a las glándulas submandibulares y sublinguales (véase apartado 5º de la Introducción General). En función de los resultados expuestos en dicho quinto Capítulo, los datos obtenidos en este séptimo experimento serán retomados y analizados desde una visión más global en la correspondiente Discusión General del presente trabajo.

Con respecto a los animales controles, en cambio, el déficit salival producido por 0.1 mgrs./kgr. de atropina no se suma a ningún otro déficit previo, con lo que no resulta la potenciación característica observada en los animales experimentales. En este grupo control, el grado de desalivación equivalente al alcanzado en los sujetos experimentales tras la lesión cerebral+0.1 mgrs./kgr. de atropina sólo se consigue como resultado de la administración de 1.0 mgrs./kgr., único punto temporal de medida en donde ambos grupos inyectados presentan una prandialidad similar.

Estos resultados, unidos a los discutidos anteriormente en este capítulo, sugieren que las lesiones del área Parvocelular han debido alcanzar a la inmensa mayoría de neuronas salivales superiores implicadas en el control funcional de las glándulas submandibulares y sublinguales, ya que la secreción residual de saliva es reducida por dosis pequeñas de atropina, lo que se traduce comportamentalmente en un incremento en prandialidad.

Por otra parte, el aumento progresivo en prandialidad observado en los animales controles del experimento nº 7 inyectados con dosis de atropina cada vez más elevadas, no puede ser explicado como resultado del programa de privación alimenticio impuesto a los sujetos (véase Falk, 1971), sino más bien como un efecto directo del bloqueo colinérgico de las glándulas submandibulares-sublinguales (Chapman y Epstein, 1970).

Efectivamente, en este séptimo experimento se empleó un segundo grupo control que fue sometido a las mismas condiciones experimentales a las que fueron expuestos los animales del primer grupo control, cuyos resultados han sido discutidos líneas más arriba. La única diferencia entre ambos grupos controles consistió en que las ratas asignadas a este segundo grupo no eran inyectadas con atropina, sino con agua destilada. Según indica el correspondiente ANOVA intrasujetos, los animales inyectados con agua no modificaban su frecuencia de bebida a lo largo de los 18 días que duraba este séptimo experimento, por lo que puede aceptarse que el cambio en prandialidad observado tras la administración de dosis de atropina progresivamente superiores es producido, específicamente, por la acción de dicho fármaco.

Recientemente, Levin (1985a y b) ha comunicado secreción de saliva parotídea en seres humanos tras la administración de atropina. Este efecto secretor paradójico sólo se observa en glándulas denervadas y siempre a partir del tercer mes postoperatorio. Los mecanismos implicados en este fenómeno no han sido demostrados por el momento. No obstante, Levin ha sugerido un cambio molecular en los receptores muscarínicos glandulares desarrollado tras la denervación parasimpática. Así, esta alteración molecular facilitaría la estimulación glandular por agentes parasimpaticolíticos.

A pesar de esta posible acción de la atropina, el efecto evocado por este fármaco en el grupo experimental y control durante el séptimo experimento del presente capítulo, parece ser debido exclusivamente a su potente efecto anticolinérgico. En efecto, de haber inducido una acción colinomimética, los sujetos experimentales se habrían comportado normalmente reduciendo su frecuencia de bebida hasta niveles basales.

Hasta ahora se han discutido un conjunto de resultados experimentales que demuestran que el área Parvocelular del Tronco Cerebral modula la actividad nerviosa de las glándulas submandibulares y sublinguales. Por tanto, la lesión de esta zona debe provocar cambios histológicos

y estructurales en estas glándulas, tal y como ocurre algunas semanas después tras la sección de la cuerda del tímpano (Ekström et al., 1981). Efectivamente, la lesión electrolítica de esta región troncoencefálica provoca una marcada atrofia submandibular-sublingual. Así, los animales experimentales presentan un peso glandular significativamente inferior al detectado en controles.

Esta reducción observada en el peso de las glándulas salivales indicadas, no puede ser atribuida a una pérdida de peso corporal generalizada como consecuencia de las lesiones electrolíticas efectuadas en el grupo experimental, ya que entre los animales lesionados y controles no se detectaron diferencias significativas en peso corporal.

Por otra parte, aunque durante el periodo experimental previo a la medición del peso glandular los sujetos experimentales recibieron dosis de atropina progresivamente superiores, a los sujetos controles les fueron administradas cantidades equivalentes de atropina, hecho que descarta la posibilidad de que la atrofia submandibular-sublingual descrita en los animales experimentales sea resultado del efecto bloqueante de la atropina. A pesar de ello, y dado que la única diferencia experimental existente entre los dos grupos de sujetos utilizados en el experimento nº 8 del presente capítulo consiste en la lesión reticular Parvocelular a que fueron sometidas las ratas experimentales, parece lógico considerar a dicho tratamiento quirúrgico como el factor determinante para el desarrollo de la atrofia submandibular y sublingual.

Resumiendo las aportaciones fundamentales de este segundo capítulo, en cada uno de los cuatro experimentos descritos en la presente serie se demuestra un efecto asociado a las glándulas submandibulares y sublinguales como resultado de la lesión del área Parvocelular bulbopontina. Los resultados obtenidos en estos estudios son complementarios, ya que a partir de las conclusiones parciales aportadas por cada uno de dichos experimentos puede inferirse una visión global de el efecto del tratamiento experimental sobre el estado de las glándulas submandibulares y sublinguales. Así, por ejemplo, mientras que el experimento nº 5 sugiere la existencia de células salivales circunscritas en la zona Parvocelular cuya activación parece regular la secreción de saliva submandibular y sublingual, la lesión de dicha zona evoca profundas alteraciones comportamentales debidas a un déficit permanente en secreción submandibular

(experimento nº 6), así como una marcada atrofia glandular (experimento nº 8). No obstante, todavía existe un pequeño flujo de saliva submandibular y sublingual residual que puede ser bloqueado como pequeñas dosis de atropina.

Todos los fenómenos antes indicados son específicos, demostrando que las lesiones efectuadas han incidido sobre mecanismos neurales comprometidos directamente en la regulación nerviosa de la secreción de saliva submandibular y sublingual. Así, la prandialidad resultante de las lesiones puede ser eliminada si la sequedad oral existente en los sujetos experimentales es reducida mediante la ingestión de alimento húmedo (experimento nº 6). Dicho comportamiento puede incluso ser incrementado, si el déficit salival preexistente es aumentado tras la administración de atropina (experimento nº 7). Estos mismos datos sugieren que la hipersalivación postoperatoria registrada durante el experimento nº 5 como resultado del efecto activador de las lesiones electroiónicas es específica debida, por tanto, a la acción directa de la lesión sobre neuronas salivatorias superiores. Del mismo modo, la atrofia glandular podría ser explicada por un escaso control nervioso de las glándulas submandibulares y sublinguales, dados los déficits salivatorios ya demostrados en estos mismos animales y la ausencia de una pérdida generalizada de peso corporal.

Si a todos los resultados discutidos anteriormente se le suma el hecho de que existe una estrecha concordancia entre la zona activada y posteriormente destruida en estos estudios, y aquella propuesta recientemente como lugar de origen de las fibras salivatorias parasimpáticas preganglionares, los distintos datos obtenidos en este capítulo podrían ser presentados como pruebas funcionales a favor de la existencia de un centro salivatorio submandibular y sublingual (núcleo Salival superior) circunscrito en la Formación Reticular Parvocelular del Tronco Cerebral.

CAPITULO III

PARTICIPACION DE LA FORMACION RETICULAR PARVOCELULAR BULBOPONTINA EN LA SECRECION DE SALIVA PAROTIDEA.

.Introducción.

.Experimento nº 9

Método

Sujetos

Cirugía

Procedimiento experimental

Análisis de los datos

Resultados

.Experimento nº 10

Método

Sujetos

Procedimiento experimental

Histología

Análisis de los datos

Resultados

.Discusión.

INTRODUCCION

Según se desprende de los experimentos expuestos hasta ahora, la Formación Reticular Parvocelular del Tronco Cerebral constituye un centro secretor directamente implicado en la regulación nerviosa de las glándulas submandibulares-sublinguales. Estas conclusiones funcionales se ven apoyadas por diversos estudios anatómicos ya expuestos con antelación (véase apartado 5º de la Introducción General), los cuales demuestran unánimemente la existencia de conexiones nerviosas que, originándose en el área Parvocelular troncoencefálica, alcanzan las glándulas salivales arriba indicadas.

Aunque la lesión efectuada en los estudios ya comentados en los dos capítulos anteriores ha afectado a la inmensa mayoría de las neuronas salivales superiores (véanse, por ejemplo, experimentos nº 3, 6 y 7), es posible que el área bulbopontina destruida no constituya exclusivamente un centro salival submandibular-sublingual. En efecto, las pruebas anatómicas comunicadas durante los últimos años no han demostrado una delimitación clara entre el núcleo Salival superior y el inferior; al contrario, según se sigue de estos estudios, los cuerpos celulares que componen ambos núcleos suelen extenderse a lo largo de la misma región reticular, si bien la zona de mayor densidad de neuronas salivales superiores se localiza en una posición más rostral a la zona homóloga del n.S.i. (Satomi et al., 1979a y b; Nicholson et al., 1981). Así, tras la aplicación de peroxidasa en el nervio timpánico, o bien directamente en el ganglio ótico, diversos autores han observado la presencia de somas teñidos en la misma Formación Reticular Parvocelular bulbopontina, aunque el mayor número de somas salivales inferiores siempre aparecían restringidos a planos anteroposteriores más caudales, coincidiendo con la

desaparición del genu del Facial (Nomura y Mizuno, 1982; Contreras et al., 1980).

Incluso los estudios clásicos de estimulación eléctrica expuestos en la Introducción General, sin determinar con exactitud la localización funcional de ambos núcleos salivales, sugieren en concordancia con la anatomía cierta superposición de neuronas salivales superiores e inferiores. Efectivamente, tras la estimulación de una franja dorsal de la Formación Reticular troncoencefálica a diferentes niveles anteroposteriores, Magoun et al. (1942) y Wang (1943) observaron simultáneamente secreción submandibular y parotídea. No obstante, conforme el punto de estimulación se aproximaba a planos bulbopontinos más rostrales la secreción submandibular predominaba sobre la parotídea y viceversa (véase apartado 6º de la Introducción General).

Los datos expuestos más arriba parecen señalar la posibilidad de que el centro descrito funcionalmente en los dos capítulos anteriores no se corresponda exclusivamente con el n.S.s. Es probable, por tanto, que las lesiones restringidas al área Parvocelular no incidan sobre un centro salival exclusivamente submandibular-sublingual, sino que la intervención quirúrgica afecte al mismo tiempo a neuronas salivales inferiores aunque siempre, y en base a la información proporcionada por los estudios neuroanatómicos ya mencionados, en un grado significativamente inferior al observado para el n.S.s.

El objetivo, por tanto, del presente capítulo consiste en comprobar funcionalmente si la activación del área Parvocelular bulbopontina afecta de algún modo a neuronas salivales inferiores y, si este es el caso, el grado en el que el n.S.i. ha resultado afectado como consecuencia de las lesiones electrolíticas características efectuadas hasta ahora en los capítulos anteriores.

Con el fin de abordar esta cuestión, en la presente serie se ha seguido el mismo planteamiento metodológico empleado con anterioridad. Así, todos los experimentos de este capítulo han sido realizados en animales a los que les habían sido extirpadas las glándulas submandibulares y sublinguales con antelación a la cirugía estereotáxica. Por tanto, si realmente las neuronas salivatorias pertenecientes al n.S.i. circunscritas en el área Parvocelular troncoencefálica han sido activadas tras la lesión de esta zona, debe evocarse secreción de saliva parotídea como efecto inmediato a la intervención electrolítica. Por otro lado, una vez

los animales se hayan recuperado de la lesión intracerebral, el grado de prandialidad manifestado por los sujetos experimentales podría constituir un índice comportamental a partir del cual sería posible inferir la proporción de neuronas salivatorias inferiores que la lesión cerebral ha afectado. De este modo, si la lesión ha destruido un número de cuerpos celulares parotídeos equivalente a la magnitud de somas salivales superiores afectados en experimentos previos (véase Capítulo II), cabría esperar que los sujetos lesionados cerebralmente en la presente serie experimental desarrollasen una prandialidad semejante a la descrita anteriormente (véase experimento nº 6). Por el contrario, si la lesión reticular efectuada en los sujetos experimentales de este tercer capítulo afecta sólo a un número reducido de somas salivales inferiores, el grado de desalivación inducido cerebralmente unido a la extirpación de las glándulas submandibulares-sublinguales, no debe ser lo suficientemente elevado como para que los animales lesionados desarrollen un modelo prandial de toma de agua (Stricker, 1970).

