



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Cambios morfológicos de la lengua a causa
de la inhalación aguda, subaguda y subcrónica
de manganeso: modelo en ratón

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANA DENTISTA PRESENTA:

Madeleine Edith Vélez Cruz

DIRECTORA: Dra. Teresa Imelda Fortoul van der Goes

ASESORAS: M. C. Silvia Antuna Bizarro

C. D. Luz del Carmen González García

México, D. F., 2005.

m. 345163

DEDICATORIA

Dedico éste y todos mis esfuerzos a mi familia:

- ❖ **A mi madre:** Porque eres la mujer ejemplar, de quien he aprendido las cosas más importantes en esta vida.
- ❖ **A mi padre:** Por tu paciencia, tus consejos, por escucharme y por tratar de comprenderme.
- ❖ **A Walter:** Porque a pesar de la edad, has sabido estar conmigo en los momentos difíciles.
- ❖ **A Tiffany:** Por ser la alegría de nuestros corazones y porque no me permites dejar de ser niña.
- ❖ **A todos con quienes también compartí mi infancia: mis abuelos, mis tíos y mis primos.**

ÍNDICE

1. Introducción.....	4
a) Resumen.....	4
b) Antecedentes.....	5
1.1. Contaminación atmosférica.....	5
1.1.1. Contaminación por metales pesados.....	7
1.1.2. Manifestaciones de la intoxicación por metales pesados.....	9
1.2. Manganeso.....	13
1.2.1. Fuentes de exposición.....	17
1.2.1.1. Dieta y agua.....	17
1.2.1.2. Manganeso atmosférico.....	19
1.2.1.3. Otras fuentes.....	21
1.2.2. Necesidades.....	22
1.2.3. Toxicocinética.....	23
1.2.3.1. Absorción.....	23
a) En el tracto gastrointestinal	23
b) En el tracto respiratorio.....	24
c) Absorción dérmica.....	24
1.2.3.2. Distribución.....	25
a) Proteínas transportadoras.....	25
b) Localización subcelular.....	25
c) Distribución sistémica.....	25
1.2.3.3. Transformación.....	26
1.2.3.4. Excreción.....	27
a) Excreción biliar.....	27
b) Excreción pancreática.....	27
c) Excreción renal	28

d) Excreción en la leche.....	28
e) Eliminación en el cabello.....	28
1.2.3.5. Intoxicación.....	28
1.3. La lengua.....	30
1.3.1. Porción móvil: cuerpo.....	32
1.3.1.1. Papilas linguales.....	33
a) Papilas filiformes.....	34
b) Papilas fungiformes.....	34
c) Papilas circunvaladas.....	35
d) Papilas foliadas.....	36
1.3.1.2. Corpúsculos gustativos.....	36
1.3.2. Porción fija: base.....	38
1.3.2.1. Glándulas linguales.....	39
a) Glándulas de Blandin y Nünh.....	40
b) Glándulas de Weber.....	41
c) Glándulas de von Ebner.....	41
1.3.3. Sentido del gusto.....	42
1.3.4. Características de la lengua de ratón.....	45
2. Planteamiento del problema.....	46
3. Justificación.....	46
4. Hipótesis.....	47
5. Objetivos.....	47
5.1. Objetivo general.....	47
5.2. Objetivos específicos.....	47
6. Material y método.....	48
6.1. Tipo de estudio.....	48
6.2. Población de estudio.....	48
6.3. Variables.....	48
6.4. Recursos.....	50

6.4.1. Recursos humanos.....	50
6.4.2. Recursos materiales.....	51
6.5. Método.....	54
5.5.1. Método de inhalación.....	54
6.5.2. Sacrificio.....	54
6.5.3. Procesamiento de la muestra.....	57
6.6. Análisis de la información.....	58
6.6.1. Microscopia electrónica de barrido.....	58
6.6.2. Microscopia óptica.....	58
6.6.3. Biometría hemática.....	59
7. Resultados.....	60
7.1. Microscopia Electrónica de Barrido.....	60
7.1.1. Amígdala.....	60
7.1.2. Papila circunvalada.....	61
7.1.3. Papilas fungiformes.....	64
7.2. Microscopia Óptica.....	67
7.2.1. Papilas fungiformes.....	67
7.2.2. Tejido conjuntivo subpapilar.....	69
7.2.3. Glándulas salivales.....	73
7.2.4. Infiltrado inflamatorio.....	75
7.2.5. Depapilación.....	76
7.3. Biometría hemática.....	77
8. Discusión.....	79
9. Conclusiones.....	81
10. Propuestas para futuros estudios.....	82
11. Referencias.....	83
12. Agradecimientos.....	89

1. INTRODUCCIÓN

a) Resumen

Las emisiones antropogénicas de Manganeseo (Mn) se incrementaron treinta veces durante el siglo XX.

Estudios previos han reportado el impacto que la intoxicación por Mn ejerce en diferentes órganos. Sin embargo, no encontramos reportes que describan las alteraciones bucales secundarias a la exposición a Mn, que en caso de existir serían un auxiliar en el diagnóstico de intoxicación por este elemento.

Decidimos estudiar los cambios morfológicos de la lengua en un modelo murino de exposición a Mn por vía inhalada, debido a que ésta es un órgano muy vascularizado y que forma parte de la pared anterior de la bucofaringe.

Utilizamos 48 ratones macho CD-1 de 30 g. 32 de ellos inhalaban $MnCl_2$ a 0.02 M durante una hora, dos veces por semana. Los 16 ratones restantes inhalaban agua bidestilada y desionizada, durante los mismos periodos. El experimento tuvo una duración de doce semanas.

Los sacrificios se realizaron semanalmente. Por medio de perfusión intracardiaca, los ratones fueron fijados con solución de Karnovsky, previo lavado con solución salina.

Las lenguas se sumergieron dos horas en glutaraldehído al 2.5%, y posteriormente se seccionaron para ser estudiadas en microscopio

electrónico de barrido (MEB) y en microscopio óptico de campo claro (MO). Se realizaron las siguientes tinciones: H y E, PAS, PAS con diastasa, azul alciano y Mallory.

Los resultados obtenidos por MEB, muestran atrofia de la amígdala lingual y de la papila circunvalada, un aumento en la descamación celular de las papilas fungiformes y alteraciones en la disposición de las papilas filiformes. El análisis en MO reflejó un aumento en el espesor del tejido conjuntivo subpapilar y confirmó la presencia de áreas depapiladas.

b) Antecedentes

1.1. Contaminación atmosférica

Se define como contaminación a la presencia de sustancias, organismos o formas de energía en sustratos a los que no pertenecen, bajo condiciones tales, que la salud y el equilibrio ecológico se ven alterados¹.

Los seres vivos estamos expuestos a la contaminación ambiental en todas sus formas, entre ellas la atmosférica¹.

El aire atmosférico es una mezcla de gases, que ha evolucionado durante varios miles de millones de años hasta llegar a su composición actual¹. Sus componentes naturales más importantes se mencionan en la tabla 1.

Tabla. 1 Componentes del aire

Componentes principales del aire	Volumen (%)	Componentes menores	Volumen (%)
Nitrógeno	78.03	Óxido Nitroso (N ₂ O)	0.000025
Oxígeno	20.99	Metano (CH ₄)	0.00015
Argón	0.94	Dióxido de nitrógeno (NO ₂)	0.0000001
Dióxido de Carbono	0.035	Amoniaco (NH ₃)	0.0000001
Neón	0.0024	Ozono (O ₃)	0.000002
Otros gases inertes	0.0024	Monóxido de carbono (CO)	0.00001
Hidrógeno	0.00005		

Tomada de Albert Lilla A. Toxicología ambiental, 1994.

En la actualidad, podemos encontrar en el aire de las zonas urbanas, un gran número de contaminantes¹, entre ellos:

- Monóxido de Carbono (CO)
- Bióxido de carbono (CO₂)
- Bióxido de nitrógeno (NO₂)
- Partículas Suspendidas
- Hidrocarburos
- Clorofluorocarbonos (CFC)
- Metales pesados

Aunque algunos de estos compuestos pueden ser emitidos por fuentes naturales, como las erupciones volcánicas o la erosión eólica, generalmente es por la acción antropogénica, que rebasan los niveles basales².

Desafortunadamente, la ciudad de México es un ejemplo de contaminación atmosférica. Los factores causantes de dicha situación son:

- Su tamaño. Es una de las ciudades más grandes del mundo (2000 Km²)².
- Su localización. Se ubica en una cuenca, a 2240 m sobre el nivel del mar².
- Su sobrepoblación. Tiene más de 8 millones de habitantes (8, 605, 239, de acuerdo con el último censo)³.
- Sus grandes requerimientos de energía. Anualmente se consumen 122×10^{22} kcal de energía, principalmente por el transporte y la industria (2.7 millones de vehículos y 35 mil fábricas)².

Aunque desde 1991, ha habido un progreso en el mejoramiento de la calidad del aire en la ciudad de México, ciertos contaminantes, como el ozono y las partículas suspendidas totales (PST), frecuentemente exceden los estándares para la calidad del aire. Los principales efectos a la salud provocados por la contaminación de esta ciudad son respiratorios (asma, neumonía, traqueítis, bronquitis, tos)^{2,4}.

1.1.1. Contaminación por metales pesados

La explotación de los metales presentes en la corteza terrestre ha tenido gran importancia en el desarrollo de la civilización (fig. 1)⁵. Esto, a pesar de que los efectos nocivos, tanto sanitarios como ambientales, provocados por los metales, han sido reportados desde hace casi dos mil años^{5,6}.



fig. 1. Explotación de los metales presentes en la corteza terrestre con fines comerciales (Tomada de Shinitman, 2005)

En fechas recientes se ha empleado el término **metales pesados (MP)** para referirse a un conjunto de elementos químicos contaminantes altamente tóxicos a bajas concentraciones ⁷.

Los elementos considerados como MP comparten las siguientes características ⁶:

- Poseen una densidad de 4 a 7 g/cm³.
- Su peso atómico es mayor al del sodio (Na [23]).
- Son tóxicos a bajas concentraciones.
- Tienden a bioacumularse.

Cabe destacar que gran parte de los MP son oligoelementos, es decir; son indispensables, en cantidades muy pequeñas, para el mantenimiento de la vida de muchas especies, incluido el ser humano. Esta es la razón por la que nuestro organismo cuenta con los mecanismos necesarios para

obtener dichos elementos de los alimentos, del agua y del aire que respiramos ⁷.

En la tabla 2, se presentan algunos de los MP más comunes. Es pertinente señalar que no todos los elementos incluidos dentro de esta clasificación son metales, tal es el caso del arsénico (As) y del selenio (Se) ⁶.

Tabla 2. Metales pesados

Berilio [Be] (4)	Aluminio [Al] (13)	Vanadio [V] (23)	Cromo [Cr] (24)	Manganeso [Mn] (25)
Hierro [Fe] (26)	Cobalto [Co] (27)	Níquel [Ni] (28)	Cobre [Cu] (29)	Zinc [Zn] (30)
Arsénico* [As] (33)	Selenio* [Se] (34)	Molibdeno [Mo] (42)	Plata [Ag] (47)	Cadmio [Cd] (48)
Estaño [Sn] (50)	Bario [Ba] (56)	Mercurio [Hg] (80)	Talio [Tl] (81)	Plomo [Pb] (82)

Ref.: (Número atómico); [Símbolo]

* No son metales

Tomada de Shinitman Norberto I., Metales Pesados, 2005.

1.1.2. Manifestaciones clínicas de la intoxicación por metales pesados

Como ya se mencionó, un incremento en la exposición a MP puede producir intoxicación, con el consecuente deterioro de la salud. Las manifestaciones resultantes, locales o sistémicas, se clasifican como: agudas, en caso de exposición masiva breve; o crónicas, cuando la exposición es durante un periodo prolongado y a dosis moderadas⁶.

Las manifestaciones clínicas bucales de intoxicación por MP que se han descrito hasta la fecha, y que a continuación se exponen, carecen de especificidad (ver tabla 3).

Plomo (Pb) (Saturnismo). Las signos y síntomas sistémicos de intoxicación por Pb son: cólicos, anemia, astenia, dolor muscular y esquelético, irritabilidad, cefalalgia, encefalopatía y disfunción renal ⁸.

Las manifestaciones bucales incluyen estomatitis ulcerativa y una pigmentación azul a lo largo de la encía marginal, como resultado de la presencia del sulfato de plomo (el cual es un compuesto formado por la acción del sulfato de hidrógeno en el Pb). También se pueden apreciar áreas grises en la mucosa bucal y en la lengua, así como tremor lingual, percepción de un constante sabor metálico, enfermedad periodontal, sialorrea y queilitis angular ⁸.

Es importante mencionar que el 90% del Pb presente en un paciente con saturnismo se almacena en los huesos y dientes ⁸.

Mercurio (Hg) (Acrodinia). En los casos agudos de intoxicación por Hg, suelen presentarse signos y síntomas sistémicos, como: dolor abdominal, vómito, diarrea, ansiedad, faringitis y gingivitis. En los casos crónicos pueden ocurrir alteraciones gastrointestinales y síntomas neurológicos ⁸.

Los cambios bucales incluyen la percepción de un constante sabor metálico y estomatitis ulcerativa, combinada con inflamación y agrandamiento de las glándulas salivales, encía y lengua. La encía puede pigmentarse de color azul, gris o negra. El sulfato mercuríco, que es generado por la acción bacteriana en el metal, puede causar destrucción significativa del hueso alveolar con la pérdida dental resultante ⁸.

La exposición crónica a Hg en niños se denomina acrodinia (enfermedad rosa, enfermedad ligera). Sus principales características son: alteraciones

gastrointestinales, astenia, fotofobia, hiperhidrosis, hipertensión, hipotermia, insomnio, irritabilidad, lagrimeo, taquicardia, y urticaria pruriginosa⁸.

Los signos bucales incluyen sialorrea, gingivitis ulcerativa, bruxismo y pérdida prematura de los dientes⁸.

Plata (Ag) (Argiria). La Ag se encuentra en el cuerpo en cantidades significativas, se acumula como depósitos subdérmicos causando pigmentaciones cutáneas oscuras, principalmente en las zonas expuestas al sol. También pueden pigmentarse la esclerótica y las uñas⁸.

Uno de los primeros signos de argiria ocurre en la cavidad bucal y es la pigmentación difusa azul o negra de la mucosa, siendo más evidente en la encía marginal. Esta pigmentación es secundaria al depósito de Ag metálica y de pigmentos de sulfato de Ag⁸.

Bismuto (Bi). La exposición crónica a Bi provoca la aparición de pigmentaciones difusas azules o grises en la piel, la conjuntiva y la mucosa bucal (más evidente en la encía marginal)⁸.

En la cavidad bucal, el Bi se combina con el sulfato de hidrógeno de origen bacteriano para formar sulfato de Bi, el cual es localmente irritante pero no tan destructivo como el sulfato mercúrico. También se pueden observar estomatitis y ulceración asociadas⁸.

Arsénico (As). La ingesta prolongada de As, ocasiona una hiperpigmentación difusa, debido tanto a la presencia del metal, como a una producción aumentada de melanina. En adición, se presenta hiperqueratosis palmar, plantar y lingual, así como numerosas lesiones

cutáneas premalignas. Después de años de exposición se ha observado carcinoma basocelular y carcinoma epidermoide⁸.

Las manifestaciones bucales son raras y generalmente aparecen como sialorrea y estomatitis ulcerativa necrotizante⁸.

