



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**VARIACIONES MORFOLÓGICAS DE LA GLÁNDULA SUBMANDIBULAR EN  
RATAS OBESAS EXPUESTAS A GLUTAMATO MONOSÓDICO**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO  
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: VANNIA VALENZUELA CAROCA  
PROFESOR GUÍA: DR. IGNACIO ROA HENRIQUEZ**

**TALCA-CHILE**

**AÑO 2021**

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2022

## **AGRADECIMIENTOS**

Esta memoria no se podría haber realizado sin el apoyo de mi profesor guía el Dr. Ignacio Roa Henríquez, quien me brindo su tiempo y conocimientos para realizar esta memoria. También quiero agradecer el apoyo de mi pareja, mi familia y amigos, quienes han estado incondicionalmente apoyándome y dando ánimos para llegar hasta esta instancia. Agradezco a Dios por permitirme esta oportunidad, la paciencia y conocimiento para terminar este importante proceso.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>1</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>7</b>
<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>9</b>
<b>OBESIDAD .....</b>	<b>9</b>
<b>OBESIDAD EN CHILE.....</b>	<b>10</b>
<b>EFFECTOS DE LA OBESIDAD.....</b>	<b>10</b>
<b>EFFECTOS DE LA OBESIDAD EN LA CAVIDAD ORAL .....</b>	<b>10</b>
<b>EFFECTOS DEL GMS EN LAS GLÁNDULAS SALIVALES .....</b>	<b>12</b>
<b>MODELOS ANIMALES .....</b>	<b>13</b>
<b>GLUTAMATO MONOSÓDICO.....</b>	<b>15</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
<b>OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>17</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>17</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
<b>ANIMALES Y PROTOCOLO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>18</b>
<b>DETERMINACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL Y VOLUMEN GLANDULAR.....</b>	<b>18</b>
<b>OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS .....</b>	<b>19</b>
<b>ANÁLISIS ESTEREOLÓGICO .....</b>	<b>19</b>
<b>OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA .....</b>	<b>19</b>
<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>19</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>20</b>

<b>EL CONSUMO DE ALIMENTOS PROVOCÓ OBESIDAD EN GRUPO GMS.....</b>	<b>20</b>
<b>GMS CAUSÓ DISMINUCIÓN DEL VOLUMEN GLÁNDULA SUBMANDIBULAR. ....</b>	<b>20</b>
<b>GMS NO CAUSÓ AUMENTO EN LA DENSIDAD DE VOLUMEN DE VASOS SANGUÍNEOS.....</b>	<b>21</b>
<b>GMS NO CAUSÓ AUMENTO EN LA DENSIDAD DEL ÁREA GLANDULAR .....</b>	<b>21</b>
<b>GMS NO INCREMENTÓ LA DENSIDAD DE SUPERFICIE DE LOS VASOS SANGUÍNEOS.....</b>	<b>22</b>
<b>ANÁLISIS HISTOLÓGICO .....</b>	<b>22</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>CONCLUSIÓN.....</b>	<b>27</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>28</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificaciones para IMC .....	9
Tabla 2: Alteraciones relevantes causadas por la obesidad en glándulas salivales .....	11
Tabla 3: Áreas de investigación en medicina. ....	14
Tabla 4: Alimentos que contienen Glutamato Monosódico. ....	15
Tabla 5: Protocolo.....	18

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estado nutricional de las ratas. ....	20
Figura 2: Volumen Glándula Submandibular.....	20
Figura 3: Densidad de volumen.....	21
Figura 4: Densidad de área.....	21
Figura 5: Densidad de superficie.....	22
Figura 6: Tejido Conectivo de Glándula Submandibular grupo Control. ....	23
Figura 7: Tejido conectivo de Glándula Submandibular grupo Experimental. ....	24

## RESUMEN

Este estudio tiene como objetivo demostrar la existencia de variaciones morfológicas en el tejido conectivo de la glándula submandibular de ratas obesas expuestas a Glutamato monosódico. Aquí se describieron los efectos de la exposición de ratas a glutamato monosódico en la glándula submandibular. Se utilizaron 12 machos recién nacidos de ratas Sprague Dawley (grupo 1, control; grupo 2 (GMS), 4 mg/g de glutamato monosódico de peso (5 dosis) lo cual se mantuvo por 8 a 16 semanas respectivamente) con una dieta *ad libitum*. En el estudio se realizó un análisis estereológico e histológico, demostrándose una variación en el tejido conectivo, presentando una mayor fibrosis, disminución de tamaño y disminución de adipocitos a nivel periférico, siendo reemplazado por tejido rico en colágeno. Esta variación en la morfología provoca un mal funcionamiento de la glándula tanto en la funcionalidad de acinos como en la producción de saliva. Los vasos sanguíneos observados a nivel estereológico no presentan mayores cambios en cuanto a volumen, superficie y área, aunque a la observación histológica se observa mayor vascularización.

**Palabras claves:** Obesidad, Glutamato Monosódico, Glándula Submandibular, Vasos sanguíneos, Fibrosis.



## INTRODUCCIÓN

El ser humano, ha sido quien reina el planeta por excelencia. Posee mayor inteligencia e instinto de sobrevivencia que el resto de los animales. La data del ser humano es de hace unos 300.000 años, donde ha pasado por una serie de procesos de crecimiento y evolución que lo han convertido en lo que es hoy.

El ser humano, consta de comportamientos en patrón, por ende, cada lugar geográfico donde habita posee diferentes culturas y costumbres características, ya sea de pueblos, ciudades e incluso países. Dentro de la cultura, podemos encontrar diferentes tipos de alimentos que caracterizan a ciertas regiones. Los alimentos se basan en lo que hay disponible en cada país, y el cómo la cultura ha ido adaptando la forma de cocinar y de comer de cada persona.