Así, pues, mientras que la secreción salival siguiente a la cirugía intracerebral registrada en animales con las glándulas submandibulares y sublinguales extirpadas puede proporcionar información acerca de la mayor o menor activación de neuronas salivales inferiores desde la región Parvocelular, la aparición o ausencia de prandialidad indicaría la extensión en la que dicho centro secretor parotídeo ha sido alcanzado por las lesiones, permitiendo evaluar la importancia del déficit salival inducido cerebralmente. Estos dos índices, uno fisiológico y otro comportamental, han sido escogidos de entre los distintos efectos demostrados en los capítulos anteriores, dada su extrema sensibilidad a fin de detectar la existencia de neuronas salivatorias. Por otro lado, cada uno de estos índices puede aportar información de diferente tipo pero complementaria sobre la participación del área Parvocelular en la secreción de saliva parotídea, lo que proporcionará una visión global de la función propia de esta zona troncoencefálica.

EXPERIMENTO Nº 9

En el experimento nº 5 se demostró hipersecreción de saliva submandibular y sublingual como consecuencia de la lesión electrolítica del área Parvocelular bulbopontina. Dado que diversos estudios neuroanatómicos han detectado en la rata la presencia de somas salivales inferiores localizados en dicha zona troncoencefálica tras la aplicación de peroxidasa en el nervio timpánico (Nicholson et al., 1981), o bien en el ganglio ótico (Contreras et al., 1980), cabría esperar que, en mayor o menor grado, la lesión de la región Parvocelular evoque secreción de saliva parotídea como efecto inmediato de la lesión electrolítica.

METODO

Sujetos.

En este experimento se han empleado 21 ratas machos de la raza Wistar, nacidas y criadas en el Animalario de la Universidad de Granada. Cada sujeto era colocado individualmente en jaulas experimentales de las mismas características a las descritas previamente en el experimento nº 1. Tanto la alimentación como las condiciones ambientales a que estuvieron sometidas las ratas de este estudio, fueron análogas a las ya indicadas en los capítulos anteriores.

El peso de las ratas en el momento de la cirugía estereotáxica estaba comprendido entre los 290 y los 350 gramos. De los 21 sujetos empleados, 11 fueron asignados aleatoriamente al grupo experimental efectuándose en ellos las correspondientes lesiones electrolíticas. Los 10 animales restantes constituyeron el grupo control.

Cirugía.

Quince días antes de efectuarse la cirugía estereotáxica, tanto a los sujetos experimentales como a los controles les fueron extirpadas bilateralmente las glándulas submandibulares y sublinguales, según el procedimiento quirúrgico descrito en el experimento nº 8 (véase, "Procedimiento experimental" del exp. nº 8). De este modo, la saliva recogida en la cavidad oral a lo largo de la hora siguiente a la cirugía estereotáxica, era secretada exclusivamente por las glándulas parótidas.

A los 11 sujetos experimentales del presente capítulo les fue lesionada electrolíticamente la región Parvocelular de la Formación Reticular bulbopontina. Los animales controles fueron operados, pero no le-

sionados. Ambas operaciones cerebrales se realizaron según el procedimiento quirúrgico ya indicado en el apartado de "Cirugía" del experimento nº 1, empleándose las mismas coordenadas estereotáxicas.

Procedimiento experimental.

El sistema seguido en el presente experimento para medir la cantidad de saliva parotídea secretada por experimentales y controles durante la línea base así como la secretada a lo largo de la hora siguiente a la cirugía estereotáxica, fue idéntico al empleado en el experimento nº 1.

Análisis de los datos.

Con la intención de estudiar el efecto de la lesión electrolítica de la región Parvocelular bulbopontina sobre la cantidad de saliva parotídea secretada durante la hora siguiente a la cirugía cerebral, se efectuó un análisis de varianza mixto 2x3 según el procedimiento de medias no ponderadas descrito por Keppel (1973) para grupos con desigual número de sujetos. En dicho 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).

Por otro lado, y con la finalidad de comparar estadísticamente la cantidad media de saliva secretada por los animales controles y experimentales en los tres puntos temporales postoperatorios en los que se registraba la respuesta salival, se emplearon pruebas t de Student para muestras independientes (McGuigan, 1968). Esta misma prueba fue empleada a fin de evaluar cualquier posible diferencia en secreción parotídea durante la línea base.

RESULTADOS

Los resultados del presente experimento indican que los animales a los que les ha sido lesionada la región Parvocelular de la Formación Reticular Lateral bulbopontina secretan, durante la hora siguiente a las lesiones electrolíticas, una cantidad media de saliva parotídea significativamente superior a la registrada en los sujetos controles ($F_{1,19} = 4.763$, $p < 0.05$. Figuras 34 y 35. Tabla XXI). Sin embargo, dado que el valor de F obtenido presentaba una significación límite, en ninguno de los tres puntos postoperatorios en donde se registró la respuesta salival

se observaron diferencias significativas en salivación a favor del grupo experimental (valor mínimo de F para $p < 0.05 = 4.380$). Los distintos valores de t obtenidos en cada uno de los puntos postoperatorios de medida, fueron los siguientes:

t en "tiempo 0" = 1.954, N.S.

t en "tiempo 20" = 1.227, N.S.

t en "tiempo 60" = 1.904, N.S.

(véase figura 36 y tabla XX).

Igualmente, la cantidad de saliva registrada en las ratas experimentales durante la línea base, no fue significativamente diferente a la medida en los sujetos controles ($t=0.371$, N.S. Figura 36 y tabla XX).

FIGURA 34

Cantidad media de saliva parotídea secretada por el grupo experimental (—) y control (-----) antes de la lesión (L.B.) y durante la hora siguiente a ésta (0, 20 y 60 minutos). Algunos días antes de la cirugía estereotáxica tanto a los sujetos experimentales como a los controles les fueron extirpadas bilateralmente las glándulas submandibulares y sublinguales. Aunque el ANOVA global efectuado para los tres puntos postoperatorios resultó significativo (véase resultados), individualmente en ninguno de dichos puntos temporales se detectaron diferencias significativas empleando pruebas t de Student.

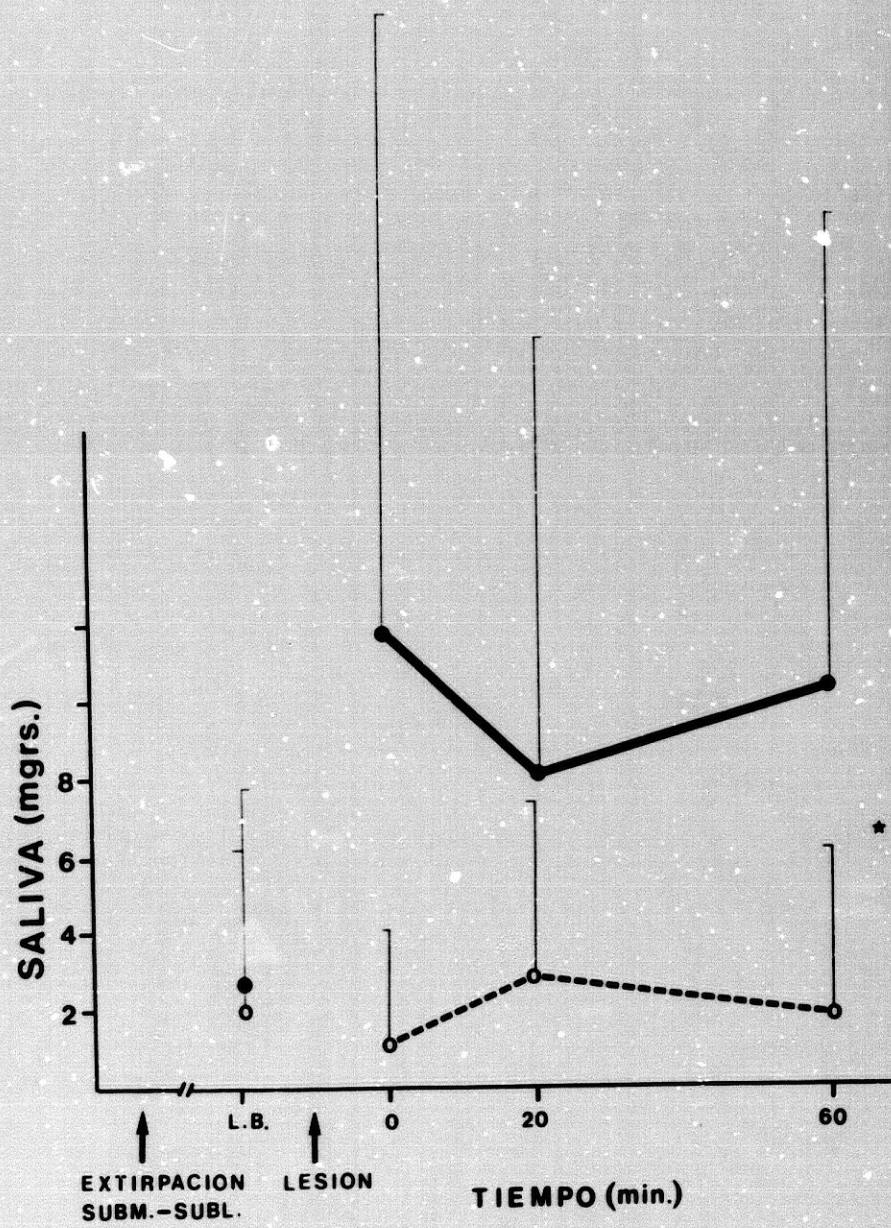


FIGURA 35

Cantidad media total de saliva parotídea secretada por el grupo experimental (E) y control (C) durante la hora siguiente a las lesiones. A ambos grupos de animales les fueron extirpadas bilateralmente las glándulas submandibulares y sublinguales con antelación a la cirugía estereotáxica. Nivel de significación como en figura 11.

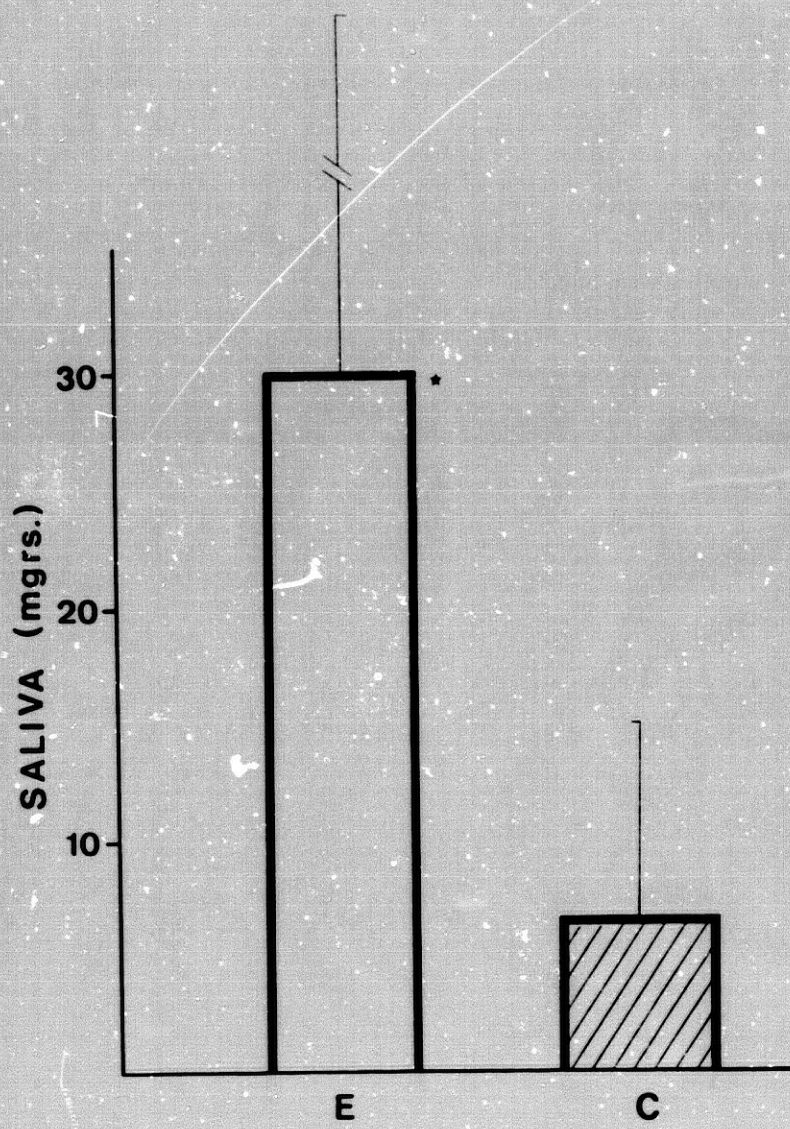


FIGURA 36

Cantidad media de saliva parotídea 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 9. 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". Considerados individualmente, en ninguno de los cuatro puntos temporales representados en esta figura se detectaron diferencias significativas en secreción salival parotídea entre animales lesionados y controles.

