

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Odontología

Estudio histopatológico en glándula submaxilar de ratones CD-1 tratados crónicamente con Diazepam.

T E S I S

**que para obtener el título de
Cirujana Dentista
presenta: Juana Alvarez Loeza -**

Dirigieron y supervisaron:

**Dr. Javier Portilla Robertson
Dr. Juan Carlos C. Hernández Guerrero**

**Asesores: C.D. Verónica García Palacios
Dra. Santa Ponce Bravo
Dra. Elba Rosa Leyva Huerta
1996**



**Este trabajo fue apoyado por el proyecto de PAPIIT No IN201293
y obtuvo un segundo lugar en el concurso anual de Servicio Social Multidisciplinario
Gustavo Baz Prada.**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A la Universidad Nacional Autónoma de México

*....."Aquí te dejo algo de lo que me enseñaste
a recoger por los caminos"...*

Agradecimientos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Odontología por haberme brindado la oportunidad de obtener una formación profesional. Agradezco a la División de Estudios de Posgrado e Investigación, al Instituto de Física de la UNAM. por su apoyo para la realización de mi trabajo. Quiero agradecer al Dr Juan Carlos Hernández Guerrero, subjefe de la División de Investigación, a la Dra Margarita García Garduño y a la C.D. Verónica García Palacios, investigadoras del Laboratorio de Inmunología, a la Dra. Santa Ponce Bravo, jefa del Laboratorio de Patología, a los Q.F.B. Elena B Oliva Ramírez (finada) y Victor Castaño Meneses jefe del Departamento de Física Aplicada y Tecnología Avanzada y al Sr. Alfredo Sanchez Ariza del Departamento de Fotografía por ayudarme con sus conocimientos y experiencia las cuales pude aplicar a lo largo del desarrollo de la presente investigación. En especial quiero agradecer a la Dra Elba Rosa Leyva por sus comentarios tan valiosos para mejorar el presente trabajo.

Gracias a todas las personas que directa e indirectamente contribuyeron para que este trabajo se llevara a cabo.

Juana Alvarez Loeza 1996

A Dios:

por darme la vida.

A mi familia:

Agradezco su constante apoyo y cariño.

A mi esposo:

Gracias por tu ayuda y comprensión.

CONTENIDO

Índice.

1. Resumen	1
2. Glándula Submaxilar.	2
2.1. Desarrollo embrionario.	2
2.2. Anatomía de la glándula submaxilar.	2
2.3. Estructura histológica.	3
2.4. Acinos glandulares.	6
2.5. Células mioepiteliales.	13
2.6. Sistema Excretor.	15
2.7. Inervación y vascularización.	17
2.8. Función de la glándula submaxilar.	18
3. Antecedentes.	21
4. Benzodiazepinas.	23
5. Diazepam.	30
6. Glándulas Salivales.	33
6.1 Antecedentes.	33
7. Planteamiento del problema.	35
7.1 Justificación.	35
7.2 Hipotesis nula.	36
7.3 Hipótesis verdadera.	36
7.4 Objetivos.	36
7.5. Diseño de la investigación.	37
7.6. Materiales y métodos.	38
7.7. Resultados.	39
7.8 Discusión.	45
7.9 Conclusiones.	48
8. Bibliografía.	49

Índice de Figuras

Fig. 1 Esquema de la organización de una glándula salival.

Fig. 2 Esquema de un acino salival.

Fig. 3 Esquema de la unidad funcional de la glándula submaxilar que presenta células mucosas, serosas y mioepiteliales.

Fig. 4 Esquema de las diferentes porciones de una unidad funcional de la glándula submaxilar del ratón adulto.

Fig. 5 Esquema de una célula mioepitelial

Fig. 6 Esquema que presenta la interacción Receptor-GABA-BZD en el SNC.

Fig 7 Esquema que presenta los efectos de la acción de las BZD.

Índice de Ilustraciones.

Fig.1 Muestra la estructura acinar de una glándula normal. se muestra bien definida con pérdida en la luz de algunos acinos, se observa aumento en el número de gránulos de cimógeno.

Fig.2 Muestra acinos normales con aumento en los gránulos de cimógen, se observan basófilos característico en las glándulas de secreción serosa.

Fig.3 Muestra pérdida en la morfología de las células acinaresy disminución en el número de los gránulos de cimógeno.

Fig.4 Muestra pérdida de la arquitectura acinar, vacuolización del citoplasma e irregularidad y aumento en el tamaño de los núcleos.

Fig. 5 Muestra vacuolización del citoplasma, aumento en el tamaño de los núcleos así como también un número moderado de gránulos secretorios.

Fig.6 Muestra acinos bien delimitados con citoplasma abundante, los núcleos se encuentran rechazados a la periferia, el número de gránulos secretorios es escaso predominando los de mayor tamaño.

Fig. 7 Muestra pérdida de la arquitectura de células acinares, aumento en el tamaño de los gránulos de cimógeno y núcleos prominentes.

Fig 8 Muestra acinos bien definidos con aumento en el número de gránulos de cimógeno, se muestra hipertrofia de células mioepiteliales e irregularidad y aumento en el tamaño de los núcleos.

1. Resumen

La Glándula submaxilar es una glándula exócrina de secreción mixta controlada por el Sistema Nervioso Autónomo (SNA). Su papel en la salud bucal es muy importante ya que contribuye a mantener su equilibrio. La manifestación de una lesión o alteración trae como consecuencia cambios de las funciones locales y en otros casos más graves alteraciones sistémicas. Por ello el objetivo del presente estudio es observar los efectos causados en la citomorfología de glándula submaxilar de ratones por administración crónica de diazepam (DZ). El DZ fue administrado a 15 ratones CD-1 machos de ocho semanas de edad a una dosis de 5mg/kg/24 hrs intraperitonealmente durante 20 días. Los animales se sacrificaron al término del tratamiento por medio de dislocación cervical. Se disecaron las glándulas submaxilares y se colocaron en solución de formalina al 10%. Posteriormente se homogenizaron y se incluyeron en bloques de parafina (Epon 2000) de los cuales cortes semifinos fueron teñidos con la técnica de paragón y observados al microscopio óptico para su análisis descriptivo. Los resultados muestran cambios citomorfológicos en la estructura acinar, células mioepiteliales y gránulos de cimógeno. Dichos cambios no se presentaron en el 100% del grupo tratado siendo cuestionable la acción del DZ sobre la glándula submaxilar bajo esta condición experimental.

2. Glándula Submaxilar.

2.1. Desarrollo embrionario.

La glándula submaxilar es una unidad de secreción mixta que se desarrolla a las seis semanas de la vida embrionaria en el ser humano, se desarrolla a partir del endodermo del piso de la boca, su formación comienza con la proliferación de un sólido cordón celular desde el epitelio del estomodeo dentro del ectomesénquima subyacente, extendiéndose y ramificándose profundamente dentro de este¹. Dichos cordones celulares se canalizan mediante la degeneración de sus células centrales para formar el sistema ductal y unidades funcionales secretorias² constituyendo así el parénquima de la glándula, el ectomesénquima relacionado con el crecimiento epitelial se diferencia para formar el componente de tejido conjuntivo de la glándula, ya que soporta al parénquima que consta de una cápsula fibrosa y tabiques que dividen la glándula en lóbulos y lobulillos³.

2.2 Anatomía de la glándula submaxilar.

Las glándulas submaxilares, cuyo peso promedio está entre 10 y 15 gramos⁴ se encuentran situadas en la parte posterior del piso de la boca a lo largo del cuerpo mandibular. se sitúan por encima y por abajo de la mitad posterior de la base de la mandíbula así como superficial y profunda al músculo milohioideo. Esta glándula puede palparse como una masa blanda en

la porción posterior del músculo milohioideo, cuando se tensa el músculo, empujando la punta de la lengua contra los incisivos superiores. El conducto submandibular (conducto de Warton) se origina en la porción de la glándula situada entre los músculos milohioideo e hiogloso, corre hacia delante y se abre en la cavidad bucal por dos orificios cerca del frenillo lingual⁵.

Los ganglios linfáticos submandibulares se encuentran, en parte, incluidos dentro de la glándula submandibular y, en parte, entre ella y la mandíbula⁶.

2.3. Estructura histológica.

El parénquima de la glándula consta de una serie de conductos que finalizan en unidades funcionales secretorias, parecidas a un racimo de uvas, siendo éstas, las unidades funcionales secretorias, y el sistema de conductos los tallos. Siguiendo el patrón de desarrollo⁷, el conducto secretorio principal de la glándula, se ramifica en una serie de conductos pequeños estriados, que a su vez se ramifican en conductos intercalares más pequeños.

Las unidades funcionales secretorias muestran gran diversidad en cuanto a tamaño, forma y número de células, su forma varía de contornos circulares simples y contornos tubulares a polígonos multilobulares. Constando de células poligonales apoyadas en una lámina basal continua alrededor de la unidad funcional y de los conductos. Entre las células existen canalículos que se abren a la luz, ya que en las glándulas serosas las células están dispuestas en una forma esférica, y en las glándulas mucinosas, el grupo funcional de células está dispuesto en configuración tubular que son generalmente conocidos como acinos (donde se produce la secreción)⁸.

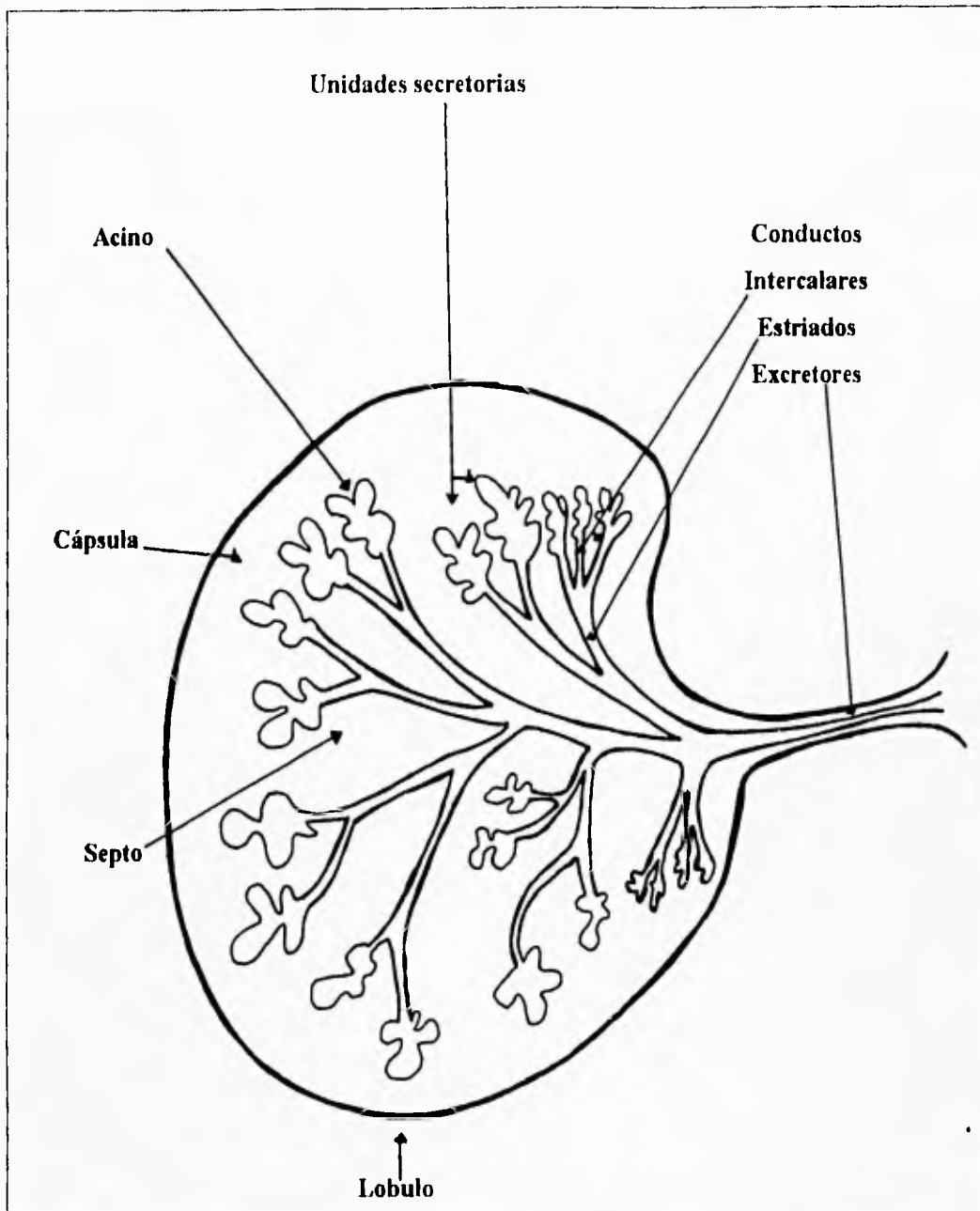


Fig.1 Esquema de la organización de una glándula salival (Atlas Oral anatomy 1989)

