

DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DE LAS GLÁNDULAS SALIVARES MAYORES

DORIS ROSERO-SALAZAR, Enf.¹, FREDDY MORENO-GÓMEZ, O.D.²

RESUMEN

Las glándulas salivares mayores corresponden a tres pares de órganos secretores exocrinos que morfo-funcionalmente se asocian al sistema digestivo como estructuras glandulares anexas. En esta revisión de tema se hace una descripción diferencial de los componentes de las glándulas parótidas, submaxilares y sublinguales teniendo en cuenta aspectos biológicos moleculares dentro del contexto morfológico y funcional del sistema digestivo. Dicha descripción se hizo de acuerdo al abordaje histológico de los órganos glandulares a partir del estroma (cápsula y tabiques como componentes sustentaculares) y del parénquima (acinos y conductos como componentes funcionales), para lo cual se emplearon placas histológicas de muestras de glándulas humanas teñidas con hematoxilina-eosina que hacen parte de la colección de placas del Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias de la Salud de la Pontificia Universidad Javeriana Cali. Por tanto este manuscrito corresponde a una guía histológica fundamental de las glándulas salivales mayores y puede constituirse en el punto de partida desde una condición morfológica, fisiológica e histológica normal, hacia el entendimiento de los procesos patológicos que alteran precisamente, la forma y la función.

Palabras claves: *Glándulas salivales mayores, Glándula parótida, Glándula submaxilar, Glándula sublingual, Saliva*

INTRODUCCIÓN

El sistema digestivo comprende una serie de órganos con características morfo-funcionales específicas y que en conjunto contribuyen con la absorción de los alimentos. El abordaje histológico del sistema digestivo desde el punto de vista académico se hace con base a la nutrición, razón por la cual los tejidos fundamentales y sus asociaciones sistémicas son descritos desde la integración funcional de la cavidad oral (labios, bucas, paladar duro, paladar blando, lengua y piso de boca), la faringe (compartida con el sistema respiratorio), el tubo

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Biomédicas. Profesora. Facultad de Salud. Universidad del Valle. Cali, Colombia

²Magister en Ciencias Biomédicas. Profesor. Facultad de Ciencias de la Salud. Pontificia Universidad Javeriana. Cali, Colombia

Recibido para publicación: octubre 15, 2013

Aceptado para publicación: abril 15, 2014

SUMMARY

Major salivary glands correspond to three pairs of exocrine secretory organs that morpho-functionally are associated with the digestive system related glandular structures. This literature review is a differential description of the components of the parotid glands, submandibular glands and sublingual glands, considering molecular biological in the morphological and functional context of the digestive system. Said description will be made according to histological approach of the glandular organs from stroma (capsule and partitions as sustentacular components) and parenchyma (acini and ducts as functional components), which were used for histological slides of samples of human glands stained with hematoxylin-eosin that are part of the collection of the Department of Basic Sciences, Faculty of Health Sciences at the Pontificia Universidad Javeriana Cali. Therefore this manuscript corresponds to a fundamental histological guide of the major salivary glands and constitutes the start point from a morphological, physiological and histological normal condition to the understanding of disease processes that alter precisely, shape and function.

Key words: *Major salivary glands, Parotid gland, Submaxillary gland, Sublingual gland, Saliva*

digestivo (esófago, estómago, intestino delgado - duodeno, yeyuno e ileón-, intestino grueso -colon, ciego, recto y apéndice), y órganos anexas (glándulas salivales mayores, hígado, páncreas y vesícula biliar). En los mamíferos, las glándulas salivales varían su estructura histológica y la composición de la saliva entre las distintas especies¹.

Corresponden a órganos accesorios de la cavidad oral cuya función es secretar saliva como respuesta a un estímulo psíquico o físico. De acuerdo a su ubicación se pueden clasificar en extramurales o glándulas salivales mayores o principales (parótidas, submaxilares o submandibulares y sublinguales); e intramurales o glándulas salivales menores localizadas en la mucosa (lámina propia) y en la submucosa (entre las fibras de músculo esquelético) de diferentes regiones de las paredes de la cavidad oral (labios, bucas, paladar duro y

blando, lengua y orofaringe). Todas estas glándulas secretan una solución acuosa hipotónica diluida que contiene sustancias orgánicas e inorgánicas denominada saliva, la cual varía su composición a razón de las características de las células secretoras que constituyen las glándulas salivales².

Histológicamente, consisten en múltiples unidades secretoras conectadas a la cavidad oral a través de un sistema de conductos. Las unidades secretoras básicamente son un conglomerado de células serosas (secreción de componentes proteicos) y mucosas (secreción de componentes glucosídicos) organizadas morfo-funcionalmente en estructuras redondeadas o acinares, o en estructuras elongadas o tubulares que se encargan de producir saliva³. De interés de esta revisión, las glándulas salivares mayores (GSM) constituyen órganos pares propiamente dichos que hacen parte morfo-funcional del sistema estomatognático y cuya función es secretar y excretar saliva (97% de la saliva total) hacia la cavidad oral con los objetivos de: 1. Mantener húmeda y lubricar la mucosa oral, faríngea y esofágica; 2. Mantener el equilibrio ecológico de la microflora oral; 3. Facilitar el funcionamiento del sentido del gusto en la percepción de sabores; 4. Contribuir con la disolución, suspensión, conformación y deglución del bolo alimenticio; 5. Iniciar el proceso de digestión; 6. Mantener la integridad de la mucosa oral; 7. Comportarse como una solución biológica amortiguadora; 8. Remineralización de los dientes; y 9. Constituir la primera barrera de defensa de la cavidad oral⁴⁻⁹.

De esta forma, el objetivo de esta revisión de tema es hacer una descripción histológica de las tres glándulas salivares mayores a partir de placas con muestras humanas teñidas con hematoxilina-eosina, asociando las diversas estructuras histo-morfológicas a la fisiología, teniendo en cuenta que en la literatura, los estudios experimentales sobre la función de las glándulas salivares son principalmente en modelos animales (ratas y conejos) y unos pocos, mediante procedimientos no invasivos, en humanos.

MORFOGÉNESIS DE LAS GLÁNDULAS SALIVARES MAYORES

Como todas las glándulas exocrinas del organismo, las GSM se originan morfológicamente de forma similar mediante la invaginación y proliferación de células epiteliales en el tejido conectivo subyacente y el

posterior aislamiento de este último tras la secreción y montaje de la membrana basal durante la sexta y séptima semana del desarrollo. Por tanto, las células epiteliales que constituyen los acinos y los conductos conformarán el epitelio glandular del parénquima, mientras que el tejido conectivo del estroma le dará soporte al primero¹⁰.

Las GSM se forman durante la sexta y séptima semana de vida intrauterina a partir de brotes epiteliales del ectodermo que se introducen en el mesénquima subyacente (mesodermo combinado con neuroectodermo –células de la cresta neural–) próximo al estomodeo en las prominencias maxilares y mandibulares del primer arco faríngeo. De las células del ectodermo se diferenciarán las células epiteliales acinares y epiteliales cúbicas que conformarán los acinos y el sistema de conductos del parénquima respectivamente; mientras que del mesénquima se originará el tejido conectivo del estroma a manera de una cápsula que rodea todo el parénquima y de numerosos tabiques que segmentan el parénquima dándole soporte estructural¹¹⁻¹³.