Oro (Au). La utilización del Au con fines terapéuticos cayó en desuso cuando se estudiaron sus efectos adversos, entre ellos la pigmentación cutánea difusa y la dermatitis, esta última, frecuentemente precedida por prurito. También puede observarse dermatitis exfoliativa generalizada con alopecia y pérdida de las uñas⁸.

Otra reacción común es la estomatitis severa, que suele involucrar a la mucosa yugal, los bordes laterales de la lengua, el paladar y la faringe⁸.

El tratamiento de intoxicación por MP requiere de la eliminación de la fuente de exposición al agente, cuidados de soporte, descontaminación y el uso de agentes quelantes⁸.

Los quelantes como el EDTA (ácido etilendiamino tetraacético) y el BAL (2,3-dimercaptopropanol), fueron la terapia de elección en el tratamiento de intoxicación por Pb, mientras que la intoxicación por As y por Hg se trataba únicamente con BAL. Dado que estos medicamentos pueden tener efectos adversos significativos, se han desarrollado tratamientos menos tóxicos como DMSA (ácido 2, 3-dimercaptosuccínico) y ADMPS (2,3 – dimercaptopropano-1-sulfonato)⁸.

Tabla 3. Manifestaciones bucales de intoxicación por MP

Manifestación	Elemento					
	Pb	Hg	Ag	Bi	As	Au
Pigmentación de la encía marginal	✓	✓	✓	✓		
Pigmentación difusa de la mucosa bucal	✓	✓	✓	✓	✓	
Estomatitis ulcerativa	✓	✓		✓	✓	✓
Sialorrea	✓	✓			✓	
Destrucción del hueso alveolar	✓	✓				
Sabor metálico	✓	✓				
Hiperqueratosis del dorso de la lengua					✓	
Inflamación de las glándulas salivales		✓				
Agrandamiento de las glándulas salivales y de la lengua		✓				

1.2. Manganeso (Mn)

El Mn se describió como elemento en 1774 por Carl Wilhem Scheele, y fue aislado por primera vez por Johan Gottlieb Gahn en ese mismo año. Hasta ese momento, el Mn había sido confundido con el magnesio (Mg) ⁹.

Su símbolo químico es Mn, y está clasificado como elemento de transición dentro de la tabla periódica de los elementos químicos (grupo 7, periodo 4, bloque d) ^{10,11,12}.

Es un metal quebradizo, de color gris y brillo acerado (fig. 2) (tabla 4). Es refractario, se corroe con el aire húmedo y se disuelve en ácidos ^{11,13}.



Fig. 2 Menas de manganeso
(Tomada de:
www.environmentalchemistry.com)

Es el 12º elemento más abundante en la corteza terrestre (0.1%), el 5º metal más abundante en la tierra y el 4º más extraído ^{14,15}. Los principales países productores son Ucrania, Sudáfrica, Brasil y México ⁹.

No existe en estado puro en el ambiente, excepto en los meteoros ⁹. Se presenta en todos los estados de oxidación entre Mn (-III) y Mn (VII), pero generalmente forma compuestos con valencias de +2, +3, +4, +6 y +7 (tabla 5) ^{11, 14, 12}.

Está presente en el agua (continental y oceánica), la comida, el aire y el suelo. En este último se halla formando más de cien menas, de ellas la más común es la pirolusita (MnO_2), y le siguen la hausmanita (Mn_3O_4), la rodocrosita ($MnCO_3$), la braunita ($MnS_{12}O_3$) y la hübnerita ($MnWO_4$), entre otras ^{11,9,16}.

La mayoría de las sales de Mn son solubles en agua, excepto el fosfato y el carbonato, mientras que los óxidos de Mn son insolubles ^{16,17,18}.

Tabla 4. Propiedades físicas del manganeso

Color	Gris plateado; los colores que presenta según el estado de oxidación: +2: rosa, +3: rojo, +4: marrón, +5: azul, +6: verde, +7: violeta.
Estado:	Sólido
Estructura cristalina:	Cúbica centrada en el cuerpo
Densidad:	7470 (kg/m ³)
Dureza:	6,0 (Mohs)
Conductividad eléctrica:	0,695×10 ⁸ S/m
Conductividad térmica:	7,82 W/(m·K)
Calor específico:	480 J/kg·K
Punto de fusión:	1517 K
Entalpía de fusión:	12,05 kJ/mol
Punto de ebullición:	2235 K
Entalpía de vaporización:	226 kJ/mol
Presión de vapor:	121 Pa a 1517 K
Electronegatividad	1,5

Tomada de: <http://www.webelements.com>. Modificada.

Tabla 5. Propiedades químicas del manganeso

Nombre	Manganeso
Símbolo	Mn
Clasificación	Metal de transición
Grupo, periodo, bloque	7, 4, d
Número atómico	25
Masa atómica (g/mol)	54.9380409 uma
Valencias	2,3,4,6,7
Compuestos	óxidos, silicatos y carbonatos

Tomada de <http://www.webelements.com>. Modificada.

El Mn, al igual que todos los contaminantes, puede ser clasificado de acuerdo a su origen, en dos categorías: Mn de origen natural y Mn de origen antropogénico¹.

➤ Mn de origen natural

Las fuentes naturales de Mn son, en primer lugar, las menas presentes en la corteza terrestre, mismas que al sufrir erosión eólica, originan partículas de Mn que quedan suspendidas en el aire. Por otra parte, los minerales que se desprenden de estas rocas, nutren a las plantas que posteriormente se integrarán a la red alimenticia^{11,13,14,16}.

La brisa marina, los incendios forestales y la actividad volcánica, constituyen otro grupo de fuentes naturales de Mn^{11,13,14,16}.

➤ Mn de origen antropogénico

A causa de su gran importancia en numerosas actividades industriales, la producción mundial de Mn se incrementó treinta veces durante el siglo pasado, y se cree que la demanda de este metal continuará en ascenso durante los próximos años^{14,16}.

Las mayores fuentes antropogénicas de Mn incluyen a los procesos mineros y metalúrgicos, la quema de combustibles fósiles y la combustión de gasolinas libres de Pb y de algunos aditivos automotrices, los cuales contienen metil-ciclopentadienil tricarbonil manganeso (MMT), un compuesto del Mn, utilizado como antidetonante (fig. 3), resultando en la liberación de una compleja mezcla de fosfatos, sulfatos y óxidos de Mn^{16,19}.



fig. 3. La adición del MMT a los aditivos y combustibles automotrices constituye una fuente antropogénica de Mn. (Tomada de: www.environmentalchemistry.com)

La preocupación científica se ha incrementado debido al esparcido uso de este metal en la fabricación de vidrio, cerámicas, soldaduras, aleaciones, baterías, latas de aluminio y como aditivo automotriz (MMT) ^{16,19}.

1.2.1. Fuentes de exposición a manganeso

1.2.1.1. Manganeso presente en la dieta y en el agua

El Mn presente en la dieta es la fuente de exposición más común para la población general. Los alimentos con mayores concentraciones de este oligoelemento son: leguminosas, granos enteros, nueces, chícharos, yema de huevo y el té (tabla 6) ^{19,20}.

Tabla 6. Concentración de Mn en la dieta

Tipo de alimento	Concentración (ppm; g/g o mg/litro)
Nueces	18.21 – 46.83
Granos	0.42 – 40.70
Legumbres	2.24 – 6.73
Frutas	0.20 – 10.38
Jugos y bebidas	0.05 – 11.47
Vegetales	0.42 – 6.64
Alimentos infantiles	0.17 – 4.83
Carne, aves, pescado y huevos	0.10 – 3.99
Condimentos y endulzantes	0.04 – 1.45
Té	0.00 – 2.09
Leche y productos lácteos	0.02 – 0.49

Tomada de Aschner Michael. Manganese Dosimetry. 2005. Modificada.

Tanto la leche humana, como la de vaca, son pobres en Mn, aunque su contenido varía dependiendo del estadio de la lactancia; siendo mayor durante el periodo postnatal inmediato ¹⁹.

Las concentraciones de Mn en el agua de consumo son de aproximadamente 100 µg/L ¹⁹.

Actualmente, el consumo de suplementos alimenticios constituye otra importante fuente de Mn, ya que cada tableta suele contener de 5 a 20 mg de este oligoelemento ^{11,19}.

Se ha reportado que en las personas que siguen un régimen vegetariano, aumentan las concentraciones de Mn ingerido y disminuyen las de hierro (Fe), incrementando las posibilidades de intoxicación por el primero. Sin embargo, como se explica más adelante, el Mn presente en la dieta tiene baja toxicidad ^{19,20,21,22}.

1.2.1.2. Manganese atmosférico

Aunque los compuestos inorgánicos del Mn no son volátiles, pueden existir en el aire como humo, aerosoles o en las PST ¹⁹.

Se estima que alrededor del 30 % del Mn atmosférico es emitido por el escape de los automóviles ^{13,16}.

La mayoría de las exposiciones humanas permanecen por debajo del límite actual de inhalación ($0.05 \mu\text{g Mn/m}^3$). Se ha observado que la población sin exposición laboral, obtiene del aire menos de $2 \mu\text{g Mn/día}$ ¹⁹.

Entre los individuos frecuentemente expuestos a altos niveles ambientales de Mn, se incluye a mineros, soldadores, y residentes que habitan cerca de plantas de procesamiento de aleaciones férricas¹⁴.

De acuerdo con el *National Research Council* de Canadá, las concentraciones de Mn en el aire tienden a ser menores en lugares despoblados que en áreas rurales, aumentando aún más en áreas urbanas. La OMS reportó concentraciones anuales de $10\text{-}30 \text{ ng Mn/m}^3$ en áreas urbanas y de $10\text{-}70 \text{ ng Mn/m}^3$ en áreas rurales (Ver tabla 7) ¹⁶.

Tabla 7. Concentraciones mundiales
de Mn en el aire

Tipo del área	Año	Promedio de la Concentración (ng/ m ³)	Rango (ng/ m ³)
Concentraciones mundiales			
Despoblada	1982		
- Continental		3.4	<0.18-9.30
- Oceánica		14.2	0.02-79
- Polar		0.5	0.01-1.5
Rural		40	6.5-199
Urbana			
- Canadá		65	20.0-270
- EE. UU.		93	5.0-390
- Europa		166	23.0-850
- Otras		149	10.0-590

Tomada del Concise International Chemical Assessment Document 63. WHO, 2004.

Un estudio realizado en 1997, determinó las concentraciones del Mn en el aire de diferentes puntos de la ciudad de México y su área conurbada, concluyendo que éstas eran mayores al Norte de la ciudad, sobre todo en espacios abiertos (tabla 8) ².

Tabla 8. Concentraciones del Mn en el aire de la cd. de México y área conurbada

Zona analizada	Concentración de Mn Ng/m ³
Espacios cerrados	
- Tlalnepantla, Vallejo, Ecatepec, Xalostoc	45.3 ± 7.6
- Lindavista	22.5 ± 7.9
- Aragón	32.7 ± 9.5
- Mixcoac, Coyoacán, Coapa	14.7 ± 32
Espacios abiertos	
- Promedio general	24.8 ± 15.4

Tomada de Riveros-Rosas Héctor. Personal Exposure to elements in Mexico City air. 1997. Modificada.

En 2001, Fortoul y col. realizó un estudio comparativo midiendo las concentraciones de Mn en las necropsias de pulmón de dos grupos de personas que vivieron en la ciudad de México en la década de los 60 y en la de los 90. Los resultados mostraron un ligero aumento en las concentraciones de Mn en el segundo grupo ¹⁵.

1.2.1.3. Otras fuentes

Los pacientes sometidos a nutrición parenteral total durante un largo periodo también se encuentran bajo riesgo de intoxicación por Mn, debido a que las soluciones utilizadas con este fin suelen tener altas concentraciones del metal (5.6 a 8.9 µg/L). Otra fuente potencial de exposición al Mn es el uso de algunos agentes radiológicos de contraste ¹⁹.

Se ha reportado la existencia de una droga callejera llamada “bazooka”, la cual es elaborada con cocaína, pero generalmente se encuentra contaminada por Mn ¹⁹.

1.2.2. Necesidades

El Mn es un elemento esencial importante para los procesos oxidativos mitocondriales y es requerido para el metabolismo de aminoácidos, lípidos, proteínas y carbohidratos. Además, colabora en la síntesis de la argirasa y de la coenzima A ^{11,13,15}.

Existen varias familias de enzimas Mn-dependientes, entre ellas las oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas.

Las metaloenzimas de Mn incluyen argirasa, glutamino sintetasa, fosfoenolpiruvato descarboxilasa y manganeso superóxido dismutasa ^{15,19}.

Este metal está involucrado en la función de numerosos sistemas orgánicos y se considera necesario para la respuesta inmune, la regulación de la glucosa sanguínea, la reproducción, la digestión, el metabolismo óseo, la coagulación (en colaboración con la vitamina K) y en la defensa contra los radicales libres ¹⁹.

La *U. S. National Research Council* sugiere una ingesta de 2-5 mg Mn/día para adultos, 3 µg Mn/día para recién nacidos (menores de 6 meses de edad) y, 1.5 mg Mn/día para niños menores de 8 años ¹⁹.

En las mujeres, los requerimientos de Mn aumentan durante la lactancia y la gestación ¹⁹.

1.2.3. Toxicocinética

1.2.3.1. Absorción

A. Absorción en el tracto gastrointestinal

Como ya se señaló, la ingestión es la principal vía de exposición a Mn en la población general. Sin embargo, gracias a la existencia de un mecanismo homeostático específico para esta vía de entrada (eliminación presistémica), sólo una pequeña fracción (1-5%) del Mn ingerido es absorbida por el cuerpo ^{11,13,15,19}.

El mecanismo por el cual el Mn es absorbido desde el tracto gastrointestinal no está completamente entendido. Se ha sugerido que puede llevarse a cabo tanto por transporte activo, como por difusión pasiva¹⁹.

Cuando los niveles dietéticos de Mn son altos, ocurren cambios adaptativos, incluida la absorción gastrointestinal reducida, el aumento en el metabolismo hepático y el incremento en la excreción pancreática y biliar de este elemento. También se ha mencionado que disminuye la retención de Mn por el hígado, los riñones, el bazo y otros tejidos sistémicos ^{11,15,19}.

La absorción neta en el tracto gastrointestinal también está influenciada por la presencia de fitatos, ácido ascórbico y algunos minerales ¹⁹.

El Fe comparte mecanismos de absorción similares con metales divalentes esenciales, particularmente con el Mn, y la deficiencia en la dieta de alguno de estos puede causar un aumento en la absorción del otro ²³.

B. Absorción en el tracto respiratorio

Se ha postulado que la inhalación ofrece una ruta casi directa a la sangre (con eficiencia cercana al 100%), ya que ésta evita la eliminación presistémica presente en la ruta oral ^{11,15}.

El número de estudios que han evaluado la absorción del Mn en los pulmones es limitado. Sin embargo, se sabe que existen varios factores que pueden influenciar la deposición pulmonar de las partículas inhaladas de Mn; entre ellos la solubilidad y el tamaño de la partícula ¹⁹.

La deposición pulmonar es favorecida después de la inhalación de partículas solubles menores de 3 μm . Las partículas de Mn más grandes e insolubles que se depositan en las vías aéreas superiores son desplazadas por medio del transporte mucociliar hacia la faringe, donde posteriormente son expectoradas o deglutidas (este Mn ingerido puede ser absorbido en el intestino o eliminado en la bilis) ^{19,22}.