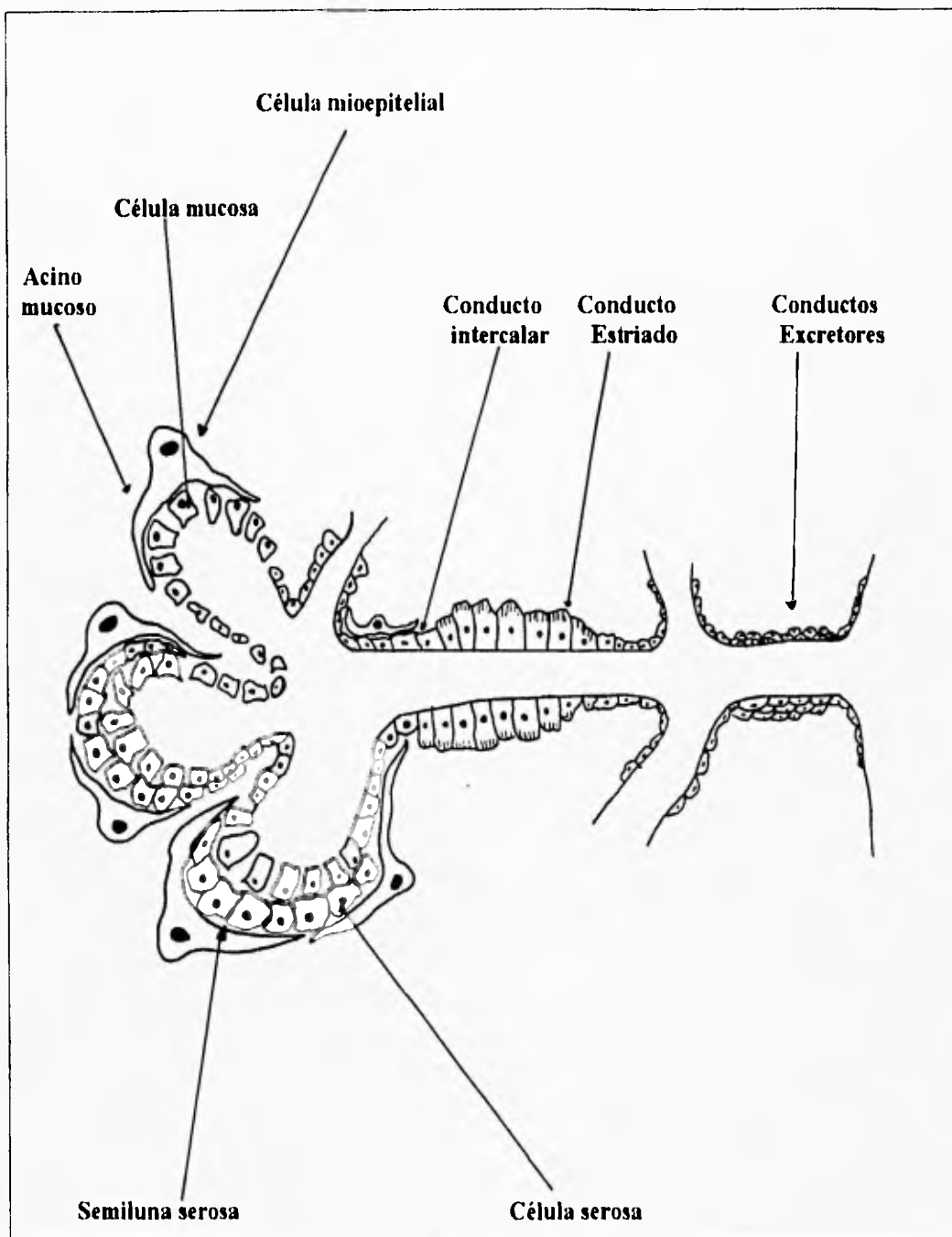


Fig. 2 Esquema de un acino salival (Atlas Oral Anatomy 1989)

2.4. Acinos glandulares

Existen en las glándulas salivales tres tipos de acinos que por su tipo de secreción se clasifican en acinos serosos, acinos mucosos y acinos mixtos.

2.4.1. Acinos Serosos.

Los acinos serosos son órganos que segregan cantidades importantes de polisacáridos. Al microscopio óptico la células que componen un acino seroso se identifican como células piramidales con su ápice situado hacia la luz central, los núcleos son esféricos y se hayan situados en el tercio basal de la células⁸. El citoplasma se tiñe intensamente con Hematoxilina-Eosina (HE) dando a las células su característico color oscuro, en la porción apical puede verse lleno de una serie de gránulos eosinófilos de secreción de alrededor de 1 μ m de diámetro⁹.

Al microscopio electrónico, las células muestran todas las características de una célula especializada para la síntesis, el almacenamiento y la secreción de proteínas, presentando grandes cantidades de retículo endoplásmico rugoso dispuesto en pilas paralelas, empacadas basal y lateralmente respecto al núcleo. También, tienen un complejo de Golgi prominente el cual se sitúa apical y lateralmente respecto del núcleo, éste, está lleno de gránulos secretorios y cada uno de ellos rodeados por una unidad de membrana¹⁰. Por otra parte todos los organelos citoplásmicos se hayan relacionados funcionalmente; las proteínas se sintetizan en los ribosomas del retículo endoplásmico rugoso y pasan a sus cisternas después de una interacción con el complejo de Golgi (donde tienden a agregarse carbohidratos), el material secretorio de naturaleza proteica se

concentra en vacuolas condensantes y es almacenado en gránulos secretorios⁹, cuando se requiere estos gránulos secretorios son evacuados mediante el proceso conocido como exocitosis. Esta descarga se produce cuando los gránulos se mueven hacia la porción apical de la célula, donde la membrana limitante del gránulo se fusiona con la membrana plasmática de las células serosas, que limita la cavidad central. Como resultado, el contenido del gránulo es liberado en la luz central del acino.

Por otra parte, el espacio existente entre la lámina basal y la membrana plasmática basal o de la base celular puede ser extensamente aumentado mediante complejos plegamientos de la membrana plasmática basal de las células serosas, especialmente cuando las células no se hayan completamente distendidas con material secretorio. En la glándula submaxilar, las células serosas son más especializadas, las membranas basales se invaginan formando una serie de pliegues basales altos y estrechos, dichos pliegues se extienden a los bordes laterales de la célula como podocitos que penetran profundamente en los recesos de los pliegues de células adyacentes⁹.

Entre estas células hay complejos de unión compuestos ordenadamente por una unión estrecha (zonula ocludens), una unión intermedia (zonula adherens) y un desmosoma, (mácula adherens). Otras áreas de las superficies laterales opuestas de la célula están unidas por adosamientos desmosómicos puntiformes y, a veces, por uniones de espacio¹¹.

En virtud de las abundantes cantidades de retículo endoplasmático rugoso, complejos de Golgi y gránulos secretorios, las proteínas que incluyen a la amilasa salival se sintetizan. Los complejos plegamientos de las superficies celulares son reflejo de la función que implica transportar líquido y electrolitos

desde el suero a la saliva. De esta manera, la células de los acinos serosos están estructuralmente adaptadas para llevar sus variadas funciones¹.

2.4.2. Acinos Mucosos

Las células de los acinos mucosos están adaptadas para la producción, almacenamiento y secreción de material proteico, su producto secretorio difiere de las células serosas teniendo un menor componente enzimático y sus proteínas se encuentran unidas a mayores cantidades de hidratos de carbono formando mucinas. Al microscopio óptico la células mucosas aparecen como células piramidales con núcleos aplanados, la porción apical de estas células no se tiñe intensamente con H-E debido al alto contenido en hidratos de carbono.

Ultraestructuralmente, las células mucosas difieren de la células serosas en el contenido de prominentes complejos de Golgi, los cuales reflejan el aumento del metabolismo celular de los carbohidratos, y su material secretor se almacena en gotitas, debido a la ausencia de gránulos de secreción. En las células en reposo, el retículo endoplasmático rugoso y otros organelos, como las mitocondrias, se distinguen menos que en las células serosas, debido al menor número de interdigitaciones entre células mucosas adyacentes¹².

En la glándula submaxilar las células mucosas poseen un complejo sistema de pliegues basales, la identificación de una célula como serosa, o mucosa, mediante la microscopía puede ser problemática, debido a que las células mucosas tienen distintas funciones; una de estas es la combinación de carbohidratos con proteínas para formar mucoproteínas.

2.4.3. Acinos Mixtos.

Las células contenidas en los acinos mixtos son células serosas y mucosas, su secreción es un líquido viscoso que contiene mucina, sales y enzimas. Las proporciones relativas de los dos tipos de células glandulares varían. En algunos casos, las células serosas son más numerosas que las mucosas, mientras que en otras glándulas son las células mucosas las más numerosas. Sin embargo existen casos en que ambos tipos celulares están presentes en número igual.

Las glándulas mixtas en las que predominan las células serosas más de la cuarta parte del acino puede ser exclusivamente de revestimiento seroso. En los cortes histológicos, la porción mucosa puede reconocerse por su aspecto claro y vacío del citoplasma. Las células mucosas están localizadas en el extremo de la unidad funcional secretoria. Es muy probable que las células mucosas de las glándulas mixtas se originen por diferenciación de las células de los conductos pequeños. Si las células mucosas no son numerosas, la porción secretoria de la unidad funcional mostrará una mezcla irregular de células mucosas pálidas y células serosas oscuras.

Si predominan las células mucosas, las células serosas quedan desplazadas a la porción funcional o forman pequeñas expansiones saculares de los acinos, formando grupos que en los cortes aparecen como medias lunas teñidas intensamente (medias lunas de Giannuzzi), que cierran los extremos de los túbulos de células mucosas. En las medias lunas, las células serosas son pequeñas y aplanadas y parecen estar completamente apartadas de la luz por que se interponen células mucosas más grandes. Sin embargo existen

canalículos secretores que conducen la secreción hacia la luz a travez de las células mucosas⁸.

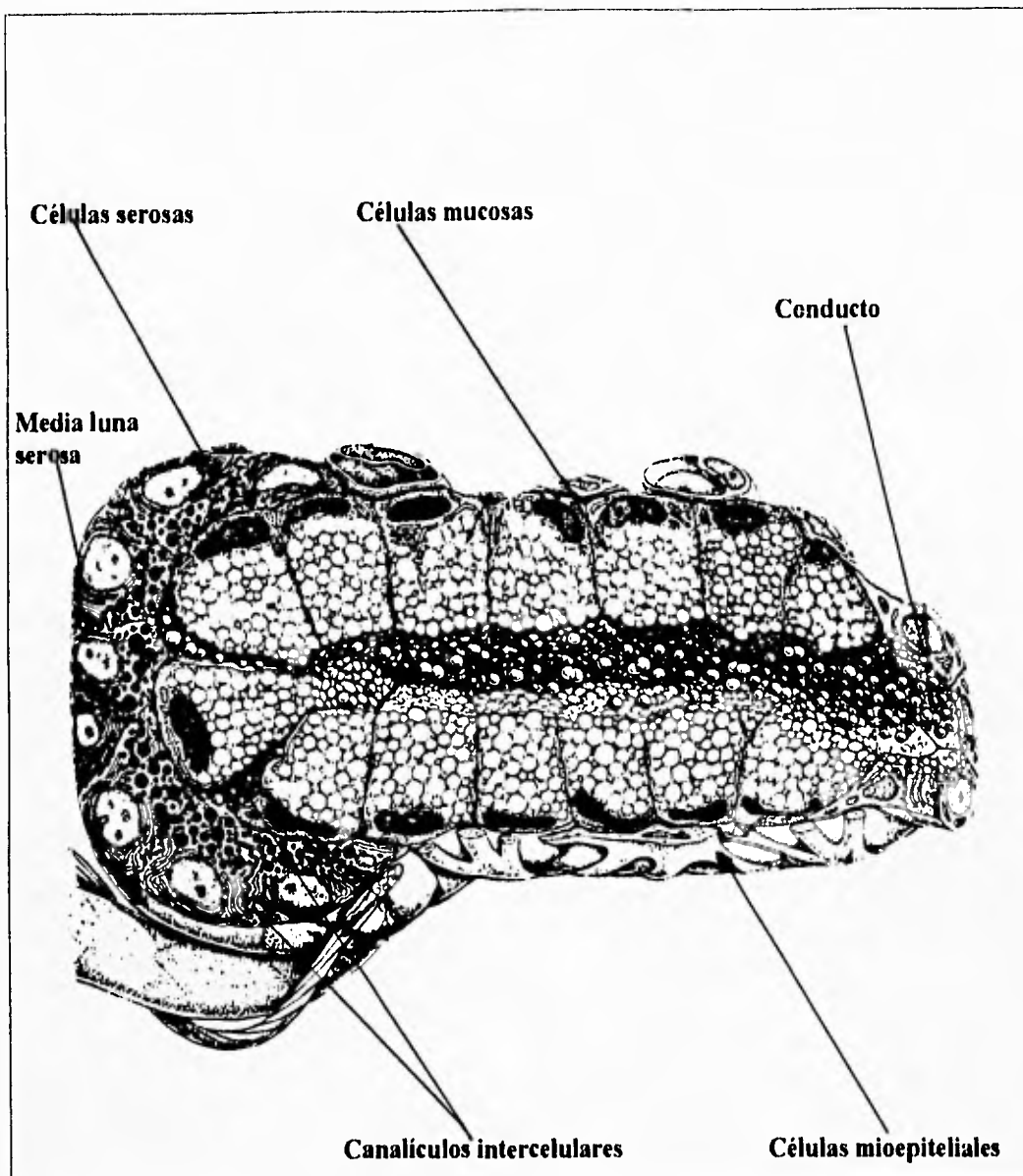


Fig. 3 Unidad funcional de la glándula submaxilar que presenta células mucosas y serosas con una media luna serosa, también muestra células mioepiteliales. (Histologia de Bloom)