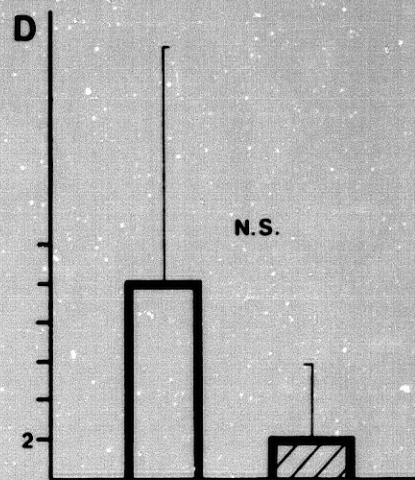
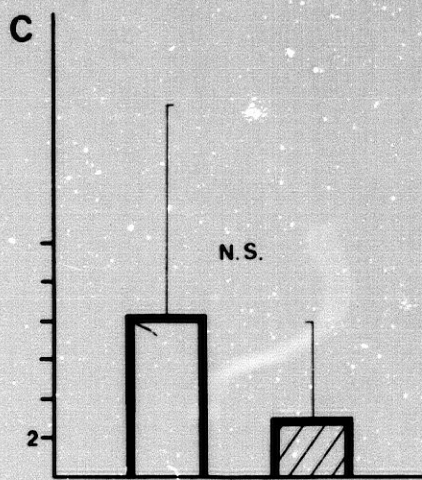
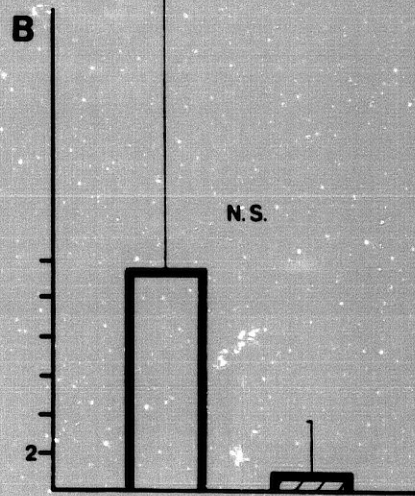
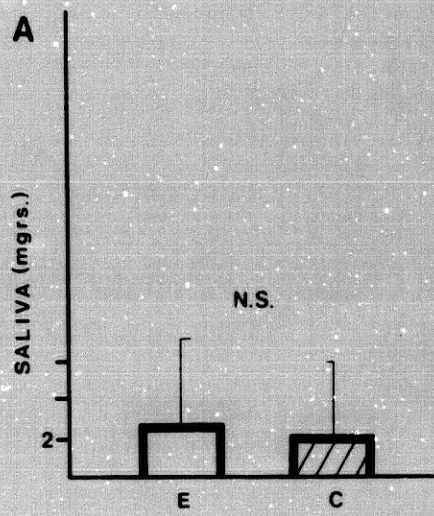


TABLA XX

EXPERIMENTO Nº 9: CANTIDAD MEDIA DE SALIVA (MGRS.) SECRETADA POR SUJETOS EXPERIMENTALES Y CONTROLES ANTES DE LA LESION Y DURANTE LOS TRES PUNTOS POSTOPERATORIOS DE MEDIDA.

LESION



Tiempo:		L.B.	0	20	60	TOTAL
Exp.	\bar{x}	2.72	11.81	8.18	10.00	30.00
	SD	4.45	16.41	11.92	12.06	32.19
Cont.	\bar{x}	2.00	1.00	3.00	2.00	6.00
	SD	4.00	3.00	4.58	4.00	8.00
	t	0.371	1.954	1.227	1.904	2.183
	p	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	<0.05

TABLA XXI

EXPERIMENTO Nº 9: ANOVA MIXTO 2x3. NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)	1006.104	1	1006.104	4.763*
B (Tiempo)	6.922	2	3.461	0.051
AxB	83.072	2	41.536	0.613
s/A	4013.330	19	211.227	
Bxs/A	2573.950	38		

EXPERIMENTO Nº 10

Como demuestra el experimento anterior, la región Parvocelular del Tronco Cerebral está implicada funcionalmente en la secreción de saliva parotídea. Sin embargo, es posible que la activación/lesión de esta zona no haya afectado sustancialmente al n.S.i. Así, tal y como se desprende de la información aportada por la neuroanatomía (véase, Nicholson et al., 1981; Nomura y Mizuno, 1981 y 1982), el mayor número de somas salivatorias con dirección hacia las glándulas parótidas parecen localizarse a un nivel anteroposterior ligeramente más caudal a la zona Parvocelular. Por tanto, si realmente las lesiones realizadas en los animales experimentales han destruido una pequeña porción del n.S.i. denerando así sólo parcialmente a las glándulas parótidas, cabe suponer que entre los sujetos lesionados y los controles no existan diferencias en prandialidad, dado que este comportamiento es únicamente observado cuando el animal ha sido desalivado globalmente (Stricker, 1970). Por el contrario, si la intervención cerebral hubiera destruido una amplia mayoría de neuronas salivales inferiores, podría esperarse el desarrollo de dicha conducta alternante de ingestión de agua.

METODO

Sujetos.

En el presente experimento se utilizaron las mismas 21 ratas machos ya empleadas en el experimento nº 9. Once animales presentaban lesiones bilaterales en el área Parvocelular del Tronco Cerebral. Las 10 ratas restantes eran controles operados cerebralmente pero no lesionados electrolíticamente. Tanto a los animales experimentales como a los controles, se les habían extirpado bilateralmente las glándulas submandibulares y sublinguales con antelación a la cirugía estereotáxica. Las condiciones medioambientales a que estaban sometidos los sujetos, fueron análogas a las descritas en el capítulo anterior.

Procedimiento experimental.

Fue exactamente igual al descrito en el experimento nº 6 del Capítulo II.

Histología.

Finalizado el procedimiento experimental anterior, los animales experimentales recibieron una sobredosis intraperitoneal de Tiopental. A continuación dichos sujetos eran perfundidos cardíacamente siguiendo los mismos pasos ya expuestos en el experimento nº 4. Extraído el encéfalo, éste era laminado y la localización de las lesiones determinada tal y como se indicó con anterioridad (véase "Histología" del experimento nº 4). Los cortes cerebrales más representativos fueron dibujados o microfotografiados (Olympus Optical Co., mod. PM-6. Japón).

Análisis de los datos.

Con el propósito de evaluar si la lesión del área Parvocelular unida a la desalivación periférica submandibular-sublingual incrementaba la frecuencia media de bebida, se efectuó un análisis de varianza mixto 2x2 según el procedimiento de medias no ponderadas descrito por Keppel (1973). En este ANOVA el factor entre grupos se manipuló a dos niveles: extirpación glándulas submandibulares-sublinguales+lesión versus extirpación glándulas submandibulares-sublinguales+no lesión. Asimismo, el factor intrasujetos fue variado en dos ocasiones (tipo de comida: comida seca versus comida húmeda).

Igualmente, el efecto de la lesión sobre la longitud media de la respuesta de bebida fue tratado estadísticamente mediante un ANOVA mixto de las mismas características al indicado más arriba.

Con la intención de comparar en un mismo grupo el efecto de la intervención cerebral sobre la frecuencia de bebida, se emplearon dos pruebas t para grupos relacionados (Arnau, 1978): una aplicada al grupo experimental y otra al control. Por otro lado, se emplearon también pruebas t de Student para muestras independientes (McGuigan, 1968), con el fin de comparar estadísticamente la frecuencia media de bebida registrada en ambos grupos de animales para cada uno de los distintos días de prueba de los que consta el presente experimento.

RESULTADOS

Ninguna de las diversas pruebas estadísticas realizadas en el presente estudio ha detectado diferencias significativas entre el grupo experimental y control. Estos resultados contrastan significativamente

con los obtenidos en el experimento nº 6 del capítulo anterior, estudio paralelo a este décimo experimento. Por tanto, el efecto de la lesión Parvoelular sobre la frecuencia de bebida es claramente diferente en función de que la intervención quirúrgica periférica se efectúe sobre las glándulas parótidas o sobre las submandibulares-sublinguales.

Efectivamente, el análisis de varianza global realizado para el parámetro comentado arrojó un valor de F para el factor entre grupos (glándulas subm.-subl. extirpadas+lesión versus glándulas subm.-subl. extirpadas+no lesión) muy por debajo del nivel de significación establecido ($F_{1,19} = 0.032$, N.S. Figura 37 y tabla XXIII). Al comparar mediante pruebas t la frecuencia media de bebida observada en experimentales y controles en cada uno de los dos días de prueba postoperatorios, tampoco se detectaron diferencias significativas ($t_{\text{comida seca}} = 0.577$, N.S.; $t_{\text{comida húmeda}} = 0.806$, N.S. Tabla XXII). Lógicamente, durante la línea base ambos grupos no diferían significativamente en prandialidad ($t=0.578$, N.S. Tabla XXII).

Asimismo, tras la aplicación de dos pruebas t para muestras relacionadas, se comprobó que ni los sujetos experimentales ni los controles modificaban su frecuencia media de bebida tras la cirugía cerebral con respecto al valor de este parámetro registrado durante la línea base ($t_{\text{muestras relacionadas grupo experimental}} = 1.046$, N.S.; $t_{\text{muestras relacionadas grupo control}} = 1.355$, N.S.).

La cantidad de agua bebida por ambos grupos durante los dos días de prueba postoperatorios fue prácticamente equivalente ($F_{1,19} = 0.00004$, N.S.). Tampoco la longitud media de la respuesta de bebida calculada en los animales experimentales fue significativamente diferente a la registrada en controles ($F_{1,19} = 0.480$, N.S. Figuras 38. Tablas XXII y XXIII). Es más, en contraste con los resultados obtenidos en el experimento nº 6, en esta ocasión no se detectaron diferencias significativas en este último parámetro durante la presentación de alimento seco en el periodo postoperatorio ($t=0.837$, N.S. Tabla XXII). Como es lógico tampoco se detectaron diferencias significativas en la longitud media de la respuesta de bebida en el día correspondiente a la ingestión de alimento húmedo ($t=0.043$, N.S. Tabla XXII).

Por último, la cantidad de alimento seco consumido por los sujetos experimentales y controles en su correspondiente día de prueba postoperatorio fue similar ($t_{\text{comida seca}} = 1.986$, N.S.).

Por otro lado, examinados histológicamente los cerebros de los 11 animales experimentales perfundidos en este experimento, la zona neuroanatómica afectada por las lesiones se correspondía con la Formación Reticular Parvocelular bulbopontina, coincidiendo tanto la extensión como la distribución de estas lesiones con las ya descritas en el primer capítulo. En las figuras 39, 40 y 41 se muestran cortes histológicos de las lesiones efectuadas en algunos animales experimentales representativos empleados a lo largo de la presente serie experimental.

FIGURA 37

Frecuencia media de bebida observada en el grupo experimental (—) y control (-----) durante la fase de prueba correspondiente al periodo de línea base y al periodo postoperatorio de lesión cerebral. Previamente al registro de los datos que aparecen representados más arriba, tanto a los sujetos que fueron asignados aleatoriamente al grupo experimental como a los destinados al grupo control se les extirparon bilateralmente las glándulas submandibulares y sublinguales. En ninguno de los tres puntos representados en la presente figura se detectaron diferencias significativas entre experimentales y controles. C.S.: comida seca. C.H.: comida húmeda.