Por tanto, este proceso de morfogénesis implica interacciones mesénquimo-epiteliales que regulan directamente el desarrollo de un mecanismo de ramificación que induce la conformación del parénquima de órganos como el pulmón, el riñón, las glándulas mamarias y las glándulas salivares; a partir de múltiples bifurcaciones que conllevan a la formación de nuevos crecimientos epiteliales, los cuales son regulados de forma heterotópica (interacción de dos tejidos de diferente origen embrionario) por el mesénquima, sin embargo, el tipo de secreción a partir de la citodiferenciación de las células que constituyen los acinos estará regulado por el epitelio^{14,15}.

El desarrollo embrionario de las GSM puede clasificarse morfológicamente en cuatro etapas o períodos de acuerdo a la descripción histológica que se inician con el primer signo de morfogénesis o engrosamiento del epitelio oral: 1. Etapa de yema inicial o pre-yema que corresponde al a invaginación del epitelio en el mesénquima subyacente para conformar una yema que se mantiene en contacto con la superficie a través de una “cordón epitelial primario” la cual posteriormente hará parte de la porción más proximal del conducto excretor; 2. Etapa pseudoglandular en la que la yema se bifurca, se

ramifica y se diferencia en múltiples brotes o cordones epiteliales que le proporcionan a la glándula el aspecto multi-lobulado; 3. Etapa canalicular en la que las porciones excretoras (cordones epiteliales secundarios que darán origen a los conductos) y secretoras (yemas distales que darán origen a los acinos) se canalizan por apoptosis de células epiteliales para dar origen al lumen por donde pasaran los productos secretados; y 4. Etapa terminal o de citodiferenciación en la que se desarrollan funcionalmente las células epiteliales acinares a partir de las yemas distales. Es importante mencionar que conforme se desarrolla el patrón de bifurcación y se da la ramificación de las estructuras epiteliales, éstas se comportan como una “plantilla” para que el sistema circulatorio (arterias, venas y linfáticos) y el sistema nervioso acompañen los conductos y acinos desde el tejido conectivo denso irregular de la cápsula, el tejido conectivo denso irregular de los tabiques y el tejido conectivo laxo que rodea dichas estructuras^{15,16}.

Es así como las glándulas parótidas se desarrollan al inicio de la sexta semana a partir de yemas epiteliales que surgen del ectodermo de la cavidad oral próximo a los ángulos del estomodeo y crecen en dirección del conducto auditivo externo en la medida que se diferencian en cordones epiteliales ramificados. El brote epitelial se mantiene proximalmente en contacto con el estomodeo en lo que ha futuro se constituirá el lugar por donde será excretada la saliva (carúnculas parotídeas) en la cavidad oral. Posteriormente en la décima semana estos cordones se diferencian a conductos y los extremos distales se diferencian en los acinos, los cuales empezarán a secretar saliva en la decimoctava semana. Las glándulas submaxilares surgen al final de la sexta semana de desarrollo a partir de yemas epiteliales originadas del endodermo del intestino primitivo anterior en el piso del estomodeo, para proliferar hacia el mesénquima en sentido posterior a través de cordones epiteliales que a la decimosegunda semana se diferencian en conductos y en los extremos más distales en acinos, los cuales a su vez inician su actividad secretora en la decimosexta semana, sin embargo, posterior al nacimiento, se continúa la diferenciación y conformación de nuevos acinos mucosos. De igual forma que ocurre en parótida, la yema epitelial mantiene su conexión con la cavidad oral para el desarrollo del conducto excretor en las carúnculas linguales. Las glándulas sublinguales surgen en la octava semana de desarrollo a partir de múltiples yemas epiteliales cuyo origen se encuentra en el endodermo del intestino primitivo anterior. Cada una de las yemas se ramifican y

se canalizan para constituir proximalmente varios conductos independientes (de 10 a 12) que se abren hacia el piso de la boca, mientras que distalmente se diferencian los acinos^{11-13,17,18}.

ESTRUCTURAS HISTOLÓGICAS

Las glándulas salivales mayores (GSM) consisten en tres tipos de glándulas pares que comparten ciertas características morfo-funcionales, pero que histológicamente presentan diferencias significativas asociadas a la constitución del tipo de saliva que secretan; por tanto, el abordaje funcional hará a partir de su clasificación histo-morfológica como glándulas túbulo-acinares compuestas, en donde la parte externa sustentacular o estroma (cápsula y tabiques o trabéculas encargadas de sostener, dividir y circunscribir el parénquima en lóbulos y lobulillos) y de la parte interna funcional o parénquima (sistema de acinos y conductos que constituyen la parte funcional de la glándula). El estroma de las GSM se encuentra constituido por una cápsula de tejido conectivo denso irregular que se invagina en el parénquima y lo divide en lóbulos a partir de trabéculas interlobulares de tejido conectivo denso irregular, las cuales sostienen vasos (arterias y venas) de gran calibre, linfáticos, nervios y conductos interlobulares. De estas trabéculas se desprenden de igual forma trabéculas interlobulillares más pequeñas de tejido conectivo denso irregular que dividen los lóbulos en lobulillos y que sostienen vasos (arterias y venas) de pequeño calibre, linfáticos, nervios y conductos interlobulillares. Sin embargo, son los componentes del parénquima, acinos (porción secretora) y conductos (porción excretora –conductos intercalados y conductos estriados principalmente–), los que constituyen la unidad funcional básica de las glándulas salivales, sialona o salivón^{10,19}.

PORCIÓN SECRETORA

Las porciones secretoras de las glándulas salivales de los mamíferos se encuentran constituidas por células secretoras que se asocian para conformar los acinos, alveolos o adenómeros. En las GSM existen dos tipos de células secretoras que se encargan de producir la saliva dentro de los acinos y que en últimas permiten clasificar las glándulas de acuerdo al tipo de secreción; de esta forma es posible identificar las células serosas (secreción acuosa rica en enzimas) y las células mucosas (secreción viscosa constituida por proteínas glicosiladas). Un tercer grupo de células, las

mioepiteliales, comparten y se asocian al acino a través de la membrana basal de las células acinares y permiten, por contracción, la salida de la saliva del acino y su posterior conducción por el sistema de conductos¹⁰.

Por fuera de la membrana basal, se observa un tejido conectivo laxo (rico en linfocitos y células plasmáticas) que cumple las funciones de sostén y que se continúa con el tejido conectivo denso irregular de las trabéculas y la cápsula, lo que permite la llegada de vasos, linfáticos y nervios hasta el acino.

Como epitelio glandular, las GSM se constituyen en glándulas exocrinas que vierten sus contenidos a través de un sistema de conductos a la cavidad oral. Estas glándulas están constituidas por células epiteliales serosas y mucosas morfológicamente especializadas capaces de secretar de forma merocrina (vía exocítica-secretora), sin alterar la composición del citoplasma y de la membrana celular, gran cantidad de componentes proteicos y glucocídicos funcionalmente especializados. Estos dos tipos de células altamente permeables al agua se encargan de realizar la función secretora en el acino, mientras que un tipo de célula impermeable al agua se encarga de cumplir con la función excretora a través del sistema de conductos; sin embargo, las células epiteliales de los conductos tienen la capacidad de reabsorber electrolitos como sodio y cloro y secretar potasio y bicarbonato, razón por la cual de los acinos sale una saliva primaria isotónica respecto al plasma que en el sistema de conductos pasa a una saliva secundaria hipotónica (que le confiere sus propiedades de solución buffer o amortiguador biológico), para finalmente ser excretada a la cavidad oral²⁰⁻²². Esta secreción discontinua de fluidos (serosos y mucosos) y electrolitos, requiere de la regulación de agonistas que producen un aumento de calcio intracelular²³, canales específicos de agua del tipo acuaporinas (AQP5) presentes en las membranas celulares del dominio apical de las células epiteliales de los acinos y de los conductos intercalares, y activación de la vía paracelular regulada por las uniones estrechas (proteínas ocludinas y claudinas)^{21,22,24}.