El Glutamato Monosódico, un aditivo alimenticio ampliamente utilizado, es la sal sódica de glutamato, un aminoácido encontrado naturalmente en muchos alimentos y es utilizado en una gran variedad de ellos, ya que este sobresalta o intensifica el sabor de los alimentos. Ha sido utilizado con mayor frecuencia en China, Japón, Corea y resto de países asiáticos. Por otro lado, el glutamato monosódico también es utilizado como aditivo en alimentos fritos y comida “chatarra”.

Se ha establecido una asociación entre el glutamato monosódico con la obesidad. Según Roa *et del Sol* (1) la obesidad es una enfermedad de etiología multifactorial, y la causa más común de obesidad es el consumo excesivo de calorías. Como bien se sabe, la obesidad es una enfermedad que afecta tanto a hombres como mujeres y en todo el rango etario. En Chile, según la Organización Panamericana de Salud (OPS), en la población adulta la prevalencia de población con peso bajo lo normal ( $IMC < 18,5$ ) es de 0,8% , mientras que la de obesidad ( $IMC > 30$ ) es de 23,2% (19,6% en hombres y 29,3% en mujeres). Más del 60% de la población tiene algún grado de exceso de peso (sobrepeso u obesidad). La obesidad

en personas con menos de 8 años de educación es de 33,4%. Por ello y dada su relación con el sobrepeso y la obesidad, es necesario conocer los efectos que tiene el glutamato monosódico a nivel morfológico y fisiológico. Biondo-Simões, *et al.* (3), al igual que otros autores han reportado una asociación entre la obesidad y la síntesis de colágeno, donde se han observado modificaciones tanto en la cantidad como en el tipo de fibras de colágeno en individuos obesos. Las glándulas salivales mayores, se encargan de secretar el 95% de la saliva, mientras que la glándula submandibular se encarga de secretar el 65 – 70% de esta, es por ello su importancia en el estudio de las glándulas salivales (4). En este estudio, se analizará y observará sus efectos en la glándula submandibular de ratas obesas.

## MARCO TEÓRICO

### Obesidad

La obesidad es una de las grandes preocupaciones a nivel mundial, donde es considerada como una nueva pandemia, ya que esta afecta en gran parte a países subdesarrollados y desarrollados. Es una enfermedad que trae consigo comorbilidades como desórdenes metabólicos, hipertensión, dislipidemias (por ejemplo, niveles altos de colesterol LDL, niveles bajos de colesterol HDL o niveles altos de triglicéridos), diabetes tipo 2, cardiopatía coronaria, accidente cerebrovascular, enfermedad de la vesícula biliar, artrosis, apnea del sueño, problemas respiratorios y algunos tipos de cáncer (de endometrio, de mama y de colon). Según la CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (5). Para la Organización Mundial de la Salud (OMS) (6), la obesidad y el sobrepeso se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. La obesidad puede ser clasificada según el Índice de Masa Corporal (IMC), que es el peso dividido en la estatura al cuadrado. Las clasificaciones para IMC se muestran en la tabla 1 (5) (7):

Tabla 1: Clasificaciones para IMC

<b>Clasificación</b>	<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>
Bajo peso	<18,5
Peso normal	18,5 – 24,9
Sobrepeso	25 – 29,9
Obesidad	30 – 39,9
Obesidad mórbida	>40

Fuente: CDC (2021).

Cabe mencionar, que el IMC no solo estima la grasa corporal, sino también la masa muscular existente, por ello se hace diferencia con los deportistas con gran masa muscular. Aún así, no se cambia la clasificación.

## Obesidad en Chile

Según la Encuesta Nacional de Salud (ENS) 2016-2017, realizada en 6.233 habitantes, donde 2.315 eran hombres y 3.918 eran mujeres; el estado nutricional de las personas a nivel nacional fue: bajo peso en un 1,3%, peso normal 24,5%, sobrepeso 39,8%, obesidad 31,2% y obesidad mórbida 3,2% (7). Las cifras predominantes fueron la obesidad y sobrepeso observados en la población chilena. El estado nutricional acorde al sexo, en hombres, fue de 1,4% bajo peso, 25,0% en peso normal, un 43,35 en sobrepeso, un 28,6% en obesidad y un 1,7 en obesidad mórbida. En las mujeres, el bajo peso estaba en un 1,1%, el peso normal en un 24,0%, obesidad 36,4%, sobrepeso 33,7% y obesidad mórbida en un 4,7%. Estos resultados indican que la obesidad prevalece en ambos sexos, pero se observaron cifras mayores en mujeres. También se observó una prevalencia en el sobrepeso en niños menores de 8 años.

## Efectos de la obesidad

Según Vio del Río (8), el sobrepeso y la obesidad afecta a 7 de cada 10 personas mayores de 15 años y a 4 de cada 10 niños, con consecuencias directas sobre nuestras principales causas de enfermedad y muerte: cardiovasculares, cánceres, diabetes, problemas osteoarticulares y de salud mental, entre otros. También menciona que la obesidad es más difícil de tratar que la desnutrición, puesto que para ello implica un cambio en los estilos de vida de la persona, también influye en su educación, nivel socioeconómico y actividad física, siendo el sedentarismo una de las principales causas de obesidad junto con hábitos alimenticios. Por lo cual se recomienda principalmente crear hábitos saludables desde los primeros años de vida.

## Efectos de la obesidad en la cavidad oral

La obesidad, así como sus comorbilidades, poseen efectos en la cavidad oral, cuya saliva juega un rol importante en la mantención de la salud oral. En dientes sanos, la pérdida de minerales es balanceada con mecanismos de reparación de la saliva, por lo que, una

disminución en la cantidad y calidad de la saliva podría conllevar a un proceso de caries (9). En la obesidad infantil, se ha reportado una asociación con la reducción en el flujo de saliva estimulado, comparado con individuos de peso normal (1,2 vs 2,0 mL/min,  $p < 0,001$ ), lo cual está relacionado con caries dental, reforzando aún más el efecto negativo de la obesidad en la salud bucal. Basado en ello, las citocinas proinflamatorias derivadas de los adipocitos y los macrófagos que se han acumulado en el tejido adiposo, pueden afectar negativamente la función de las glándulas salivales, debido a la inflamación crónica de bajo grado en la glándula (9).