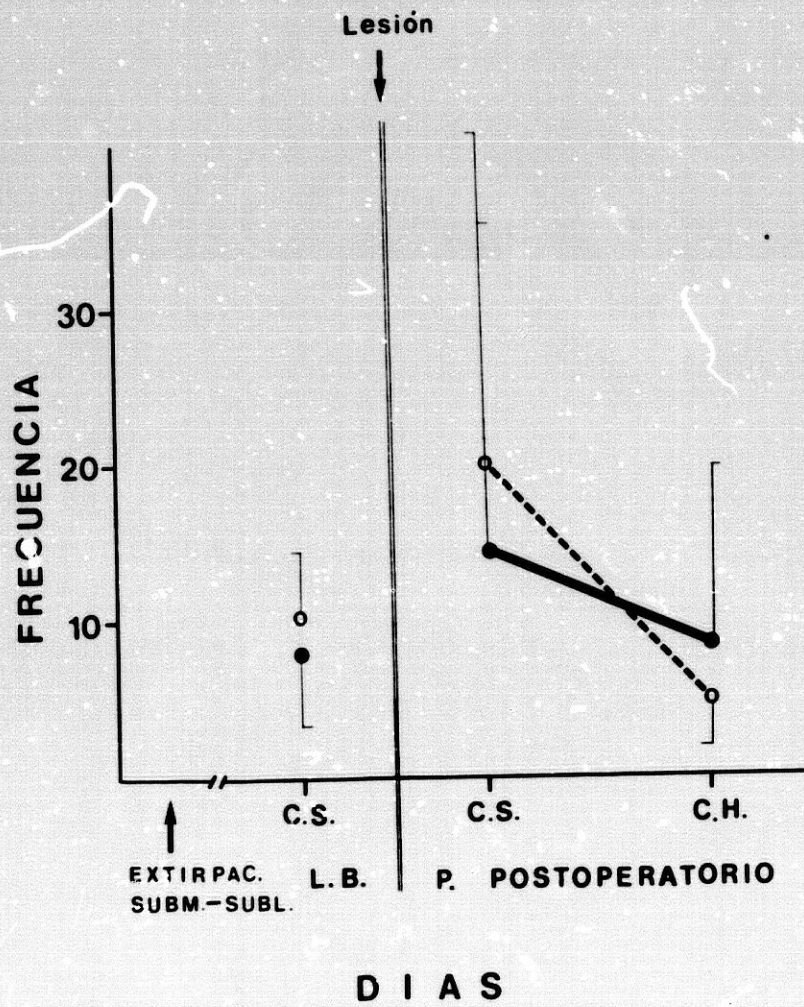
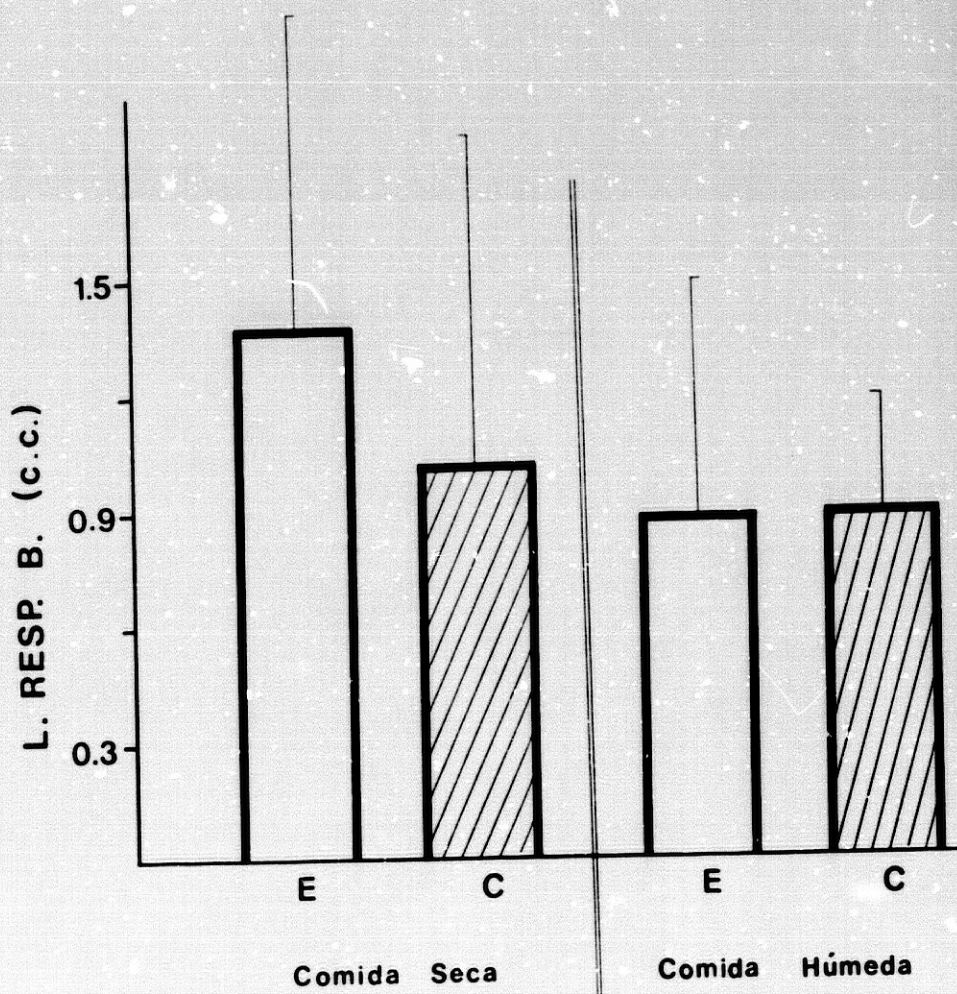


FIGURA 38

Longitud media de la respuesta de bebida observada en el grupo experimental (E) y control (C) durante el periodo postoperatorio en función del tipo de comida ofrecida a los animales. En ningún caso se detectaron diferencias significativas entre experimentales y controles.



P. POSTOPERATORIO

TABLA XXII

EXPERIMENTO Nº 10: EN A, FRECUENCIA MEDIA DE BEBIDA. EN B, LONGITUD MEDIA DE LA RESPUESTA DE BEBIDA REGISTRADA EN EXPERIMENTALES Y CONTROLES.

LESION
CEREBRAL
↓

A

Fase:		línea base	comida seca	comida húmeda
Exp.	\bar{x}	7.36	14.63	8.27
	SD	4.99	22.51	12.67
Cont.	\bar{x}	10.40	20.60	4.80
	SD	4.96	22.62	2.92
	t	0.578	0.577	0.806
	p	N.S.	N.S.	N.S.

LESION
CEREBRAL
↓

B

Fase:		comida seca	comida húmeda
Exp.	\bar{x}	1.38	0.86
	SD	0.76	0.62
Cont.	\bar{x}	1.07	0.87
	SD	0.86	0.32
	t	0.837	0.043
	p	N.S.	N.S.

Puesto que durante la línea base no se registró la cantidad de agua bebida por los animales, no se calculó este parámetro durante dicha fase.

TABLA XXIII

EXPERIMENTO Nº 10: ANOVAS MIXTOS 2x2 CORRESPONDIENTES A LA FRECUENCIA DE BEBIDA (PRANDIALIDAD) Y A LA LONGITUD DE LA RESPUESTA DE BEBIDA REGISTRADAS DURANTE EL PERIODO POSTOPERATORIO. NIVEL DE SIGNIFICACION COMO EN FIGURA 11.

FRECUENCIA DE BEBIDA (PRANDIALIDAD)

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		16.411	1	16.411	0.032
B (Tipo de comida)		1291.435	1	1291.435	8.100**
AxB		234.380	1	234.380	1.470
s/A		9519.660	19	501.034	
Bxs/A		3029.140	19	159.429	

LONGITUD DE LA RESPUESTA DE BEBIDA

	FV	SC	gl	MC	F
A (Lesión)		0.315	1	0.315	0.480
B (Tipo de comida)		1.367	1	1.367	3.818
AxB		0.210	1	0.210	0.586
s/A		12.460	19	0.655	
Bxs/A		6.820	19	0.358	

FIGURA 39

Microfotografía de un corte frontal de la región bulbopontina en la que se observa bilateralmente el centro de las lesiones efectuadas en un animal representativo (Rata nº 55. Total saliva: 10 mgrs.). Localización anteroposterior a -2.4 mm. posterior al meato auditivo, según el atlas neuroanatómico de Pellegrino et al. (1979). Ampliación x10. Véanse abreviaturas en Apéndice.

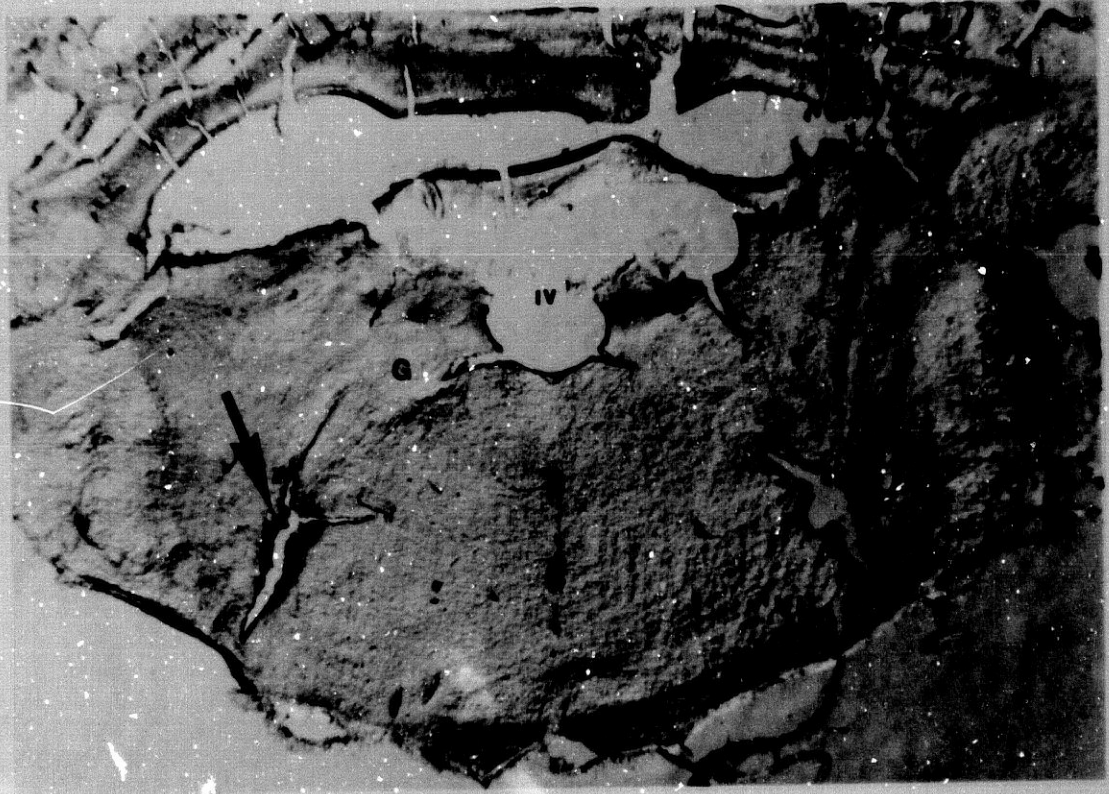


FIGURA 40

Microfotografía de un corte frontal de la región bulbopontina en la que se observa bilateralmente el centro de las lesiones efectuadas en un animal experimental representativo (Rata nº 56. Total saliva: 10 mgrs.). Localización anteroposterior a -2.4 mm. posterior al meato auditivo, según el atlas neuroanatómico de Pellegrino et al. (1979). Ampliación x10. Véanse abreviaturas en Apéndice.