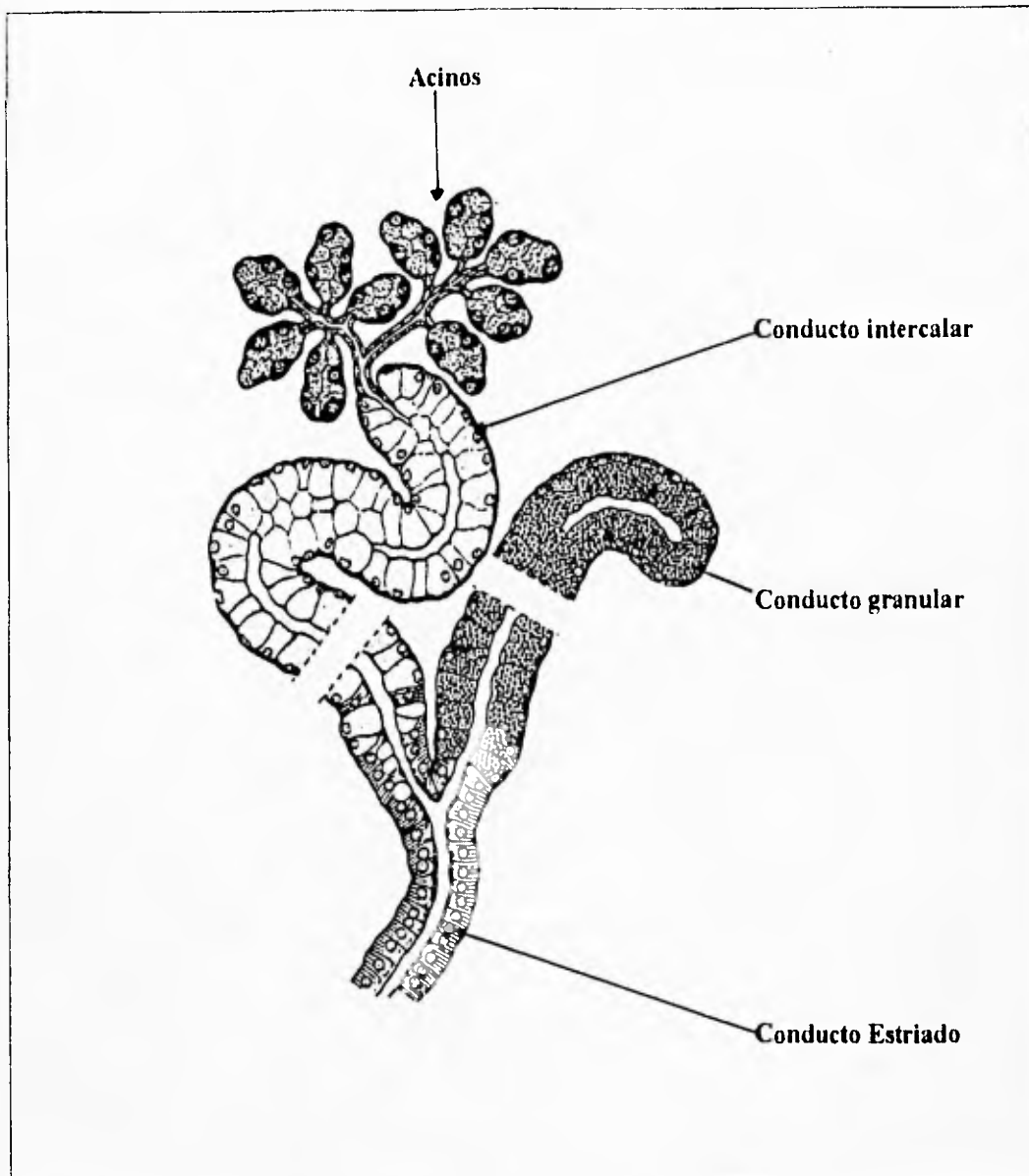


fig 4 Esquema de las diferentes porciones de una unidad funcional de la glándula submaxilar del ratón adulto. La diferencia entre la glándula submaxilar humana y la del ratón es que en esta no existen células mucosas. (Tamarin 1965)

2.5. Células Mioepiteliales.

Las células mioepiteliales son células no secretorias que se hayan en relación con la unidad funcional secretoria y los conductos intercalares, ocupando el espacio entre la lamina basal y la membrana plasmática de las células epiteliales secretorias, existiendo habitualmente una célula mioepitelial por unidad funcional secretoria ^{6,8}.

Morfológicamente la célula consta de un cuerpo central donde se sitúa el núcleo y numerosas prolongaciones celulares largas terminadas en punta rodeando a cada acino, también pueden encontrarse en relación con los conductos intercalados. Estas células presentan semejanzas morfofisiológicas con las células musculares lisas e incluso la capacidad de contraerse. Su citoplasma contiene microfilamentos y cuerpos densos parecidos a los cuerpos oscuros que se ven en el citoplasma de las células musculares lisas, también se han localizado las proteínas contráctiles actina y miosina. Cuando estas células se contraen, comprimen el acino y aumentan la presión en el sistema de conductos ayudando con ello a la propulsión de la saliva hacia la cavidad bucal⁴.

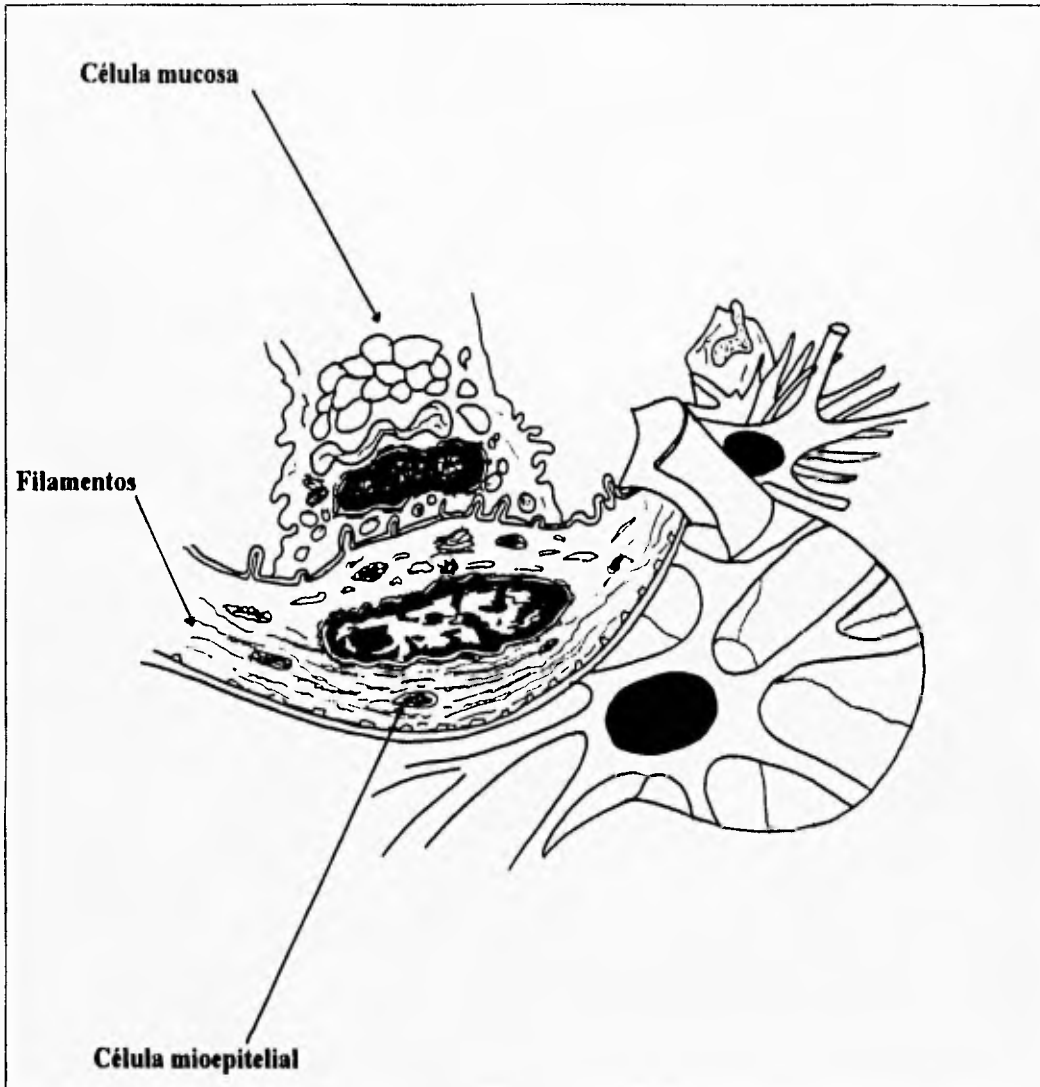


Fig 5 Esquema de una célula mioepitelial (Histología Oral Ten Cate 1989)

2.6. Sistema Excretor

El sistema de conductos de la glándula submaxilar humana está determinado de la siguiente manera: 1) conductos intercalares, 2) conductos estriados y 3) conductos excretores terminales.

2.6.1 Conductos Intercalares

Los conductos intercalares se continúan inmediatamente después de los acinos tienen diámetro pequeño y constan de una sola capa de epitelio cuya forma varía de cúbica a cilíndrica. En observaciones al microscopio electrónico⁹ se observa que las células del conducto intercalar en su mayor parte carecen de especialización ultraestructural conteniendo un núcleo grande de localización central, algunas mitocondrias y un retículo endoplásmico rugoso mal desarrollado y un complejo de Golgi pequeño. Las células adyacentes están unidas por complejos de unión¹¹ y desmosomas apicales. La lámina basal muestra plegamientos laterales, pliegues basales y microvellosidades apicales. También se han observado dispersos en el citoplasma algunos gránulos secretorios semejantes a los serosos que se presentan en las células acinares¹⁰. En relación con la cara basal de estas células y asociadas a las capas epiteliales se encuentran células mioepiteliales. En especial sus prolongaciones citoplásmicas descritas por Jacoby y Lesson 1959 quienes las describieron como semejantes a las células musculares lisas.

Las funciones de los conductos intercalares no están muy bien aclaradas^{6,8}. Por su morfología se afirma que estas células no participan en actividades que incluyen el transporte de agua y de electrolitos. Sin embargo

debido a que contienen moderado número de gránulos secretorios podrían contribuir al contenido orgánico de la saliva⁴. Otros señalan^{2,13} que las células del conducto intercalar representan una población de células indiferenciadas que si es necesario pueden diferenciarse en células acinares, mioepiteliales o del conducto estriado.

2.6.2. Conductos Estriados.

Los conductos intercalares se continúan directamente con los conductos estriados. Estos conductos constan principalmente de células epiteliales cilíndricas^{9,10}. En observaciones al microscopio óptico⁷, las células del conducto estriado presentan notables estriaciones basales orientadas en forma perpendicular a la base de las células cilíndricas, estas estriaciones basales son la característica principal de los conductos estriados de allí su nombre. Con microscopía electrónica por transmisión⁹ se observan en las estriaciones numerosas mitocondrias de localización basal alternando con pliegues basales de la membrana plasmática. El efecto de esta configuración basal es el aumento de la superficie de la membrana plasmática y su función es la de facilitar el proceso de transporte activo⁴.

Las células cilíndricas presentan núcleos ovoides situados al centro de las células. En el compartimento supranuclear se observan cisternas del retículo endoplásmico rugoso, así como un pequeño complejo de Golgi. Las células del conducto estriado en ocasiones también presentan gránulos de secreción⁸. Las células del conducto estriado son las encargadas de la resorción de sodio de la saliva, lo que hace que esta sea hipotónica respecto del plasma sanguíneo. Esta

resorción es un proceso activo que necesita energía en forma de ATP, suministrado por las mitocondrias de localización basal⁴.

2.6.3. Conductos Excretores.

Entre los lobulillos en los tabiques de tejido conjuntivo y cerca del conducto estriado se encuentran localizados los conductos excretores extendiéndose hasta la cavidad bucal⁴. Histológicamente el epitelio que los reviste presenta un alto grado de variación. puede ser un epitelio cilíndrico pseudoestratificado o estratificado, un epitelio cúbico pseudoestratificado o estratificado o ambos. Sus núcleos celulares son grandes y ovoides. En todo el citoplasma se observan numerosas mitocondrias, lisosomas grandes de localización apical, así como un pequeño complejo de Golgi⁹. Estas células carecen de las estriaciones presentes en el conducto estriado. Sin embargo los límites laterales de la membrana muestra numerosos pliegues.

Fisiológicamente⁴ se ha demostrado que los conductos excretores actúan en la modificación posterior de la saliva por medio de resorción activa de electrólitos.

2.7. Inervación y vascularización.

La inervación de la glándula submaxilar está dada principalmente por nervios simpáticos y parasimpáticos. Los impulsos simpáticos modulan la composición de la saliva, en tanto que los parasimpáticos controlan la mayor parte del flujo de la misma.