Debido a que las GSM se encuentran innervadas por nervios simpáticos y parasimpáticos, la estimulación simpática a través de norepinefrina regulará la secreción de componentes proteicos, mientras que la estimulación parasimpática a través de acetilcolina regulará la secreción de componentes glucídicos y agua. Las células

epiteliales acinares, organizadas morfofuncionalmente en un acino, en el dominio basal expresan receptores adrenérgicos (para norepinefrina) y muscarínicos (para acetilcolina). Esta primera señal, a partir de neurotransmisores, estimula a las células acinares para producción de la saliva primaria, activando dentro del citoplasma una cascada de segundos mensajeros como proteínas G para transducción de señales, AMP cíclico para exocitosis de proteínas y glicoproteínas, e inositol trifosfato para movilización de calcio y posterior secreción de fluidos^{20,22}.

CÉLULAS ACINARES SEROSAS

Su morfología es piramidal con la base hacia la membrana basal y el ápice hacia la luz del acino seroso, lo que permite que la porción secretora sea redondeada o acinar (figuras 1-3). En tinciones con hematoxilina-eosina el citoplasma tiñe intensamente eosinófilo y el núcleo grande, redondo y basal tiñe intensamente basófilo. Todas las células serosas, cuyos límites intercelulares son poco visibles, dirigen su vértice hacia una pequeña luz en el centro del acino seroso que se continúa con el conducto intercalares. En microscopia electrónica de transmisión se pueden identificar en el citoplasma infranuclear las organelas del sistema exocítico-secretor (abundantes mitocondrias basales, retículo endoplasmático, ribosomas libres, aparato de Golgi y múltiples gránulos secretores de cimógeno supranucleares –propios de células que secretan proteínas– en el dominio apical) bien desarrolladas, en el dominio lateral prolongaciones citoplasmáticas interdigitadas con células contiguas estabilizadas por los diferentes tipos de unión celular que constituyen la barra terminal (uniones ocluyentes, uniones adherentes –desmosomas– y uniones comunicantes), y en el dominio basal una membrana basal que permite relacionar la célula con el tejido conectivo laxo subyacente¹⁰.

El producto de secreción es rico en amilasas, peroxidasa, lactoperoxidasa, lisozimas, ribonucleasas, desoxirribonucleasas, lipasas, factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento epidérmico, inmuglobulinas (IgA) y glicoproteínas multifuncionales implicadas en la protección mecánica, captura de microorganismos, propiedades antimicrobianas y prevención de la deshidratación de los epitelios oral^{15,25}.

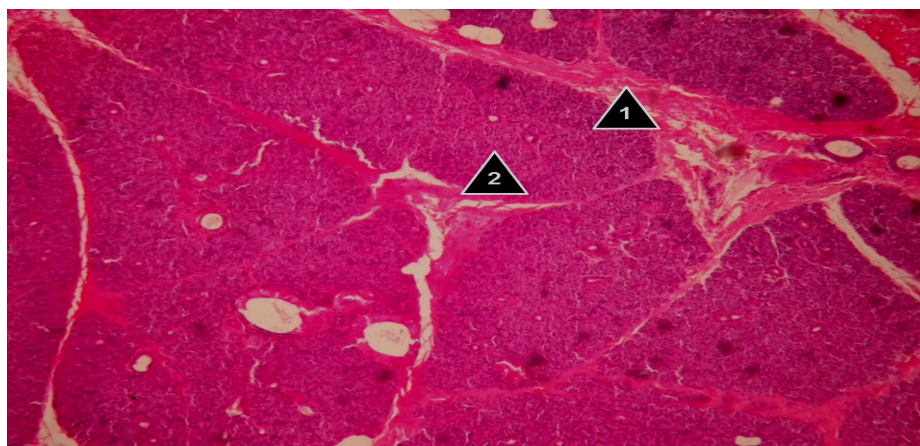


Figura 1. Glándula parótida (hematoxilina-eosina 4x). 1. Tabique de tejido conectivo denso irregular que junto con la cápsula constituye el estroma del órgano glandular. 2. Conjunto de acinos serosos que junto con los conductos intercalares y estriados constituyen el parénquima del órgano glandular

En las tres GSM el mecanismo para secretar proteínas es la exocitosis, proceso que implica la fusión de la membrana de los gránulos secretores con la membrana plasmática del polo apical de la célula epitelial acinar serosa, seguido por la ruptura de las membranas fusionadas y posterior salida de los contenidos hacia la luz o lumen del acino. Este proceso es continuo en la mayoría de las células (exocitosis constitutiva), pero la velocidad de secreción puede ser regulada por el sistema nervioso autónomo, en donde el sistema simpático estimula los acinos serosos de las parótidas y las submaxilares, mientras que el sistema parasimpático estimula las sublinguales²¹.

El ritmo de secreción es discontinuo, de tal forma que su aspecto histológico varía de acuerdo al estado funcional,

en donde una célula en reposo tendrá abundantes gránulos zimógenos, acidófilos y acumulados en el dominio apical, mientras que una célula activa carecerá de gránulos debido a su exocitosis²⁵.

En los acinos mixtos (acinos que cuentan con células serosas y mucosas), las células serosas se ubican en medio de las células mucosas y su ápice no llega hasta la luz del acino, por lo que sus productos son vertidos a través de canalículos secretores que transcurren por el espacio intercelular conformado entre dos células mucosas vecinas³ (figuras 4-6). En los cortes histológicos, las células serosas se observan desplazadas hacia la periferia conformando un artefacto histológico conocido como la medialuna serosa o casquete seroso. Este fenómeno ocurre por la

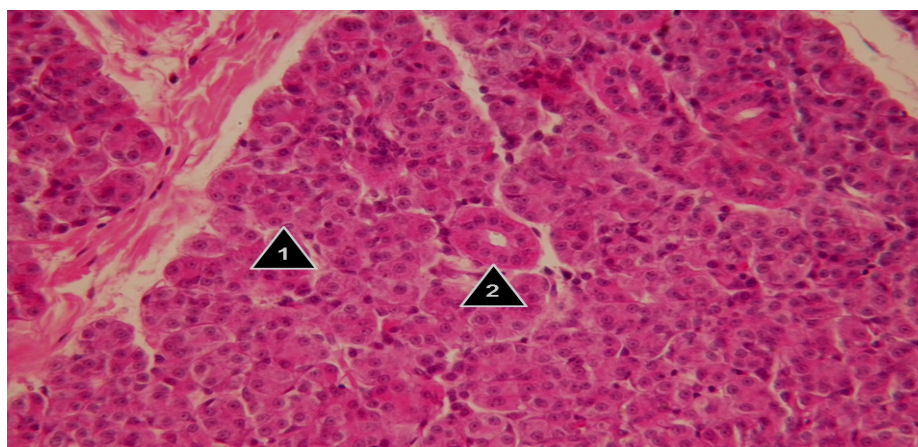


Figura 2. Glándula parótida (hematoxilina-eosina 10x). 1. Acino seroso encargado de secretar la saliva. 2. Conducto estriado encargado de coleccionar la saliva de los conductos intercalares y drenarla a los conductos excretores