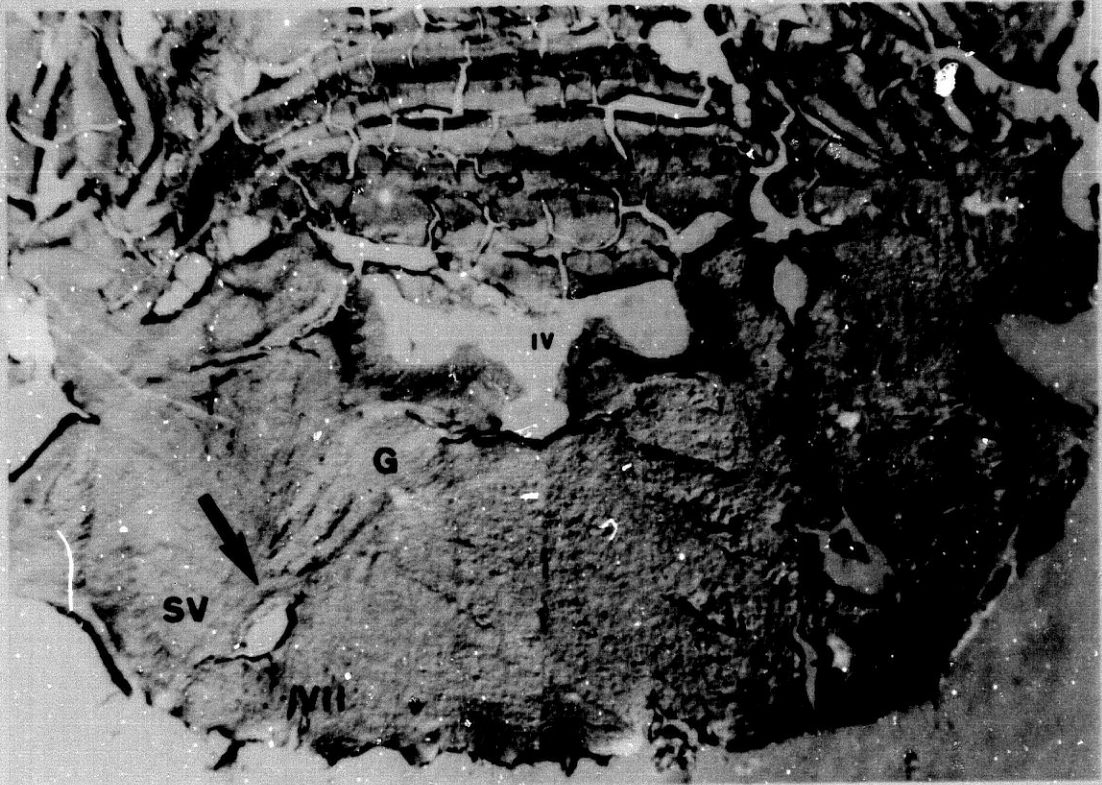
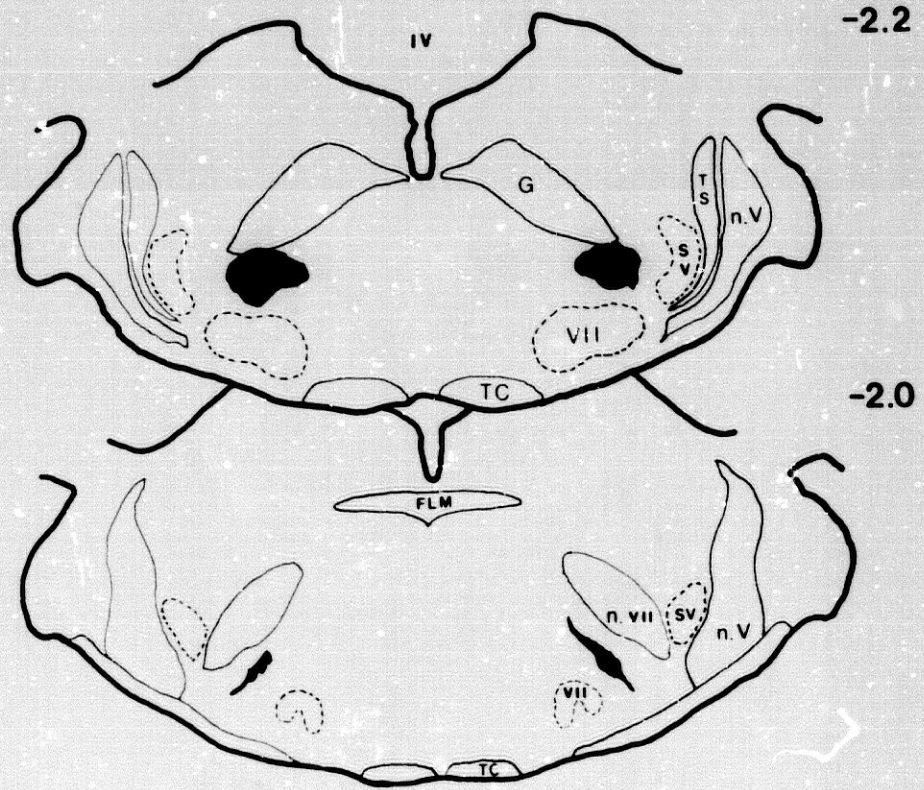


FIGURA 41

Cortes frontales de la región bulbopontina en lo. que se representan el tamaño y extensión del nivel anteroposterior intermedio de las lesiones electrolíticas efectuadas en dos animales experimentales representativos. Corte superior: rata nº 185 con un total de saliva de 20 mgrs. Corte inferior: rata nº 153 con un total de saliva de 50 mgrs. La zona dañada aparece sombreada en negro. En la parte dorsolateral derecha de cada corte se indican las coordenadas anteroposteriores localizadas a partir del atlas neuroanatómico de Pellegrino et al. (1979). Véanse abreviaturas en Apéndice.



DISCUSION

Los dos experimentos descritos anteriormente han sido efectuados en ratas a las que les habían sido extirpadas bilateralmente las glándulas submandibulares-sublinguales antes de la intervención cerebral. De este modo, la saliva recogida durante la hora siguiente a la operación cerebral, así como los posibles déficits salivales observados posteriormente en dichos animales, sólo pueden asociarse funcionalmente a las neuronas salivales inferiores. Por otra parte, puesto que tanto a los animales experimentales como a los controles les fue practicada la desalivación periférica indicada más arriba, los distintos fenómenos observados en este capítulo deben atribuirse exclusivamente al efecto de las lesiones electrolíticas realizadas en los sujetos experimentales, lo que constituyó la única manipulación diferencial entre los dos grupos de animales empleados en la presente serie.

En los sujetos experimentales, la lesión electrolítica del área Parvocelular del Tronco Cerebral evocaba una cantidad de saliva parotídea durante la hora posterior a las lesiones, globalmente superior a la registrada en las ratas controles, operadas cerebralmente pero no lesionadas. Además, veinte días después de la cirugía estereotáxica, los animales experimentales no manifestaban (en presencia de alimento seco) diferencias significativas en su frecuencia media de bebida en comparación con los valores registrados en el grupo control.

Este conjunto de resultados conviene considerarlo en relación con los datos ya comentados en el capítulo anterior. En cierto modo, los dos experimentos aquí discutidos no son sino una extensión del problema central abordado en la serie experimental previa. Así pues, una vez demostrada la participación de la Formación Reticular Parvocelular bulbo-pontina en la secreción de saliva submandibular y sublingual (véase capítulo I y II), cabe preguntarse si la zona activada/lesionada en esta serie experimental, la cual es coincidente con la intervenida en los capítulos previos, modula también la secreción parotídea y el grado en el que esta región influye sobre ambas glándulas parótidas. Por tanto, los resultados ahora discutidos deben integrarse con aquellos otros ya expuestos durante el capítulo anterior, a fin de explicar más a fondo las funciones propias de la Formación Reticular Parvocelular bulbo-pontina en la regulación nerviosa de la salivación.

Como se expuso en la sección de "Resultados" del experimento nº

10, las lesiones electrolíticas realizadas en los animales experimentales de la presente serie se extendían a todo lo largo de la zona Parvocelular bulbopontina. En esta región diversos autores han observado, en la rata, cuerpos celulares teñidos con peroxidasa cuando este enzima es administrado en el nervio timpánico (Nicholson et al., 1981), o bien cuando es depositado directamente en el ganglio ótico (Contreras et al., 1980). Por tanto, parece lógico, en principio, que la secreción de saliva parotídea observada en el experimento nº 9, sea debida al efecto activador temporal de la lesión electrolítica, una vez ésta afecta a las neuronas salivales inferiores (Schallert et al., 1977 y 1978; Blessing et al., 1985).

A primera vista y en comparación con la hipersalivación submandibular y sublingual obtenida tras la activación del área Parvocelular en el capítulo anterior, la magnitud del efecto parotídeo registrado en la presente serie es mucho menor. Efectivamente, el efecto secretor observado en los sujetos experimentales presentaba una significación límite muy inferior, por tanto, a las claras diferencias entre experimentales y controles detectadas durante el experimento nº 5. De hecho, en este último experimento, dos de las tres medidas postoperatorias fueron significativas. Sin embargo, en este noveno experimento no se registraron diferencias significativas en ninguno de dichos puntos temporales postoperatorios ("0", "20" y "60" minutos).

Sin embargo, podría argumentarse que esta comparación no es la adecuada ya que la respuesta secretora máxima a obtener en la glándula parótida tras la estimulación aguda podría ser de pequeña magnitud, tal y como parecería desprenderse del propio noveno experimento. A pesar de ello, diversos estudios han demostrado claramente que la capacidad secretora de la glándula parótida ante estimulación nerviosa es equiparable, en magnitud de flujo secretado, a la observada en la glándula submandibular-sublingual. Así, por ejemplo, la estimulación del nervio auriculotemporal en la rata con una amplia gama de frecuencias, siempre produce una respuesta secretora parotídea muy superior a la detectada en este capítulo (5 Hz. durante 2 minutos = 60.1 mgrs.; 20 Hz. durante 2 minutos = 138.1 mgrs. Véase Ekström et al., 1983a pág. 446). Por otro lado, a nivel troncoencefálico diversos autores han comprobado que la estimulación eléctrica de los puntos pontinos y bulbares sensibles a secreción salival, evoca en el gato respuestas secretoras submandibulares y sublin-

guales (estimulación pontina) comparables en magnitud a la correspondiente respuesta parotídea observada tras la activación de zonas bulbares adecuadas. De hecho, Magoun y Beaton (1942) comunicaron una respuesta secretora máxima, asociada a las glándulas parótidas, ligeramente superior a la observada en las glándulas submandibulares para periodos de estimulación eléctrica troncoencefálica de idéntica duración. Asimismo, las conclusiones obtenidas por Wang (1943) en gatos tras la estimulación de neuronas salivales superiores e inferiores troncoencefálicas, son compatibles con los datos comentados anteriormente (respuesta secretora máxima submandibular = 1.2 c.c. por minuto; respuesta secretora máxima parotídea = 1.1 c.c. por minuto. Véase Wang, 1943, pág. 198). Por su parte, el curso temporal del flujo de saliva submandibular y parotídeo observado cuando se estimulaban zonas pontinas o bulbares apropiadas, era similar (Magoun y Beaton, 1942; Wang, 1943).

En conclusión, por tanto, y según el análisis desarrollado en el párrafo anterior, la reducida cantidad de saliva parotídea registrada en los sujetos lesionados en el experimento nº 9, no parece sugerir una menor capacidad secretora de la glándula parotídea en comparación con las glándulas submandibulares-sublinguales, dada la elevada magnitud de flujo salival registrado en el experimento nº 5 del capítulo anterior; por el contrario, más bien parece indicar un reducido efecto de la activación electrolítica (aunque existente) sobre neuronas salivales inferiores. De hecho, si el tratamiento electrolítico hubiera afectado masivamente a neuronas salivales inferiores, la magnitud de saliva parotídea secretada durante la hora siguiente a la activación cerebral debería haber sido semejante a la cantidad de saliva submandibular y sublingual registrada con anterioridad (véase experimento nº 5). No obstante, los animales experimentales del estudio nº 5 (véase capítulo II) secretaron una cantidad de saliva submandibular-sublingual 6.6 veces superior a la magnitud de flujo parotídeo detectado en los sujetos experimentales del noveno experimento, tras la activación de la misma área troncoencefálica. Así, pues, este hecho en unión con los diversos estudios aportados a lo largo de los dos capítulos anteriores, sugiere un control predominante de la zona parvocelular bulbopontina intervenida en estos experimentos sobre la secreción de saliva submandibular-sublingual.

La idea anterior está en concordancia con las conclusiones aportadas por diversos estudios neuroanatómicos ya mencionados en la in-

roducción de este capítulo. Tal y como sugieren dichos trabajos anatómicos, el área Parvocelular bulbopontina debe corresponderse con la zona más anterior del n.S.i. Por tanto, aunque en este área existen cuerpos celulares salivatorios cuyos axones se dirigen hacia las glándulas parótidas, la mayor densidad de neuronas salivales inferiores parece extenderse anatómicamente en regiones reticulares más caudales (Satomi et al., 1979b). Así, tras la aplicación de peroxidasa en el nervio timpánico o en el ganglio ótico, el mayor número de somas parotídeas siempre aparece localizado caudalmente al genu del Facial, ocupando la Formación Reticular situada dorsolateralmente al tercio posterior del núcleo motor del Facial (Contreras et al., 1980; Nomura y Mizuno, 1982). Los niveles más caudales de este núcleo Salival inferior se extienden, en la rata, hasta un punto localizado 2 mm. posterior a la Formación Reticular Parvocelular lesionada tanto en este como en los capítulos anteriores. Esta zona reticular tan caudal ocupa la región dorsal del polo anterior del núcleo Ambiguo (Nicholson et al., 1981).