Al evaluar las relaciones entre el parénquima glandular y los nervios por microscopía electrónica de transmisión ⁹, se encontraron axones amielínicos ricos en vesículas, fibras en relación con las células mioepiteliales y fibras nerviosas amielínicas desnudas (libres de la vaina de Schwann) que penetran en la lámina basal del acino y pasan entre las células secretoras. Estas mismas fibras nerviosas poseen regiones bulbosas, así como dilataciones terminales. Las regiones bulbosas tienen vesículas limitadas por membrana que contienen sustancias transmisoras y mitocondrias .

El aporte vascular es extenso, por lo general entran en la glándula múltiples arterias que dan origen a numerosas arteriolas, que siguen un trayecto paralelo al de los conductos excretores y finalmente dan origen a un sistema de contracorriente, en el que una arteriola lleva sangre de la glándula en dirección distal a lo largo del conducto excretor, y la otra lo lleva en dirección contraria. Las arteriolas terminan por formar una extensa red capilar, que se ramifica alrededor de los conductos estriados, donde tiene lugar la mayor parte del intercambio iónico¹⁴.

2.8. Función de la Glándula Submaxilar.

Un 70% de la secreción salival es segregada por la glándula submaxilar aumentando esta durante la estimulación⁴.

La glándula submaxilar elabora una secreción primaria constituida por moco, enzimas y iones esta secreción primaria es modificada durante su pasaje posterior a lo largo de los conductos glandulares.

Young 1977¹⁵ dice que la secreción primaria es isotónica y con un contenido de electrolitos similar al del plasma. Sin embargo durante el

intercambio iónico el ion bicarbonato es segregado por las células ductales cercanas a los acinos, que tienen anhidrasa carbónica, que se encarga de catalizar la combinación del agua y el dióxido de carbono para formar ácido carbónico y, los iones de bicarbonato resultantes son segregados, mientras que en la misma región se absorben los iones cloruro. Además, se segregan iones potasio, mientras que se reabsorben iones sodio a lo largo del sistema ductal.

Como resultado de estos procesos de transporte activo y de intercambio de iones, la concentración de sodio y de cloruro en la saliva es sólo una octava parte de la del plasma sanguíneo dando como resultado un líquido hipotónico¹³

Los agonistas que median la secreción de líquido, electrolitos y proteínas desde las unidades funcionales secretorias incluyen agentes colinérgicos y agentes adrenérgicos¹⁶. La secreción se controla tanto por el simpático como por el parasimpático. El simpático produce una secreción pequeña de saliva modulando su composición mientras que el parasimpático estimula la formación de grandes cantidades de saliva controlando el flujo de la misma. Los estímulos parten de centros secretores de la médula. Las señales aferentes se obtienen de la boca y el paladar (gusto, contacto,) y la nariz (olor), así como de centros superiores (ideas). Estas señales son integradas en el área bulbar del SNC (centro de la salivación). También recibe señales de la corteza, cuerpo amigdalino e hipotálamo²⁹.

Las células mioepiteliales también juegan un papel importante en la función de la glándula submaxilar como contienen elementos contractiles contribuyen a la expulsión de la saliva de las glándulas cuando se produce la activación de estas células inducida por la ocitocina.

No están claras todas las interrelaciones que determinan el control de secreción salival. Los mecanismos son aplicables a todas las glándulas salivales

aunque con algunas variaciones individuales; pero en general todas las glándulas presentan semejanza en su función.

La deshidratación, el miedo, el estrés y algunas infecciones o fármacos disminuyen el volumen de secreción; durante el sueño y la anestesia general la secreción salival está disminuida casi en su totalidad

La composición de la saliva está dada por agua, electrolitos, (Na, K, Cl, HCO_3) y diversas macromoléculas como enzimas glucoproteínas, polisacáridos, lisozimas, inmunoglobulinas y factores de crecimiento⁸.

La saliva es importante para la lubricación, solubilización del alimento, la iniciación de la digestión del almidón, la limpieza bucal y el habla⁴.

3. Antecedentes.

Las benzodiazepinas (BZD) son los medicamentos de su tipo que se prescriben con mayor frecuencia en todos los campos de la medicina, del cual el diazepam (DZ) es la BZD más popular en todo el mundo. Este fue sintetizado en 1961 por Stern Bach e introducido en el mercado farmacéutico en 1963, desde esa época ha sido empleado con éxito para suprimir la ansiedad, tensión emocional¹⁷⁻²¹, convulsiones²²⁻²⁴, así como por ser un poderoso miorrelajante²⁵. También se le ha utilizado ampliamente como inductor en la anestesia²⁶⁻²⁸, trastornos de sueño y para tratar los síntomas agudos de la abstinencia al alcohol²⁹⁻³⁰. Tales propiedades clínicas del DZ y las BZD en general resultan de las acciones que estos fármacos tienen sobre el SNC³¹.

Haefely 1984³² argumenta lo anterior en estudios sobre la acción de las BZD y su perfil terapéutico en experimentos electrofisiológicos de diversas poblaciones celulares que demuestran inhibición presináptica en la médula espinal, corteza cerebral, hipocampo e hipotálamo.

La eficacia de las drogas benzodiazépicas ha sido claramente establecida. Sin embargo su extenso uso por periodos prolongados y a altas dosis ha causado preocupación en gran parte del público usuario y los diversos grupos médicos²³. En los Estados Unidos en 1977¹⁷ se consumieron 8000 cajas de BZD siendo el 54% del consumo para el DZ. Cabe mencionar que existen numerosas investigaciones de los efectos adversos que estos fármacos pueden provocar cuando se administran a altas dosis y por periodos prolongados, pero su enfoque se ha dirigido principalmente al periodo de organogénesis³³⁻³⁸. El

estudio de las alteraciones en las glándulas salivales es uno de los diversos campos poco estudiados, al cual está dirigida nuestra investigación. En la revisión bibliográfica realizada, no se encontró dato alguno de los efectos del DZ sobre las glándulas salivales. Sin embargo se le atribuye al DZ cuando se administra por periodos prolongados y a altas dosis que es capaz de provocar xerostomía. Pero una vez que se retira el fármaco la xerostomía desaparece. Esta xerostomía se ha asociado al efecto adverso de ansiedad que provocan las BZD aún a dosis moderadas³⁹.

Los efectos adversos de ansiedad también se han asociado a efectos neuroendócrinos de las BZD, pero las diferencias en las dosis y el periodo de administración hacen que se desconozcan tales efectos^{39,40}. Evidencias en animales de laboratorio demuestran que con dosis que provocan sedación son necesarias para incrementar la secreción de corticoesteroides y reducir la activación adrenocortical reduciendo paralelamente la respuesta al estrés³⁹. Sin embargo Barlow 1981⁴¹ afirma que a dosis sedativas las BZD inducen estrés incrementando la producción de catecolaminas en el plasma desencadenando actividad en el Sistema Nervioso Simpático.

El Isoproterenol (IPR) fármaco lipofílico betaadrenérgico que ha sido utilizado principalmente en enfermedades de tipo cardíaco ha sido ampliamente estudiado en glándulas salivales⁴²⁻⁴⁵ y ha mostrado que durante administraciones prolongadas causa hipertrofia de la glándula parótida y submaxilar⁴³ mencionando que la hipertrofia de estas glándulas es causada por una estimulación de la síntesis de DNA, RNA y de proteínas. Sin embargo los estudios realizados por Barka 1968 y 1976^{44,45} establecen que una breve exposición al IPR causó una marcada estimulación de la cromatina nuclear. Los estudios histológicos de ratas⁴⁶ tratadas con IPR determinan que la

hipertrofia de las glándulas salivales es debida a intensa proliferación mitótica de las células serosas, mucosas y ductales debiendose esta proliferación mitótica a la diferenciación de células proacinares en células acinares. Sin embargo es poco o prácticamente nulo el conocimiento de los mecanismos de estos procesos patológicos bajo diferentes condiciones experimentales.

4. Benzodiazepinas.

En diversos estudios ^{32,47-49} se ha demostrado que las BZD facilitan la acción inhibitoria del neurotransmisor ácido gama-aminobutírico (GABA). En el Sistema Nervioso Central (SNC) la facilitación de la transmisión GABAérgica se demuestra por: a) la acción de la picrotoxina, sustancia antagonista del GABA; b) la capacidad de las BZD de antagonizar las convulsiones^{23,24} producidas por la disminución de la cantidad del GABA producida por la isoniazida que inhibe su síntesis⁴⁷; c) acrecentamiento de la inhibición (hiperpolarización) de las motoneuronas espinales producidas por el GABA.

Se ha establecido que las BZD modulan y potencian la actividad GABAérgica. Sin embargo no poseen acción agonista directa sobre los receptores GABAérgicos, y tampoco aumentan la liberación de GABA ni disminuyen su recaptación presináptica. Para que las BZD tengan acción sobre el SNC es necesaria la existencia de GABA pues las neuronas no son inhibidas por las BZD si se produce una disminución total del aminoácido por acción de la isoniazida⁴⁸.

Giorgi 1988⁵⁰ demostró que el DZ potencia las respuestas somáticas del GABA que influyen en el aumento de conducción del cloruro⁵¹. Además está comprobada la potenciación del GABA en los receptores específicos para las BZD, también muestra como la potenciación de las respuestas al GABA requiere concentraciones de BZD de 10 a 100 veces mayores que las que se alcanzan en el Líquido Cefalorraquídeo (LCR) durante un tratamiento.

A medida que la concentración de BZD se aproxima a la requerida para observar potenciación de la respuesta al GABA, la magnitud de estos efectos disminuye y por último desaparece. En la actualidad se coincide en general en que la mayoría de las acciones de las BZD, si no todas, se deben a la potenciación de la inhibición neural mediada por el GABA. Aunque la potenciación del GABA aún no ofrece explicaciones detalladas para las acciones terapéuticas de las BZD, si ofrece un marco de referencia para vincular las diversas observaciones.

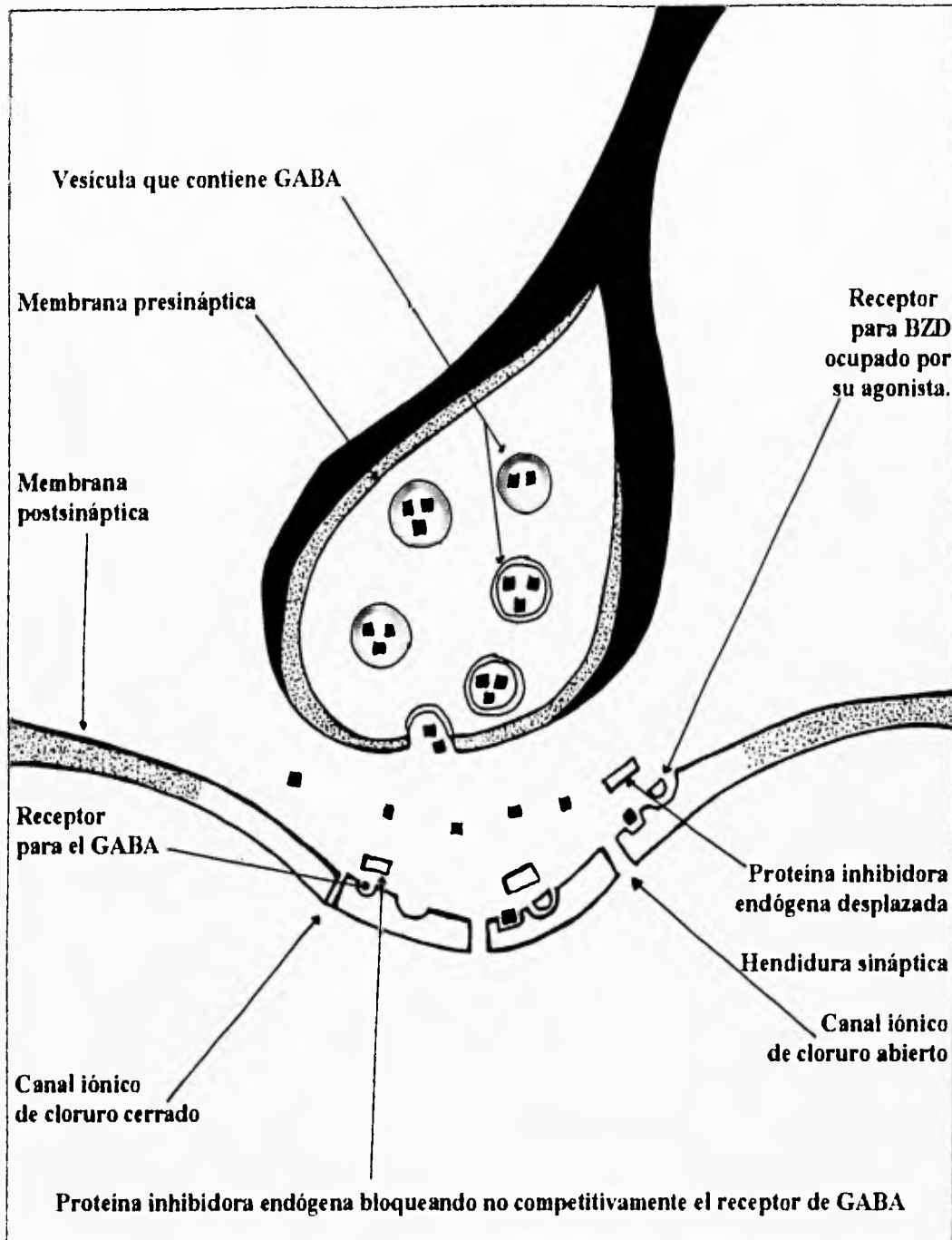


Fig 6 Esquema que presenta la interacción Receptor-GABA-BZD en SNC.