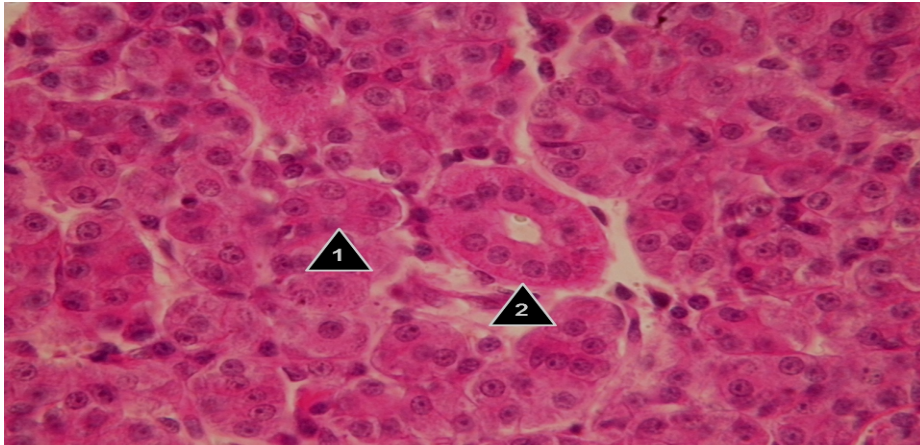


Figura 3. Glándula parótida (hematoxilina-eosina 40x). 1. Célula acinar serosa encargada de sintetizar la saliva secretada por el acino seroso. 2. Célula epitelial cúbica constituyente de un conducto estriado, en la cual se pueden observar las estriaciones en el dominio basal que le dan el nombre a dicho conducto

tumefacción de las células mucosas por acción de los fijadores convencionales como el formol buferado¹⁹.

De igual forma han sido descritas un tercer grupo de células acinares, las seromucosas, las cuales secretan ciertos componentes glucídicos, sin embargo, la mayor cantidad de secreciones son de origen proteico²⁶.

CÉLULAS ACINARES MUCOSAS

Su morfología es similar a las células acinares serosas. En tinciones de hematoxilina-eosina el citoplasma se observa con eosinofilia o basofilia pálida (dada la poca afinidad de los mucinógenos por los agentes colorantes de la técnica convencional de hematoxilina-eosina) y el núcleo basal se observa aplanado e intensamente

basófilo (Figuras 7-9). Las células piramidales, mucho más redondeadas, confluyen su ápice hacia el centro del acino cuya luz más amplia se continúa con el conducto intercalar^{10,19}.

En microscopía electrónica de transmisión, las células epiteliales acinares serosas se aprecian fuertemente unidas entre sí mediante el dominio lateral a través de interdigitaciones de la membrana plasmática y desmosomas entre dos células vecinas, del mismo modo que presentan microvellosidades apicales proyectadas hacia el lumen del acino y un citoplasma en el que se observa el sistema exocítico-secretor asociado a abundantes gránulos secretores de mucinógeno, un retículo endoplasmático menos desarrollado y un aparato de Golgi más extenso, lo cual

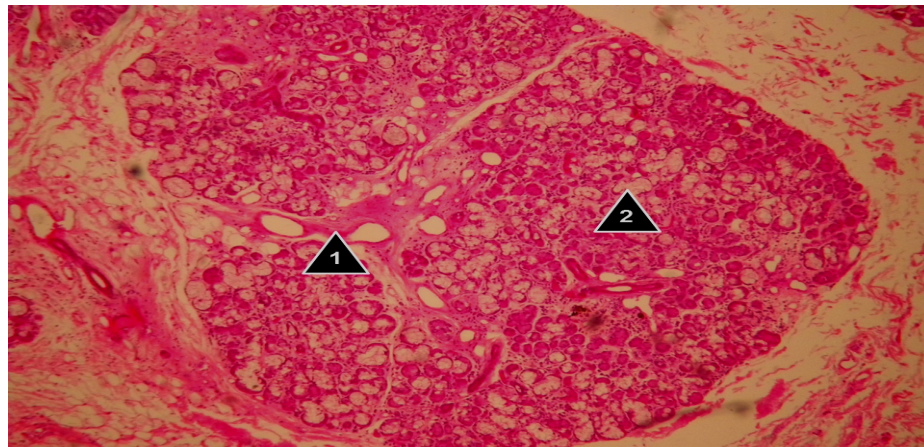


Figura 4. Glándula submaxilar (hematoxilina-eosina 4x). 1. Tabique de tejido conectivo denso irregular que junto con la cápsula constituye el estroma del órgano glandular. 2. Conjunto de acinos mucosos, serosos y mixtos que junto con los conductos intercalares y estriados constituyen el parénquima del órgano glandular

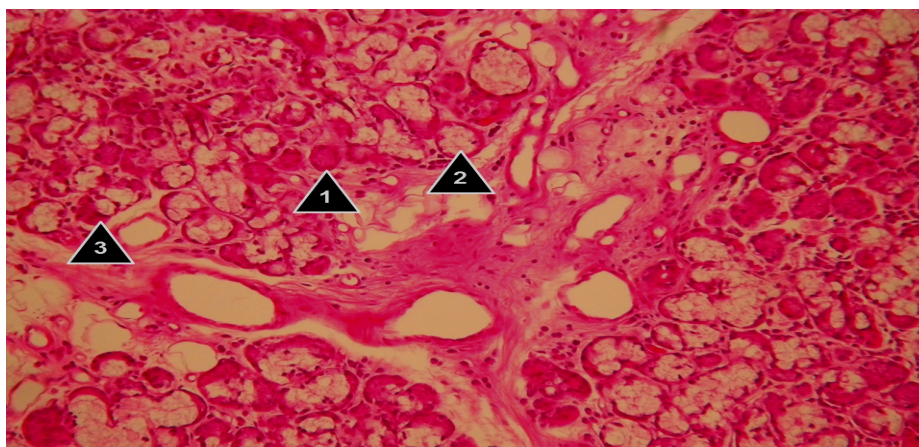


Figura 5. Glándula submaxilar (hematoxilina-eosina 10x). 1. Acino seroso. 2. Acino mucoso. 3. Acino mixto constituido por un acino mucoso y un acino seroso en forma de medialuna

es indicador de secreción de carbohidratos²⁷. Como otras células muco-secretantes, la actividad de secreción glucídica, que corresponde principalmente a mucinas, es cíclica, de tal forma que alguna parte de la secreción sintetizada se almacena en gránulos de mucinógeno para re-sintetizar los productos cuando el estímulo haya cesado²⁵.

El tipo de secreción de las células acinares mucosas son mucinas, las cuales son glicoproteínas con grandes cadenas de carbohidratos¹⁵. Mucinas cargadas negativamente y secretadas por las GSM proporcionan las características visco-elásticas a la saliva para, al recubrir la mucosa de la cavidad oral, protegerla del daño mecánico y la colonización de patógenos exógenos^{28,29}. Las principales mucinas secretadas por las

células mucosas son MG1 y MG2, las cuales tiene como función lubricar y proteger la mucosa oral constituyendo una barrera (película adquirida) que impide la desecación y que fija microorganismos facilitando su remoción³⁰.