Si realmente la lesión electrolítica del área Parvocelular bulbopontina sólo afecta ligeramente a neuronas salivales inferiores, tal y como sugieren los resultados del experimento nº 9 en unión con los estudios anatómicos comentados anteriormente, la inhibición permanente de dicha estructura debe provocar un déficit salival parotídeo reducido, el cual ha de ser significativamente inferior al déficit submandibular y sublingual ya descrito a lo largo del Capítulo II.

De entre los diversos procedimientos empleados en los capítulos anteriores con el propósito de operacionalizar un déficit salival, uno de los que mayor información proporciona consiste en medir el número de respuestas de toma de agua emitidas por el animal en presencia de alimento seco (experimento nº 3 y 6). Como se sabe, en estos casos sólo se desarrolla un comportamiento prandial de ingestión de agua si el déficit en secreción salival inducido experimentalmente alcanza límites elevados (véase Stricker, 1970).

Pues bien, en el experimento nº 10 de esta serie se ha observado que la lesión del área Parvocelular reticular de la unión bulbopontina no produce un déficit en secreción parotídea lo suficientemente pronunciado como para que, al sumarse con el déficit submandibular y sublingual periférico ya existente en estos animales, dé lugar a la aparición de prandialidad. En este caso, experimentales y controles son práctica-

mente idénticos en su patrón prandial de bebida, pese a que estos mismos sujetos experimentales manifestaron una significativa hipersecreción parotídea. Así, pues, aunque la lesión electrolítica ha afectado al n.S.i., dada la demostrada secreción parotídea (experimento nº 9), el grado en el que dicha estructura secretora ha resultado destruida debe ser escaso, ya que el déficit secretor provocado cerebralmente es insuficiente a fin de inducir prandialidad en las ratas experimentales.

Por el contrario, si las lesiones reticulares efectuadas en este décimo experimento hubieran destruido masivamente neuronas salivales inferiores, el déficit salival parotídeo provocado cerebralmente en los sujetos lesionados sumado a la extirpación de las glándulas submandibulares y sublinguales previamente a la cirugía estereotáxica, se encontraría muy próximo a la desalivación global, por lo que tales animales deberían haber desarrollado prandialidad (Stricker, 1970). No obstante, los datos obtenidos no apoyan esta última posibilidad.

Los resultados presentados en el experimento nº 10 de esta serie experimental contrastan significativamente con los datos del experimento nº 6 ya discutidos en el capítulo anterior. En cierto modo, ambos experimentos pueden considerarse paralelos si bien los resultados aportados por cada uno de estos estudios son bien diferentes. Así, pues, la lesión del área Parvocelular parece afectar tanto a neuronas salivales superiores como a inferiores aunque de una manera claramente diferente, según se infiere de los dos experimentos mencionados líneas más arriba. Mientras que la lesión de esta zona provoca una desalivación submandibular y sublingual extrema que puede inducir el desarrollo de prandialidad en asociación a un déficit parotídeo periférico (experimento nº 6), una lesión de las mismas características parece repercutir escasamente sobre los somas salivales inferiores siendo incapaz, por tanto, de impulsar el desarrollo de prandialidad incluso en ausencia de las glándulas submandibulares y sublinguales (experimento nº 10).

En resumen, los distintos datos obtenidos sugieren funcionalmente cierta influencia del nivel anatómico correspondiente a la Formación Reticular Parvocelular bulbopontina sobre la secreción de saliva parotídea. Considerados globalmente, los resultados expuestos en este capítulo indican que las lesiones dirigidas a la región parvocelular han afectado al n.S.i., pero de modo distinto a como estas mismas lesiones parecen actuar sobre el n.S.s. Las lesiones parvocelulares parecen afec-

tar claramente a neuronas salivales inferiores, dada la secreción parotídea demostrada en el experimento nº 9; sin embargo, el número de neuronas destruidas debe ser escaso, ya que en los animales lesionados no se desarrolla el comportamiento prandial típico observado en las ratas globalmente desalivadas (experimento nº 10). Por el contrario, como se demostró a lo largo del capítulo anterior, las lesiones del área Parvocelular sí afectan masivamente al n.S.s. evocando así una significativa hipersalivación (experimento nº 5) y un profundo déficit secretor submandibular y sublingual capaz de provocar prandialidad (experimento nº 6).

Así, pues, al considerar en conjunto los datos proporcionados por los capítulos II y III puede definirse funcionalmente el área Parvocelular de la Formación Reticular bulbopontina como un centro secretor de saliva implicado, fundamentalmente, en la regulación nerviosa de las glándulas submandibulares-sublinguales. No obstante, esta misma zona troncoencefálica se encuentra relacionada también, aunque en menor grado, con el control de las glándulas parótidas.

CAPITULO IV

MECANISMOS NERVIOSOS PERIFERICOS IMPLICADOS EN LA SECRECION SALIVARIAL DE ORIGEN TRONCOENCEFALICO.

.Introducción.

.Experimento nº 11

Método

Sujetos

Cirugía

Procedimiento experimental

Análisis de los datos

Resultados

.Experimento nº 12

Método

Sujetos

Cirugía

Procedimiento experimental

Histología

Análisis de los datos

Resultados

.Discusión.

INTRODUCCION

Como se ha demostrado a lo largo de los tres capítulos anteriores, la región Parvocelular troncoencefálica constituye un centro secretor salival implicado, fundamentalmente, en la regulación nerviosa de las glándulas submandibulares y sublinguales.

La influencia que dicho centro secretor ejerce sobre las glándulas indicadas parece estar mediada por vías nerviosas periféricas de tipo parasimpático. De hecho diversas pruebas anatómicas, ya comentadas durante los capítulos anteriores, sugieren que la información generada en este núcleo del Tronco Cerebral sigue una ruta parasimpática en su trayecto hacia las glándulas submandibulares y sublinguales. Efectivamente, la aplicación de peroxidasa a diferentes niveles de la cuerda del tímpano provoca un marcaje masivo de somas salivatorios submandibulares y sublinguales restringidos a la Formación Reticular Parvocelular bulbopontina (véase apartado quinto de la Introducción General), área activada y lesionada a lo largo de los estudios ya presentados en los capítulos anteriores.

En algunos de estos estudios anatómicos, la peroxidasa era administrada a nivel del oído medio, una vez se habían seccionado a esta altura las fibras preganglionares parasimpáticas con dirección a las glándulas submandibulares-sublinguales (Nomura y Mizuno, 1981; Nicholson y Severin, 1981; Whitehead y Frank, 1983). De hecho, el trayecto timpánico de la cuerda del tímpano constituye uno de los puntos más superficiales por donde transcurren las fibras parasimpáticas preganglionares con dirección a las glándulas salivales anteriormente citadas (Brodal, 1981), lo que permite acceder con facilidad a este nervio con mínimas complicaciones quirúrgicas. Por esta misma razón, la sección de la cuerda

del tímpano a nivel del oído medio es rápida, precisa y poco traumática para el animal.

Pero a través del oído medio no sólo transcurren las fibras eferentes de la cuerda del tímpano, sino también los axones secretomotores del nervio timpánico (Brodal, 1981). Así, pues, la sección de este último nervio en la caja timpánica y la posterior administración de peróxido de hidrógeno da lugar a la tinción en la Formación Reticular bulbar de los somas salivales inferiores que constituyen el núcleo Salival inferior (Nomura y Mizuno, 1982).

Si realmente es a través de estas vías salivatorias parasimpáticas, que discurren a lo largo de la pared posterior e inferior de la caja timpánica hacia sus glándulas respectivas, por donde transcurre la información neural generada en el área Parvocelular en dirección glandular, la sección de estos nervios debe reproducir los profundos déficits salivatorios ya demostrados en los capítulos I y II, una vez el déficit salival inducido por la lesión cerebral se sumaba al provocado por la desalivación parotídea periférica.

Asimismo, la sección de estos nervios periféricos y la consiguiente desconexión cerebro-glandular provocada, debe bloquear la secreción salival submandibular-sublingual (véase experimento nº 5) y la parotídea (véase experimento nº 9) demostrada hasta ahora tras la activación de la Formación Reticular Parvocelular, si es que dichos efectos secretorios son modulados por la ruta anatómica antes indicada.

En resumen, por tanto, el objetivo principal del presente capítulo consiste en comprobar si las vías salivatorias asociadas al sistema autónomo parasimpático que transcurren a través de la caja del tímpano, median los distintos efectos secretorios temporales y permanentes demostrados previamente durante los tres capítulos anteriores.

EXPERIMENTO Nº 11

Como se sigue del experimento nº 3 y nº 6 ya expuestos con anterioridad, la lesión de la región Parvocelular induce un déficit en secreción submandibular y sublingual lo suficientemente elevado como para provocar, en unión a la desalivación parotídea, la aparición de un modelo prandial de ingestión de agua. Por tanto, si realmente los axones de las neuronas salivales superiores lesionadas en dichos experimentos se incorporan a la cuerda del tímpano, y las señales nerviosas generadas en la Formación Reticular Parvocelular troncoencefálica utilizan esta ruta anatómica para alcanzar las glándulas salivales mencionadas más arriba, la sección de este último nervio a nivel del oído medio debe provocar un déficit en la secreción salival submandibular-sublingual similar al obtenido tras la lesión cerebral en los experimentos anteriormente indicados. Es más, si a dicho déficit salivatorio inducido tras la sección de la cuerda del tímpano se le suma el déficit parotídeo provocado como consecuencia de la sección a este mismo nivel periférico del nervio timpánico, cabría esperar que el comportamiento de ingestión de agua observado en los sujetos experimentales se ajustase a un patrón prandial típico. Al inducir un profundo déficit salival tras la sección de estos sistemas de fibras eferentes salivatorios, los animales experimentales deberían presentar, igualmente, una conducta alimenticia ineficaz semejante a la ya descrita en el experimento nº 2.

En resumen, el objetivo del presente experimento consiste en reproducir los distintos fenómenos comportamentales observados a lo largo del capítulo I y II tras la lesión electrolítica del área Parvocelular; no obstante, en esta ocasión la lesión no se ha efectuado sobre somas salivatorias, sino sobre axones secretomotores periféricos los cuales se supone que transmiten la información neural generada en la región Parvocelular troncoencefálica hasta las glándulas salivales.

METODO

Sujetos.

En este undécimo experimento se han empleado 16 ratas macho de la raza Wistar, nacidas y criadas en el Animalario de la Universidad de Granada. Desde el primer día de permanencia en nuestro laboratorio, cada rata era colocada individualmente en jaulas experimentales de las mismas características a las descritas previamente en el experimento nº 1. Du-

rante los días previos al comienzo del experimento todos los sujetos recibieron agua y comida ad libitum. Las condiciones medioambientales a que estuvieron sometidos los animales del presente experimento a lo largo de sus distintas fases experimentales, fueron similares a las descritas en el apartado de "Sujetos" del experimento nº 1.

El peso de las ratas en el día de la cirugía estuvo comprendido entre 240 y 370 gramos. De los 16 sujetos empleados en este estudio, ocho fueron asignados aleatoriamente al grupo experimental siendo intervenidos quirúrgicamente, la otra mitad pasaron a formar parte del grupo control. La asignación de cada animal a uno u otro grupo se realizó con anterioridad al procedimiento quirúrgico seguido en este experimento, una vez se habían obtenido los datos de línea base en cada uno de los sujetos de este estudio.

Cirugía.

Inducida la anestesia con éter etílico (Quimón, Barcelona), los animales experimentales eran inyectados intraperitonealmente con Tiopental (Pentothal Sódico, Abbott Laboratorios, S.A., Madrid) a una dosis de 42 mgrs./kgr. Seguidamente se efectuaba la sección de la cuerda del tímpano y de la rama timpánica del Glossofaríngeo. Dichos nervios eran seccionados a nivel periférico, durante su trayecto a través de la pared posterior e inferior de la caja timpánica. Este proceso se efectuaba introduciendo bilateralmente por el canal auditivo externo las barras auditivas normalmente empleadas en los experimentos anteriores para inmovilizar lateralmente la cabeza del animal durante la intervención estereotáxica ("Ear Bar" de Trent Wells, mod. 3-0180, U.S.A.). Sin embargo, en esta ocasión a fin de que el extremo medial de este dispositivo de sujeción lateral alcanzara el oído medio y seccionara los sistemas salivatorios eferentes que discurren por las paredes de la caja timpánica, las barras auditivas eran colocadas en los animales experimentales libres de los tres cilindros de seguridad con los que hasta ahora han sido utilizadas en todos los experimentos previos (véase "Cirugía" del experimento nº 1).