(Haefely 1980)

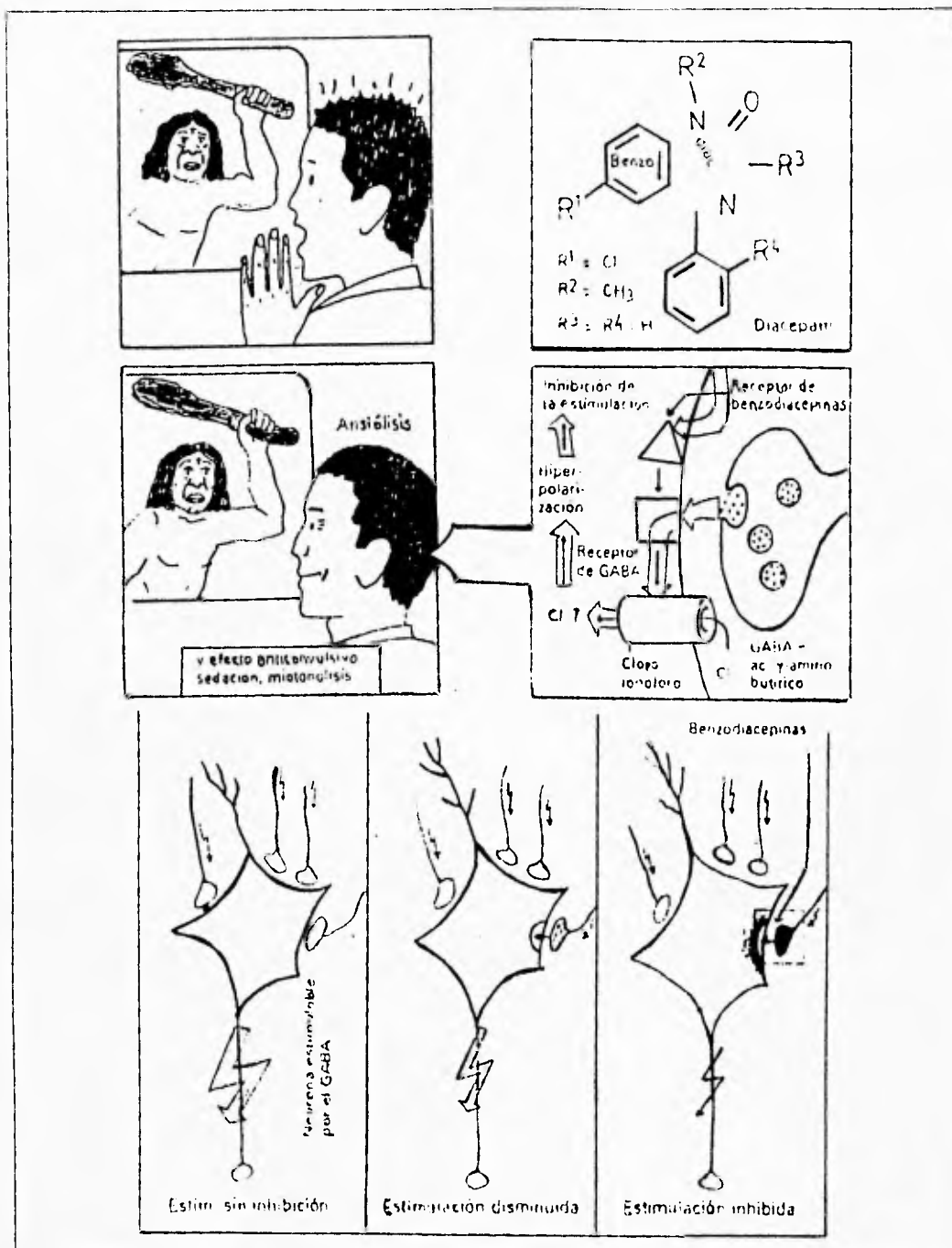


Fig 7 Efectos de la acción de las BZD. (Farmacología Heinz Lüllmann)

Si bien las BZD tienen reputación de provocar solo una baja incidencia de abuso y dependencia²⁸, no puede subestimarse la posibilidad de esta complicación adversa con el uso crónico. Puede desarrollarse una dependencia leve en muchos pacientes que han tomado dosis terapéuticas de BZD durante períodos prolongados de modo regular. Durante los regímenes de tratamiento convencional, muy pocos individuos incrementa su ingesta sin haber recibido instrucciones para ello y muy pocos manifiestan un comportamiento compulsivo de droga dependencia al suspenderse la BZD. Los pacientes que tienen historias de drogadicción o alcoholismo son los más aptos para estos agentes de manera inapropiada y el abuso de BZD habitualmente ocurre como parte de un patron de abuso de drogas múltiples^{23,40}. En estos individuos en raras ocasiones se prefieren las BZD a los barbitúricos o el alcohol. El uso de dosis elevadas de BZD en períodos prolongados puede llevar a síntomas más severos despues de suspender la droga, incluyendo agitación, depresión, pánico, paranoia, mialgia, hiperexcitabilidad muscular y hasta convulsiones⁴⁰.

Prácticamente todas las BZD presentan la misma eficacia sedante, ansiolítica, anticonvulsivante y relajante muscular^{18,22}, pero el modo de utilizarlas varía en función de la duración del efecto y de la relación del efecto sedante. Por eso, es preciso ajustar el tipo de BZD y su dosis a la forma clínica y la gravedad del cuadro ansioso. Son eficaces en los casos en que la ansiedad se manifiesta como una preocupación permanente sin causa clara, con síntomas psicológicos o somáticos más intensos, o cuando la aprensión, la agitación o el insomnio alteran la vida del individuo. Los estados de pánico pueden seder con ansiolíticos, particularmente alprazolam, aunque el tratamiento de elección lo constituyen los antidepresivos^{19,22}.

En cuanto al tipo de BZD, con las de acción corta o media hay menos peligro de sedación (si la dosis no es elevada) y de acumulación, pero hay que administrarla 2 o 3 veces al día si se quiere mantener el efecto ansiolítico. Con las de acción prolongada basta una sola dosis al día, pero se tardará 6 a 10 días en alcanzar el nivel estable.

El DZ es utilizado como potente relajante muscular²⁵ potente en las parálisis espásticas, en los casos de paraplegia, hemiplegia, cuadriplegia, parálisis cerebral infantil, esclerosis múltiple. Cuando se acompañan de rigidez muscular se emplea generalmente la vía bucal y las dosis es de 10 mg, 3 veces por día en el adulto, y 0.5 mg/kg diarios en el niño, con ajuste en los casos individuales.

En el estado epiléptico^{52,53} la dosis de DZ es de 10 mg *i.v* en el adulto se administra a lo largo de 5 min, en niños de más de 5 años se administra 1 mg *i.v*. cada 2-5 min hasta un máximo de 10 mg; en menores de 5 años, se administra 5 mg *i.v* cada 2-5 min.

En la preeclampsia, se emplea DZ, 2.5-5 mg, 4 veces al día para mantener suficiente sedación. En la eclampsia, se administra 5 mg *i.v*, que se pueden repetir 2 veces hasta conseguir una buena acción hipnótica^{18,54}. En lo que respecta en el alcoholismo agudo, el DZ, se emplea para tratar los síntomas agudos de la abstinencia^{30,40}, como la excitación excesiva o las convulsiones, a una dosis inicial de 10 mg *i.v*, seguida de 5 mg cada 5 minutos y hasta que el paciente se calme hay que mantener la vía oral. Las BZD también son útiles por su contribución a la medicación preanestésica y a la inducción y mantenimiento de la anestesia^{26,55}. El DZ (5 a 10 mg) puede administrarse por vía oral, por vía intramuscular o intravenosa como medicación preanestésica aproximadamente una hora antes de trasladar al paciente al área quirúrgica.

En cuanto al tipo de BZD, con las de acción corta o media hay menos peligro de sedación (si la dosis no es elevada) y de acumulación, pero hay que administrarla 2 o 3 veces al día si se quiere mantener el efecto ansiolítico. Con las de acción prolongada basta una sola dosis al día, pero se tardará 6 a 10 días en alcanzar el nivel estable.

El DZ es utilizado como potente relajante muscular²⁵ potente en las parálisis espásticas, en los casos de paraplegía, hemiplegía, cuadriplegia, parálisis cerebral infantil, esclerosis múltiple. Cuando se acompañan de rigidez muscular se emplea generalmente la vía bucal y las dosis es de 10 mg, 3 veces por día en el adulto, y 0.5 mg/kg diarios en el niño, con ajuste en los casos individuales.

En el estado epiléptico^{52,53} la dosis de DZ es de 10 mg *i.v* en el adulto se administra a lo largo de 5 min, en niños de más de 5 años se administra 1 mg *i.v*. cada 2-5 min hasta un máximo de 10 mg; en menores de 5 años, se administra 5 mg *i.v* cada 2-5 min.

En la preeclampsia, se emplea DZ, 2.5-5 mg, 4 veces al día para mantener suficiente sedación. En la eclampsia, se administra 5 mg *i.v*, que se pueden repetir 2 veces hasta conseguir una buena acción hipnótica^{18,54}. En lo que respecta en el alcoholismo agudo, el DZ, se emplea para tratar los síntomas agudos de la abstinencia^{30,40}, como la excitación excesiva o las convulsiones, a una dosis inicial de 10 mg *i.v*, seguida de 5 mg cada 5 minutos y hasta que el paciente se calme hay que mantener la vía oral. Las BZD también son útiles por su contribución a la medicación preanestésica y a la inducción y mantenimiento de la anestesia^{26,55}. El DZ (5 a 10 mg) puede administrarse por vía oral, por vía intramuscular o intravenosa como medicación preanestésica aproximadamente una hora antes de trasladar al paciente al área quirúrgica.

Las BZD son útiles como agente único para los procedimientos que no requieren analgesia, como endoscopia, cardioversión, cateterismo cardiaco y un espectro de procedimientos radio diagnósticos. Para la inducción de anestesia las BZD se administran i.v en una dosis total de DZ de 0.6 mg/kg administrada a un adulto casi siempre producirá una secuencia de somnolencia, amnesia y finalmente inconsciencia.

Las BZD son utilizadas además en los estados de neurosis⁵⁶ como tranquilizantes menores o ansiolíticos a las siguientes dosis: a) Clordiazepóxido 10 mg (una gragea o tableta), 2 a 4 veces por día, pudiendo duplicarse la misma en los casos intensos y utilizarse la mitad en los ancianos; b) el DZ se emplea a la dosis de 5 mg (una tableta o gragea), 2 a 4 veces por día, la que se duplica en los casos serios y se disminuye a la mitad en los ancianos mientras que en los niños 0.3 mg/kg diarios divididos en 3 tomas. En los casos agudos y severos puede utilizarse la vía parenteral, preferentemente la intravenosa, la intramuscular solo por asegurar el cumplimiento de la medicación, empleando el DZ a dosis de 10 mg (2 ml), 2 a 3 veces por día hasta conseguir una clara mejoría para pasar luego a la vía bucal, a los 2 o 3 días.

En la psicosis^{56,57} las BZD son tranquilizantes menores y no poseen acción antipsicótica, pero pueden ser útiles en los estados depresivos que se acompañan de ansiedad e insomnio, en cuyo caso pueden suministrarse junto con las drogas antidepresivas. Las BZD también se utilizan en obstetricia, el DZ por ejemplo a una dosis de 10 a 20 mg y el clorazepato dipotásico de 50 a 100 mg por vía intravenosa dosis que pueden repetirse según la necesidad, con el fin de calmar la aprensión, la ansiedad, la contractura uterina²⁵ y el dolor debido a esta última, por lo que el parto puede así abreviarse y la paciente encontrarse relajada, somnolienta y calmada.

La generalización en el uso de las BZD plantea el problema de las denominadas reacciones paradójicas, que si bien son infrecuentes, su número aumenta en términos absolutos a medida que aumenta el consumo de estos fármacos. En estas reacciones paradójicas se aprecian síntomas de hiperexcitabilidad, ansiedad, agitación y confusión de amnesia anterógrada (especialmente por lo aprendido o vivido en las primeras 3 horas después de la ingesta), alteraciones afectivas (pánico y depresión), problemas de conducta (incluida la agresión) y sonambulismo. Esta sintomatología es común a las BZD pero se aprecia con mayor frecuencia con las BZD de acción corta y entre estas existe mayor preocupación por el uso del triazolam.

Los hipnóticos⁵⁴ están contraindicados en pacientes; a) cuyo trastorno del sueño está vinculado a la existencia de apneas del sueño de tipo central, obstructivo o mixto. Los hipnóticos derivados benzodiazepínicos, aumentan la frecuencia de aparición y la duración de los episodios de apnea durante el sueño; b) alcohólicos crónicos, dado que el alcohol etílico potencia el efecto de los hipnóticos y reduce su margen de seguridad; y c) en la mujer embarazada en especial durante el primer trimestre, por el riesgo de una embriopatía, ya que esta suficientemente aclarado que el DZ presenta acción teratogena³³⁻³⁸.