CÉLULAS MIOEPITELIALES

Son células de origen epitelial con capacidad mitótica, funcionalmente muy similares a las células musculares lisas, con variaciones en su morfología (estrellado, triangular o trapezoidal) y núcleos normalmente aplanados en sentido longitudinal respecto al acino o al conducto. Se encuentran estrechamente relacionadas con los acinos y el segmento proximal de los conductos intercalares y constituyendo una estructura muy similar

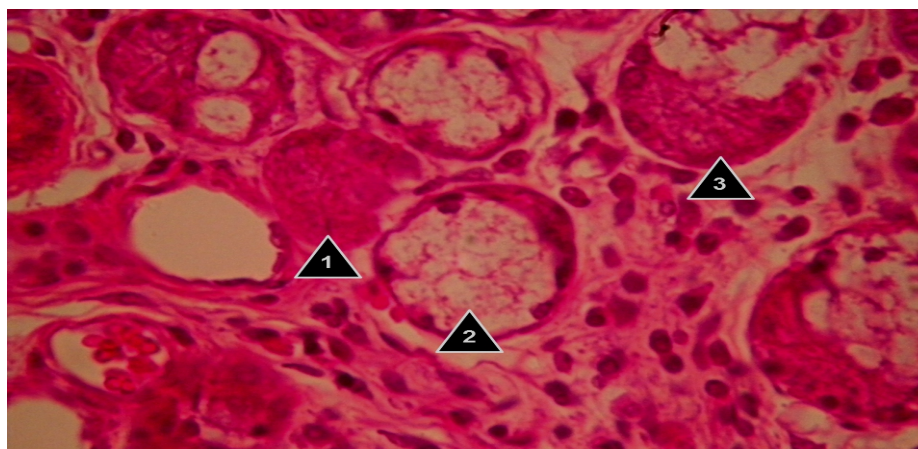


Figura 6. Glándula submaxilar (hematoxilina-eosina 40x). 1. Célula acinar serosa constituyen de un acino seroso. 2. Célula acinar mucosa constituyente de un acino mucoso. 3. Acino mixto en el que se observan células acinares mucosas constituyentes del acino mucoso y células serosas constituyentes del acino seroso (medialuna serosa)

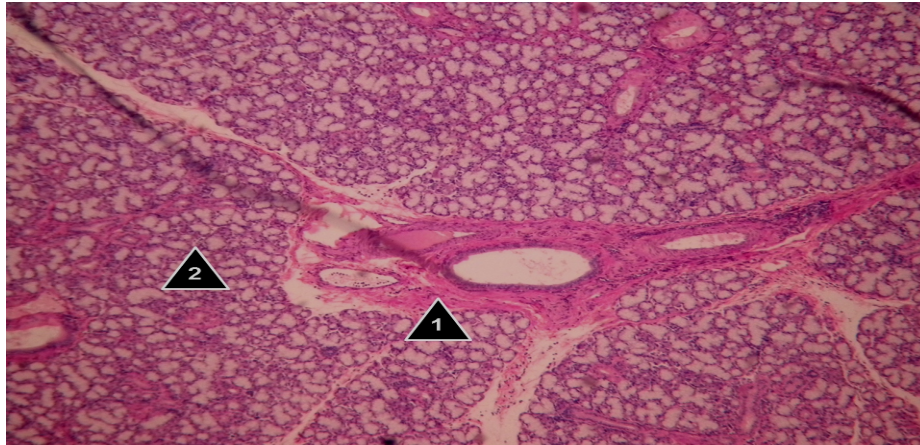


Figura 7. Glándula sublingual (hematoxilina-eosina 4x). 1. Tabique de tejido conectivo denso irregular que junto con la cápsula constituye el estroma del órgano glandular, y en el cual se pueden observar vasos sanguíneos y un conducto excretor. 2. Conjunto de acinos mucosos, serosos y mixtos que junto con los conductos intercalares y estriados constituyen el parénquima del órgano glandular

a una cesta (presentan numerosas prolongaciones citoplasmáticas que se interponen entre sí con las prolongaciones de otras células mioepiteliales con figurando un aspecto de tejido, razón por la cual han sido denominadas como “células en cesta”) fuertemente estabilizada por uniones celulares del tipo desmosoma y uniones comunicantes²⁷, de tal forma que comparten la membrana basal con las células epiteliales acinares y las células epiteliales cúbicas respectivamente^{10,31}.

Dada su capacidad de contractibilidad (mecanismo a partir de filamentos de actina y miosina citoplasmáticas), ayudan a expulsar la saliva desde el acino para transportarla hacia los conductos de intercalares mediante compresión¹⁶, cuando la función secretora de la glándula es estimulada por las vía

simpáticas y parasimpáticas mediante receptores beta adrenérgicos³².

PORCIÓN EXCRETORA

El sistema de conductos de las GSM se encuentran constituidos de forma general por un células epiteliales cúbicas que podrán aumentar o disminuir su tamaño dependiendo el tramo de la red de conductos en el que se observe el corte histológico, de esta forma los conductos intercalares y estriados se encuentran constituidos por un epitelio cúbico simple mientras que los conductos excretores variarán desde un epitelio cúbico simple que se continua de los conductos estriados a un epitelio cilíndrico estratificado, para terminar con un epitelio plano estratificado mucoso en

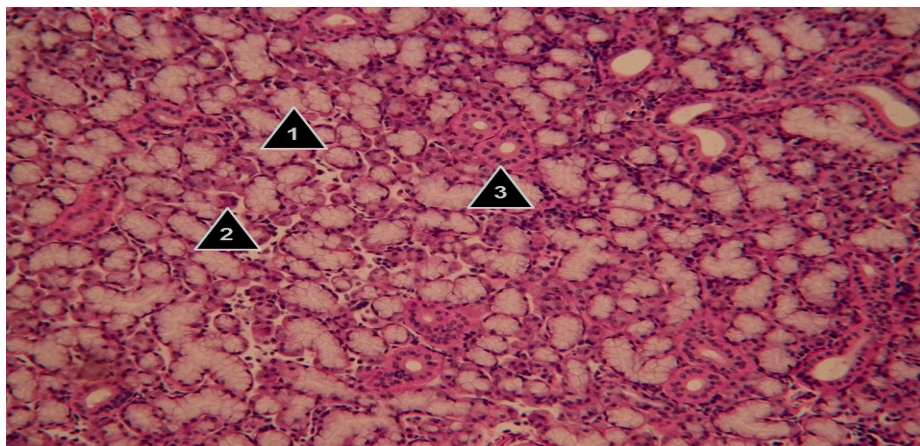


Figura 8. Glándula sublingual (hematoxilina-eosina 10x). 1. Acino seroso. 2. Acino mucoso. 3. Conducto estriado del acino seroso (medialuna serosa)

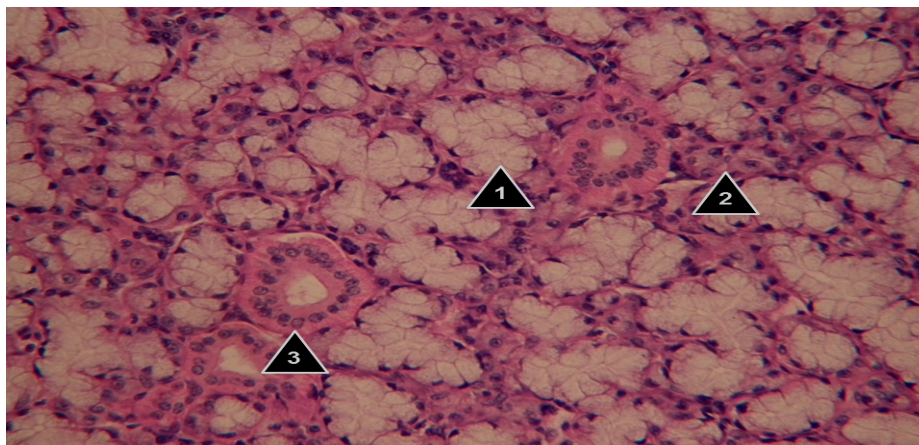


Figura 9. Glándula sublingual (hematoxilina-eosina 40x). 1. Célula acinar mucosa encargada de sintetizar la saliva secretada por el acino mucoso. 2. Célula acinar serosa encargada de sintetizar la saliva secretada por el acino seroso. 3. Célula epitelial cúbica constituyente de un conducto estriado, en la cual se pueden observar las estriaciones en el dominio basal que le dan el nombre dicho conducto

la región de las carúnculas al momento de desembocar en la cavidad oral. En microscopía electrónica de transmisión, estas células presentan un citoplasma con pocas organelas y escasos gránulos cimógenos²⁷.