Otra vía de absorción dentro del sistema respiratorio es el transporte transináptico del Mn desde el epitelio respiratorio hacia el bulbo olfatorio y el núcleo espinal a través de los pares craneales I y V, respectivamente. La importancia de este mecanismo radica en que se ha demostrado que por ser una vía de entrada directa hacia el sistema nervioso central (SNC), contribuye al desarrollo de un tipo de degeneración lentamente progresiva ²⁴.

C. Absorción dérmica

Aunque la absorción dérmica de los compuestos del Mn ha sido poco estudiada, se sabe que para la mayoría de ellos esta vía es nula, exceptuando al MMT, que puede absorberse a través de la piel intacta ²⁵.

1.2.3.2. Distribución

A. Proteínas transportadoras

Dentro del plasma, el Mn está unido a la transferrina, la β -globulina y a la albúmina ¹⁹.

La competencia entre el Mn y Fe por la absorción intestinal probablemente ocurre también por un transportador metálico divalente, denominado DMT-1 (conocido también como DCT-1 o nramp-2) ¹⁹.

B. Localización subcelular

Fisiológicamente, el Mn se concentra en las mitocondrias, donde participa en los procesos oxidativos mitocondriales y forma complejos con el ATP ^{15,19}.

C. Distribución sistémica

El Mn se presenta sólo en pequeñas cantidades en tejidos animales, encontrándose en todos los tejidos de mamíferos a concentraciones de 0.3 a 2.9 $\mu\text{g Mn/gramo de tejido húmedo}$ ^{19,21}.

El cuerpo humano contiene cerca de 20 mg de este metal, con concentraciones en sangre de 2 a 8 g/dl ^{13,25}.

Dentro del organismo, este elemento tiende a acumularse en los tejidos ricos en pigmentos (retina y piel morena), así como en aquellos que son ricos en mitocondrias, tal como la glándula pineal, la hipófisis, hueso, hígado, riñón, pulmón, testículo, intestino, cerebro y páncreas ^{11,13,15,25}.

En el cerebro, este metal se acumula principalmente en los ganglios que almacenan Fe (putamen, globus pallidum, sustancia nigra, cuerpo estriado y núcleo subtalámico) ^{11,13,15,19,25}.

Se ha demostrado que con la edad las concentraciones de Mn disminuyen en el bulbo olfatorio, sangre, hueso y páncreas y aumentan en el testículo ¹⁹.

1.2.3.3. Transformación

El Mn puede experimentar cambios en sus estados de valencia dentro del cuerpo ^{19,25}. Se ha sugerido que mientras se encuentra en la sangre, el Mn^{2+} puede ser convertido por la ceruloplasmina humana en otro estado de oxidación (probablemente Mn^{3+}) ^{19,25}.

El estado de oxidación del Mn puede influenciar su distribución en el cuerpo, ya que se han encontrado diferencias en las concentraciones en sangre y cerebro que dependen del estado inicial de oxidación del metal ^{19,25}.

La valencia del Mn también ejerce influencia sobre su toxicidad. El Mn^{3+} es más citotóxico *in vitro* que Mn^{2+} , posiblemente debido a su alta reactividad oxidativa y a su gran semejanza con el Fe. La oxidación de los organelos celulares por el Mn trivalente podría ser el medio por el cual provoca mayor daño celular ¹⁹.

1.2.3.4. Excreción

La eliminación del Mn es bifásica; inicia con una fase rápida de 4 días y concluye con un periodo largo de 39 días^{15,19}.

Después de la eliminación rápida del exceso de Mn por el hígado en la bilis, el balance es mantenido por la excreción de este elemento a través de la orina, el sudor, el cabello y la leche^{13,20,25}.

A. Excreción biliar

El Mn absorbido es eliminado de la sangre por el hígado, excretándose dentro del intestino en la bilis, para posteriormente desecharse del organismo en las heces. No obstante, parte de este Mn es reabsorbido en el intestino a través de la circulación enteropática¹⁹.

La excreción biliar es reducida en animales neonatos, por ello la exposición durante este periodo puede ocasionar un incremento en el transporte de este metal hacia los tejidos, principalmente hacia el cerebro¹⁹.

La enfermedad hepática es un factor que aumenta la acumulación de Mn en el SNC, y al mismo tiempo, la exposición a Mn puede exacerbar una disfunción hepática preexistente¹⁹.

B. Excreción pancreática

El Mn acumulado en el páncreas, se encuentra unido a la pro-carboxipeptidasa B. Se ha reportado que la excreción de este metal a través de los fluidos pancreáticos es ínfima¹⁹.

C. Excreción renal

La excreción urinaria de Mn se considera baja, siendo de aproximadamente 0.1 a 0.8 g/dl ^{13,19,25}.

D. Excreción en la leche

Los niveles de Mn encontrados en leche de rata son considerablemente altos, y ellos varían durante la lactancia, mostrando mayores concentraciones durante el periodo postnatal inmediato ¹⁹.

En la leche humana las concentraciones de Mn son mayores en la cuarta semana de lactancia que en la doceava ¹⁹.

E. Eliminación en el cabello

Algunos autores consideran que la acumulación de Mn en el cabello puede utilizarse como una herramienta útil en el biomonitoreo de la exposición a dióxido de Mn, excepto en caso de cabello teñido o decolorado ^{19,26}.

Sin embargo, las concentraciones de Mn en sangre, se siguen considerando como el parámetro más específico para el biomonitoreo de la exposición a este elemento ²⁶.

1.2.3.5. Intoxicación

El Mn, al igual que el resto de los MP, tiene la capacidad de acumularse dentro del organismo humano bajo ciertas condiciones de exposición y en determinadas dosis ^{19,21}.

La toxicidad del Mn en humanos es un riesgo ocupacional conocido para las personas expuestas crónicamente a aerosoles o polvos que contienen

niveles elevados de este elemento ($>1-5 \text{ mg Mn/m}^3$), tal como es el caso de mineros, soldadores e incluso residentes que habitan cerca de plantas de procesamiento de aleaciones férricas.

Los grupos expuestos manifiestan un síndrome conocido como manganismo, el cual incluye manifestaciones respiratorias, reproductivas y neurológicas, éstas últimas, asociadas a altos niveles cerebrales de Mn, sobretodo en el globus pallidum, caudado-putamen, sustancia nigra, y núcleo subtalámico^{14,19,25,27,28}.

Los signos y síntomas respiratorios incluyen: tos, bronquitis, neumonía (denominada neumonía mangánica) y función pulmonar disminuida. Estas respuestas son consideradas inespecíficas. No se sabe si los compuestos de Mn juegan algún papel en la etiología del asma^{19,22,25}.

El tabaquismo tiene un efecto sinérgico en la aparición y el progreso de los síntomas respiratorios en trabajadores expuestos a Mn, aumentando el estrechamiento de las vías aéreas²².

Las concentraciones atmosféricas de este metal que se han reportado en asociación con signos de neurotoxicidad van de 0.027 a 1 mg Mn/m^3 . Se ha observado que las víctimas de intoxicación aguda por Mn, durante los estadios tempranos manifiestan un desorden neuropsiquiátrico similar a la esquizofrenia (denominado locura mangánica), caracterizado por la presencia de excitación, irritabilidad, dificultades para hablar y una conducta compulsiva y violenta que puede inducir a correr de manera caótica, reír, pelear y cantar sin motivo aparente^{19,20,22,27,28}.

Otras manifestaciones tempranas de neurotoxicidad incluyen fatiga, cefalalgia, calambres, pérdida del apetito, apatía, insomnio, disminución de la libido e infertilidad en los varones ¹⁹.

Si la exposición continúa, el daño a las neuronas dopaminérgicas puede inducir parkinsonismo (cara inexpressiva, distonía, hipocinesia, rigidez, y tremor muscular) ^{19,21,25,27,28}.

Los efectos hematológicos que causa la exposición subcrónica a Mn por vía oral incluyen cambios en el conteo de eritrocitos y de leucocitos ²⁵.

También se ha reportado una disminución en la actividad de la monoamino oxidasa (MAO) en el cerebro y en el hígado, así como una disminución de la peroxidación lipídica ¹¹.

La información acerca del potencial carcinogénico del Mn es limitada y los resultados son difíciles de interpretar ²⁵.

1.3. La lengua

Debido a la escasez de descripciones de la lengua del ratón, optamos por incluir en este trabajo las características, ampliamente descritas, de la lengua humana. Sin embargo, es importante hacer énfasis en las diferencias que existen entre ambas especies, por ello éstas se encuentran al final del apartado.

De los órganos que ocupan la cavidad bucal, la lengua es el más grande. Este órgano está compuesto por músculo estriado voluntario, tejido

conjuntivo, epitelio (que constituye la mucosa especializada de la cavidad bucal) y glándulas salivales menores ^{19,25}.

Los haces musculares, al orientarse en tres planos (vertical, horizontal y longitudinal) y entrecruzarse entre sí, forman ángulos de noventa grados. Esto le confiere a la lengua no sólo una movilidad incomparable, sino también una característica histológica única en el cuerpo ^{32,33}.

La flexibilidad y la precisión de los movimientos de la lengua hacen a este órgano capaz de participar en las funciones de masticación, deglución, fonación, succión y autoclisis ³².

Los dos tercios anteriores y el tercio posterior de la lengua poseen diferente origen embrionario. De manera que el límite entre estas regiones está marcado por una depresión poco profunda denominada surco terminal (fig. 4) que tiene forma de V con vértice hacia atrás y contiene una concavidad profunda, el agujero ciego que es un vestigio del conducto tirogloso, invaginación que da lugar a la glándula tiroideas ^{29,32}.

Como ya se mencionó el surco terminal divide a la superficie dorsal de la lengua en dos regiones desiguales, éstas son: el cuerpo, que es la porción libre y móvil, que ocupa los dos tercios anteriores, ubicado en la cavidad bucal; y la base ubicada en el tercio posterior, unida al piso de la boca y que constituye una porción de la pared anterior de la orofaringe (fig. 4) ^{29,34}.

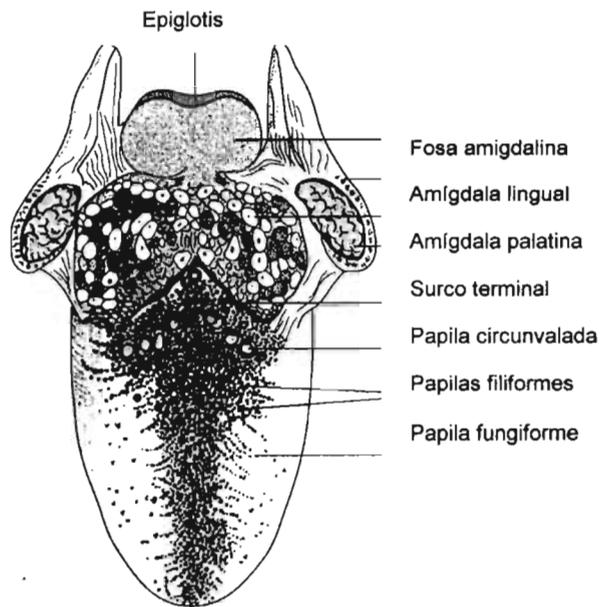


fig. 4. Esquema del dorso de una lengua humana
(Tomada de Gartner, 1997)

1.3.1. Porción móvil: cuerpo

Está limitado atrás por el surco Terminal ³¹. Se le considera una forma de cono con ³¹:

- Una cara superior o ventral
- Una cara inferior o dorsal
- Bordes laterales

La superficie ventral presenta un epitelio de revestimiento plano estratificado no queratinizado, delgado y liso. La lámina propia es delgada y está formada por tejido conjuntivo laxo, con papilas cortas y numerosas.

Presenta además, numerosos cúmulos de adipocitos, glándulas salivales y vasos sanguíneos y linfáticos. No tiene submucosa ²⁹.

La mucosa de la superficie dorsal está recubierta por un epitelio relativamente grueso y firmemente adherido a la capa subyacente de tejido conectivo denso ³⁴.

Los bordes laterales son espesos atrás y más delgados adelante; cuando la lengua se encuentra en reposo, éstos mantienen contacto con los arcos dentarios ³¹.

1.3.1.1. Papilas linguales

El aspecto aterciopelado que posee la lengua en la zona anterior al surco terminal se debe a la presencia de numerosas elevaciones de la mucosa denominadas papilas linguales ^{29,34}.

Las papilas linguales son de cuatro tipos:

- a) Filiformes
- b) Fungiformes
- c) Caliciformes o circunvaladas
- d) Foliadas

Estas papilas contienen una gran cantidad de terminaciones sensitivas para el tacto, y hay corpúsculos gustativos en relación con todas, exceptuando a las filiformes ³⁴.

A. Papilas filiformes

Son las más numerosas y las más pequeñas. Se localizan en todo el dorso de la lengua en hileras paralelas a las vertientes del surco terminal. Tienen un centro primario de tejido conjuntivo con papilas secundarias ^{33,34}.

Las papilas filiformes están revestidas por epitelio plano estratificado queratinizado o paraqueratinizado, lo que las hace responsables del color grisáceo de la lengua y lo suficientemente duras para producir una estructura parecida a una lima en la cara dorsal de la lengua de algunos animales como el gato y el conejo (fig. 5) ^{29,34,35,36}.



Fig 5. Papila filiforme de ratón. Mallory 60 x
(Tomada de: www.lauca.usach.cl)

B. Papilas fungiformes

Reciben este nombre porque se proyectan como pequeñas setas delgadas en la base y más dilatadas en su extremo libre (fig. 6), miden de 0.5 a 1.0 milímetro y generalmente se encuentran de 150 a 200. Se observan a simple vista como pequeñas manchas rojas dispersas en el dorso de la lengua, principalmente en la punta ^{31,32,35,38}.

Presentan un núcleo central de tejido conjuntivo que constituye la papila primaria; de ella surgen las papilas secundarias que penetran en el epitelio de revestimiento. La superficie epitelial no sigue los contornos de las papilas secundarias y por lo tanto, los capilares llegan muy cerca de su

superficie; esto último, sumando a la poca queratinización del epitelio explica su característico color rojo. Los corpúsculos gustativos se distribuyen en el extremo libre de la papila ³⁵.



fig. 6 Papila fungiforme de ratón. Mallory 40 x
(Tomada de: www.uv.es/.../05-lengua-intDelg.htm)

C. Papilas circunvaladas

Son las menos numerosas (en el ser humano se cuentan de 7 a 12 de ellas) y las más grandes. Se localizan en la mucosa inmediatamente anterior al surco terminal ^{35,38}.

De manera similar a las papilas fungiformes, son más estrechas a nivel de su inserción que en su superficie libre, lo que les da una forma de cúpula (o cáliz (fig. 7) ^{32,38}.

Cada papila ocupa una depresión en la mucosa, denominada surco circunvalador, en cuyo fondo se abren los conductos de las glándulas de von Ebner, que son glándulas salivales menores serosas (fig. 7) ³².



Fig. 7 Papila circunvalada de ratón. Mallory 60 x.
(Tomada de: www.uv.es/.../05-lengua-intDelg.htm)

D. Papilas foliadas

Las papilas foliadas están localizadas en la región lateral posterior de la lengua, se manifiestan como pliegues verticales y están separadas entre sí por surcos interpapilares, mismos que les confieren un aspecto similar a las páginas de un libro, de allí su nombre de foliadas ^{29,35}.