5. Diazepam.

El DZ es un derivado benzodiazepínico sintético y liposoluble, químicamente responde a un anillo anular heterocíclico formado por la unión de un benceno a un anillo heptagonal diazepínico que contiene 2 átomos de nitrógeno que ocupan la posición 1,4 y un cloro en la posición 7, un grupo

metilo en la posición 1 y un grupo carbonilo en la posición 2 además posee el grupo N-óxido¹⁸.

El DZ es la droga más utilizada en el mundo^{1,57} por ser un potente ansiolítico de fácil acceso en la población, es insoluble en agua y soluble en alcohol, se absorbe rápidamente a través de la mucosa gastrointestinal y alcanza concentraciones plasmáticas⁵⁸ en 60 min. Se distribuye ampliamente en el organismo y tiene una vida media de 20-70 horas, Se metaboliza en el hígado y se elimina a través del riñón¹⁸. El DZ es el más selectivo de las BZD como inductor en la anestesia. Sus propiedades farmacológicas, se explican de las acciones que tiene sobre la neurotransmisión en el SNC mediada por el GABA. Además de ser una droga anticonvulsivante, produce también una marcada relajación muscular a través de su acción sobre la médula espinal donde facilita fenómenos de inhibición presináptica³². La acción miorelajante se observa con dosis que también producen sedación y está relacionada con receptores de las estructuras del bulbo raquídeo.

En estudios experimentales^{22,52} que analizan la actividad ansiolítica sobre la conducta en animales demuestran de manera constante la capacidad del DZ para liberar una respuesta que previamente había sido suprimida mediante la presentación de un estímulo desagradable (castigo). El DZ restablece la prontitud de esta respuesta, sin afectar la actividad motora o el estado de vigilia del animal. Esto demuestra la sensibilidad del sistema límbico y el hipocampo a la acción del DZ para incrementar la actividad inhibidora del GABA directamente sobre estos sistemas. El DZ también ha sido introducido como droga hipnótica por que es capaz de producir amplia depresión sobre el SNC suprimiendo las fases más profundas del sueño²⁸, pero aumentando el

tiempo total de sueño. El DZ no tiene acción sobre el sistema nervioso autónomo, tampoco actúa sobre la histamina.

Los efectos adversos observados con la administración de DZ incluyen somnolencia y sedación, ataxia, diplopía, vértigo, mareo, pérdida de la memoria, reacciones de ostilidad y depresión^{19,21}. Con la administración parenteral se ha observado enrojecimiento, edema y dolor en el sitio de la inyección

Maany 1989⁵⁹ demostró que el DZ causa retención urinaria aguda como una posible complicación por su uso prolongado. No se encontraron daños a nivel neurológico y la retención urinaria desapareció con la suspensión del fármaco. Además el DZ por ser un depresor del SNC incrementa el riesgo de accidentes en personas ambulatorias y en quienes se requiere estén en estado de alerta (personas que manejan automóviles)^{54,60}. Por otro lado cabe mencionar que se han reportado alteraciones teratogénicas en los descendientes que han sido expuestos prenatalmente al DZ³³⁻³⁸.

Sobre la respiración esta droga tiene pocos efectos adversos, las dosis preanestésicas deprimen ligeramente la ventilación alveolar y provocan acidosis respiratoria como resultado de una disminución en la conducción de oxidación insuficiente más, que de una conducción excesiva de CO₂ en la sangre. La velocidad del flujo respiratorio se deprime sólo en condiciones de oxidación insuficiente. En las dosis utilizadas para la endoscopia disminuye la ventilación alveolar y pueden provocar narcosis por CO₂ en los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica y más aún, el DZ puede provocar apnea durante la anestesia y también cuando se administra con opioides³⁸. En el aparato cardiovascular las dosis preanestésicas el DZ disminuyen la presión sanguínea y aumentan la frecuencia cardíaca, aumenta el flujo coronario en el hombre

posiblemente por medio del incremento de las concentraciones intersticiales de adenosina en dosis elevadas, disminuye considerablemente la asimilación de oxígeno y el flujo sanguíneo cerebral, por lo que respecta a trastornos gastrointestinales el DZ a dosis prolongadas ocasiona sequedad de la boca, náuseas y constipación⁵⁷.

Las manifestaciones alérgicas del DZ son urticaria y erupciones cutáneas. Estos trastornos seden con la supresión del medicamento o la disminución de la dosis. En cuanto a la intoxicación aguda por sobredosificación (tentativa de suicidio)⁵⁶ se manifiesta por sueño y estupor, en la que el paciente puede ser despertado por estímulos verbales o cuando hay conservación de la presión arterial, pulso y respiración.

6. Glandulas salivales.

6.1 Antecedentes

Las glándulas salivales han sido objeto de múltiples investigaciones⁵⁸. Los primeros trabajos son los aportados por Ludwing 1851 relacionando la actividad secretoria a la teoría vascular de secreción. Heidenhain 1868 publicó los primeros trabajos aclarando la naturaleza intracelular de la secreción. Estos conceptos toman forma en 1878 con las investigaciones de Langley, Pavlov 1890 y Zimmerman 1898 quienes estudiaron las glándulas salivales de diferentes animales en distintas etapas de desarrollo. Las observaciones al microscópio electrónico Jacoby y Lesson 1959⁴⁰ han permitido ampliar los conocimientos sobre la estructura, ultraestructura y

función de dichos órganos así como los mecanismos de formación y desarrollo de los diferentes tipos celulares.

Las glándulas salivales juegan un papel muy importante en la cavidad bucal de cada individuo puesto que mantienen su equilibrio⁴. Por ello la manifestación de lesiones, alteraciones o reacciones patológicas trae como consecuencia pérdida del equilibrio local y algunas veces sistémico.

Se han estudiado las alteraciones causadas por fármacos especialmente con los simpaticomiméticos como el IPR que es la droga más estudiada en este tipo de tejidos^{42,44,45}. Sin embargo no se conocen los efectos del DZ en glándulas salivales.

7. Planteamiento del Problema

Las interesantes propiedades que han caracterizado a las benzodizepinas^{19,21} desde su aparición en el mercado farmacéutico han hecho que estas adquieran gran popularidad, ya que son drogas de fácil acceso a la población, lo que ha generado su uso indiscriminado^{17,52} particularmente con el DZ que no obstante sus propiedades y que ha sido de gran utilidad clínica, de los efectos indeseables cuando es administrado por periodos prolongados no son de conocimiento general.

Actualmente existen una gran cantidad de investigaciones enfocadas al uso clínico y abuso del DZ así como de los efectos adversos^{28,33-38,62}. Sin embargo en nuestra revisión bibliográfica no se encontraron datos que revelen si existen daños estructurales sobre glándula submaxilar debido a su administración.

7.1. Justificación

Aunque las glándulas submaxilares han recibido considerable atención en investigaciones que definen su estructura⁷ y ultraestructura⁶¹ en condiciones normales así como patológicas^{44,46} bajo diferentes condiciones experimentales, no se han encontrado estudios sobre los efectos del DZ sobre este tipo de tejidos. Por lo tanto es de interés realizar estudios cuya finalidad sea aclarar este aspecto.

7. Planteamiento del Problema

Las interesantes propiedades que han caracterizado a las benzodizepinas^{19,21} desde su aparición en el mercado farmacéutico han hecho que estas adquieran gran popularidad, ya que son drogas de fácil acceso a la población, lo que ha generado su uso indiscriminado^{17,52} particularmente con el DZ que no obstante sus propiedades y que ha sido de gran utilidad clínica, de los efectos indeseables cuando es administrado por periodos prolongados no son de conocimiento general.

Actualmente existen una gran cantidad de investigaciones enfocadas al uso clínico y abuso del DZ así como de los efectos adversos^{28,33-38,62}. Sin embargo en nuestra revisión bibliográfica no se encontraron datos que revelen si existen daños estructurales sobre glándula submaxilar debido a su administración.

7.1. Justificación

Aunque las glándulas submaxilares han recibido considerable atención en investigaciones que definen su estructura⁷ y ultraestructura⁶¹ en condiciones normales así como patológicas^{44,46} bajo diferentes condiciones experimentales, no se han encontrado estudios sobre los efectos del DZ sobre este tipo de tejidos. Por lo tanto es de interés realizar estudios cuya finalidad sea aclarar este aspecto.

7.2 Hipótesis nula.

No habrá cambios en la citomorfología de las glándulas submaxilares con la administración crónica de diazepam.

7.3. Hipótesis verdadera.

Las células acinares, mioepiteliales y gránulos de cimógeno de glándulas submaxilares se verán afectados en su morfología con las administraciones crónicas de Diazepam.

7.4. Objetivos.

7.4.1. Objetivo general.

Establecer o descartar los cambios histopatológicos en la citomorfología de glándulas submaxilares de ratones CD-1 tratados por administración crónica de diazepam.

7.4.2. Objetivo específico.

Conocer y demostrar por medio de microscopía óptica los cambios histopatológicos después de administración crónica de DZ y discutir el potencial de estos efectos sobre la arquitectura acinar, los gránulos de cimógeno y células mioepiteliales de la glándula submaxilar de ratones CD-1.

7.5.-Diseño de la Investigación.

a) Tipo de Estudio

Este estudio es de tipo cualitativo.

b) Se incluyeron para su análisis:

- 1.- Glándulas submaxilares derechas e izquierdas indistintamente
2. Sólo ratones machos
- 3.-Peso de lo animales de estudio.
- 4.-Peso glandular.

c) Se excluyeron:

- 1.- Las observaciones clínicas de los animales durante el periodo de administración del DZ.

7.6. Materiales y métodos.

Para el presente estudio se utilizaron 25 ratones CD-1, machos de 8 semanas de edad con un peso de 25 grs los cuales fueron obtenidos del Bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Los animales fueron divididos en 2 grupos: Experimental y Control.

El grupo experimental constó de 15 ratones y el grupo control de 10

A los ratones del grupo experimental se les administró diariamente 0.5 mg./kg de diazepam (Valium La Roche) por vía intraperitoneal durante 20 días. El grupo control de 10 ratones se les administró 0.5 ml. de solución isotónica durante 10 días.

Ambos grupos se mantuvieron en un círculo de luz de las 8:00 hrs. a las 20:00 hrs. y a temperatura de 24 °C y con una alimentación comercial dura, (Roedent, diet Lab) y, agua *ad libitum* desde el inicio hasta el término de la investigación.

Todos los ratones fueron pesados desde el día primero de la administración del DZ hasta el término de la investigación. Una vez finalizado el lapso de la administración se procedió a sacrificar a los ratones por medio de dislocación cervical, acto seguido se procedió a realizar las disecciones de las glándulas submaxilares e inmediatamente se registró su peso y fueron colocadas en formalina al 10%. Posteriormente se congelaron a 49 °C. una vez congelado se les retiraron los restos de tejido adiposo, se homogenizaron en 1.5 ml. de solución salina al 0.09% y se incluyeron en bloques de parafina (Epon 2000) de los cuales se hicieron cortes en microtomo a 5 micras de cada espécimen siendo teñidos posteriormente por el método de Paragón y observados al microscopio óptico para su análisis descriptivo.

7.7. Resultados.

El cuadro número 1. muestra las variaciones en el peso corporal y el cuadro número 2. muestra las variaciones en el peso glandular de los ratones tratados con respecto del grupo control.

Se revisaron 25 láminillas al microscópio óptico 10 correspondientes a especímenes del grupo control y 15 a especímenes del grupo experimental

De los 10 casos del grupo control en 5 casos se encontró aumento en el tamaño y numero de los gránulos de cimógeno, en 3 casos los gránulos secretorios presentan diferente morfología algunos son pequeños y redondos y otros grandes y sin una forma definida, las células acinares en todos los casos control conservaron su citoarquitectura figura 1 y 2. Las células mioepiteliales, asociadas a la membrana basal no se observan en los casos control. Cabe mencionar que los resultados de dos casos control fueron omitidos por defectos en su inclusión.

Con respecto al grupo experimental de los 15 casos 7 presentaron pérdida de la arquitectura acinar, en dos casos se perdió la forma piramidal de las células que conforman el acino y en 5 casos se perdió la morfología del acino, como se muestra en la figura 3 y 4, 8 casos preservaron su morfología.

En 10 casos se presentó disminución en el tamaño de los gránulos secretorios de cimógeno conservando una forma redonda y bien definida figura 5, en 3 casos el número de gránulos fue escaso predominando los gránulos de mayor tamaño algunos de los cuales no presentan una forma definida, como se muestra en la figura 6. En 8 casos tratados fue evidente observar hipertrofia de las células mioepiteliales asociadas a la membrana basal, como se muestra en la figura 7 y 8.

Cuadro 1 Valor promedio de peso corporal y DS de ratones tratados y no tratados con DZ.

	Control	Experimental
Peso corporal	25.5 g	30.0 g
D S	3.2	2.45

Cuadro 2 Valor promedio de peso glandular y DS de ratones tratados y no tratados con DZ.