En la tabla número 2, se observan algunas alteraciones relevantes según Roa *et al* (9).

**Tabla 2:** Alteraciones relevantes en las glándulas salivales, causadas por la obesidad.

Referencia/Estudio	Resultados	Glándula salival	Sujeto
<b>Inoue <i>et al.</i></b>	Peso de glándulas disminuido.	-	Modelo experimental (ratas.)
<b>Mazzaffari <i>et al.</i></b>	Cambios proinflamatorios.	Submandibular	Modelo experimental (ratas).
<b>Renzi <i>et al.</i></b>	Masa glandular disminuida, Hipertrofia de acinos, aumento de ductos.	Submandibular	Modelo experimental (ratas).
<b>Bozzato <i>et al.</i></b>	Aumento de adipocitos.	Parótida	-
<b>Pannuzio <i>et al.</i></b>	Fosfato, ácido siálico, proteínas, concentración alteraciones de la actividad de la peroxidasa.	-	Humanos (niños).
<b>Hordiienko <i>et al.</i></b>	Aumento en sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico.	-	Modelo experimental.

<b>Beregova et al.</b>	Aumento en sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico.	-	Modelo experimental.
<b>Modéer et al.</b>	Disminución del flujo salival estimulado total.	-	Humano (niños).
<b>Choromanska et al.</b>	Disminución del flujo salival estimulado total. Disminución de fosfato, ácido siálico y actividad peroxidasa.	-	Humano.
<b>Guaré et al.</b>	Fosfato, ácido siálico, concentración de proteínas, disminución de la actividad de Ig y peroxidasa.	-	Humano (niños y adolescentes).
<b>de Campos et al.</b>	Disminución de urea, fosfato, concentración de calcio y saliva estimulada.	-	Humano (niños).

### Efectos del GMS en las glándulas salivales

La obesidad no solo tiene relación con múltiples enfermedades, sino también produce daño en las glándulas salivales. Se ha reportado una relación entre la obesidad y la síntesis de colágeno, donde se han observado modificaciones tanto en la cantidad como en el tipo de fibras de colágeno en individuos obesos (1). Según Roa *et del Sol* (9), se producen cambios en la glándula submandibular, como reducción en la masa glandular, hipotrofia de adenómeros y un aumento en el número de ductos, luego de una inducción de hiperfagia por lesión del núcleo ventromedial del hipotálamo. Además, se observa un aumento en el tamaño de la glándula parótida. La glándula submandibular humana es exocrina, túbulo-alveolar compuesta del tipo mixto con predominio mucoso. El producto de las glándulas submandibulares es la saliva, la cual es importante en la imbibición y lubricación de los

alimentos, acción de la degustación, acción lubricante de mucosas, función digestiva, reguladora de la red y pH salival.

En las ratas, la glándula submandibular es diferente a la humana, puesto que posee adenómeros que son acinos de naturaleza serosa, conformados por células grandes y basófilas, con abundantes gránulos de cimógeno en su zona apical y también con pequeñas gotas de mucina, la que la vuelve mixta con predominio seroso, según Treuting *et al* (11).

Según Faúndez (12), los efectos obesidogénicos del GMS (Glutamato Monosódico), son nocivos en diversos órganos, entre ellos, algunas estructuras orales. Luego de la exposición a GMS, se observó una disminución del volumen de la glándula submandibular comparada con los valores de un grupo control expuesto a suero fisiológico, alcanzando una disminución del 75%. Estos datos indicarían una asociación entre obesidad y disminución del volumen glandular, resultados similares a los reportados por otro autor, quien observó una disminución del volumen de la glándula parótida, en un modelo de obesidad inducida por GMS (17).

### Modelos Animales

Los modelos animales son necesarios para el desarrollo de nuevos estudios o prueba de nuevos fármacos, Estos deben ser confiables para la posterior prueba en humanos. Los experimentos con animales tienen su fundamento en el hecho de considerar a otras especies animales como modelos en miniatura de los problemas humanos. Se realizan experimentos con animales básicamente en tres campos: la docencia, la industria y la investigación (13). También menciona que muchos de los avances obtenidos en el desarrollo de la medicina han sido gracias al desarrollo de nuevas técnicas o mejoramiento de estas en animales e incluso, en la obtención de un mayor conocimiento de los sistemas orgánicos, ya que existe una gran semejanza entre el humano y algunos animales.

Según Aller *et al* (14), existe un Código de Ética de ámbito internacional, el cual ha sido planteado a modo de resguardar los problemas éticos que conlleva la utilización de animales en el área de investigación. Esto quiere decir, que los animales pueden y deben ser utilizados

en beneficio de la ciencia y la salud pública, siempre y cuando no puedan ser sustituidos por otras técnicas alternativas, por lo que, desde este punto de vista, es muy importante que los animales sean bien cuidados, y evitando el dolor, ya que se trata de seres vivos que sienten y merecen un trato comprensivo.

Las ratas utilizadas en el estudio son del tipo Sprague Dawley masculinos recién nacidos, según el Laboratorio de Ensayos Biológicos (15) es de usos múltiples, utilizada ampliamente en la investigación médica. El tamaño promedio de la camada es de 10,5 ratas. El peso corporal de adultos es de 250 a 300 g para las hembras y 450 a 520 g en machos. La vida útil típica es de 2,5 a 3,5 años. Su principal ventaja es su tranquilidad y facilidad de manejo. Son albinos, dóciles y de rendimiento reproductivo y características maternas excelentes. Pues este tipo de rata posee un amplio rango de utilidad y es por ello, ha sido seleccionada para el uso en la investigación. Este tipo de ratas suelen ser utilizadas para investigar diferentes áreas de la medicina, como se muestran en la tabla n°3:

Tabla 3: Áreas de investigación en medicina.