Las células epiteliales que constituyen los conductos intralobulillares intercalares (ubicados en el parénquima), se originan directamente del acino y se continúan con un conducto de mayor calibre. En las glándulas parótidas, las células epiteliales que conforman los conductos intercalares tienen la capacidad de modificar la saliva primaria, por tanto en las glándulas parótidas y en las submaxilares (mixtas con predominio seroso) los conductos intercalares son más desarrollados que en las glándulas sublinguales (mixtas con predominio mucoso), en donde, si están presentes, son más cortos y difíciles de identificar. La capacidad de modificar la saliva primaria y conformar la saliva secundaria obedece a la actividad de anhidrasa carbónica, dado que secretan iones bicarbonato y absorben iones cloruro^{19,33}. De igual forma, se ha demostrado que estas células epiteliales tienen una gran capacidad mitótica, de tal forma que se encargan de la regeneración de las porciones secretoras y de las porciones excretoras³.

Los conductos intralobulillares estriados (ubicados en el parénquima) se encuentran constituidos por un epitelio cilíndrico simple cuyas células observadas en microscopía electrónica de transmisión, cuentan con microvellosidades en el dominio apical,

interdigitaciones de la membrana celular en el dominio lateral y desmosomas entre células vecinas y abundantes mitocondrias y repliegues de la membrana celular en el dominio basal²⁷ (Figuras 3 y 9). Estos repliegues de la membrana celular sumado a la gran cantidad de mitocondrias constituyen las estriaciones basales intensamente eosinófilas características en los cortes teñidos con hematoxilina-eosina y que algunos autores han denominado el “laberinto basal”^{19,33}.

En el dominio apical, las células epiteliales de los conductos estriados tienen la capacidad de reabsorber cloro y sodio a partir de la saliva primaria isotónica por medio de canales de sodio selectivos ubicados en la membrana plasmática del dominio apical (característicos de los tejidos epiteliales con funciones de absorción), los cuales son regulados por el aumento de la concentración de sodio extracelular y por la proteína G de forma intracelular, para obtener una saliva definitiva hipotónica. Parte del sodio reabsorbido será devuelto a la sangre por el dominio basal de la célula epitelial en cuya membrana celular se observa gran actividad de la bomba sodio-potasio. Dicha actividad se encuentra aumentada por los repliegues basales de la membrana celular y la gran cantidad de mitocondrias³⁴⁻³⁷.

Los conductos excretorios se encuentran constituidos en su extremo más distal por un epitelio cilíndrico simple que se continua de los conductos estriados y que, conforme se va aproximando a la superficie epitelial de

la mucosa de revestimiento de la cavidad oral cambia a un epitelio cúbico o cilíndrico pseudoestratificado que cuenta con la presencia de células caliciformes (secretoras de mucinas), para finalmente conformar un epitelio plano estratificado en su extremo más proximal^{3,19}

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Tal como se ha manifestado, los tres pares de GSM se encuentran rodeadas por una cápsula de tejido conectivo denso irregular, el cual se invagina a manera de tabiques intralobulares en el parénquima para conformar lóbulos y tabiques intralobulillares para conformar lobulillos. La capsula y los tabiques constituyen el estroma mientras que lobulillos y lóbulos constituyen el parénquima funcional. De esta forma, la presentación de los resultados y la discusión de los mismos en esta revisión tema pretende establecer las diferencias, de acuerdo al abordaje y descripción histológica del estroma y del parénquima, de las GSM parótida, submaxilar y sublingual, pero lo cual se emplearán placas histológicas de muestras de glándulas humanas teñidas con hematoxilina-eosina a 4, 10 y 40 aumentos.

PARÓTIDA

De acuerdo a su morfología, la glándula parótida se clasifica como una glándula tubulo-acinar compuesta, cuyos acinos serosos se agrupan en lobulillos y lóbulos separados por tabiques de tejido conectivo denso irregular abundante en adipocitos que se proyectan desde una cápsula muy bien definida de tejido conectivo denso irregular. Los acinos serosos se encuentran constituidos por células triangulares que confluyen hacia una luz pequeña y central que se continúa con un conducto intercalar largo constituido por células cúbicas bajas que se organizan en un epitelio cúbico simple. Los conductos intercalares confluyen a los conductos estriados, los cuales se encuentran dentro de los lobulillos (intralobulillares) y se caracterizan por la presencia de células cúbicas altas con estriaciones basales (efecto histológico constituido por pliegues de la membrana celular del dominio basal y mitocondrias dispuestas en forma de columnas también en la región basal asociadas al transporte rápido de iones y agua) que se organizan en un epitelio cúbico simple. Los conductos estriados drenan hacia tubos colectores o excretores que se localizan en los tabiques y que, en la medida que van saliendo de la glándula, cambian su epitelio desde un cilíndrico simple a un plano

estratificado mucoso que llega finalmente a la cavidad oral^{19,38,39}.

En placas teñidas con hematoxilina-eosina, las células serosas presentan un citoplasma intensamente acidófilo o eosinófilo (tonos rosa) por su naturaleza aniónica o ácida (basada en su polaridad negativa, la eosina es un compuesto ácido que le permite enlazarse con constituyentes celulares de carga positiva, de tal forma que tiñe organelas citoplasmáticas y el componente fibrilar de la matriz extracelular de los tejidos conectivos); y un núcleo redondo central basófilo o hematoxinófilo (tonos azul y púrpura), dada la naturaleza catiónica o básica (por su naturaleza positiva, la hematoxilina es un componen básico que tiñe fuertemente el núcleo debido a los ácidos nucleicos)^{40,41} (Figuras 1-3).

Entre los acinos serosos (dominio basal de las células acinares) y el tejido conectivo laxo se encuentran las células mioepiteliales, representadas por núcleos planos alargados intensamente basófilos que circunscriben el acino; y también se encuentran agrupaciones de células no teñidas compatibles con adipocitos característicos asociados al tejido conectivo denso irregular (estroma) o al tejido conectivo laxo (parénquima), los cuales aumentan con la edad¹⁹.

Los conductos intercalares, largos y con luces estrechas, son intralobulillares. Se encuentran constituidos por células cúbicas que se organizan en un epitelio cúbico simple cuyo citoplasma se observa eosinófilo y su núcleo central basófilo, razón por la cual resulta difícil identificarlos en medio de los acinos serosos de los lobulillos. Los conductos estriados, igualmente intralobulillares, se encuentran constituidos por células epiteliales cilíndricas que se asocian en un epitelio cilíndrico simple para constituir el conducto a partir de una luz amplia. Las células tienen igualmente eosinófilas, pero pueden diferenciarse por la presencia de una serie de estrias basales intensamente eosinófilas que corresponde a un efecto óptico de los repliegues profundos de la membrana plasmática y la presencia de abundantes mitocondrias organizadas paralelas a los repliegues en el dominio basal. Los conductos excretores, ubicados en el tejido conectivos de los tabiques intralobulares, se encuentran conformados por células cúbicas y cilíndricas, constituyen un epitelio pseudoestratificado. Estos conductos se observan igualmente eosinófilos^{19,25,38} (Figuras 1-3).