	Control	Experimental
Peso glandular	120.2 mg	123.8 mg
D S	2.53	1.86

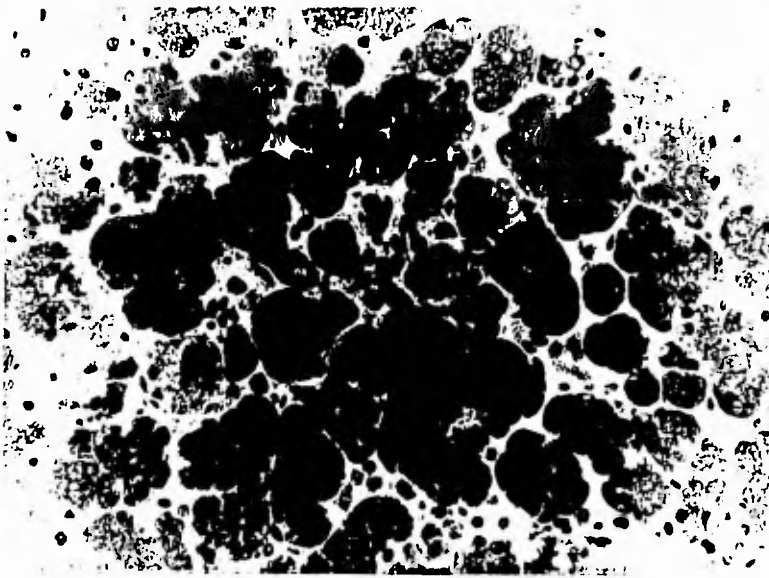


Fig. 1 Microfotografía 20 x Muestra estructura acinar normal bien definida se observa pérdida en la luz de algunas estructuras acinares, hay aumento en el numero de gránulos de cimógeno (Grupo Control)

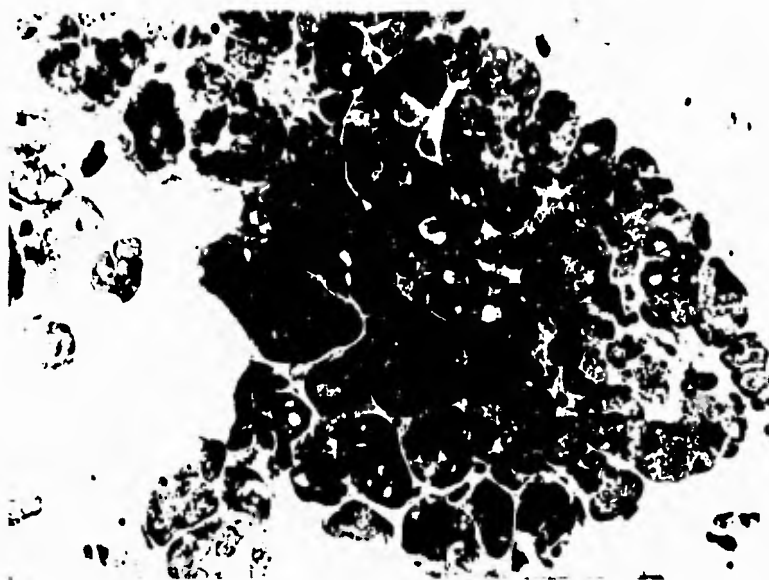


Fig. 2 Microfotografía 20 x Muestra acinos normales con aumento de los gránulos de cimógeno, se observan basófilos característicos en las glándulas de secreción serosa (Grupo Control)

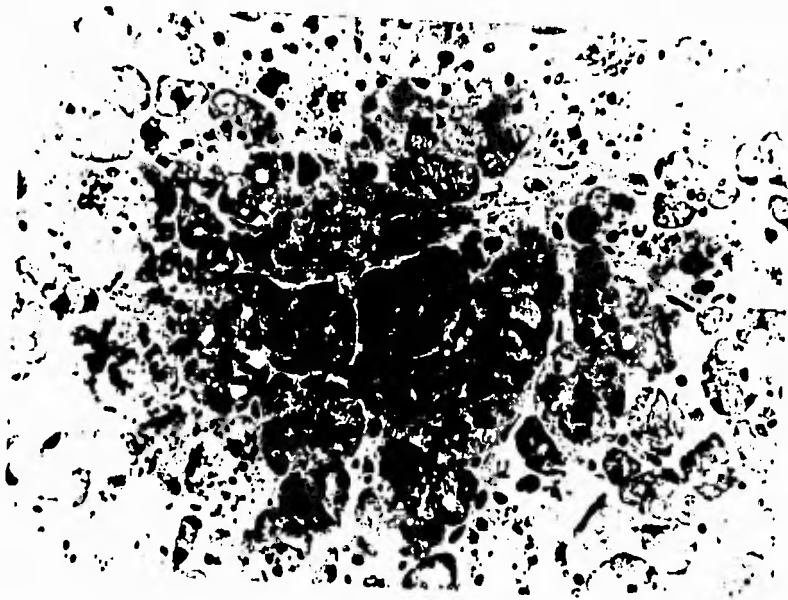


Fig 3 Microfotografía a 20 x. Muestra pérdida de la morfología de las células acinares y disminución en el número de los gránulos de zimógeno (Grupo Experimental)

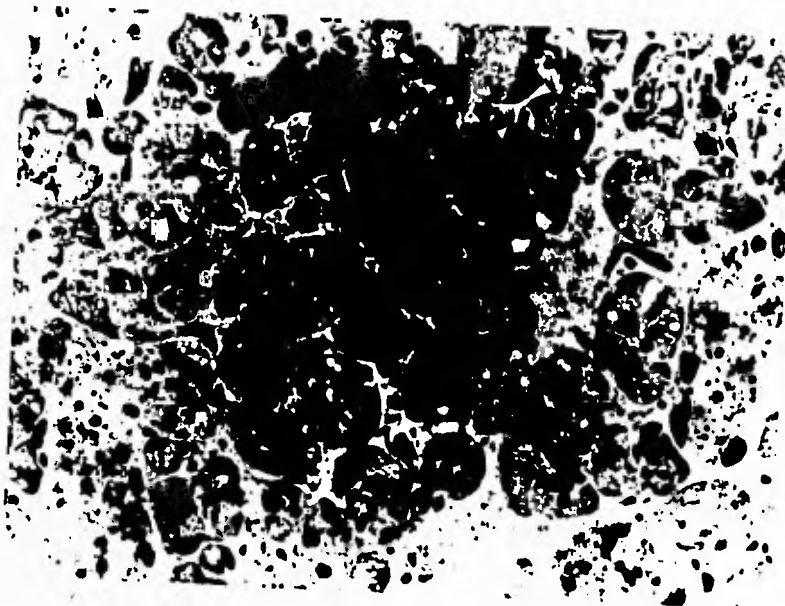


Fig 4 Microfotografía a 20 x Muestra pérdida de la arquitectura acinar, vacuolización del citoplasma e irregularidad y aumento en el tamaño de los núcleos (Grupo Experimental)



Fig 5 Microfotografía a 40 x. Muestra vacuolización del citoplasma, aumento en el tamaño de los núcleos así como también un número moderado de gránulos secretorios. (Grupo Experimental).

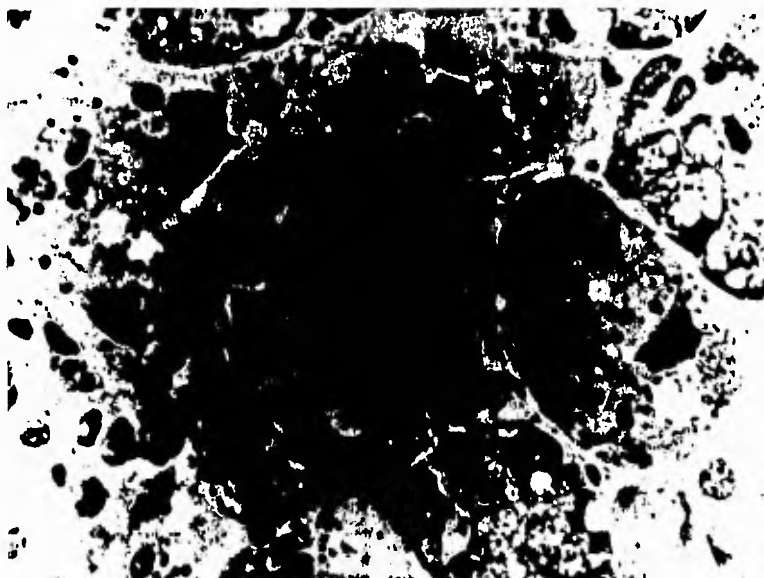


Fig 6 Microfotografía a 40 x. Muestra acinos bien delimitados con citoplasma abundante, los núcleos se encuentran rechazados a la periferia el número de gránulos es escaso predominando los de mayor tamaño (Grupo Experimental)

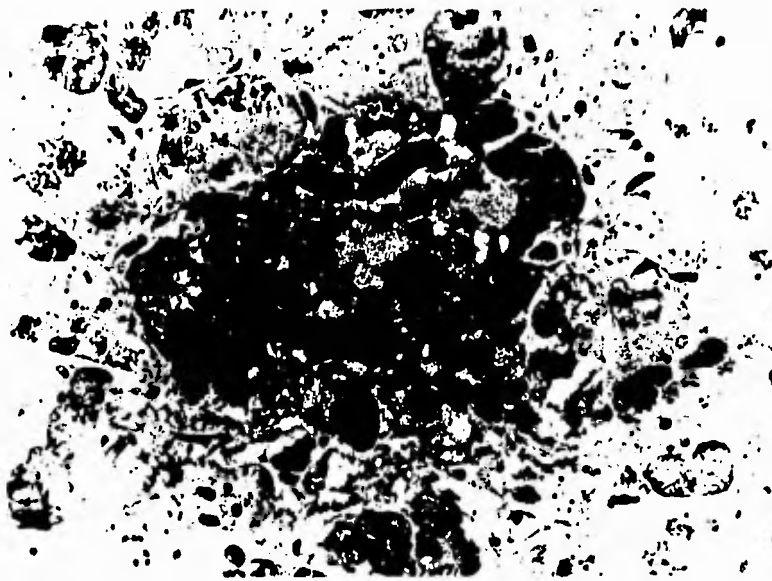


Fig 7 Microfotografía a 40 x. Muestra pérdida de la arquitectura de las células acinares, aumento en el tamaño de los gránulos de cimógeno y núcleos prominentes (Grupo Experimental) .

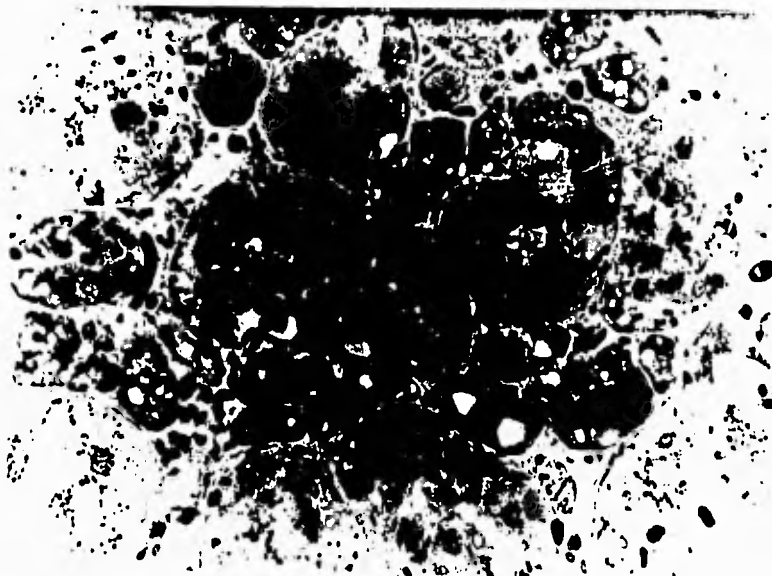


Fig. 8 Microfotografía a 40 x. Muestra acinos bien definidos con aumento en el número de los gránulos de cimógeno, se muestra hipertrofia de células mioepiteliales e irregularidad y aumento en el tamaño de los núcleos (Grupo Experimental).

7.8 Discusión

El DZ es un fármaco que por sus propiedades ha sido utilizado con mucha frecuencia, las prescripciones a largo tiempo todos los días se imponen por justificaciones clínicas²⁹ los accidentes de severidad son raros²⁸, pero deben de mejorarse los puntos de referencia, localización, manifestaciones menores y especificar la evaluación más exacta de la frecuencia y la iniciación del tratamiento en caso de posologías que se encuentren dentro de momentos de tensión para evitar la instauración de un abuso medicamentoso.

Con respecto a lo anterior Feline y Le Goc 1983⁴⁰ afirma que la duración de las prescripciones cortas breves o prolongadas deben de seguir indicaciones específicas ya que si estas son alteradas no tendran la eficacia esperada.

Sobre la administración de estas drogas Morméde 1983³⁹ demuestra resultados contradictorios dados por diversos autores donde se menciona que las diferencias de protocolos, dosis, administraciones es lo que establece tales contradicciones.