<b>Áreas de investigación</b>	
Terapia genética	Epilepsia, daño neural
Análisis de microarreglos	Tratamientos para la hipertensión
Diferenciación neuronal	Efectos anestésicos
Deterioro de la memoria	Toxicología
Actividad de neurotransmisores	Neurología
Respuesta al estrés traumático	Reproducción
Cardiomiopatías	Envejecimiento
Efectos del tabaco y el alcohol	Teratología
Actividad antidepressiva	Oncología
Deficiencias nutricionales	Nutrición, obesidad

Fuente: Elaboración propia V. Valenzuela (2021).



## Glutamato Monosódico

El GMS, es una sal sódica del aminoácido ácido glutámico, como potenciador del sabor en muchos alimentos, en los cuales lo podemos ver como el aditivo E-621, y también, puede denominarse como sal china, ajinomoto, *umami*, ácido glutámico, extracto de levadura o proteína hidrolizada, haciendo referencia al quinto sabor. El GMS contiene un 78% de ácido glutámico, un 21% de sodio y un 1% de otras sustancias. Según Carbonero (16), diferentes estudios realizados fundamentalmente en animales, proponen la existencia de una relación de este condimento con la obesidad, ya que, el GMS influye en la respuesta hipotalámica del apetito. El GMS induce a un mayor consumo de alimentos que contienen este compuesto. Además, el GMS contenido en alimentos de frecuente consumo provoca una alteración en los umbrales de saciedad al interferir en la hormona leptina, implicada en el control del apetito, inhibiendo la señal de saciedad. De este modo, aumenta el apetito y las cantidades consumidas de estos alimentos, de manera que al mantenerse un consumo elevado de estos productos a lo largo del tiempo, puede aumentar el IMC (16). Existe una gran cantidad de alimentos que contienen GMS, los cuales se muestran en la tabla n° 4.

Tabla 4: Alimentos que contienen Glutamato Monosódico.

<b>Procesados</b>	<b>Naturales</b>
Jamón y tocino	Tomate
Embutidos	Champiñón
Caldos saborizantes en polvo	Papas
Queso cheddar	Zumo de uva
Atún	Sardinas
Sopas	Ostras
Papas fritas	Almejas
Croquetas	Calamares
Salsas	Leche materna

Cremas	Algas marinas
Salsa de soja	Maíz
Mayonesa	Frutos secos
Ketchup	
Lácteos	

Fuente: Elaboración propia V. Valenzuela (2021).

Según Roa *et del Sol* (17) a nivel sistémico, se han reportado efectos nocivos del GMS en varias estructuras, como el sistema nervioso central, tejido graso, hígado, tracto digestivo y órganos reproductivos, entre otras. Por otro lado, la obesidad se ha relacionado con diversas alteraciones en la cavidad bucal, como caries, periodontitis y xerostomía.

Es por ello, que en el siguiente estudio se buscará la relación que existe entre el GMS y el potencial daño que este puede causar a las glándulas salivales, tanto en su morfología como en su función.

## **OBJETIVOS**

### Objetivo general

Demostrar la existencia de variaciones morfológicas en el tejido conectivo de la glándula submandibular de ratas obesas expuestas a Glutamato monosódico.

### Objetivos específicos

- 1.- Estudiar variaciones en el peso de las ratas por efecto del Glutamato Monosódico.
- 2.- Evaluar variaciones en el volumen glandular de las ratas por efecto del Glutamato Monosódico.
- 3.- Buscar cambios estereológicos e histológicos en el tejido conectivo de la glándula submandibular de ratas obesas expuestas a Glutamato Monosódico.
- 4.- Evaluar variaciones de la vascularización en el tejido conectivo de la glándula submandibular de ratas obesas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales y protocolo experimental

Se utilizaron 12 ratas macho recién nacidas de ratas Sprague Dawley (2 días de edad). Al comienzo del periodo experimental (día 1), las ratas se dividieron en 2 grupos, que se muestran en la tabla n° 5 (1).

Tabla 5: Protocolo.

<b>Grupo</b>	<b>Número de ratas</b>	<b>Protocolo</b>
Control	6	Expuestas a una solución salina (cloruro de sodio 0.9% p/v en agua destilada) 8 ml/g administrado subcutáneamente.
GMS	6	Expuestas a glutamato monosódico subcutáneo, 4 mg/g de peso 2 dosis, el segundo y cuarto día, y 2 mg/g de peso el sexto, octavo y décimo día.

Las ratas fueron alojadas en jaulas individuales por 16 semanas en el vivero del Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ) en la Universidad de la Frontera, Temuco, Chile, se mantuvieron a  $22 \pm 2$  °C y 50 – 70% de humedad y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad (8:00 a.m. – 8:00 p.m./ 8:00 p.m. – 8:00 a.m.). Se administró una dieta estándar de laboratorio (AIN-93M) y agua *ad libitum*. El estudio fue aprobado por el Comité Ético Científico de la Universidad de la Frontera, Temuco, Chile, N°051/2017 (1).

### Determinación del Estado Nutricional y Volumen Glandular

El peso y la longitud de cada animal fueron medidos semanalmente por toda la duración del periodo experimental. Para determinar el estado nutricional de los animales, se utilizó el Índice de Lee: [La raíz cúbica del peso corporal (g) dividida por la longitud del hocico-ano (cm)] (17). Un valor igual o menor a 0,3 fue considerado normal; mayor que 0,3 fue

considerado como obesidad (18). Se determinó el volumen glandular utilizando método descrito por Sherle (19).