SUBMAXILAR

Igual que la glándula parótida, de acuerdo a su morfología se clasifica como una glándula tubulo-acinar compuesta, en cuyo parénquima se pueden observar acinos serosos, mucosos y mixtos (medialunas serosas asociadas a la periferia de acinos mucosos) por lo cual de acuerdo al tipo de secreción se clasifica como una glándula mixta con predominio seroso. Vale la pena resaltar que las medialunas serosas se constituyen en un artefacto histológico de la etapa de fijación durante la técnica histológica que resulta en la tumefacción de las células mucosas y expulsión hacia la periferia de las células serosas. Por tanto, in vivo, en el acino mixto realmente las células serosas se encuentran intercaladas entre las células mucosas y ambas vierten sus contenidos hacia la luz. Rodeando el parénquima se observa una cápsula de tejido conectivo denso irregular que se invagina a manera de tabiques entre los acinos y conductos formando lóbulos y lobulillos. El tejido conectivo laxo que rodea a los acinos se observa la presencia de linfocitos y células plasmáticas productoras de inmunoglobulina (IgA)^{19,25,38}.

En placas teñidas con hematoxilina-eosina se observan en las células serosas de los acinos serosos y mixtos (medialunas serosas) gránulos de zimógeno intensamente eosinófilos que se confunden con un citoplasma igualmente eosinófilo^{25,38}. Las células mucosas de los acinos mucosos y mixtos presentan un citoplasma pálido eosinófilo (apariencia de vacío de la célula mucosa asociado a la pérdida de los gránulos de mucinógeno durante la técnica histológica, los cuales no tiene afinidad específica por la eosina) (40,41), mientras que el núcleo, intensamente basófilo se observa aplanado y polarizado hacia el dominio basal¹⁹ (Figura 4-6).

Los tres tipos de acinos se continúan con escasos conductos intercalares muy cortos que drenan a conductos estriados mucho más evidentes (debido a su longitud) que a su vez se continúan con conductos excretores que drenan a la cavidad oral. Los conductos intercalares y estriados se encuentran en la región del parénquima intralobulillar, en donde hay grandes concentraciones de acinos serosos, dado que los acinos mucosos tienden a conformar una morfología tubular en lugar de acinar; mientras que los conductos excretores, constituidas por un epitelio

pseudoestaficado de células cúbicas y cilíndricas que circunscriben una luz bastante amplia, se observan directamente en los tabiques intralobulares de tejido conectivo denso irregular^{19,25,38}.

SUBLINGUAL

Conjunto de pequeñas glándulas tubulo-acinares compuestas cuyo sistema de conductos, constituido principalmente por conductos intercalados y estriados muy cortos, es independiente. Una cápsula delgada y menos definida de tejido conectivo rodea el parénquima constituido por acinos mucosos, acinos serosos (muy escasos) y acinos mixtos (acino mucoso con una medialuna serosa asociada), entre los cuales predominan los acinos mucosos, por lo cual la glándula sublingual se clasifica de acuerdo al tipo de secreción como una glándula mixta con predominio mucoso. Resulta plausible que realmente la medialuna serosa corresponda a células mucosas que durante la técnica histológica perdieron parcialmente los gránulos que contienen mucinógeno, dado que estas células no cumplen en sentido estricto con el concepto de apariencia vacía de las medialunas serosas de los acinos mixtos de las glándulas submandibulares; de la misma forma que el predominio de componentes de la saliva producida por las glándulas sublinguales son de origen mucoso^{19,25,38} (Figura 7-9).

CONCLUSIONES

Dado que el objetivo de esta revisión de tema es hacer una descripción histológica de las tres glándulas salivales mayores a partir de placas con muestras humanas teñidas con hematoxilina-eosina, asociando las diversas estructuras histo-morfológicas a la fisiología, las conclusiones se presentan en el Cuadro 1, de tal forma que se pueda hacer una descripción diferencial de los componentes de las glándulas parótidas, submaxilares y sublinguales teniendo en cuenta aspectos biológicos moleculares dentro del contexto morfológico y funcional del sistema digestivo.

REFERENCIAS

1. Khojasteh SMB, Delashou M. Microscopic anatomy of the parotid and submandibular salivary glands in European hamster (*Cricetus cricetus* L.). *Internat Res J Applied Basic Scienc* 2012; 3: 1544-1548
2. Hand AR, Pathmanathan D, Field RB. Morphological features of the minor salivary glands. *Arch Oral Biol* 1999;

- 44: 3-10
3. Garant PR. Oral cells and Tissues. Quintessence Books: Chicago 2003
 4. Lingstrom P, Moynihan P. Nutrition, Saliva, and Oral Health. Nutrition 2003; 19: 567-569
 5. Mandel ID. The functions of saliva. J Dent Res 1987; 66: 623-627
 6. Valdez IH, Fox PC. Interactions of the salivary and gastrointestinal systems. I. The role of saliva in digestion. Dig Dis 1991; 9: 125-132
 7. Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. Oral Dis 2002; 8: 117-129
 8. Dodds MW, Johnson DA, Yeh Ch-K. Health benefits of saliva: a review. J Dentistry 2005; 33: 223-233
 9. Llana-Puy C. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006; 11: 449-455
 10. Gartner LP, Hiatt JL. Texto atlas de histología. Tercera edición. Mc Graw-Hill Interamericana: México 2008
 11. Ten Cate AR. Histología Oral: Desarrollo, Estructura y Función. Segunda Edición. Editorial Médica

Características	Parótidas	Submandibulares	Sublinguales
Clasificación morfo-histológica de la glándula:	· Tubulo-acinar compuesta.	· Tubulo-acinar compuesta.	· Tubulo-acinar compuesta.
Mecanismo de secreción:	· Merocrino.	· Merocrino.	· Merocrino.
Tipo de secreción:	· Serosa.	· Mixta (seromucosa) predominantemente serosa.	· Mixta (mucoserosa) predominantemente mucosa.
Estroma:	· Cápsula de tejido conectivo denso irregular bien definida. · Tabiques de tejido conectivo denso irregular bien definidos.	· Cápsula de tejido conectivo denso irregular bien definida. · Tabiques de tejido conectivo denso irregular bien definidos.	· Cápsula de tejido conectivo denso irregular delgada y difusa. · Tabiques de tejido conectivo denso irregular difusos.
Parénquima:	· Lóbulos y lobulillos compactos bien definidos.	· Lóbulos y lobulillos a manera de "racimo de uvas" bien definidos.	· Lóbulos y lobulillos compactos bien definidos.
Acinos (porción secretora):	· Serosos.	· Serosos. · Mucosos. · Mixtos (mucosos con medialuna serosas).	· Serosos (muy escasos). · Mucosos. · Mixtos (mucosos con medialuna serosas).
Células epiteliales acinares:	· Acinares serosas conformando acinos serosos (citoplasma eosinófilo intenso; núcleo basófilo, redondeado y polarizado hacia el dominio basal; luz muy pequeña).	· Acinares serosas conformando acinos serosos (citoplasma eosinófilo intenso; núcleo basófilo, redondeado y polarizado hacia el dominio basal; luz muy pequeña). · Acinares mucosas conformando acinos mucosos (citoplasma eosinófilo / basófilo débil; núcleo basófilo aplanado y polarizado hacia el dominio basal; luz amplia). · Acinares serosas conformando medialunas serosas en acinos mixtos con las mismas características que los acinos serosos. Acinares mucosas conformando acinos mixtos con las mismas características que los acinos mucosos.	· Acinares mucosas conformando acinos mucosos (citoplasma eosinófilo / basófilo débil; núcleo basófilo aplanado y polarizado hacia el dominio basal; luz amplia). · Acinares serosas conformando medialunas serosas en acinos mixtos con las mismas características que los acinos serosos. Acinares mucosas conformando acinos mixtos con las mismas características que los acinos mucosos.