Se encuentran bien desarrolladas en los mamíferos inferiores, pero en el ser humano presentan un aspecto rudimentario, y aunque en el neonato poseen corpúsculos gustativos, éstos se degeneran hacia el segundo o tercer año de vida ²⁹.

1.3.1.2. Corpúsculos gustativos

Los corpúsculos gustativos son órganos sensitivos intraepiteliales cuya función es la percepción de los sabores ²⁹. Son aproximadamente 3000, y la mayoría de ellos se distribuyen entre las papilas caliciformes y fungiformes, pero también existen en el paladar, los pilares del velo del paladar, la faringe y la laringe ²⁹. Son más numerosos en el niño, ya que se atrofian progresivamente con la edad ^{29,31,36}.

En el microscopio óptico se observan como estructuras pálidas, en forma de barril que se extienden de la lámina basal a la superficie (fig. 8) ³⁴.

Tienen 50-80 μm de altura y 30-50 μm de ancho ²⁹. Cada corpúsculo está compuesto por 50 a 90 células fusiformes dispuestas como catáfilas de cebolla, y sus extremos libres convergen hacia el poro gustativo, que es una pequeña abertura que establece comunicación con el exterior ^{32,34,35}.

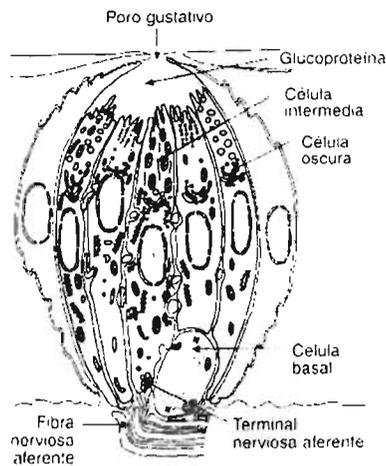


Fig. 8. Esquema de un corpúsculo gustativo.
(Tomada de Géneser, 1996)

En base a la microscopía óptica, inicialmente se logró clasificar a las células del corpúsculo gustativo en los siguientes tipos:

- Células de sostén o sustentaculares, son pálidas con H/E, tienen un núcleo redondeado y se localizan en la periferia del corpúsculo ³⁵.
- Células neuroepiteliales o células gustativas, son más oscuras y su ubicación es central ³⁵.
- Células basales, son las más pequeñas y se ubican en la base del corpúsculo gustativo. Se les considera células precursoras de las células gustativas ^{32,35}.

Actualmente, gracias a la microscopia electrónica se distinguen en cada corpúsculo cinco tipos celulares, que son:

- Células tipo I (Células oscuras). Representan el 60 %, contienen gránulos densos y presentan microvellosidades a nivel del poro gustativo ³².

- Células tipo II (Células claras). Representan el 30% y poseen microvellosidades muy cortas y escasas ³².

- Células tipo III. Representan el 7% y terminan en el poro gustativo, formando una protrusión en forma de mazo o de bastón. Se caracterizan por contener vesículas pequeñas ubicadas en el citoplasma basal, las cuales contienen glucoproteínas ³⁵.

- Células tipo IV. Son células madre localizadas en la base del corpúsculo ³².

- Células tipo V. Son las células perigemales que se sitúan en la zona periférica y separan a las células gustativas de las células epiteliales ³⁵.

1.3.2. Porción fija: base

Es una zona relativamente fija, ancha y espesa, está limitada adelante por el surco terminal y constituye la pared anterior de la bucofaringe. Está unida al velo del paladar por los arcos palatoglosos y a la epiglotis por los pliegues glosopiglóticos mediano y laterales. La mucosa que recubre esta porción de la lengua no contiene papilas, en cambio, contiene una amígdala a cada lado ³¹.

Los nódulos linfáticos de la amígdala poseen centros germinativos y vasos linfáticos sólo en la periferia. Junto a los linfocitos existen células plasmáticas. El epitelio plano estratificado no queratinizado recubre el tejido linfático y se invagina hacia el interior del órgano a diferentes niveles para formar cavidades denominadas criptas ³⁵.

Los linfocitos emigran a través del epitelio y alcanzan la luz de la cripta; las células del epitelio se descaman también a este nivel. Por lo tanto, las criptas se ven ocupadas por linfocitos muertos y por células epiteliales descamadas que son limpiadas por la secreción de las glándulas mucosas de Weber, cuyos conductos se abren a nivel del fondo de las criptas ³⁵.

Las amígdalas linguales, junto con las amígdalas palatinas tubáricas y faríngeas constituyen el anillo linfático de Waldeyer (ubicado en la zona limítrofe entre la boca, las fosas nasales y la faringe), que es la primera barrera de defensa ante las infecciones que tienen a la boca y a la nariz como puerta de entrada ^{31,35}.

1.3.2.1. Glándulas linguales

Las glándulas linguales pertenecen al grupo de las glándulas salivales menores, entre las cuales también se encuentran las glándulas labiales, las genianas y las palatinas ³⁵.

Las glándulas salivales menores están rodeadas por un tejido conectivo que nunca llega a constituir una verdadera cápsula. El sistema ductal es rudimentario y no siempre se identifican conductos intercalares o estriados ³⁵.

Los conductos excretores son relativamente cortos. La mayoría de ellas son mucosas u su inervación es predominantemente parasimpática ³⁵.

Se ha calculado que la secreción diaria de las glándulas salivales menores representa sólo un 6 a un 10% del volumen total de la saliva. Sin embargo, se estima que estas glándulas elaboran más del 70% de las mucinas de la saliva y producen cantidades importantes de IgAs, lisozimas y fosfatasas ácidas salivales, sustancias que participan en la prevención de la caries, ya que provocan la aglutinación de los microorganismos cariogénicos, impidiendo la colonización del esmalte dental. Además, la secreción continua de estas glándulas protege a la mucosa bucal y participa en la conformación de la película adquirida que recubre y protege al esmalte ³⁵.

En la lengua se observan tres grupos de glándulas: las anteriores o de Blandin y Nuhn; las dorsoposteriores o de Weber y las glándulas serosas de Von Ebner ^{32,33,34,35}.

A. Glándulas de Blandin y Nuhn

Son dos masas glandulares voluminosas localizadas en la región de la punta de la lengua, en la proximidad de la superficie ventral ³⁵.

Desde el punto de vista histológico estas glándulas son similares a las sublinguales, tanto por su predominio de estructuras mucosas heterogéneas, como por su arquitectura en general ³⁵.

La mayoría de los conductos que se observan en los lobulillos glandulares pueden ser considerados intercalares. Los conductos excretores, pequeños y numerosos, tienen epitelio cúbico simple o estratificado, o cilíndrico

estratificado sin células caliciformes y desembocan en la cara ventral de la lengua, en las proximidades del frenillo ³⁵.

La secreción de estas glándulas protege la cara lingual de los dientes incisivos inferiores contra la caries, además de proveer mucinas a la saliva total ³⁵.

B. Glándulas de Weber

Son formaciones glandulares bilaterales básicamente mucosas, que se localizan en la zona dorsal de la raíz lingual (fig. 9). Sus conductos desembocan en el fondo de las criptas amigdalinas linguales. La secreción de estas glándulas cumple una función mecánica y defensiva, limpia dichas criptas, evita la acumulación de restos celulares y la proliferación de microorganismos. Esto previene la amigdalitis lingual ³⁵.

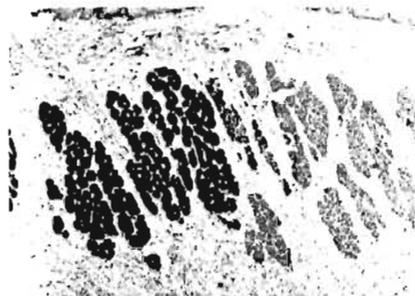


Fig. 9 Glándulas de Weber. PAS 4 x.
(Foto archivo)

C. Glándulas de von Ebner

Se trata de un grupo impar de pequeñas masas glandulares que se distribuyen en el dorso y bordes laterales de la lengua, en la región de la V lingual. Sus conductos excretores desembocan en el surco circunvalador de las papilas caliciformes y en el pliegue que separa cada papila foliada de su vecina (fig. 10). Se considera que estas glándulas cumplen un papel local importante al limpiar esos surcos y eliminar los restos de alimentos y las

células descamadas. Al mismo tiempo, la secreción de estas glándulas renueva y disuelve las partículas responsables del sabor, para que puedan llegar a los poros de los botones gustativos, los cuales son muy abundantes en esos dos tipos de papilas linguales. Son las únicas glándulas menores serosas de la cavidad bucal (Gómez de Ferraris, 2003).



Fig. 10. Glándulas de von Ebner. H y E 40 x.
(Tomada de: www.uv.es/.../05-lengua-intDelg.htm)

Por otra parte, las glándulas de Von Ebner contribuyen a las funciones protectoras de la saliva total, dado que producen lisozima, peroxidasa y anhidrasa carbónica^{35,40}. Secretan también una potente lipasa cuyo papel parece ser muy importante, especialmente en la alimentación de los recién nacidos³⁵.

1.3.3. Sentido del gusto

En base a estudios neuropsicológicos se consideran cuatro calidades primarias de sabor: dulce, salado, amargo y ácido (agrio), mismas que pueden detectarse regionalmente: las sensaciones dulces y saladas se aprecian en la punta de la lengua, las ácidas en los bordes laterales y las amargas en la región de las papilas circunvaladas y en el paladar blando^{29,35,36}.

No existen diferencias estructurales entre los corpúsculos gustativos de las distintas regiones ³⁵. Todos los ellos pueden discernir cualquiera de las cuatro sensaciones, sin embargo, cada uno se especializa en dos de las cuatro ³⁴.

La gran variedad de sabores que podemos distinguir surge de la combinación de éstas cuatro cualidades primarias ^{29,35,36} y de la participación del sistema olfatorio ²⁹.

Existen sustancias que pueden alterar la percepción gustativa por ejemplo, los grupos tioles (R-SH) contenidos en algunos medicamentos, que ocasionan hipogeusia o ageusia, mientras que algunos metales como cobre, zinc y níquel lo incrementan ³⁵.

Es probable que la glucoproteína que se encuentra dentro del poro gustativo les brinde a las microvellosidades una película superficial polielectrolítica, y la unión de los iones productores del sabor con esta película altere su configuración espacial, modificando la distribución de la densidad de cargas ²⁹.

Por otro lado, las moléculas productoras de sabor se unen también a proteínas específicas, aparentemente se trata de una unión débil, dado que es suficiente la acción mecánica de un enjuague para eliminar el sabor ³⁶.

Las reacciones antes mencionadas son comunes para las cuatro sensaciones gustativas primarias, sin embargo se ha descubierto que existe un mecanismo de transducción exclusivo para cada una de ellas ^{32,35}.

El sabor salado es producido cuando los iones sodio (Na^+) penetran en el interior de la célula sensorial, que al despolarizarse desencadena la transmisión sináptica en la fibra nerviosa ³⁵.

El sabor ácido se produce por los iones hidrógeno (H^+), que bloquean los canales iónicos de potasio (K^+), originando la despolarización de la célula y la consiguiente transmisión sináptica ³⁵.

El sabor dulce se produce por macromoléculas como la sacarosa, la glucosa o la sacarina (edulcorante artificial). Dichas moléculas actúan sobre receptores de naturaleza desconocida ubicados en la membrana de las microvellosidades de la célula sensorial y que están acoplados a la proteína G. El mecanismo de acción está ligado con el bloqueo de los canales iónicos de calcio (Ca^{++}) y por tanto, con la disminución de la difusión de iones de Ca^{++} hacia el exterior de la célula ³⁵.

El sabor amargo puede ser producido por un grupo muy numeroso de sustancias que tienen capacidad de unirse a un receptor acoplado con la proteína G en la membrana de las microvellosidades, aunque se postula que el mecanismo de acción es distinto al que desarrollan las sustancias que producen sabor dulce. Recientemente se aisló una proteína G específica para las células del gusto ³⁵.

Después de actuar los mecanismos de transducción, el estímulo es transmitido a unas fibras nerviosas que se ramifican y pierden su mielina en el tejido subyacente a los corpúsculos gustativos y que dan origen tres tipos de plexos: el intergemal que se sitúa entre los corpúsculos gustativos; el perigemmal, que los rodea. Estas fibras provienen de los pares craneales involucrados en la inervación sensorial, que son: el VII, que recoge los

estímulos gustativos los dos tercios anteriores de la lengua; el IX que inerva el tercio posterior de la lengua ³⁵; y el X que conduce las sensaciones de la epiglotis y la porción inferior de la faringe ³⁴.

Al parecer existen dos tipos de vías relacionadas con la percepción gustativa: una difusa, que se relaciona con las conexiones nerviosas de las células tipo I y tipo II, y otra directa, que se relaciona con la célula tipo III ³⁵.

Se ha considerado tradicionalmente que la secreción de las glándulas serosas de von Ebner tienen como finalidad lavar los corpúsculos gustativos para prepararlos a recibir un nuevo sabor. Al parecer estudios recientes indican que las glándulas de von Ebner segregan una proteína que tendría como misión fijar las moléculas productoras de sabor. Ello implica que la secreción de estas glándulas ayuda a concentrar las sustancias con sabor sobre los botones gustativos ³⁵.

1.3.3. Características especiales de la lengua de ratón

A diferencia de los seres humanos, los ratones sólo tienen una papila circunvalada, la cual está conformada por un botón central rodeado por dos "medias lunas", derecha e izquierda, cada una formada por un grupo de aproximadamente seis pequeños tubérculos dispuestos con orientación semicircular, los posteriores son los de mayor tamaño ^{45,46,47,48}.

Las papilas fungiformes, por su parte, poseen las características descritas para el ser humano, con la única diferencia de que en los roedores presentan sólo un corpúsculo gustativo ^{45,46,47,48}.

Las papilas filiformes se encuentran más queratinizadas y algunas de ellas presentan doble vértice⁴⁷.

Aparentemente los ratones carecen de glándulas de Blandin y Nünh, mientras que las de Weber y de von Ebner presentan las características de disposición y secreción descritas con anterioridad.

No existen diferencias estructurales en el tejido amigdalino.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Mn es un metal muy abundante en el ambiente, sobre todo en zonas urbanas. La intoxicación por este metal provoca alteraciones hematológicas (principalmente anemia) y en distintos órganos. Sin embargo, no se conoce el impacto que la contaminación por este metal atmosférico ejerce en la cavidad bucal, especialmente en la lengua.

3. JUSTIFICACIÓN

Estudios previos han referido cambios en varios órganos, secundarios a la inhalación de diversos metales. Poco se conoce de los cambios que estos contaminantes inducen en la cavidad bucal. En especial, no hemos encontrado reportes de alteraciones bucales a causa de la inhalación de manganeso (Mn), contaminante atmosférico presente en zonas urbanas, como la ciudad de México.

Debido a que la lengua, al formar parte de la pared anterior de la bucofaringe, y al ser el órgano más grande de la cavidad bucal, ofrece una gran superficie de contacto con los contaminantes atmosféricos, decidimos

Las papilas filiformes se encuentran más queratinizadas y algunas de ellas presentan doble vértice⁴⁷.

Aparentemente los ratones carecen de glándulas de Blandin y Nünh, mientras que las de Weber y de von Ebner presentan las características de disposición y secreción descritas con anterioridad.

No existen diferencias estructurales en el tejido amigdalino.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Mn es un metal muy abundante en el ambiente, sobre todo en zonas urbanas. La intoxicación por este metal provoca alteraciones hematológicas (principalmente anemia) y en distintos órganos. Sin embargo, no se conoce el impacto que la contaminación por este metal atmosférico ejerce en la cavidad bucal, especialmente en la lengua.