Nuestros resultados demuestran que el DZ a la dosis de 5mg/kg/24 hrs y administrado durante 20 días causa cambios morfológicos con respecto del grupo control, una pérdida en la arquitectura acinar e hipertrofia en las células mioepiteliales fue característica pero no se presentó en el 100% del grupo tratado. La diferencia en el tamaño y número de los gránulos secretorios no se considera un hallazgo patológico si partimos de los estudios realizados por Jacoby y Lesson 1959⁷ quienes describieron los gránulos secretorios de cimógeno en ratas como unidades polimórficas que varían en su estructura clasificandolos de granulosos a electrodensos.

Cabe mencionar que Tamarin 1965¹⁰ describió la organización estructural de la glándula submaxilar y establece que en condiciones normales el citoplasma de las células acinares puede constar por completo de gránulos de secreción o bien puede haber disminución de los mismos debido a que a los estímulos autonómicos son liberados por el mecanismo de exocitosis¹⁶. También demuestra gránulos en diferentes estadios según su localización en el citoplasma de las células.

El hecho de que la hipertrofia de las células mioepiteliales no se presentaran en todos los casos tratados apoya las aceveraciones de Selye 1961⁴², Barka 1965⁴⁴, Inoue 1987⁴⁶ en estudios de glándulas salivales utilizando IPR ellos coinciden en que los cambios producidos por el IPR son estructuralmente similares a los idiopáticos y que las verdaderas hipertrofias e hiperplasias de las glándulas salivales humanas son descritas como sialadenosis de varios padecimientos endocrinos y enfermedades nerviosas. Sin embargo también coinciden en que similares sucesos pueden ocurrir en el hombre como resultado de cuadros de mal nutrición o por estres.

En este estudio se considera que la glándula submaxilar es una unidad controlada por el SNA y su estímulo es betaadrenérgico⁴ y aunque se han sugerido receptores específicos de las BZD en glándulas salivales esto no esta comprobado por lo que no se pude asegurar o descartar que las BZD tengan acción directa sobre este tipo de tejidos. Sin embargo se le ha atribuido al DZ como efecto colateral cuando se le administra a altas dosis y por periodos prolongados una franca xerostomía misma que desaparece cuando se retira el medicamento esto sugiere que el DZ no causa verdadero daño en estos tejidos a nivel histológico.

El presente trabajo no revela los mecanismos por los cuales el DZ produjo cambios morfológicos en la glándula submaxilar de algunos de los casos tratados. pero sugiere posteriores trabajos donde se relacionen los mecanismos centrales y autónomos que aclaren la vía del DZ sobre glándulas submaxilares.

7.9. Conclusiones.

1. Las células acinares de algunas glándulas submaxilares tratadas observaron pérdida en su morfología.

2. Los gránulos secretorios de cimógeno se encontraron disminuidos en tamaño y número.

3. Las células mioepiteliales presentaron hipertrofia, se sugiere que esta hipertrofia puede ser causada por estrés.

4 No se conocen los mecanismos por los cuales suceden los cambios citomorfológicos presentes en las glándulas submaxilares tratadas con DZ.

5 Se desconocen los efectos del DZ sobre otras glándulas salivales por lo tanto es necesario seguir realizando trabajos sobre los daños que estas drogas pueden causar cuando se les administra a altas dosis y por periodos prolongados.

Bibliografía

ESTA TESIS NO DEBE
SAIR DE LA BIBLIOTECA

- 1.-Miyazaki M. Branching morphogenesis in the embryonic mouse submandibular gland: a scanning electron microscopic study. *Arch. Histol Cytol* 1990;53:157-165
- 2.- Nogama H. Determination of the curvature of epithelial cell mass by mesenchyme in branching morphogenesis of mouse salivary gland. *J Embryol exp morph.* 1983;73:221-232.
- 3.- Ball WD. Development of the rat salivary glands. III mesenchymal specificity in the morphogenesis of the embryonic submaxillary and sublingual glands of the rat. *J Exp Zool* 1974;188:277.
- 4.-West BJ. Bases fisiológicas de la terapéutica médica 12 edición Editorial Panamericana 1993.
- 5.-Testut L, Latarjet A. Tratado de Anatomía Humana novena edición Editorial Salvat 1992
- 6.- Davis WL. Histología y Embriología Bucal primera edición. Interamericana. México 1986.
- 7.- Jacoby F, Leeson CR. The post-natal development of the rat submaxillary gland. *J Anat* 1959;93:201-219.
- 8.- Ten Cate AR. Histología Oral. 2 Edición Interamericana Buenos Aires 1986.
- 9.- Leeson CR, Jacoby. An electron microscopic study of the rat submaxillary gland during its post-natal development and in the adult. *J Anat* 1959;93:287-295.
- 10.- Tamarin A, Sreebny ML. The rat submaxillary salivary gland a correlative study by light and electron microscopy. *J Morph.* 1965;117:295-352.
- 11.- Claude P, Goodenough DA. Fracture faces of zonule occludentes from "Tight and leaky" epithelia. *J Cell Biol* 1973;58:390-400.
- 12.- Sato A, Miyoshi S. Ultrastructure of the main excretory duct epithelia of the rat parotid and submandibular glands with a review of the literature. *Anat Rec* 1988;220:239-251.
- 13.- Sato A, Toh H, Miyoshi S. Fine structure and subepithelial capillaries of the main excretory duct epithelium of the submandibular gland of the japanese monkey, macaca fuscata. *Anat Rec* 1993;236:593-601.

- 14.- Ohtani O, Ohtsuka A, Lipsett J, Gannon B. The microvasculature of rat salivary glands. *Acta Anat.* 1983;115:345-356.
- 15.-Young JA, Van Lennep EW. Morphology and physiology of salivary myoepithelial cells. *Intl Rev. Physiol* 1977;12:105
- 16.-Bowman WC. Farmacología Bases Bioquímicas y Patológicas. segunda edición. Interamericana 1987.
- 17.-Tallman FJ, Steven MP. Receptors for the age of anxiety: pharmacology of the benzodiazepines. *Science* 1980;207:274-281.
- 18.- Cano JP. Notion de demi-vie et métabolisme des benzodiazépines. *L' encéphale* 1983;IX:75B-80B.
- 19.- Escande M, Ghranier F, Girard M. Usage des benzodiazépines dans le traitement des dépressions. *L' encéphale* 1983;IX:273-B77.
- 20.- Harris PG. The rol of general practitioner research groups in the study of benzodiazépines. *L' encéphale* 1983;IX:261B-62.
- 21.-Villeneuve A. Le choix d' une benzodiazépine in clinique. *L' encéphale* 1983;IX:253B-59B.
- 22.- La Salle LGG, Feldblum S. Reversal of the anticonvulsant effects of Diazepam on amigdaloid-kinled seizures by a specific benzodiazepine antagonist: Ro 15-1788. *Eur J Pharmacol* 1983;86:91-93.
- 23.- Shih TM. Anticonvulsant effects of diazepam and MK-801 in soman poisoning. *Epileps Res* 1990;7:105-116.
- 24.- Wong PT. Diazepam sensitive mice:diferential sensitivity to the depressant and anticonvulsant effects of diazepam. *Science* 1990;47:1519-1525.
- 25.- Kazanietz MC, Elogoyhen B. Relaxant effect of benzodiazépines on uterine rings isolated fromm estrogen-treated rats. *Eur J Pharmacol* 1990;185:231-234.
- 26.- Lepresle E, Debras C. Utilisation des benzodiazépines en anesthésie- reanimation. *L' encéphale* 1983;IX:267B-271B.
- 27.- Reekie AD. Dental sedation. *Br Dent J* 1988;105:355.
- 28.- Ginestet D. Consommation des benzodiazépines: bons et mauvais usages. *L' encéphale* 1983;IX:97B-101B.

- 29.- Barrucand D. Benzodiazépines, alcool et effets sur la vigilance. *L' encéphale* 1983;IX:117B-122B.
- 30.- Ades J, Rodiere C. Les benzodiazépines dans le traitement de l' alcoolisme. *L' encéphale* 1983;IX:293B-298B.
- 31.- Haefely W. Benzodiazepine interactions with GABA receptors. *Neuroscience Lett* 1984;47:201-206.
- 32.- Haefely W. Antagonist of benzodiazépines. *L'encéphale* 1983;IX:143B-150B.
- 33.- Laegreid L, Olegard R, Wahlström J, Conradi N. Abnormalities in children exposed to benzodiazépines in utero. *Lancet* 1987;10:108-9.
- 34.- Laegreid L, Olegard R, Wahlström J, Conradi N, Sisfontes L. Benzodiazépines overconsumption in pregnancy. *Lancet* 1987;12:1405-6.
- 35.- Laegreid L, Olegard R, Conradi N, Hagberg G, Wahlström J, Abramson L. Congenital malformations and maternal consumption of benzodiazépines: A case control study. *Dev Med Child Neur* 1990;32:432-41.
- 36.- Livezey GT, Marczyński TJ, McGrew EA, Beluhan FZ. Prenatal exposure to diazepam Late postnatal teratogenic effect. *Neurobehavioral Tox Ter* 1986;8:433-40.
- 37.- Shiono PH, Millis JL. Oral Clefts and diazepam use during pregnancy. *N Eng J Med* 1984;331:919.
- 38.- Wee E, Zimmerman E. Involvement of GABA in Palate Morphogenesis and its relations to diazepam teratogenesis in two mouse strains. *Teratology* 1983;28:15-22.
- 39.- Morméde P. Effets neuro-endocrines des benzodiazépines. *L' encéphale* 1983;IX:191B-196B.
- 40.- Feline A, Le Goc Y. Benzodiazépines prescription au long cours et sevrage. *L' encéphale* 1983;IX:103B-8B.
- 41.- Barlow SM, Knight AF, Sullivan FM. Plasma corticosterone response to stress following chronic oral administration of diazepam in the rat, *J. Pharm Pharmacol* 1981;31:23-26.
- 42.- Selye H, Veilleux R, Cantin M. Excessive stimulation of salivary gland growth by Isoproterenol. *Science* 1961;133:44-45.

- 43.- Robinovitch MR, Keller PJ, Johnson DA, Inversen JM, Kauffman DL. Changes in rat parotid salivary proteins induced by chronic Isoproterenol administration. *J Dent Res* 1977;56:290-303.
- 44.- Barka T. Stimulation of protein and ribonucleic acid synthesis in rat submaxillary gland by Isoproterenol. *Lab Invest* 1968;18:384
- 45.- Barka T, Van Der Noen H. Stimulated growth of submandibular gland. *Lab Invest* 1976;35:507-514.
- 46.- Inoue T, Yamane H, Yamamura T, Shimono M. Morphological changes of intercellular junctions in the rat submandibular gland treated long-term repeated administration of Isoproterenol. *J Dent Res* 1987;66:1303-1309.
- 47.- Morre M, Keane P. Le site de liaison des benzodiazepines est-il un récepteur. *L'encéphale* 1983;IX:125B-130B.
- 48.- Basile SA, Pannell L, Jaouni T, Gammal MH. Brain concentrations of benzodiazepines are elevated in animal model of hepatic encephalopathy. *Neurobiol* 1990;87:526305267.
- 49.- Mennini T, Ceci A, Caccia S. Ultrastructure effects of chronic exposure of cerebral cortical cell culture to valproic acid, diazepam, or ethosuximide. *Pediatric Neurology* 1985;1:232.
- 50.- Giorgi O, Corda GM, Fernández A, Biggio G. The abstinence syndrome in diazepam-dependent cats is precipitated by Ro 15-1788 and Ro 15-4513 but not by the benzodiazepine receptor antagonist zk 93426. *Neuroscience Lett* 1988;88:206-210.
- 51.- Galpern RW, Miller GL, Greenblatt JD. Differential effects of chronic lorazepam and alprazolam on benzodiazepine binding and GABA-receptor function. *Br J Pharmacol* 1990;101:839-842.
- 52.- Loiseau P. Les Benzodiazépines dans le traitement des épilepsies. *L' encéphale* 1983;IX:287B- 292B.
- 53.- Phyllis KS, Neale EA, Barry Y, William H, Fitzgerald CS. Differential neurochemical effects of chronic exposure of cerebral cortical cell culture to valproic acid, diazepam, or ethosuximide. *Pediatric Neurology* 1985;1:232
HJ,
- 54.-Marks Y. Comparative studies on benzodiazepines and psychotherapies. *L' encéphale* 1983;IX:23B-30B.

- 55.- Siglas E. Benzodiazépines facteurs de variations des parametres pharmacocinétiques et interaccions medicaménteuses. *L' encéphale* 1983;IX:67B-73B.
- 56.-Colonna L. Usage des benzodiazépines dans les psychoses schizophréniques. *L' encéphale* 1983;IX:279B-285B.
- 57.- Kanto J. Benzodiazépines as oral premedicants. *Br J Anaesth* 1981;53:1179-87.
- 58.- Boyer P. Concentrations plasmatiques et activité clinique des benzodiazépines. *L' encéphale* 1983;IX:59B-65B.
- 59.- Maany Y, Greenfield HL Urinary retention as a possible complication of long-term diazepam abuse. *Br J Psychiatry* 1989;155:108-110.
- 60.-Oster G, Huse DM, Adams SF, Imbimbo J, Russel MW. Benzodiazépines tranquilizer and the risk of accidental injury. *Am J Pub Healt* 1990;14:1467-70.
- 61.- Tandler B. Ultrastructure of the human submaxillary gland I Architecture and histological relationships of the secretory cells. *Am J Anatomy* 1962;111:287-293-236.