### Obtención y Procesamiento de las muestras

Después de extraer las glándulas submandibulares, estas fueron fijadas en formalina tamponada durante 48 horas, se deshidrataron e incluyeron en Paraplast Plus (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, U.S.A.). Posterior a obtener los bloques, se realizaron cortes de 5  $\mu$ m de espesor (Leica® RM2255) y se tiñeron con Hematoxilina/Eosina (H&E).

### Análisis Estereológico

Para el análisis estereológico, se utilizó un microscopio óptico (Leica®, DM750, Switzerland) con cámara integrada (Leica® ICC50W, Nussloch, Germany). Se obtuvieron imágenes a partir de la observación de 5 campos para cada corte histológico. Los parámetros que se analizaron fueron los siguientes: *Densidad de Volumen* ( $V_v$ ), *Densidad de superficie* ( $S_v$ ) y *Densidad de Área* ( $NA$ ) para vasos sanguíneos ( $v_s$ ), utilizando un Sistema de Multipropósito M42 (20-21). Se consideró un núcleo representativo de una célula.

### Observación microscópica

Para la evaluación del tejido conectivo, se observó un campo por sección, siendo en total 25 campos por cada placa de grupo (6) de grupo. Se utilizó un microscopio (Leica® Microsystems, Wetzlar, Alemania) para la observación de los cambios histológicos del tejido conectivo de la glándula submandibular, buscando la presencia de fibrosis además de modificaciones semicuantitativas en el tejido conectivo.

### Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó a partir de los datos obtenidos de el análisis estereológico, donde estos datos fueron procesados por el software estadístico GraphPad Prism 6. Utilizando una significancia de  $p < 0,05$  y un intervalo de confianza del 95%.

## RESULTADOS

### El consumo de alimentos provocó obesidad en grupo GMS

Luego del tiempo experimental, las ratas correspondientes a grupo GMS presentaron aumentos en sus pesos corporales al ser comparados con el grupo no intervenido. Dichos cambios en el peso nos indica obesidad ( $IMC > 30$ ), tal a lo observado en la figura 1.

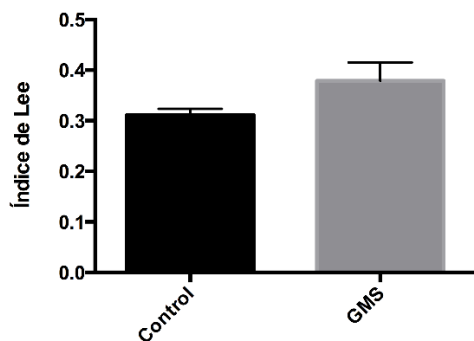


Figura 1: Estado nutricional de las ratas.

### GMS causó disminución del volumen Glándula Submandibular.

Respecto al volumen de la glándula submandibular, esta presentó una disminución en el grupo GMS ( $0.36 \pm 0.03$ ) en comparación al grupo control ( $1.47 \pm 0.10$ ) lo que fue estadísticamente significativo ( $p=0.0014$ ) (Fig. 2).

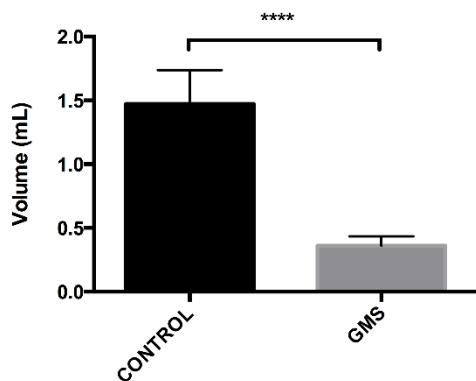


Figura 2: Volumen Glándula Submandibular.

### GMS no causó aumento en la Densidad de Volumen de vasos sanguíneos

En cuanto a la densidad de volumen de los vasos sanguíneos, se observó un leve aumento en el grupo GMS ( $1,586 \pm 0,3086$ ) en comparación al grupo Control ( $1,225 \pm 0,1841$ ) lo que no fue estadísticamente significativo ( $p= 0,2811$ ) (Fig. 3).

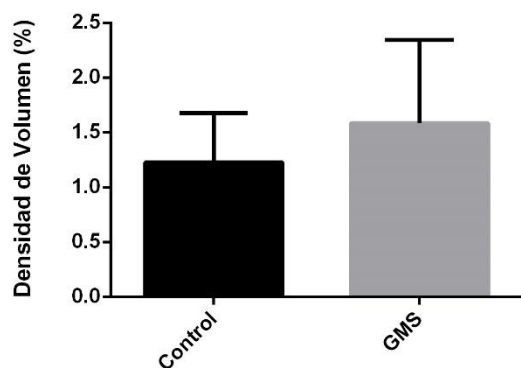


Figura 3: Densidad de volumen.

### GMS no causó aumento en la Densidad del área glandular

Respecto al volumen de la glándula submandibular, esta presentó una disminución en el grupo GMS ( $7,880 \times 10^{-5} \pm 1,468 \times 10^{-5}$ ) en comparación al grupo control ( $8,819 \times 10^{-5} \pm 1,937 \times 10^{-5}$ ) lo que no fue estadísticamente significativo ( $p= 0,7072$ ) (Fig. 4).

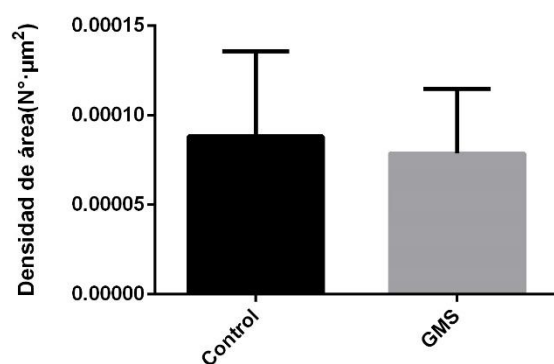


Figura 4: Densidad de área.