A lo largo de este procedimiento quirúrgico los nervios mencionados más arriba no pueden ser observados directamente, por lo que las barras auditivas debían quedar perfectamente ajustadas al canal auditivo externo hasta conseguir la penetración de su extremo distal en el oído

medio. En el presente experimento se siguió este procedimiento dada la extraordinaria rapidez y eficacia alcanzada para seccionar los haces de fibras nerviosos que cursan a esta altura del oído.

Los sujetos controles eran anestesiados con éter etílico para ser inyectados intraperitonealmente con Tiopental, introduciendo seguidamente a través del canal auditivo externo las barras auditivas con sus correspondientes cilindros de seguridad, tal y como se han empleado en los tres capítulos anteriores a fin de impedir durante la cirugía este-reotáxica la penetración del extremo medial de este dispositivo de sujeción lateral en el oído medio, evitando así cualquier posible lesión a este nivel.

Una vez eran ajustadas las barras auditivas, tanto los animales experimentales como los controles permanecieron durante un periodo de tiempo de cinco minutos en decúbito prono. A continuación, los sujetos eran liberados de dichas barras colocando cada rata en su correspondiente jaula experimental.

Procedimiento experimental.

El procedimiento quirúrgico descrito en el apartado anterior fue efectuado en el último día de línea base, una vez los datos correspondientes a ese día ya habían sido registrados. Este periodo preoperatorio de línea base comenzaba habituando a los animales a comer alimento seco (pienso compuesto "Sandermus"; Sanders, S.A. Madrid) durante un periodo diario de 2 horas, comprendido entre las 10 a.m. y las 12 a.m. Los sujetos disponían de agua ad libitum a lo largo de todo el día. Transcurridos 7 días de habituación, se registraba durante 3 días consecutivos (días 8, 9 y 10) el número de respuestas de toma de agua emitidas a lo largo de las 2 horas diarias de exposición a alimento seco por los 16 animales que participaron en este experimento. Durante los 3 días siguientes (días 11, 12 y 13), la comida seca era sustituida por comida húmeda (dos partes de comida seca en polvo "Sandermus" mezclada con tres partes de suero fisiológico isotónico) registrándose, igualmente, el número de respuestas de bebida emitidas por cada sujeto durante las 2 horas de comida.

Finalmente, en el séptimo y último día de prueba (día 14), los animales recibían nuevamente alimento seco durante un periodo de tiempo idéntico al de días anteriores registrándose en cada animal, una vez más,

la frecuencia de bebida asociada al consumo de alimento.

Asimismo, durante este mismo periodo de línea base y a lo largo de las dos horas de comida, se midieron en los últimos siete días de prueba (días 8 al 14) los siguientes parámetros:

- cantidad de agua bebida.
- cantidad de alimento (seco o húmedo) consumido.
- longitud de la respuesta de bebida, calculada según el procedimiento descrito en el experimento nº 3.
- cantidad de residuos alimenticios depositados sobre el suelo de la caja experimental, calculados según el procedimiento seguido en el experimento nº 2. Esta variable sólo se midió durante las dos horas de ingestión de comida seca correspondientes a los días 8, 9, 10 y 14.

Por otro lado, en todos los animales de este experimento se registró la cantidad de agua bebida a lo largo de las 22 horas de privación alimenticia durante los días 8 al 13 de esta línea base, ambos inclusive.

Finalizado el periodo de línea base, los animales pasaron a la fase quirúrgica ya explicada anteriormente. Concluida la cirugía, los sujetos de ambos grupos dispusieron de agua y comida ad libitum en sus respectivas cajas experimentales durante un periodo de recuperación de 10 días. A continuación, las 16 ratas del presente experimento fueron sometidas en todas sus características al mismo procedimiento experimental seguido durante la línea base, descrito líneas más arriba.

Análisis de los datos.

Con el propósito de evaluar el efecto de la lesión realizada en los sistemas secretomotores que transcurren a través del oído medio sobre la frecuencia media de bebida, se llevó a cabo un análisis de varianza mixto 2x3 (Keppel, 1973) para aquellos datos registrados durante los 3 días de prueba postoperatorios correspondientes a la presentación de alimento seco. En este análisis el factor entre grupos se manipuló a 2 niveles: sección versus no sección. El factor intrasujetos se manipuló a 3 niveles, correspondiendo a cada uno de los días en los que se realizó el registro de este parámetro (días postoperatorios: 32, 33 y 34). Igualmente, durante los 3 días postoperatorios en los que los animales reci-

bieron alimento húmedo, las diferencias en prandialidad entre los grupos experimental y control fueron analizadas según un ANOVA mixto 2x3 de características análogas al indicado anteriormente. Por último, las diferencias en la frecuencia media de bebida observadas entre ambos grupos de sujetos en el séptimo día de prueba postoperatorio, una vez era presentada nuevamente comida seca (día 38), fueron examinadas estadísticamente mediante una prueba t de Student para muestras independientes (McGuigan, 1968).

Del mismo modo, con la intención de analizar el efecto de la sección de los nervios del oído medio sobre las restantes variables registradas durante las 2 horas de presentación de alimento correspondientes a la fase de prueba postoperatoria (días 32 al 37, ambos inclusive), se efectuaron dos ANOVAS mixtos 2x3 para cada uno de estos parámetros, uno aplicado a los 3 días de exposición a comida seca y otro correspondiente a los 3 días de presentación de comida húmeda. Estos últimos análisis de varianza presentaban idénticas características a los indicados más arriba.

Por otra parte, y dado que el procedimiento experimental seguido durante la línea base fue exactamente igual al desarrollado a lo largo del periodo postoperatorio, cualquier posible diferencia en alguno de los índices registrados en este experimento durante la línea base entre los animales que fueron asignados aleatoriamente al grupo experimental y aquellos otros asignados al grupo control, fue evaluada estadísticamente mediante el mismo tipo de ANOVA aplicado en la fase postoperatoria anteriormente expuesto.

Con la finalidad de examinar si la cantidad de agua bebida por los sujetos experimentales durante las 22 horas de privación de comida correspondientes a la fase de prueba del periodo postoperatorio, difería significativamente de la registrada en controles durante este mismo periodo temporal, se efectuaron dos ANOVAS mixtos 2x3 (uno para los 3 días de comida seca y otro correspondiente a los 3 días de comida húmeda) de características análogas a los mencionados anteriormente en este mismo apartado. Durante la línea base, cualquier posible diferencia entre uno y otro grupo respecto a este parámetro fue evaluada estadísticamente mediante dos ANOVAS mixtos de las mismas características que los indicados más arriba.

Asimismo, con la intención de completar la información propor-

cionada por los distintos ANOVAS mixtos señalados hasta ahora en el presente apartado, se efectuaron pruebas *t* de Student para muestras independientes (McGuigan, 1968). Así, para cada uno de los distintos días de prueba de los que consta el periodo de línea base y el periodo postoperatorio de este undécimo experimento, se realizaron un número de pruebas *t* igual al número de parámetros medidos, a fin de comprobar estadísticamente si las posibles diferencias existentes entre el grupo experimental y control eran o no significativas.

RESULTADOS

Tal y como indican los resultados de este experimento, la lesión efectuada en el oído medio mediante el procedimiento quirúrgico descrito provoca un profundo déficit salival, hecho que sugiere que dicha intervención periférica ha debido afectar a las fibras secretomotoras salivatorias que discurren por la pared posterior e inferior de la caja timpánica.

En relación a la frecuencia media de bebida, durante la línea base no se detectaron diferencias significativas entre controles y experimentales, bien a lo largo de los 3 días de exposición a comida seca ($F_{1,14} = 1.822$, N.S. Figura 42, tabla XXIV), o bien durante los 3 días siguientes en donde los animales consumieron alimento húmedo ($F_{1,14} = 0.781$, N.S. Figura 42, tabla XXIV). Sin embargo, una vez los sujetos experimentales se habían recuperado de la intervención quirúrgica efectuada el día 14, comenzaron a emitir progresivamente un número de respuestas de bebida significativamente superior al observado en controles. Así, el análisis de varianza global realizado para los tres días de prueba del periodo postoperatorio en los que se presentó alimento seco (días 32, 33 y 34), arrojó un valor de *F* significativo ($F_{1,14} = 80.706$, $p < 0.001$. Figura 42, tabla XXV). Este comportamiento prandial característico observado en los sujetos experimentales desaparecía cuando el alimento seco era sustituido por comida húmeda. Bajo estas condiciones (días 35, 36 y 37) no se detectaron diferencias significativas entre ambos grupos de ratas ($F_{1,14} = 1.703$, N.S. Figura 42, tabla XXV).

Para el parámetro comentado, los valores de *t* obtenidos en cada uno de los distintos días pre y postoperatorios en los que se midió dicha variable, fueron los siguientes:

Línea Base. t día 8 con comida seca = 0.946, N.S.
t " 9 " " = 0.710, N.S.
t " 10 " " = 2.173, $p < 0.05$
t " 11 con comida húmeda = 1.018, N.S.
t " 12 " " = 0.206, N.S.
t " 13 " " = 1.066, N.S.
t " 14 con comida seca = 2.026, N.S.

Periodo

Postoperat. t día 32 con comida seca = 8.371, $p < 0.001$
t " 33 " " = 9.914, $p < 0.001$
t " 34 " " = 7.910, $p < 0.001$
t " 35 con comida húmeda = 1.666, N.S.
t " 36 " " = 1.522, N.S.
t " 37 " " = 0.385, N.S.
t " 38 con comida seca = 8.282, $p < 0.001$
(véase figura 42 y tabla XXIV).

En el presente experimento, la lesión de las vías eferentes del oído medio efectuada en los sujetos experimentales inducía también polidipsia. Dicho comportamiento parece causado por la elevada frecuencia de bebida característica de estos animales. Así, durante el periodo postoperatorio y en presencia de alimento seco (días 32, 33 y 34), las ratas experimentales consumían un volumen de agua significativamente superior al registrado en controles ($F_{1,14} = 20.979$, $p < 0.001$; figura 43 y tabla XXVII). Por su parte, la presentación de alimento húmedo (días 35, 36 y 37) eliminaba la polidipsia previa, no observándose bajo estas condiciones diferencias significativas entre experimentales y controles ($F_{1,14} = 0.016$, N.S. Figura 43 y tabla XXVII). Durante la línea base ambos grupos de animales bebían una cantidad de agua semejante, independientemente de que se les presentara alimento seco ($F_{1,14} = 0.025$, N.S. Figura 43, tabla XXVI) o comida húmeda ($F_{1,14} = 0.767$, N.S. Figura 43, tabla XXVI).

Los distintos valores de t obtenidos en cada uno de los días pre y postoperatorios en los que se registró la cantidad de agua bebida por los animales a lo largo de las dos horas diarias de comida, fueron los siguientes:

Línea Base. t día 8 con comida seca = 0.168, N.S.

t día 9 con comida seca	= 0.273, N.S.
t " 10 " "	= 0.739, N.S.
t " 11 con comida húmeda	= 0.420, N.S.
t " 12 " "	= 0.329, N.S.
t " 13 " "	= 1.765, N.S.
t " 14 con comida seca	= 0.754, N.S.

Periodo

<u>Postoperat.</u> t día 32 con comida seca	= 4.768, $p < 0.001$
t " 33 " "	= 4.538, $p < 0.001$
t " 34 " "	= 3.749, $p < 0.01$
t " 35 con comida húmeda	= 0.467, N.S.
t " 36 " "	= 0.066, N.S.
t " 37 " "	= 0.116, N.S.
t " 38 con comida seca	= 3.705, $p < 0.01$

(véase figura 43 y tabla XXVI).

Igualmente, a lo largo del periodo postoperatorio y durante las 22 horas de privación de alimento, la cantidad de agua bebida por los sujetos experimentales era significativamente diferente al volumen de agua bebida en este mismo periodo de tiempo por los animales controles. Efectivamente, durante aquellos días en los que las ratas consumieron alimento seco, la cantidad de agua bebida por los sujetos experimentales durante las 22 horas siguientes a las 2 horas de prueba, fue significativamente inferior a la registrada en ratas controles ($F_{1,14} = 9.492$, $p < 0.01$, Figura 44, tabla XXIX). Sin embargo, el volumen de agua bebido por experimentales y controles durante las 22 horas siguientes al consumo de alimento húmedo era prácticamente equivalente, no detectándose bajo estas circunstancias diferencias significativas ($F_{1,14} = 0.030$, N.S. Figura 44, tabla XXIX).

Al igual que en los parámetros anteriores ya comentados, durante la línea base no se observaron diferencias en la cantidad de agua consumida por ambos grupos durante las 22 horas de privación de alimento seco ($F_{1,14} = 0.847$, N.S. Figura 44, tabla XXVIII), así como tampoco a lo largo de las 22 horas siguientes al consumo de comida húmeda pertenecientes a los días 11, 12 y 13 del presente experimento ($F_{1,14} = 1.410$, N.S. Figura 44, tabla XXVIII).