3. JUSTIFICACIÓN

Estudios previos han referido cambios en varios órganos, secundarios a la inhalación de diversos metales. Poco se conoce de los cambios que estos contaminantes inducen en la cavidad bucal. En especial, no hemos encontrado reportes de alteraciones bucales a causa de la inhalación de manganeso (Mn), contaminante atmosférico presente en zonas urbanas, como la ciudad de México.

Debido a que la lengua, al formar parte de la pared anterior de la bucofaringe, y al ser el órgano más grande de la cavidad bucal, ofrece una gran superficie de contacto con los contaminantes atmosféricos, decidimos

Las papilas filiformes se encuentran más queratinizadas y algunas de ellas presentan doble vértice⁴⁷.

Aparentemente los ratones carecen de glándulas de Blandin y Nünh, mientras que las de Weber y de von Ebner presentan las características de disposición y secreción descritas con anterioridad.

No existen diferencias estructurales en el tejido amigdalino.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Mn es un metal muy abundante en el ambiente, sobre todo en zonas urbanas. La intoxicación por este metal provoca alteraciones hematológicas (principalmente anemia) y en distintos órganos. Sin embargo, no se conoce el impacto que la contaminación por este metal atmosférico ejerce en la cavidad bucal, especialmente en la lengua.

3. JUSTIFICACIÓN

Estudios previos han referido cambios en varios órganos, secundarios a la inhalación de diversos metales. Poco se conoce de los cambios que estos contaminantes inducen en la cavidad bucal. En especial, no hemos encontrado reportes de alteraciones bucales a causa de la inhalación de manganeso (Mn), contaminante atmosférico presente en zonas urbanas, como la ciudad de México.

Debido a que la lengua, al formar parte de la pared anterior de la bucofaringe, y al ser el órgano más grande de la cavidad bucal, ofrece una gran superficie de contacto con los contaminantes atmosféricos, decidimos

estudiar los cambios morfológicos que sufre en un modelo murino de exposición a Mn por vía inhalada.

4. HIPÓTESIS

Si el Mn, contaminante presente en las partículas suspendidas (PST), que provoca alteraciones hematológicas (principalmente anemia) y en distintos órganos, ingresa al organismo por vía inhalada, entonces será factible encontrar alteraciones morfológicas en la lengua en un modelo de exposición inhalada en ratón.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

1. Identificar los cambios morfológicos de la lengua como consecuencia de la exposición aguda, subaguda y subcrónica a Mn por vía inhalada.

5.2. Objetivos Específicos

1. Identificar los cambios morfológicos por microscopia óptica (MO) y electrónica de barrido (MEB) de las papilas linguales: filiformes, fungiformes y circunvalada como consecuencia de la exposición aguda, subaguda y subcrónica a Mn por vía inhalada.
2. Identificar los cambios morfológicos por MO y MEB de la amígdala lingual como consecuencia de la exposición aguda, subaguda y subcrónica a Mn por vía inhalada.
3. Identificar los cambios morfológicos por MO en el tejido conjuntivo lingual y en las glándulas de Von Ebner y de Weber, como

estudiar los cambios morfológicos que sufre en un modelo murino de exposición a Mn por vía inhalada.

4. HIPÓTESIS

Si el Mn, contaminante presente en las partículas suspendidas (PST), que provoca alteraciones hematológicas (principalmente anemia) y en distintos órganos, ingresa al organismo por vía inhalada, entonces será factible encontrar alteraciones morfológicas en la lengua en un modelo de exposición inhalada en ratón.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

1. Identificar los cambios morfológicos de la lengua como consecuencia de la exposición aguda, subaguda y subcrónica a Mn por vía inhalada.

5.2. Objetivos Específicos

1. Identificar los cambios morfológicos por microscopía óptica (MO) y electrónica de barrido (MEB) de las papilas linguales: filiformes, fungiformes y circunvalada como consecuencia de la exposición aguda, subaguda y subcrónica a Mn por vía inhalada.
2. Identificar los cambios morfológicos por MO y MEB de la amígdala lingual como consecuencia de la exposición aguda, subaguda y subcrónica a Mn por vía inhalada.
3. Identificar los cambios morfológicos por MO en el tejido conjuntivo lingual y en las glándulas de Von Ebner y de Weber, como

consecuencia de la exposición aguda, subaguda y subcrónica a Mn por vía inhalada.

4. Valorar la relación entre los posibles cambios morfológicos de las estructuras linguales y los datos obtenidos de la biometría hemática.

6. MATERIAL Y MÉTODO

6.1. Tipo de estudio

Realizamos un estudio experimental: de tipo longitudinal y comparativo.

6.2. Población de estudio

Se utilizaron 48 ratones CD1, machos, de 30 g de peso y aproximadamente tres meses de edad; de los cuales, 32 fueron expuestos a $MnCl_2$ por vía inhalada (población expuesta) y 16 (población control), inhalaron únicamente el vehículo (agua bidestilada y desionizada).

6.3. Variables

6.3.1. Variables dependientes

- Atrofia. Se entiende como la disminución del volumen papilar. Se midió a nivel nominal.
- Descamación. Se entiende como el desprendimiento de elementos epiteliales, en forma de escamas o membranas. Se midió a nivel nominal.

consecuencia de la exposición aguda, subaguda y subcrónica a Mn por vía inhalada.

4. Valorar la relación entre los posibles cambios morfológicos de las estructuras linguales y los datos obtenidos de la biometría hemática.

6. MATERIAL Y MÉTODO

6.1. Tipo de estudio

Realizamos un estudio experimental: de tipo longitudinal y comparativo.

6.2. Población de estudio

Se utilizaron 48 ratones CD1, machos, de 30 g de peso y aproximadamente tres meses de edad; de los cuales, 32 fueron expuestos a $MnCl_2$ por vía inhalada (población expuesta) y 16 (población control), inhalaron únicamente el vehículo (agua bidestilada y desionizada).

6.3. Variables

6.3.1. Variables dependientes

- **Atrofia.** Se entiende como la disminución del volumen papilar. Se midió a nivel nominal.
- **Descamación.** Se entiende como el desprendimiento de elementos epiteliales, en forma de escamas o membranas. Se midió a nivel nominal.

- Grosor del tejido conjuntivo subpapilar. Se entiende como el grosor de la lámina propia de los dos tercios anteriores de la lengua. Se midió en micras.
- Reacción de PAS. Se entiende como la afinidad de las glándulas linguales por la tinción a base de ácido periódico de Shift. Se midió en escala nominal (positivo o negativo).
- Reacción de PAS con diastasa. Se entiende como la afinidad de las glándulas linguales por la tinción a base de ácido periódico de Shift adicionado con la enzima diastasa. Se midió en escala nominal (positivo o negativo).
- Reacción de azul alciano. Se entiende como la afinidad de las glándulas linguales por esta tinción. Se midió en escala nominal (positivo o negativo).

6.3.2. Variables independientes

- Infiltrado inflamatorio. Se entiende como la presencia de células de defensa en el tejido lingual. Se midió en escala nominal (presente o ausente).
- Hematócrito. Se entiende como la proporción de elementos formes (células) por los que está constituida la sangre. Se midió en porcentaje.
- Hemoglobina. Se entiende como la cantidad de hemoglobina presente en determinada cantidad de sangre. Se expresó en unidades de g/L.
- Cuenta de eritrocitos. Se entiende como el número de eritrocitos presentes en determinada cantidad de sangre. Se expresó en unidades X^9/L .

- Volumen Globular Medio. Se entiende como el volumen medio de los eritrocitos, es decir, el tamaño del hematíe y permite catalogar a las células rojas como microcíticas, normocíticas o macrocíticas, dependiendo del volumen del glóbulo rojo. Se midió en fentolitros (fl).
- Cuenta de leucocitos. Se entiende como el número total de leucocitos presentes en una cantidad determinada de sangre. Se expresó en unidades X^9/L .
- Cuenta de neutrófilos. Se entiende como el número total de neutrófilos presentes en una cantidad determinada de sangre. Se expresó en unidades X^9/L .
- Cuenta de monocitos. Se entiende como el número total de monocitos presentes en una cantidad determinada de sangre. Se expresó en unidades X^9/L .
- Cuenta de plaquetas. Se entiende como el número total de plaquetas presentes en una cantidad determinada de sangre. Se expresó en unidades X^9/L .

6.4. Recursos

6.4.1. Recursos humanos

Se contó con la colaboración de:

1. Una doctora en ciencias de la salud, profesora titular de la asignatura de Histología, Jefa del Departamento de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Dra. Teresa Imelda Fortoul van der Goes.

2. Una médico cirujano, con nombramiento de técnica en Microscopía Electrónica en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. M. C. Silvia Antuna Bizarro.

3. Una cirujana dentista, coordinadora y profesora titular del Departamento de Medicina Bucal de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México. C. D. Luz del Carmen González García.

4. Una pasante de la carrera de Cirujano Dentista egresada de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Madeleine Edith Vélez Cruz.

5. Un histotecnólogo del Departamento de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. T. Verónica Rodríguez.

6. Un técnico en el procesamiento de microfotografías del Departamento de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Biól. Francisco Pasos.

6.4.2. Recursos materiales

Infraestructura

El estudio se realizó dentro de las instalaciones del laboratorio de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Cristalería

1. 84 frascos de cristal de 4 ml con rosca y tapa
2. 250 portaobjetos
3. 250 cubreobjetos
4. 2 vasos de precipitado de 50 ml
5. 2 vasos de precipitado de 1000 ml
6. 1 vaso de precipitado de 2000 ml
7. 2 probetas de 1000 ml

Equipo

1. Microscopio electrónico de barrido Jeol JSM 35CF
2. Cámara de ionizado
3. Cámara de desecado a punto crítico
4. Microscopio óptico de campo claro Olympus CH 30RF-100
5. Ultranebulizador Vilbis Ultra Neb 99
6. Analizador hematológico automatizado Arcus Diatrón Humatronin
7. Potenciómetro
8. Cámara de bioseguridad

Salas y soluciones

1. Cloruro de Manganeso al 0.02 M
2. 3 hojuelas de hidróxido de sodio
3. 80 gramos de paraformaldehido
4. 44 gramos de cacodilato de sodio
5. 320 gramos de glutaraldehido 2.5%
6. 18 gramos de cloruro de sodio

7. 1000 ml de buffer de fosfatos de sodio al 0.2 M
8. 1500 ml de alcohol etílico absoluto
9. 100 ml de acetona
10. 1 ampolleta de tetróxido de osmio
11. 4000 ml de agua desionizada
12. 4000 ml de agua destilada
13. 5 ml de ácido clorhídrico
14. 5 ml de hidróxido de sodio
15. Buffers pH 7 y pH 10

Varios

1. Tijeras Goldman Fox rectas
2. Tijeras Goldman Fox curvas
3. 1 caja de guantes
4. 1 caja de cubrebocas
5. Un paquete de navajas tipo gillette
6. Dos equipos de venoclisis
7. 20 aplicadores de madera
8. 20 pipetas plásticas desechables
9. 42 balines montamuestras para MEB
10. 30 frascos eppendorff con EDTA
11. 3 gramos de pegamento a base de plata
12. Cámara digital con resolución de 5 Megapíxeles
13. Procesador de datos con Windows XP y acceso a Internet
14. Impresora
15. Escáner
16. Memoria extraíble USB
17. Papelería

18. 100 placas fotográficas profesionales Kodak TMax 100

19. 50 hojas de papel fotográfico Ilford grado 3 brillante 22 x 28 cm

20. 1 rollo fotográfico ASA 100 35 mm de 36 exposiciones Kodak Color

6.5. Método

6.5.1. Inhalación

El experimento tuvo una duración de 12 semanas. Se realizaron dos inhalaciones por semana, cada una de 60 minutos, durante las cuales, los ratones fueron introducidos en una caja acrílica de 32 cm³, conectada a un nebulizador, con un flujo de 10 l/min (fig. 11).

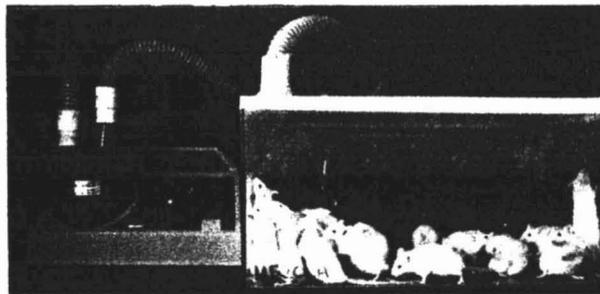


Fig. 11. Ratones dentro de la cámara de inhalación con el ultranebulizador conectado.
(Foto archivo)

Después de cada inhalación, los ratones se colocaron en sus respectivas cajas, donde tuvieron acceso libre al agua y a la comida (alimento comercial Purina^{MR}).

6.5.2. Sacrificio

Se sacrificaron 2 animales expuestos y 4 controles 24 horas después de la segunda inhalación de cada semana, excepto en la primer semana, en la

cual, se realizó un sacrificio después de la primera inhalación (exposición aguda).

Durante las primeras 6 semanas los sacrificios fueron consecutivos, finalmente, se concluyó con uno a las 12 semanas de inhalación (tabla 9).

Tabla 9. Esquema de inhalaciones y sacrificios

Exposición	Semana	Inhalación	Sacrificio (2 controles y 4 expuestos)		
Aguda	1	1	✓		
		2	✓		
		3			
		4	✓		
		5			
		6	✓		
Subaguda	2	7			
		8	✓		
		9			
		10	✓		
		11			
		12	✓		
		13			
		14			
		15			
		16			
		17			
		18			
		19			
		20			
		21			
		22			
		Subcrónica	3	23	
				24	✓

A cada ratón le fue administrada una dosis letal intraperitoneal de pentobarbital sódico (fig. 12).



Fig. 12. Anestesia intraperitoneal
(Foto archivo)

Una vez anestesiados se les efectuó una punción cardiaca, con la cual se obtuvo la sangre necesaria para realizar una biometría hemática (de 0.5 a 1 ml aprox.). La sangre se colectó en tubos Eppendorf (con EDTA como anticoagulante) (fig. 13), que fueron sumergidos en hielo durante su transporte al laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, donde se realizaron los estudios hematológicos por el método automatizado.



Fig. 13. Punción cardiaca y obtención de
la muestra de sangre
(Foto archivo)

Posteriormente, los ratones se perfundieron vía intracardiaca solución de Karnovsky (glutaraldehído 2.5% y paraformaldehído en buffer de cacodilatos 0.1 M, pH 7.2), previo lavado con solución fisiológica (Fig. 14).



Foto 14. Perfusión intracardiaca
(Foto archivo)

Para facilitar el acceso a la cavidad bucal, se realizó un corte a nivel de cada comisura con tijeras Goldman Fox rectas. En seguida, se seccionó el frenillo lingual con ayuda de unas tijeras Goldman Fox curvas. El corte posterior abarcó hasta la epiglotis, para evitar mutilar la muestra.

6.5.3. Procesamiento de la muestra

Las lenguas introdujeron en un frasco con solución de Karnovsky durante dos horas, una vez transcurridas, se les realizaron dos cortes parasagitales (fig. 11).