### GMS no incrementó la Densidad de superficie de los vasos sanguíneos

En cuanto a la densidad de superficie se observó un pequeño aumento en el grupo GMS (2,259 ± 0,3313) respecto al grupo Control (1,408 ± 0,3177). Estos valores no fueron estadísticamente significativos (p= 0,9290) (Fig. 5).

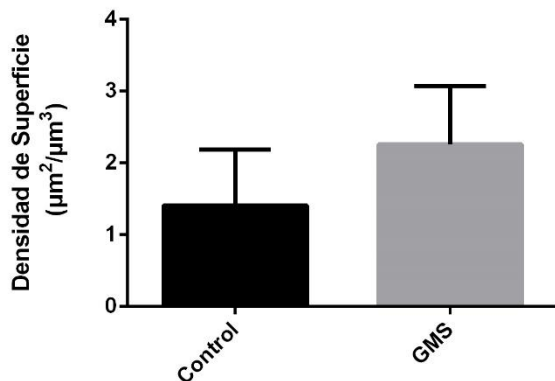


Figura 5: Densidad de superficie.

### Análisis histológico

La glándula submandibular del grupo control presentó tejido conectivo denso irregular rodeando la estructura parenquimatosa glandular, conformando una cápsula, desde la cual se desprendieron tabiques que la dividen en lóbulos y lobulillos. Estos tabiques presentaron escaso tejido conectivo entre los conductos, además de escasos vasos sanguíneos de calibre pequeño y presencia de adipocitos uniloculares infiltrados en la periferia, además de presencia de fibras colágenas y fibroblastos (Fig. 6)



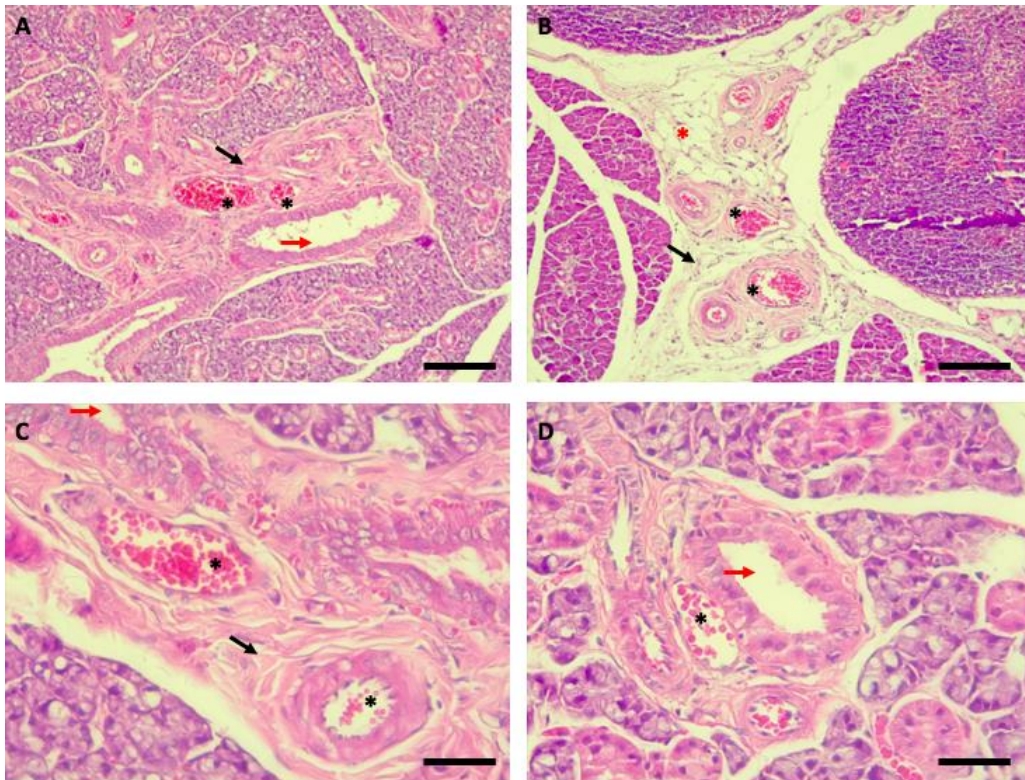


Figura 6: Aspecto de la glándula submandibular del grupo control (H/E). Presencia de tabiques (Flecha negra), vasos sanguíneos (asterisco negro), conductos (flecha roja), adipocitos (asterisco rojo). 500  $\mu$ m barr (A y B) y 50  $\mu$ m (C y D).

La glándula submandibular del grupo experimental, al igual que el grupo control presentó tejido conectivo denso irregular rodeando la estructura parenquimatosa, conformando una cápsula, desde la cual se desprendieron tabiques que la dividen en lóbulos y lobulillos. A diferencia del grupo control, estos tabiques presentaron mayor cantidad de tejido fibroso entre los conductos, además de mayor cantidad de vasos sanguíneos y presencia de menor cantidad de adipocitos uniloculares infiltrados en la periferia, los cuales son reemplazados por tejido conectivo rico en fibras colágenas. Existiendo además fibroblastos y plasmocitos (Fig. 7).