Los distintos valores de t calculados para cada uno de los días pre y postoperatorios en los que se midió la cantidad de agua bebida por

los sujetos experimentales y controles durante las 22 horas diarias de privación de alimento, fueron los siguientes:

<u>Línea Base.</u>	t	22 horas privación del día 8 (c. seca)	= 0.744, N.S.
	t "	" 9 (c. seca)	= 0.722, N.S.
	t "	" 10 (c. seca)	= 0.924, N.S.
	t "	" 11 (húmeda)	= 1.427, N.S.
	t "	" 12 "	= 0.963, N.S.
	t "	" 13 "	= 1.069, N.S.

Periodo

<u>Postoperat.</u>	t	22 horas privación del día 32 (c. seca)	= 3.733, p < 0.01
	t "	" 33 "	= 2.785, p < 0.025
	t "	" 34 "	= 2.382, p < 0.05
	t "	" 35 (húmeda)	= 0.150, N.S.
	t "	" 36 "	= 0.153, N.S.
	t "	" 37 "	= 0.448, N.S.

(véase figura 44 y tabla XXVIII).

Según se desprende de los resultados expuestos anteriormente, durante los tres días de prueba postoperatorios en los que se presentaba comida seca (días 32, 33 y 34), los animales experimentales parecen compensar la elevada polidipsia asociada directamente al consumo de alimento seco reduciendo significativamente el volumen de agua bebido a lo largo de las 22 horas siguientes de privación alimenticia. No obstante, a pesar de la reducción nocturna experimentada por los sujetos seccionados durante los días indicados, la ingestión de agua diaria (calculada sumando la magnitud de agua bebida a lo largo de las 2 horas de comida seca y la cantidad de agua tomada durante las 22 horas siguientes de privación alimenticia) observada en este grupo a lo largo de los tres días postoperatorios de presentación de alimento seco, fue significativamente superior al volumen de agua bebido diariamente por los animales controles ($F_{1,14} = 4.634$, $p < 0.05$, figura 45 y tabla XXX). Sin embargo, al comparar día a día las cantidades de agua bebidas por uno y otro grupo no se obtuvieron diferencias significativas.

Los valores de t calculados para cada uno de estos días, fueron los siguientes:

t	total de agua bebida diariamente durante el día 32	= 2.105, N.S.
t	total de agua " 33	= 1.693, N.S.

t total de agua bebida diariamente durante el día 34 = 2.087, N.S.
(véase figura 45 y tabla XXX).

Como cabe esperar a partir de los datos expuestos hasta ahora, la cantidad media de agua bebida por respuesta en los animales experimentales era significativamente inferior a la observada en los sujetos controles, cuando a ambos grupos se le ofrecía alimento seco durante el periodo postoperatorio (F 1,14 = 19.515, $p < 0.001$. Figura 46, tablas XXXI y XXXII). En este mismo periodo experimental pero en presencia de alimento húmedo, los valores de este parámetro calculado en uno y otro grupo eran similares, no detectándose diferencias significativas entre controles y experimentales (F 1,14 = 0.627, N.S. Figura 46, tablas XXXI y XXXII). Por otra parte, durante el periodo preoperatorio o de línea base ambos grupos tomaban la misma cantidad de agua por respuesta en presencia de alimento seco (F 1,14 = 0.232, N.S. Figura 46 y tabla XXXI). Tampoco bajo condiciones de comida húmeda se observaron preoperatoriamente diferencias estadísticas entre experimentales y controles en la variable comentada (F 1,14 = 0.114, N.S. Figura 46 y tabla XXXI).

Los distintos valores de t obtenidos para este parámetro a lo largo de los 14 días de prueba pre y postoperatorios de que constaba el presente experimento, fueron los siguientes:

Línea Base. t día 8 con comida seca = 0.500, N.S.
t " 9 " " = 0.378, N.S.
t " 10 " " = 0.472, N.S.
t " 11 con com. húmeda = 0.593, N.S.
t " 12 " " = 0.575, N.S.
t " 13 " " = 0.736, N.S.
t " 14 con comida seca = 1.116, N.S.

Periodo

Postoperat. t día 32 con comida seca = 5.533, $p < 0.001$
t " 33 " " = 5.371, $p < 0.001$
t " 34 " " = 2.937, $p < 0.025$
t " 35 con com. húmeda = 0.928, N.S.
t " 36 " " = 0.560, N.S.
t " 37 " " = 0.765, N.S.
t " 38 con comida seca = 6.714, $p < 0.001$
(véase figura 46 y tabla XXXI).

Además de las distintas manifestaciones comportamentales señaladas, durante el presente experimento pudo comprobarse también que los animales seccionados manifestaban a lo largo del periodo experimental postoperatorio una conducta consumatoria ineficaz, semejante a la ya descrita en ratas con lesiones en la región Parvocelular troncoencefálica (véase experimento nº 2). En efecto, durante la fase postoperatoria y en presencia de alimento seco (días 32, 33 y 34), los animales con lesiones en el oído medio presentaban al final de cada sesión de prueba de 2 horas, una cantidad de residuos alimenticios significativamente superior a la medida en ratas controles ($F_{1,14} = 6.993$, $p < 0.025$, figura 47 y tablas XXXIII y XXXIV). Antes de la cirugía, en cambio, los dos grupos no diferían significativamente bajo las mismas condiciones alimenticias ($F_{1,14} = 2.649$, N.S. Figura 47 y tablas XXXIII y XXXIV).

Los valores de t obtenidos en cada uno de los días de prueba pre y postoperatorios en los que se registró la cantidad de residuos alimenticios depositados en el suelo de la caja experimental por los animales de cada grupo, fueron los siguientes:

Línea Base. t día 8 con comida seca = 1.000, N.S.
 t " 9 " " = 2.075, N.S.
 t " 10 " " = 1.551, N.S.
 t " 14 " " = 1.490, N.S.

Periodo

Postoperat. t día 32 con comida seca = 2.490, $p < 0.05$
 t " 33 " " = 2.229, $p < 0.05$
 t " 34 " " = 1.794, N.S.
 t " 38 " " = 2.770, $p < 0.025$
(véase figura 47 y tabla XXXIII).

Por último, durante los días de prueba correspondientes al periodo postoperatorio, fase experimental en la que el comportamiento de los dos grupos de sujetos empleados en este estudio difería en relación a los parámetros anteriormente expuestos, no se detectaron diferencias significativas entre experimentales y controles en la magnitud de alimento seco consumido ($F_{1,14} = 0.103$, N.S.). Igualmente, la cantidad de comida húmeda ingerida por las ratas de uno y otro grupo a lo largo de esta fase experimental postoperatoria, fue prácticamente idéntica ($F_{1,14} = 3.405$, N.S.).

FIGURA 42

Frecuencia media de bebida observada en el grupo experimental (——) y control (-----) durante los días de prueba correspondientes a la fase de línea base y al periodo experimental postoperatorio. Abreviaturas: C.S. comida seca, C.H. comida húmeda. Nivel de significación como en figura 11.

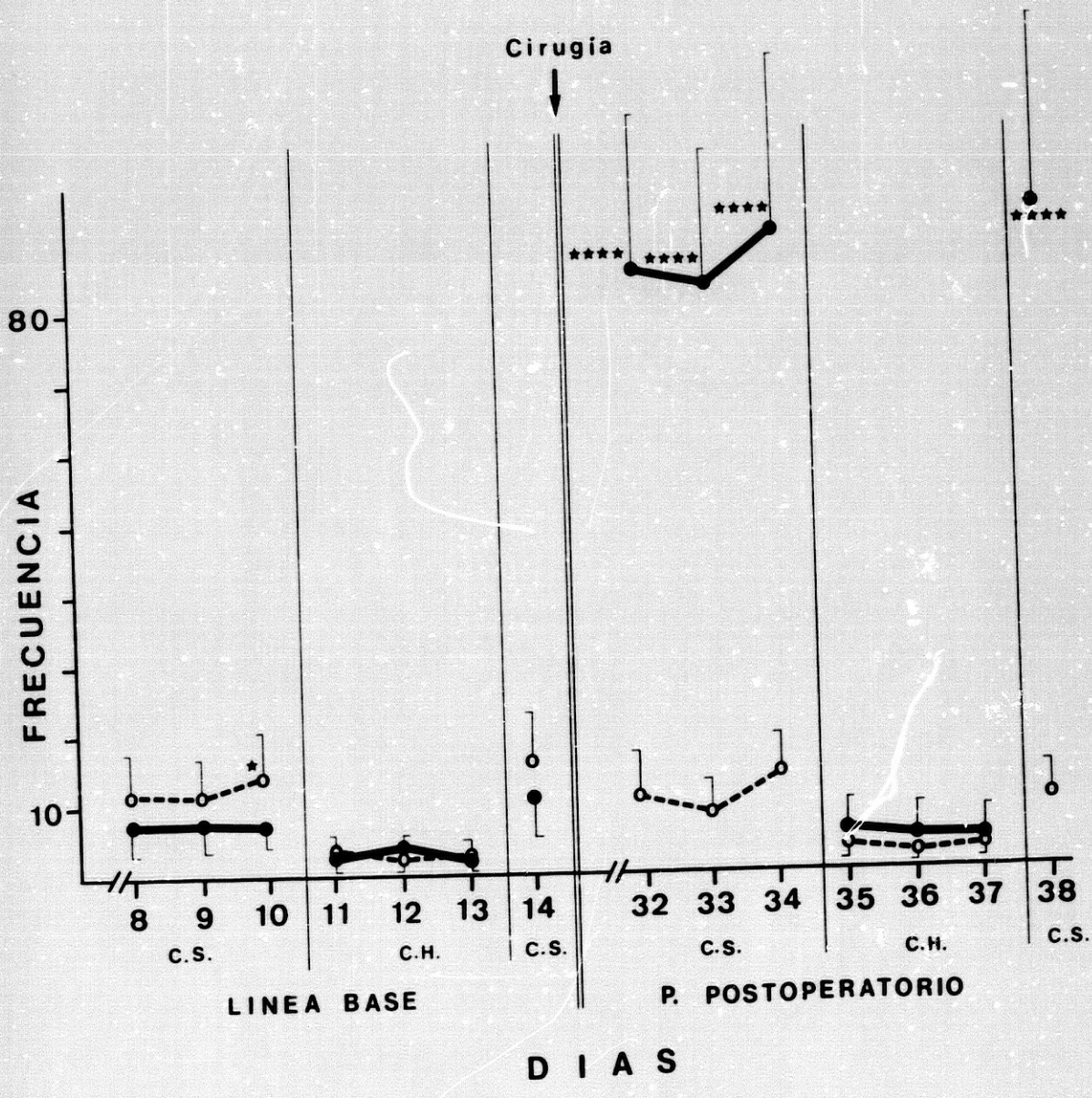


TABLA XXIV

EXPERIMENTO Nº 11: FRECUENCIA MEDIA DE BEBIDA REGISTRADA DURANTE LA FASE DE LINEA BASE Y A LO LARGO DEL PERIODO EXPERIMENTAL POSTOPERATORIO.

		LINEA BASE							
		Días:	8	9	10	11 ⁺	12 ⁺	13 ⁺	14
Exp.	\bar{x}	8.62	8.25	7.62	2.37	2.25	2.12	9.50	
	SD	5.19	4.23	2.86	0.85	0.96	1.05	5.00	
Cont.	\bar{x}	11.62	9.87	12.62	3.50	2.12	2.87	15.62	
	SD	6.59	4.31	5.38	2.82	1.36	1.53	6.24	
	t	0.946	0.710	2.173	1.018	0.206	1.066	2.026	
	p	N.S.	N.S.	<0.05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	

		PERIODO POSTOPERATORIO							
		Días:	32	33	34	35 ⁺	36 ⁺	37 ⁺	38
Exp.	\bar{x}	84.87	83.75	90.50	4.87	3.87	3.12	91.87	
	SD	22.70	19.73	25.40	2.02	2.02	1.96	26.00	
Cont.	\bar{x}	10.87	8.50	12.50	3.12	2.50	2.75	9.87	
	SD	5.68	3.84	5.76	1.89	1.50	1.63	3.29	
	t	8.371	9.914	7.910	1.666	1.522	0.385	8.282	
	p	<0.001	<0.001	<0.001	N.S.	N.S.	N.S.	<0.001	

*Durante estos días los animales recibieron alimento húmedo.