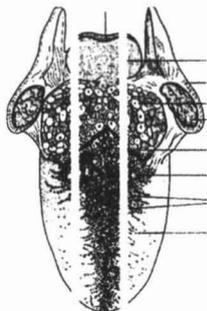


Fig. 15

La porción central y uno de los extremos laterales, se procesaron para MEB, el extremo restante, para MO.

El tejido estudiado en MO se sumergió en formol al 10%, y el analizado en MEB, en glutaraldehído 2.5% con buffer de fosfatos 0.1 M, a pH 7.2.

Las muestras para MO, se procesaron de acuerdo a la técnica habitual: fijación, deshidratación, aclaración, inclusión, corte, tinción (hematoxilina y eosina, PAS, PAS con diastasa, azul anciano y Mallory) y montaje ^{41,42}.

Las muestras para MEB se procesaron de acuerdo con la técnica descrita por Vázquez Nin: osmicado, deshidratación, desecación, montaje e ionización ^{43,44}.

6.6. Análisis de la información

6.6.1. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Se elaboró un análisis descriptivo de las siguientes estructuras, observadas con el aumento señalado: base de la lengua, 480X; papila circunvalada, 200X; papila fungiforme, 1500X.

6.6.2. Microscopía óptica (MO)

A. Hematoxilina y eosina. Con esta tinción se analizó la presencia o ausencia (reportadas como positivo y negativo, respectivamente), de infiltrado inflamatorio en las amígdalas, glándulas salivales menores y en el tejido conjuntivo subpapilar.

B. PAS (ácido periódico de Schiff), PAS con diastasa y azul alciano. Con estas tinciones se evaluó el contenido de los acinos de las glándulas de von Ebner y de Weber. La tinción de PAS es útil para identificar glucógeno, almidón, celulosa, mucinas, quitina, fibrina y colágeno, entre otros. La reacción de PAS con diastasa, elimina el glucógeno del tejido, haciendo evidente la presencia del resto de las sustancias afines al ácido periódico.

El azul alciano tiñe de color azul a los mucopolisacáridos ácidos y de magenta a los neutros. Las glándulas se reportaron como positivas o negativas a cada una de las tinciones.

C. Mallory. La afinidad de las fibras del tejido conjuntivo hacia esta tinción, nos fue muy útil para valorar los cambios en el tejido conjuntivo subpapilar. Se registraron cinco medidas de esta estructura por cada muestra, de las que, posteriormente, se obtuvo la media y el error estándar por inhalación, utilizando el método ANOVA-Tukey,

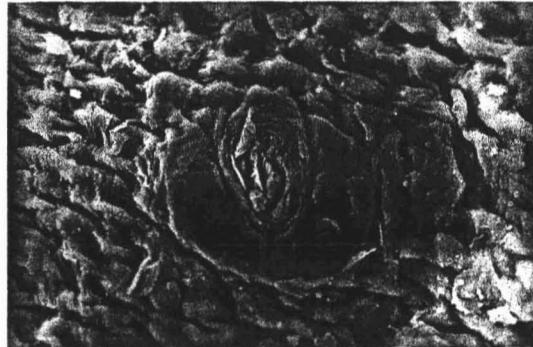
6.6.3. Biometría Hemática

Se obtuvo la media y el error estándar (ANOVA) de los valores eritrocitarios reportados en la biometría hemática, así como de aquellos valores que presentaron cambios significativos.

7. RESULTADOS

7.1. Microscopia electrónica de barrido

7.1.1. Amígdala



240 x Control

En esta micrografía control, se observa una cripta circundada por tejido amigdalino dispuesto en forma de pliegues.

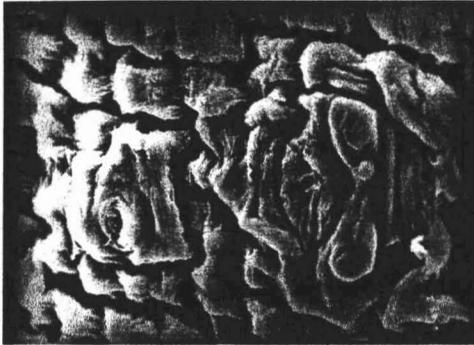


8 inh 240 x

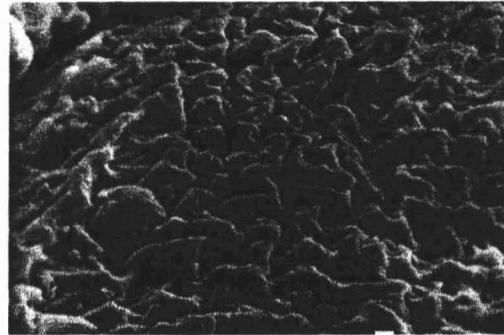


10 inh 240 x

A partir de la octava inhalación se observó atrofia y aspecto poroso tanto de las criptas amigdalinas como de su tejido circundante. Esta atrofia se hizo más evidente en la décima inhalación.



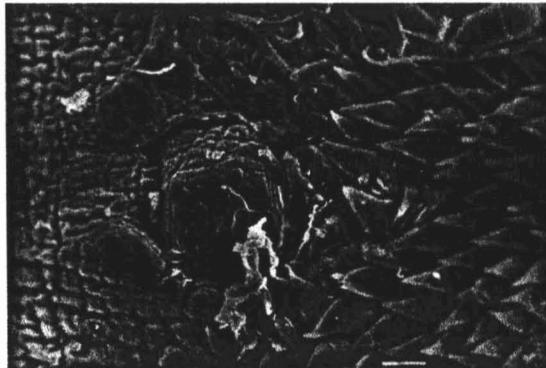
12 inh 240 x



24 inh 240 x

Durante la doceava y vigésimo cuarta inhalaciones, tanto las criptas como su tejido circundante mostraron una apariencia esponjosa a causa de un incremento en el volumen en estas estructuras.

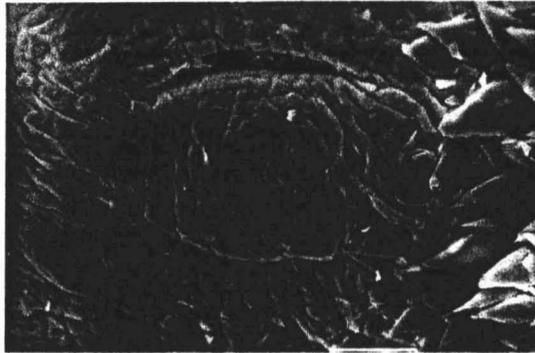
7.1.2. Papila circunvalada



100X Control

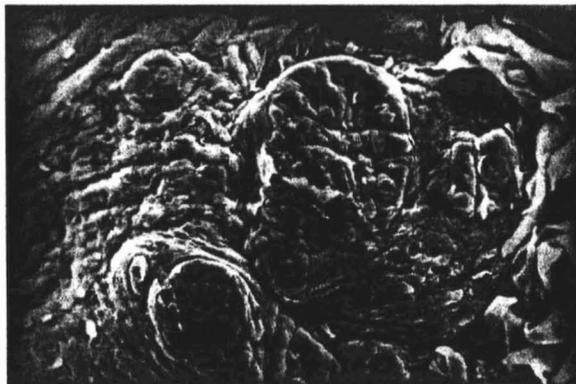
En esta micrografía de un individuo control se aprecia una papila circunvalada, cuya superficie es compacta, sin descamación evidente y con surcos poco profundos.

El botón aparece parcialmente invadido por tejido amigdalino en su porción posterior.



4 inh 200X

Durante la cuarta inhalación, la papila circunvalada se presentó compacta, menos elevada y sin tubérculos diferenciados, en comparación con el control, dando un aspecto similar al del tejido amigdalino.

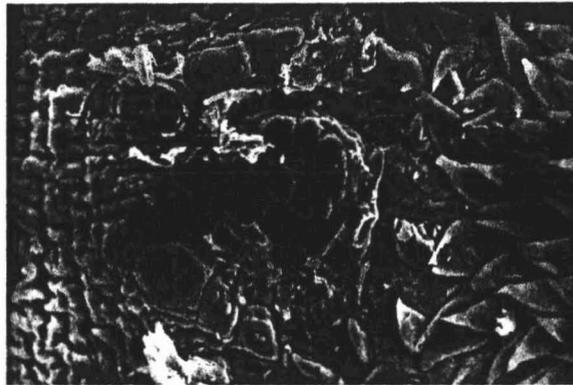


10 inh 200X

En la décima inhalación, se observó atrofia evidente en la papila circunvalada, adquiriendo características semejantes a las que presentó el tejido amigdalino durante esta misma inhalación.

Aparecieron múltiples surcos profundos en la superficie coronal del botón, donde también se aprecia una descamación epitelial moderada.

El surco circunvalador se evaginó y desaparecieron los tubérculos de las medias lunas, excepto los posteriores.

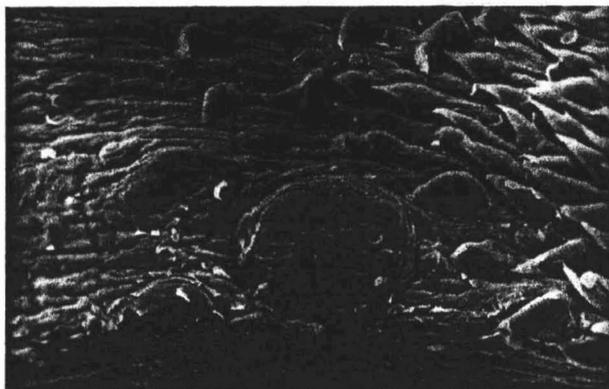


12 inh 200X

Durante la doceava inhalación, la papila circunvalada se observó mejor diferenciada que en la décima.

Aunque mostró un marcado aumento en la descamación epitelial, los tubérculos de las medias lunas podían ser distinguidos con facilidad.

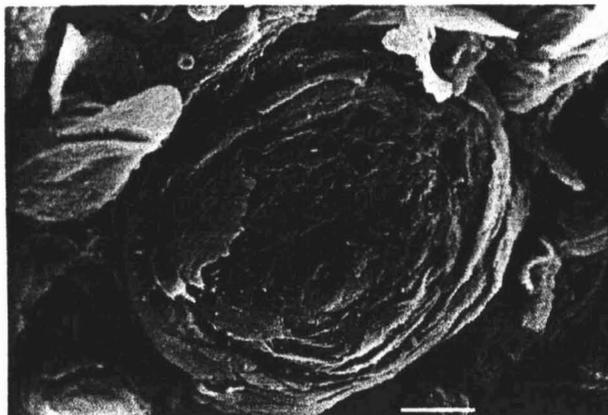
El surco circunvalador presentó las características habituales.



24 inh 200X

En la vigésimocuarta inhalación, se observaron papilas circunvaladas poco elevadas, con un surco circunvalador poco evidente, rodeado únicamente por dos tubérculos aplanados a cada lado.

7.1.3. Papilas fungiformes



Control 1500X

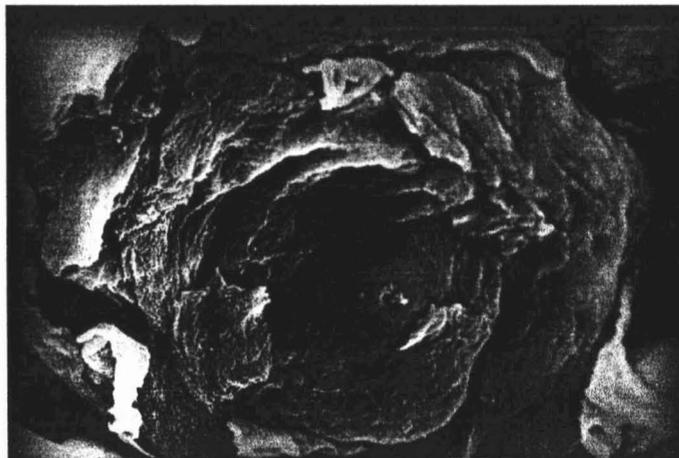
En esta micrografía control se aprecia una papila fungiforme elevada y compacta. En su centro se pueden observar múltiples células epiteliales

con disposición concéntrica, que al descamarse forman la delgada base de la papila.



6 inh 1500X

Durante la sexta inhalación se observó un aumento en el grosor de la base, la cual estaba separada del centro por un surco profundo muy evidente.



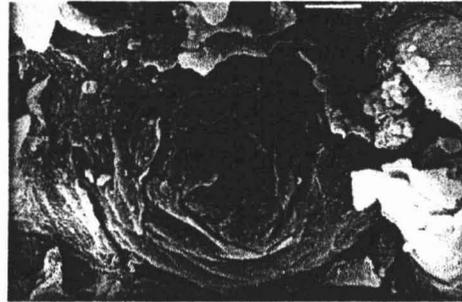
10 inh 1500X

En la décima inhalación, la base de papila fungiforme apareció más engrosada que en las inhalaciones precedentes. Se observó una marcada

descamación epitelial, por lo cual la papila perdió su apariencia compacta, adquiriendo un aspecto de rosa.



12 inh 1500X



24 inh 1500X

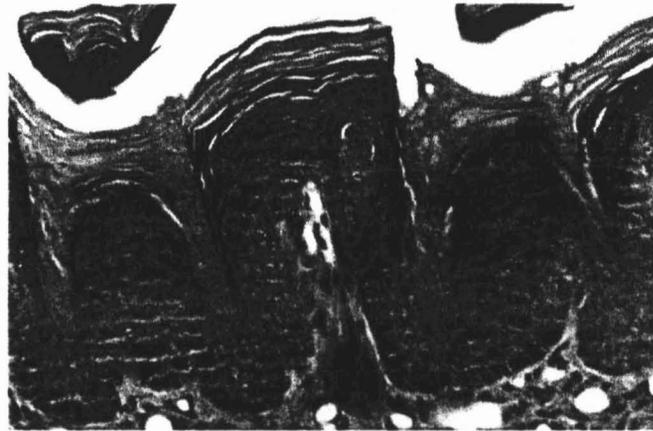
En las doceava y vigésimo cuarta inhalaciones, las papilas fungiformes conservaron una descamación celular muy marcada.

En la doceava inhalación no había una base definida, mientras que en la vigésimo cuarta podía distinguirse una base delgada, separada del centro por un surco muy superficial.

En ambas inhalaciones se presentó un aumento en la colonización bacteriana.

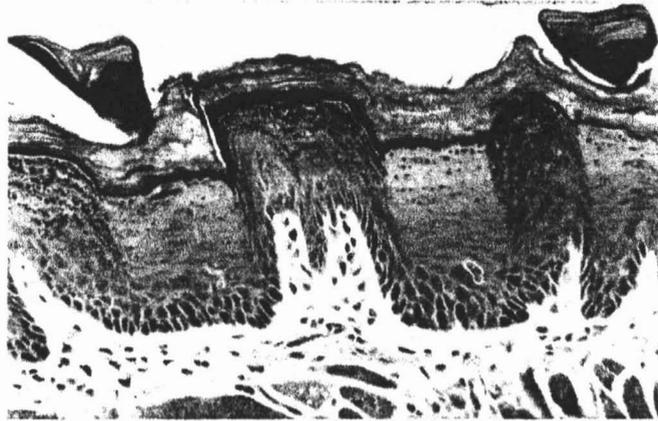
7.2. Microscopia óptica

7.2.1. Papila fungiforme



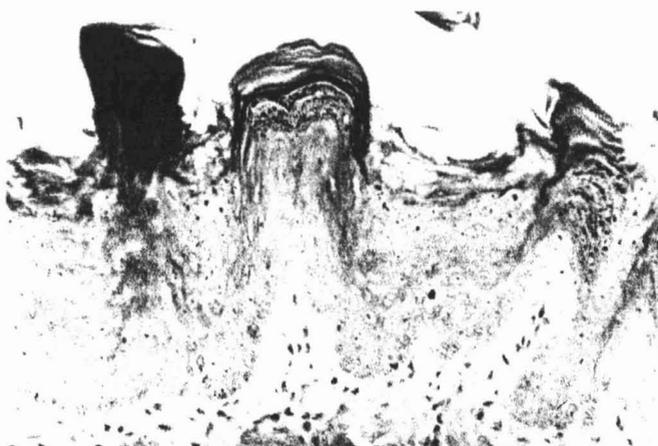
Mallory 20X Control

En esta micrografía control se puede apreciar una papila fungiforme, la cual presenta un núcleo central de tejido conjuntivo. No se aprecia el corpúsculo gustativo.