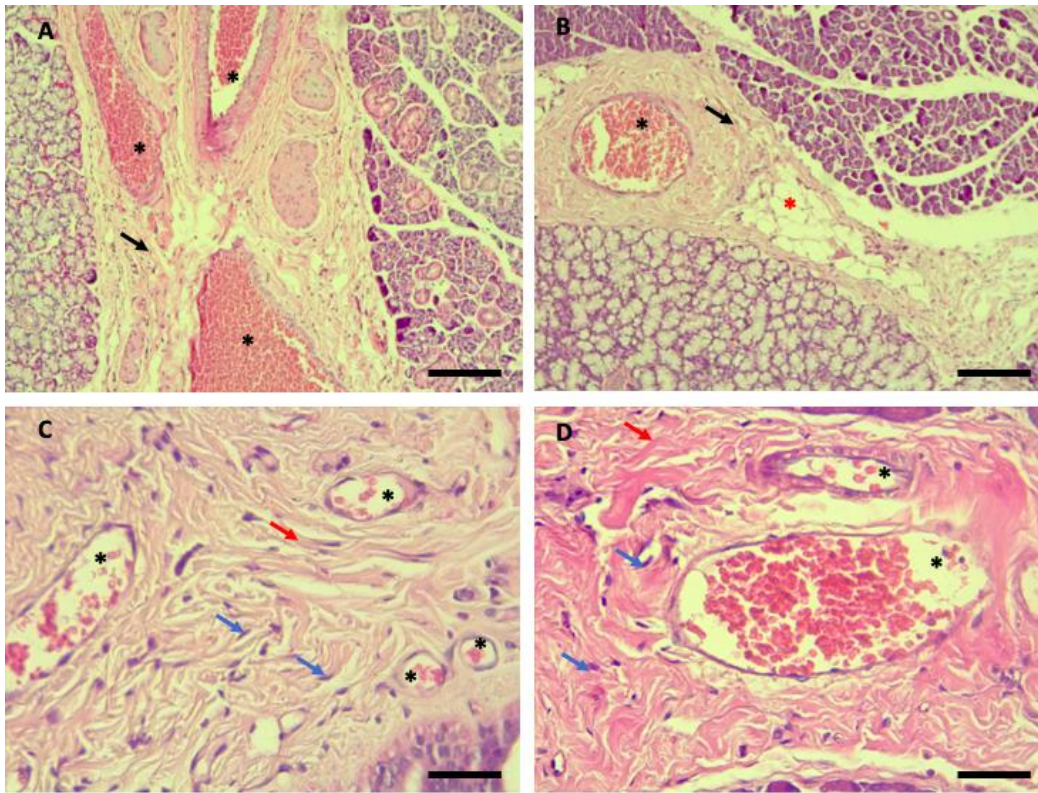


Figura 7: Aspecto de la glándula submandibular del grupo experimental (H/E). Presencia de tabiques (Flecha negra), vasos sanguíneos (asterisco negro), fibras colágenas (flecha roja), adipocitos (asterisco rojo) y fibroblastos (flecha azul). 500  $\mu\text{m}$  barr (A y B) y 50  $\mu\text{m}$  (C y D).

## DISCUSIÓN

En cuanto al GMS, se pueden observar diferentes cambios a nivel histológico y tisular. Primeramente, respecto al estado nutricional, se pudo corroborar un incremento en el peso acorde al Índice de Lee, también utilizado en la estandarización para inducir sobrepeso en ratas en un estudio donde se utilizó GMS para incrementar su peso (21). Entonces se evidencia el incremento de peso de las ratas, cuya dieta fue a disposición deliberada (*ad libitum*), viéndose la diferencia en el peso de las ratas del grupo control en contraste a las de grupo GMS, siendo afectada la sensación de saciedad por la inhibición de la leptina.

Respecto al volumen de la glándula, esta se vio afectada por la acción del GMS durante el periodo de crecimiento de las ratas, donde se observa un menor volumen glandular, esto puede ser evidenciado por la falla en la producción de saliva.

Con respecto al análisis estereológico, el parámetro densidad de volumen de los vasos sanguíneos, no se observaron cambios estadísticamente significativos entre un grupo y otro, el GMS no afecta directamente el tamaño que ocupan los vasos sanguíneos en la glándula, por otro lado, tampoco se ve afectada significativamente la densidad de área, es decir la cantidad de estructuras (vasos sanguíneos) dentro de un campo de visión, ya que hay una diferencia mínima entre un grupo y otro. La densidad de superficie nos permite discriminar la existencia de alteraciones en el tamaño de los vasos sanguíneos donde tampoco se ve un cambio significativo en contraste a que los vasos sanguíneos si hubiesen aumentado de tamaño. Según otro estudio realizado se muestra que existen otras alteraciones a nivel glandular, más específicamente en las estructuras como tales de la glándula salival y de la cavidad oral (9).

Acorde al análisis histológico realizado tanto en el grupo control como el grupo experimental (GMS), se notan variaciones en los tabiques los cuales presentan mayor cantidad de tejido fibroso entre los conductos salivales, incluyendo un leve aumento en la vascularización y una presencia inferior de células adiposas en la periferia del tejido siendo estos reemplazados por fibras de colágeno.

Según Inoue *et al*, se menciona que las ratas a las cuales se les indujo obesidad presentan cambios en diferentes órganos, incluyendo las glándulas salivales, teniendo estas una disminución en su peso (22). Por otra parte, Renzi *et al* también se reportaron reducción de la masa glandular e hipotrofia de los adenómeros debido a daño ventromedial en los núcleos del hipotálamo (23). Se menciona también en la literatura que el consumo de GMS puede causar daño de estructuras postsinápticas y muerte neuronal (24) y en ratas recién nacidas provoca la destrucción de los núcleos ventromedial y arqueado hipotalámicos lo cual afecta estructuras orales (17). Esto afecta la forma en que se maneja la saciedad en el cerebro, ya que el GMS afecta la producción de la hormona leptina, de la cual ya sabemos que actúa a nivel del hipotálamo enviando una señal de saciedad.

La disminución de la masa glandular se puede contrastar con la literatura que según un estudio notó dicha disminución en la glándula parótida, que a su vez demostró la intervención del GMS que provocó la fibrosis del tejido conectivo de la glándula parótida (17) de la misma forma que en este estudio donde vemos un tejido fibroso y con disminución de peso glandular.

Por otra parte, es importante mencionar la importancia clínica de las alteraciones en las glándulas salivales, según Roa *et del Sol*, la obesidad afecta la producción de saliva en individuos con sobrepeso disminuyendo su producción, lo cual se relaciona con la salud oral, siendo este un factor de riesgo para la aparición de caries (9). Esto debido a que existe un cambio en la composición de la saliva y un cambio en el microambiente de la cavidad oral, siendo esto comprobado que en individuos obesos existen niveles más altos de bacterias (25). Este cambio en la microbiota afecta la composición de la saliva, debido a la alteración en las glándulas salivales.