H y E 20X
4 inh

Durante la cuarta inhalación, se observó un aumento en la proporción de la papila primaria de tejido conjuntivo con respecto al tejido epitelial. Las papilas secundarias también se hicieron más evidentes.

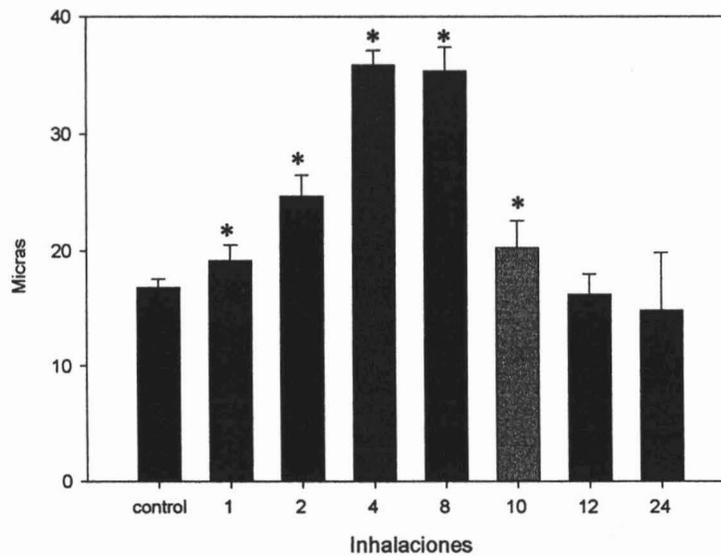


Mallory 20X
12 inh

En la doceava inhalación, la papila primaria de tejido conjuntivo disminuyó de tamaño y no se apreciaron papilas secundarias.

7.2.2. Tejido conjuntivo subpapilar

Al observar los cambios en la proporción del tejido conjuntivo en las papilas fungiformes, decidimos evaluar el espesor de todo el tejido conjuntivo subpapilar. Como fue descrito, se hicieron cinco mediciones a lo largo del dorso de la lengua (la base no fue tomada en cuenta por la presencia de tejido amigdalino), las cuales posteriormente fueron estudiadas estadísticamente (gráfica 1).



* $p < 0.05$ Tukey

Gráfica 1. Grosor del tejido conjuntivo subpapilar.



**Mallory 10 x
Control**

En los controles la media fue de 17 micras. Durante la primera y segunda inhalaciones, estos valores aumentaron a 19 y 25 micras, respectivamente.

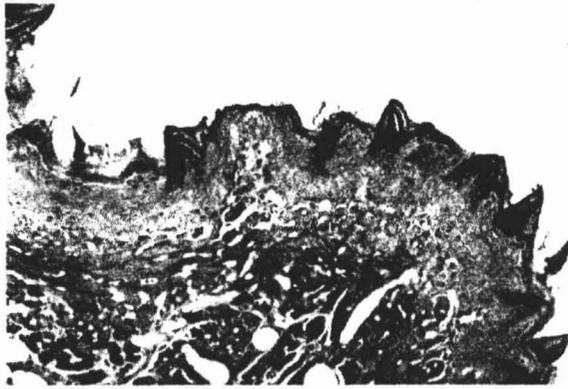


**Mallory 10 x
4 inh**

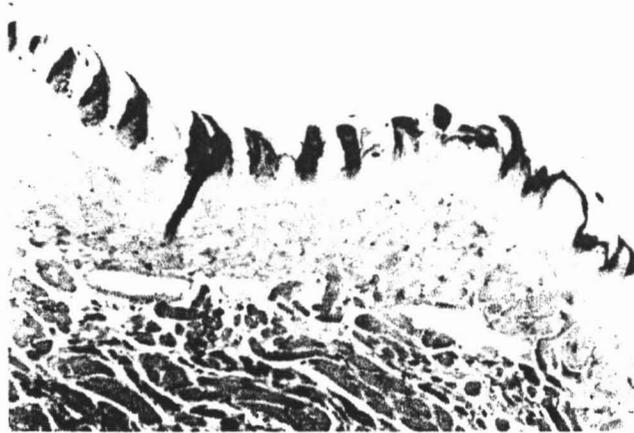


**Mallory 10 x
8 inh**

En la cuarta y octava inhalaciones, se apreció un engrosamiento muy evidente del tejido conjuntivo subpapilar, dando una media de 36 y 34 micras, respectivamente.



**Mallory 10 x
12 inh**

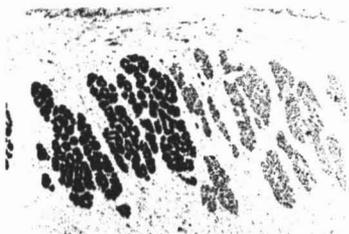


**Mallory 10x
24 inh**

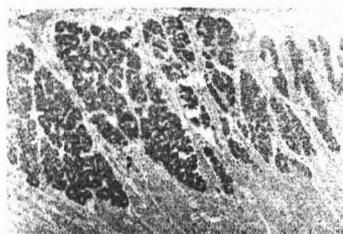
En las inhalaciones doceava y vigésimo cuarta, se apreció una considerable disminución en el espesor del tejido conjuntivo subpapilar, los valores fueron ligeramente menores a los de los controles, 15 y 13.5 micras, respectivamente.

7.2.3. Glándulas salivales

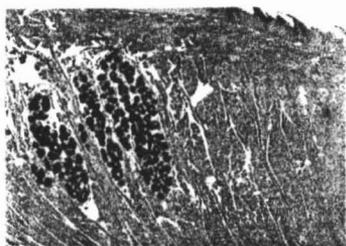
En los ratones, aparentemente no hay glándulas de Blandin y Nühn, por lo cual únicamente estudiamos las glándulas de Weber y las de von Ebner.



**PAS 4x
Control**

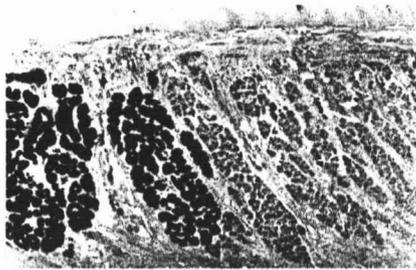


**PAS/ Diastasa 4x
Control**

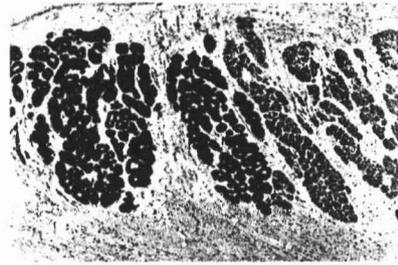


**Azul alciano 4x
Control**

Tanto en los controles, como en las muestras de ratones expuestos, el 100% de las glándulas de Weber se mantuvo positivo a las tinciones con PAS, PAS con diastasa y azul alciano. Mientras que las glándulas de von Ebner, se mantuvieron negativas a todas estas tinciones en el 100% de los casos.



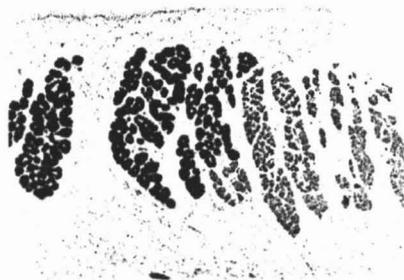
**PAS 4x
6 inh**



**PAS/ Diastasa 4x
6 inh**



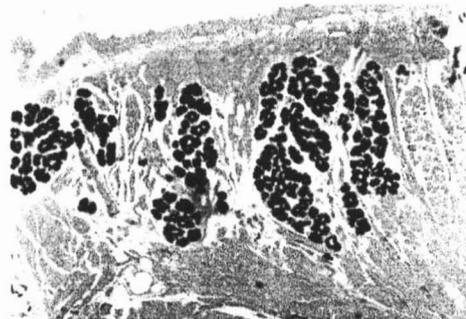
**Azul alciano 4x
6 inh**



**PAS 4x
12 inh**



**PAS/ Diastasa 4x
12 inh**



**Azul Alciano
12 inh**

7.2.4. Infiltrado inflamatorio

El infiltrado inflamatorio agudo se presentó únicamente en dos muestras, durante la décima inhalación. Éste se observó en las glándulas de Weber y en la amígdala lingual.



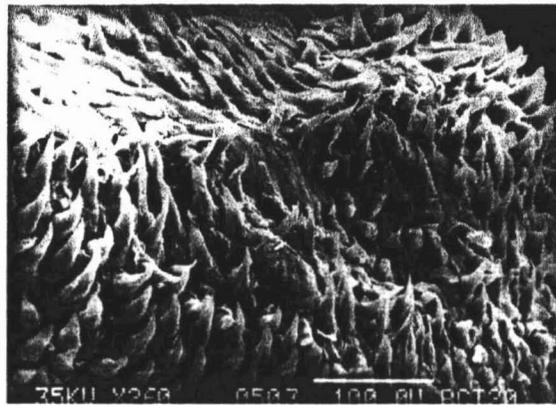
H y E 10 x
10 inh



H y E 4x
10 inh

7.2.5. Depapilación

A partir de la octava inhalación, comenzaron a presentarse pequeñas áreas depapiladas, principalmente en el tercio anterior del dorso de la lengua.



**MEB 260 x
8 inh**

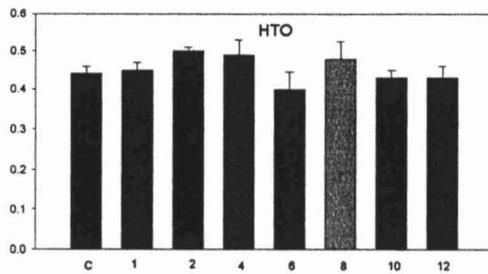


**Mallory 4 x
12 inh**

7.3. Biometría hemática

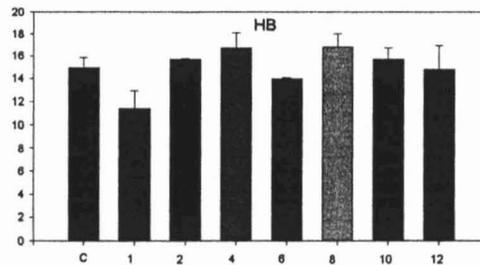
Los resultados de la biometría hemática no fueron concluyentes.

Los valores eritrocitarios se mantuvieron constantes. El único de éstos que mostró cambios estadísticamente significativos fue el volumen globular medio (VGM). No encontramos datos que sugirieran anemia en la población expuesta.



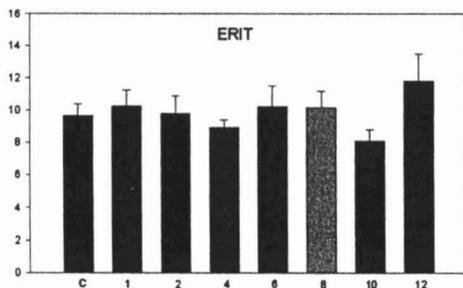
* ANOVA $p < 0.05$

Gráfica 2. Hematócrito



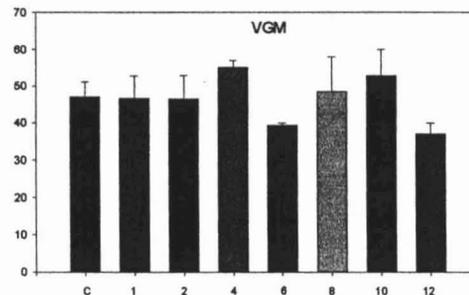
* ANOVA $p < 0.05$

Gráfica 3. Hemoglobina



* ANOVA $p < 0.05$

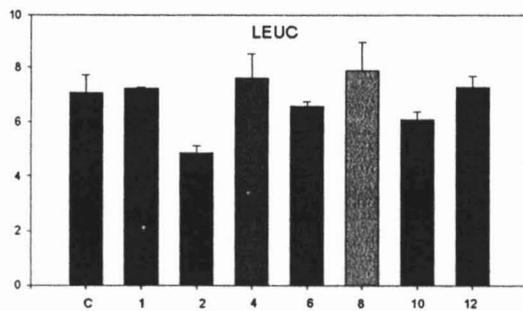
Gráfica 4. Cuenta de eritrocitos



* ANOVA $p < 0.05$

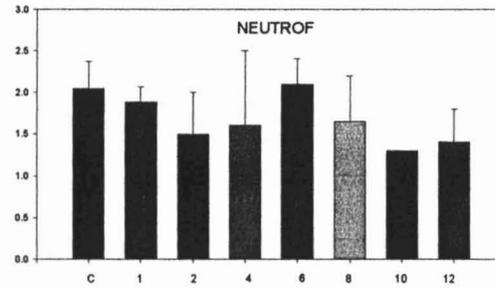
Gráfica 5. Volumen Globular Medio

La cuenta de leucocitos totales se mantuvo constante, mientras que los neutrófilos mostraron una disminución en número. Los linfocitos se mantuvieron constantes. Los datos correspondientes al número de monocitos son confusos y difíciles de interpretar. Las plaquetas mostraron un constante aumento, lo cual no se refleja en la gráfica, debido a que en varias de nuestras muestras el número total de plaquetas no pudo contabilizarse ya que éstas aparecían formando cúmulos.



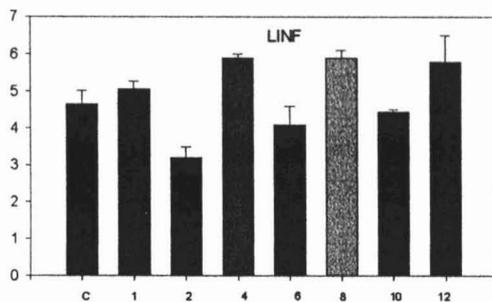
* ANOVA $p < 0.05$

Gráfica 6. Cuenta de leucocitos



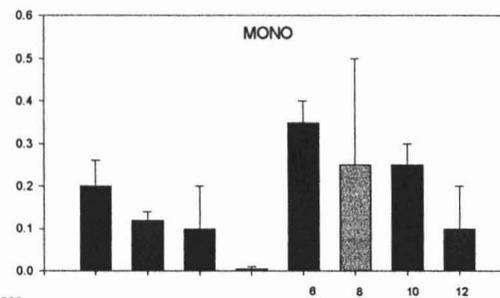
* ANOVA $p < 0.05$

Gráfica 7. Cuenta de neutrófilos



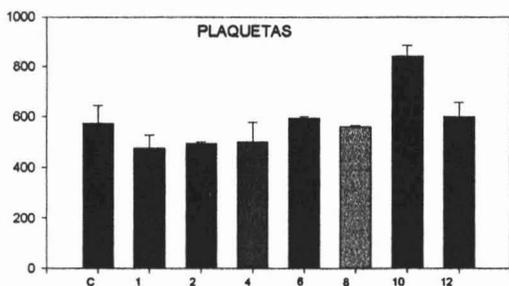
* ANOVA $p < 0.05$

Gráfica 8. Cuenta de linfocitos



* ANOVA $p < 0.05$

Gráfica 9. Cuenta de monocitos



* ANOVA $p < 0.05$

Gráfica 10. Cuenta de plaquetas

8. DISCUSIÓN

Diversos estudios han reportado una disminución del hematócrito, secundaria a la exposición a Mn por vía oral. Se ha señalado que la aparición de anemia ferropénica (hipocrómica y microcítica) es consecuencia de la competencia observada entre este elemento y el Fe^{13,14,19,20,21,23,25}.