## CONCLUSIÓN

En este estudio se realizó un análisis que comprendía la ingesta de GMS, su acción a nivel fisiológico, su acción en la salud oral y glándula submandibular. La obesidad marca un hito importante en nuestra época, debido al alto porcentaje de obesidad a nivel poblacional y nacional. Esto debido al alto consumo de alimentos procesados, frituras y de sabores intensos, tales como los alimentos mencionados anteriormente. Esto conlleva a fallas a nivel de las glándulas, comprometiendo su función y estructura. En el caso de la glándula submandibular, el aumento de fibrosis en la glándula provoca una disminución en la producción de saliva, lo cual también es llamado xerostomía.

En cuanto al estudio en sí, se demostró un aumento en el peso de las ratas debido a la administración de GMS. También se logró demostrar la existencia de variaciones morfológicas en el tejido de la glándula submandibular como son la disminución del volumen glandular, cambios histológicos en el tejido, tales como la presencia de fibrosis. Por otra parte, también se observó una leve disminución en la cantidad, tamaño y superficie utilizada de los vasos sanguíneos, lo cual, no fue estadísticamente significativo en este estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) Roa, Ignacio. Del Sol, Mariano. Variaciones de colágeno parotídeos tipos I y III y parámetros bioquímicos séricos en ratas obesas expuestas a Glutamato Monosódico. *Int. J. Morphol.*, 38(3):755-760, 2020.
- (2) OPS. Obesidad. Obesidad en Chile. OPS: Salud en las Americas 2007. Internet. Disponible en [https://www.paho.org/chi/index.php?option=com\\_content&view=article&id=179:obesidad&Itemid=1005#:~:text=Obesidad%20en%20Chile&text=En%20la%20poblaci%C3%B3n%20adulta%20la,peso%20\(sobrepeso%20u%20obesidad\).](https://www.paho.org/chi/index.php?option=com_content&view=article&id=179:obesidad&Itemid=1005#:~:text=Obesidad%20en%20Chile&text=En%20la%20poblaci%C3%B3n%20adulta%20la,peso%20(sobrepeso%20u%20obesidad).)
- (3) Biondo-Simões, M. de L .; Zammar, GR; Fernandes, Rdos. S .; BiondoSimões, R .; Mello, FS y Noronha, L. Obesidad y cicatrización de heridas abdominales en ratas. *Acta Cir. Bras.*, 25 (1): 86-92, 2010.
- (4) Ocampo, Juan. Vásquez, Bélgica. Sandoval, Cristian. Navarrete, Javiera. Haidar, Ziyad. Olate, Sergio. Características morfofocuantitativas de la glándula submandibular de ratón (*Mus musculus*). *Int. J. Morphol.*, 38(3):570-577, 2020.
- (5) CDC. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. El índice de masa corporal para adultos. 2020. Internet. Disponible en [https://www.cdc.gov/healthyweight/spanish/assessing/bmi/adult\\_bmi/index.html](https://www.cdc.gov/healthyweight/spanish/assessing/bmi/adult_bmi/index.html).
- (6) OMS. Temas de salud. Obesidad. 2020. Internet. Disponible en <https://www.who.int/topics/obesity/es/>.
- (7) Encuesta Nacional de Salud 2016-2017. Estado nutricional. Departamento de epidemiología. División de Planificación Sanitaria. Subsecretaría de Salud Pública. Santiago, 2017. Internet. Disponible en [https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2017/11/ENS-2016-17\\_PRIMEROS-RESULTADOS.pdf](https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2017/11/ENS-2016-17_PRIMEROS-RESULTADOS.pdf)
- (8) Vio del Rio, Fernando. La obesidad y nuestro desarrollo como país. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile. 2012. Internet. Disponible en <https://www.uchile.cl/noticias/82108/la-obesidad-y-nuestro-desarrollo-como->



- (18) de Campos KE, Sinzato YK, de Paula Pimenta W, Rudge MVC, Damasceno DC. Effect of maternal obesity on diabetes development in adult rat offspring. *Life sciences*. 2007;81(19-20):1473-8. doi: 10.1016/j.lfs.2007.09.016.
- (19) Scherle W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. *Mikroskopie*. 1970;26(1):57-60.
- (20) Weibel ER, Kistler GS, Scherle WF. Practical stereological methods for morphometric cytology. *The Journal of cell biology*. 1966;30(1):23-38. doi: 10.1083/jcb.30.1.23.
- (21) Suárez Román Gipsis, Perera Calderín Alfredo, Clapés Hernández Sonia, Fernández Romero Tammy, Egaña Morales Esteban. Estandarización de un modelo para inducir obesidad en ratas. *Medisur* [Internet]. 2013 Oct [citado 2021 Mayo 31]; 11( 5 ): 569-573. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-897X2013000500014&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2013000500014&lng=es)
- (22) Inoue S, Campfield L, Bray GA. Comparison of metabolic alterations in hypothalamic and high fat diet-induced obesity. *Am J Physiol*. 1977; 233: R162-8.
- (23) Renzi A, Utrilla SL, Camarqo LAA, Saad WA, Luca Júnior LA, Menani JV, et al. Morphological alterations on the rat submandibular gland caused by lesion of the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *Rev Odont UNESP*. 1989; 18:157-164.
- (24) Yuste, R. Efectos de la ingesta de Glutamato Monosódico en la fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer. Facultad de medicina y odontología. Departamento de fisiología. Programa de doctorado en Fisiología. Valencia. 2020.
- (25) Zeigler CC, Persson GR, Wondimu B, Marcus C, Sobko T, Modéer T. Microbiota in the oral subgingival biofilm is associated with obesity in adolescence. *Obesity*. 2012; 20:157-164.