Por otra parte, desde hace años se sabe que una de las principales manifestaciones de la anemia ferropénica se presenta en la lengua, en forma de un cuadro denominado glositis, en el cual a causa de la escasez de tejido conjuntivo, el epitelio de las papilas filiformes se atrofia, resultando en una lengua lisa (depapilada) y dolorosa (glosodinia)^{30,32,35,49}.

Debido a la asociación entre intoxicación por Mn y anemia ferropénica, y entre esta última y la depapilación lingual, consideramos pertinente utilizar un estudio de biometría hemática que nos ayudara a determinar si los cambios morfológicos que se presentasen estaban relacionados con la deficiencia de Fe.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

En nuestro modelo, se observó una ligera disminución del volumen globular medio sin cambios estadísticamente significativos en las concentraciones de hemoglobina, lo cual indica que nuestros animales no padecían de anemia al momento de ser sacrificados.

La razón por la que no observamos cambios hematológicos significativos, puede ser tanto el número insuficiente de muestras, como el compuesto utilizado ($MnCl_2$), el cual a pesar de ser muy soluble, tiene una competencia limitada con el Fe (debido a su valencia +2). Se ha reportado que los compuestos con valencia +3 tienen una mayor afinidad por la transferrina (y por lo tanto mayor probabilidad de inducir anemia ferropénica), sin embargo éstos tienen una reducida solubilidad, lo cual dificultaría su absorción a nivel pulmonar en nuestro modelo ^{16,19,25}.

A pesar de la ausencia de anemia, aparecieron áreas repapiladas a partir de la exposición subcrónica, por lo que podemos proponer a la exposición a Mn por vía inhalada como otra causa de pérdida de papilas filiformes.

La ausencia de cambios morfológicos en las glándulas linguales, puede sugerir que tampoco existen alteraciones en las glándulas salivales mayores.

La evaginación del surco circunvalador durante la décima semana de inhalación, dejó expuestos los corpúsculos gustativos presentes en la papila circunvalada, lo cual podría aumentar la percepción de los sabores amargos. La hipergeusia descrita para otros metales como el cobre, el zinc y el níquel, probablemente está relacionada con este mecanismo ³⁵.

No sabemos si los cambios observados en la amígdala y en el dorso de la lengua son específicos para el Mn. Para ello se requiere de futuros estudios que evalúen este efecto, utilizando el mismo modelo de inhalación y diferentes MP.

No encontramos antecedentes que nos ayuden a explicar los cambios observados en el tejido conjuntivo subepitelial, ya que la mayoría de los estudios del Mn se han centrado en los síntomas respiratorios y en las alteraciones que provoca dentro del SNC ^{13,16,19,22,23,24,25,27,28}.

9. CONCLUSIONES

- La inhalación subcrónica de Mn en un modelo murino provoca alteraciones morfológicas en la amígdala lingual y en la papila circunvalada, observadas por MEB.
- La inhalación de subaguda y subcrónica de Mn induce cambios en el tejido conjuntivo subpapilar (engrosamiento en la inhalación subaguda y adelgazamiento en la subcrónica) observados por MO.
- La inhalación subcrónica de Mn no tiene efectos en las glándulas linguales, observadas por MO.
- Las zonas depapiladas observadas en MO ocurrieron en ausencia de anemia ferropénica.
- Los resultados de la biometría hemática no fueron concluyentes, probablemente debido a un número reducido de muestras.

No sabemos si los cambios observados en la amígdala y en el dorso de la lengua son específicos para el Mn. Para ello se requiere de futuros estudios que evalúen este efecto, utilizando el mismo modelo de inhalación y diferentes MP.

No encontramos antecedentes que nos ayuden a explicar los cambios observados en el tejido conjuntivo subepitelial, ya que la mayoría de los estudios del Mn se han centrado en los síntomas respiratorios y en las alteraciones que provoca dentro del SNC ^{13,16,19,22,23,24,25,27,28}.

9. CONCLUSIONES

- La inhalación subcrónica de Mn en un modelo murino provoca alteraciones morfológicas en la amígdala lingual y en la papila circunvalada, observadas por MEB.
- La inhalación de subaguda y subcrónica de Mn induce cambios en el tejido conjuntivo subpapilar (engrosamiento en la inhalación subaguda y adelgazamiento en la subcrónica) observados por MO.
- La inhalación subcrónica de Mn no tiene efectos en las glándulas linguales, observadas por MO.
- Las zonas depapiladas observadas en MO ocurrieron en ausencia de anemia ferropénica.
- Los resultados de la biometría hemática no fueron concluyentes, probablemente debido a un número reducido de muestras.

10. PROPUESTAS DE INVESTIGACIÓN EN EL FUTURO

Se sugiere abrir una línea de investigación hacia el área de la microbiología, con la finalidad de analizar los cambios en la microflora bucal durante la exposición a Mn y a otros MP, debido a que se observó un aumento en la colonización bacteriana del dorso de la lengua durante la doceava y vigésimo cuarta exposiciones.

Es importante continuar con estudios que evalúen los cambios que sufren las estructuras orales a causa de la exposición a MP y a otros contaminantes para poder capacitar al Cirujano Dentista en el diagnóstico de estas intoxicaciones.

11. REFERENCIAS

1. Albert Lilia A. Toxicología ambiental. Universidad Autónoma de Cd. Juárez. 1ª edición. 1994.
2. Riveros-Rosas Héctor. Personal Exposure to elements in Mexico City air. *The Science of the Total Environment*, 1997; 198: 79-96.
3. [http:// www.inegi.gob.mx](http://www.inegi.gob.mx). Censo de población y vivienda 2000. Citado el 19 de mayo 2005 a las 9:00 a. m.
4. Rosales-Castillo J. A., Borja-Aburto V. H. Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: evidencias de estudios epidemiológicos. *Salud pública de México*, 2001; 43 (6).
5. Duffus, J. H. "Heavy metals"- a meaningless term-. *Pure Applied Chemistry* 2002; 74 (5): 793-807.
6. Shinitman Norberto I. Metales pesados, ambiente y salud. *Ecoportal.net*. Citado el 6 de abril del 2005. Disponible en: <http://www.ecoportal.net>.
7. Hawkes, S. J. What is a "Heavy Metal". *J. Chem. Educ.* 1997; 74: 1374.
8. Neville Brad W. *Oral and Maxillofacial Pathology*. Edit. W.B. Saunders Company. 1ª edición. 2002.
9. Dainhtith John. *A dictionary of Chemistry*. Oxford University Press. 3ª edición. 1996.

10. Atkins P. W., Química general. Editorial Omega. 1ª edición. 1991.
11. Santos-Burgoa Carlos. Exposure to Mn: Health Effects on the General Population: a Pilot Study in Central Mexico. Environmental Research 2001; Section A: 90-104.
12. <http://environmentalchemistry.com/yogi/periodic/Mn.html>. Citado el 19 de mayo 2005 a las 9:00 a. m.
13. García Sayago Francisco. Monitorización de metales de interés mediambiental en la población de Tarragona, niveles en tejidos de autopsia. Tesis doctoral. Universitat Rovira I Virgili. 2000.
14. Jerome A. Roth. Iron interactions and other biological reactions mediating the physiological and toxic actions of manganese. Biochemical Pharmacology 2003; 66 (1): 1-13.
15. Fortoul van der Goes T. Manganese in Lung Tissue: Study of Mexico City Residents' Autopsy Records from the 1960s and 1990s. Archives of Environmental Health 2001; 56 (2): 187-190.
16. World Health Organization (WHO). Concise International Chemical Assessment Document 63: Manganese and its compounds: Environmental aspects. United Kingdom: WHO, 2004.
17. <http://es.wikipedia.org>. Citado el 25 de abril de 2004, 11:30 p.m..

18. <http://www.webelements.com/webelements/elements/text/Mn/index.html>.
Citado el 25 de abril 11:30 p.m.
19. Aschner Michael. Manganese Dosimetry: Species Differences and implications for Neurotoxicology. *Clinical Reviews in Toxicology* 2005; 35: 1-32.
20. Jacobs Meter. Macronutrientes: Manganeso. *Disease-A-Month* 2004; 50 (2): 1-3.
21. Chadi Yazbeck, Josaine Sauquillo. Effect of maternal manganese blood levels on erythrocyte calcium-pump activity in newborns. *Science of the Total Environment* 2004; 15: 1-7.
22. Massod Mashhadi A. B., Faranak Goodarzi M. S., A Longitudinal Follow-Up of Pulmonary Function and Respiratory Symptoms in Workers Exposed to Manganese. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 2002; 44 (3): 81-96.
23. Yangho Kim, Ji Kang Park, Jae Hoo Park. Blood Manganese Concentration is Elevated in Iron Deficiency Anemia Patients, Whereas Globos Pallidus Signal Intensity in Minimally Affected. *Neurotoxicology* 2005; 26 (1): 107-111.
24. Lewis J., Karlsson J. Trigeminal Uptake and Clearance of Inhaled Manganese Chloride in Rats and Mice. *Neurotoxicology* 2005; 26: 113-123.

25. World Health Organization (WHO). Concise International Chemical Assessment Document 12: Manganese and its compounds. USA. WHO, 1999.
26. Bader M., Dietz M. C. Biomonitoring of Manganese in blood, urine and axillary hair following a low-dose exposure during the manufacture of cry batteries. International Achieves of Occupational Environment Healt 1999; 72: 521-527.
27. Shukakidza A. The Behavioral Disorders in Rats Exposed to Acute and Chronic Manganese Intoxication. Annals of Biomedical Research and Education 2001; 1 (1): 1-14.
28. Tünde Vezér, András Papp. Behavioral and neurotoxic effects of subchronic manganese exposure in rats. Environmetal Toxicology and Parmacology 2005: 1 (1) 1-14
29. Gartner Leslie P. Histología texto y atlas. Interamericana-Mc Graw-Hill. 1ª edición. 1997.
30. Brand Richard W. Anatomía de las estructuras orofaciales. Harcourt Brace. 1ª edición. 1999.
31. Latarjet M. Ruiz Liard A. Anatomía Humana, Tomo II. Editoria Médica Panamericana. 3ª edición. 1995.
32. Fewcett Don W. Bloom Fewcett. Tratado de Histología. Interamericana-Mc Graw-Hill. 12ª edición. 1996.

33. Ross Michael H. Histología texto y atlas a color. Editorial Médica Panamericana. 3ª edición. 2003.
34. Leeson Thomas S., Leeson C. Roland. Texto-atlas de Histología. Interamericana-Mc Graw-Hill. 1ª edición, 1990.
35. Gómez de Ferraris M. E., Campos Muñoz A. Histología y embriología bucodental. Editorial Médica Panamericana. 2ª edición. 2003.
36. Géneser Finn. Histología. Editorial Médica Panamericana. 2ª edición. 1996.
37. <http://www.lauca.usach.cl/histología/lengua3.htm>. Citado el 25 de abril 11:30 p.m.
38. Ham Arthur W. Tratado de Histología. Editorial Interamericana. 7ª edición. 1975.
39. <http://www.uv.es/.../05-lengua-intDelg.htm>. Citado el 25 de abril 11:30 p.m.
40. Jukka Leionen, Hannu Rajaniemi. Secretion of Carbonic Anhidrasa Isoenzyme VI (CA VI) from Human and Rat Lingual von Ebner's Glands. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry 2001; 49 (5): 657-662.
41. Luna Lee G. Manual of Histologyc staining methods of the Armed Forced Institute of Pathology. Mc-Graw Hill. 3ª edición. 1998.

42. Bancroft J. D., Stevens Alans. Theory and Practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone. 3ª edición. 1990.
43. Postek Michael T., Howard Karen S. Scanning Electron Microscopy: A Students' Handbook. Ladd Research Industries. 1ª edición. 1980.
44. Vázquez Nin Gerardo, Echeverría Olga. Introducción a la microscopia electrónica aplicada a las ciencias biológicas. Fondo de cultura económica. 1ª edición. 2000.
45. Martínez Marcelo, Watanabe Il-Sei. Scanning Electrón Microscopy Study of the tongue of chinchilla . Revista Chilena de Anatomía 2000; 18 (1): 1967-1976.
46. Hang-Sung Jung, Jae Younhg Kim. Spacing patterns on tongue surface-gustatory papilla. International Journal of Development Biology 2004; 48: 157-161.
47. Baker Henry J. Lindsey J. Russel. The laboratory rat: Biology and diseases Vol. I. Editorial American College of Laboratory Diseases. 1979.
48. Berkovitz B. K. B., Atlas en color y texto de anatomía oral, histología y embriología. Mosby/Doyma Libros. 2ª edición. 1995.
49. Sapp Philip J., Eversole Lewis R., Patología oral y maxilofacial contemporánea. Harcourt. 1ª edición. 1998.

12. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco profundamente a la Dra. Teresa Imelda Fortoul van der Goes el haberme honrado al aceptar dirigir mi tesis, y como Jefa del Departamento de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, el haberme abierto las puertas del laboratorio a su cargo y brindarme su apoyo durante y después de la realización de esta investigación.

A la M. C. Silvia Antuna Bizarro; por el empeño y dedicación que puso en cada sesión de observación y en cada asesoría de revisión de la tesis.

A la C. D. Luz del Carmen González García; mil gracias por la confianza que depositó en mí desde el momento en que nos conocimos y por la ayuda desinteresada que me ofreció incluso antes de iniciar este trabajo. Y porque de no haberla conocido, nada de esto habría sido posible.

A la Dra. María Rosa Ávila Costa; por el apoyo que me brindó en los aspectos estadísticos de esta investigación, y porque a pesar de no haberla tratado lo suficiente me llevo de ella una gran lección que jamás olvidaré.

Al biólogo Francisco Pasos Nájera; por su colaboración en el procesamiento de más de cien microfotografías.

A la sección de Técnicas Histológicas del Departamento de Biología Celular y Tisular, sobre todo a la histotecnóloga Verónica Rodríguez Mata; por la preparación de las más de ciento cincuenta laminillas que requirió este estudio.

A la M. en C. Guadalupe Ramírez Díaz, reponsable de la Sección de Hematología del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México; por su amabilidad y excelente disposición para realizar las biometrías hemáticas requeridas.

También hago extensivos mis agradecimientos a quienes fueron mis compañeros de laboratorio: Gabriela Piñón, Gabriela Martínez, Marcela Lemus, Vianey Rodríguez, José Luis Ordóñez y Patricia Díaz; así como a la Dra. Laura Colín y a la M. V. Patricia Bizarro; porque de todos ellos he aprendido algo.

Finalmente, agradezco de manera muy especial a la Dra. María Rosa Ávila Costa y al biólogo José Luis Ordóñez Librado su invaluable colaboración durante los sacrificios semanales.