<p>Conductos (porción excretora):</p>	<ul style="list-style-type: none"> · Conductos intercalares largos (abundantes en los cortes) y delgados (luces estrechas), ubicados en medio de los acinos (intralobulillares) y conformados por un epitelio cúbico simple. · Conductos estriados bien desarrollados con luces amplias, ubicados en los lobulillos (intralobulillares) y conformados por un epitelio cúbico simple. · Conductos excretores ubicados en los tabiques (extralobulillares) y conformados por un epitelio que va desde cúbico alto simple en su extremo distal, cilíndrico pseudoestratificado en su parte media proximal y plano estratificado mucoso en su extremo más proximal. 	<ul style="list-style-type: none"> · Conductos intercalares cortos (escasos en los cortes respecto a parótida) y delgados (luces estrechas), conformados por un epitelio cúbico simple. · Conductos estriados largos (abundantes en los cortes respecto a parótida), conformados por un epitelio cúbico simple. · Conductos excretores ubicados en los tabiques (extralobulillares) y conformados por un epitelio que va desde cúbico alto simple en su extremo distal, cilíndrico pseudoestratificado en su parte media proximal y plano estratificado mucoso en su extremo más proximal. 	<ul style="list-style-type: none"> · Conductos intercalares muy poco desarrollados, conformados por un epitelio cúbico simple. · Conductos estriados cortos (escasos en los cortes respecto a submandibular), conformados por un epitelio cúbico simple. · Conductos excretores ubicados en los tabiques (extralobulillares) y conformados por un epitelio que va desde cúbico alto simple en su extremo distal, cilíndrico pseudoestratificado en su parte media proximal y plano estratificado mucoso en su extremo más proximal.
<p>Células epiteliales de los conductos:</p>	<ul style="list-style-type: none"> · Epiteliales cúbicas conformando un epitelio cúbico simple en los conductos intercalares (citoplasma eosinófilo, núcleo basófilo, redondeado y central). · Epiteliales cúbicas altas conformando un epitelio cúbico simple en los conductos estriados (citoplasma eosinófilo, núcleo basófilo redondeado y central, y estriaciones intensamente eosinófilas en el dominio basal). · Epiteliales cilíndricas altas y bajas conformando un epitelio pseudoestratificado simple (citoplasma eosinófilo, núcleo basófilo, redondeado y en diferentes posiciones). 	<ul style="list-style-type: none"> · Epiteliales cúbicas conformando un epitelio cúbico simple en los conductos intercalares (citoplasma eosinófilo, núcleo basófilo, redondeado y central). · Epiteliales cúbicas altas conformando un epitelio cúbico simple en los conductos estriados (citoplasma eosinófilo, núcleo basófilo redondeado y central, y estriaciones intensamente eosinófilas en el dominio basal). · Epiteliales cilíndricas altas y bajas conformando un epitelio pseudoestratificado simple (citoplasma eosinófilo, núcleo basófilo, redondeado y en diferentes posiciones). 	<ul style="list-style-type: none"> · Epiteliales cúbicas conformando un epitelio cúbico simple en los conductos intercalares (citoplasma eosinófilo, núcleo basófilo, redondeado y central). · Epiteliales cúbicas altas conformando un epitelio cúbico simple en los conductos estriados (citoplasma eosinófilo, núcleo basófilo redondeado y central, y escasas estriaciones intensamente eosinófilas en el dominio basal). · Epiteliales cilíndricas altas y bajas conformando un epitelio pseudoestratificado simple (citoplasma eosinófilo, núcleo basófilo, redondeado y en diferentes posiciones).
<p>Otras características:</p>	<ul style="list-style-type: none"> · Abundantes adipocitos que aumentan con el envejecimiento. 	<ul style="list-style-type: none"> · Presencia de adipocitos (menor que en parótida) que aumentan con el envejecimiento. 	<ul style="list-style-type: none"> · Ausencia de adipocitos.

- Panamericana: Buenos Aires 1986
12. Moore KL, Persaud TVN. Embriología clínica: el desarrollo del ser humano. Séptima edición. Elsevier: Barcelona 2004
 13. Sadler TW. Langman: embriología médica. Décimo segunda edición. Editorial Lippincott Williams and Wilkins: Barcelona 2012
 14. Cutler LS, Gremski W. Epithelial-Mesenchymal Interactions in the Development of Salivary Glands. CROBM 1991; 2: 1-12
 15. Tucker AS. Salivary gland development. Seminars in Cell & Developmental Biology 2007; 18: 237-244
 16. Ianez RF, Buim ME, Coutinho-Camillo CM, Schultz R, Soares FA, Lourenc SV. Human salivary gland morphogenesis: myoepithelial cell maturation assessed by immunohistochemical markers. Histopathology 2010; 57: 410-417
 17. Anselm M. Studies on the embryology and histology of the salivary glands and their endocrine nature. The American Biology Teacher 1968; 30: 666-673
 18. Eynard AR, Valentych MA, Rovasio RA. Histología y embriología del ser humanos: bases celulares y moleculares. Cuarta edición. Editorial Médica Panamericana: Buenos Aires 2008
 19. Ross MH, Pawlina W. Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. Quinta edición: Editorial Médica Panamericana 2010
 20. Baum BJ. Principles of Saliva Secretion. Annals New York Academy of Sciences. 1993; 693: 17-23
 21. Turner RJ, Sugiyama H. Understanding salivary fluid and protein secretion. Oral Dis 2002; 8: 3-11
 22. Catalán MA, Nakamoto T, Melvin JE. The salivary gland fluid secretion mechanism. The Journal of Medical Investigation 2009; 56: 192-196
 23. Melvin JE, Yule D, Shuttleworth T, Begenisich T. Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. Annu Rev Physiol 2005; 67: 445-469
 24. Delporte C, Steinfeld S. Distribution and roles of aquaporins in salivary glands. Biochimica et Biophysica Acta 2006; 1061-1070
 25. Gómez de Ferrais ME, Campos A. Histología y embriología bucodental. Segunda edición. Editorial Médica Panamericana: México 2002
 26. Pinkstaff CA. Serous, seromucous and special serous cells in salivary glands. Microsc Res Tech 1993; 26: 21-31
 27. Chaudhry AP, Cutler LS, Yamane GM, Labay GR, Sunderraj M, Manak JR. Ultrastructure of normal human parotid gland with special emphasis on myoepithelial distribution. J Anat 1987; 152: 1-11
 28. Tabak LA, Levine MJ, Mandel ID, Ellison SA. Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. J Oral Pathol 1982; 11: 1-17
 29. Wu AM, Csako G, Herp A. Structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. Mol Cell Biochem 1994; 137: 39-55
 30. Piludu M, Rayment SA, Liu B, Offner GD, Oppenheim FG, Troxler RF, et al. Submandibular and sublingual glands electron microscopic immunogold localization of salivary mucins MG1 and MG2 in human. J Histochem Cytochem 2003; 51: 69-79
 31. Redman RS. Myoepithelium of salivary glands. Microsc Res Tech 1994; 27: 25-45
 32. Emmelin BN, Gjørstap P. On the function of myoepithelial cells in salivary glands. J Physiol 1973; 230: 185-198
 33. Kierszenbaum AL. Histología y biología celular. Segunda edición: Barcelona 2008
 34. Dinudom A, Komwatana P, Young JA, Cook DI. Control of the amiloride-sensitive Na⁺ current in mouse salivary ducts by intracellular anions is mediated by a G protein. J Physiol 1995; 487: 549-555
 35. Komwatana P, Dinudom A, Young JA, Cook DI. Control of the amiloride-sensitive Na⁺ current in salivary duct cells by extracellular sodium. J Membr Biol 1996; 150: 133-141
 36. Cook DI, Dinudom A, Komwatana P, Young JA. Control of Na⁺ transport in salivary duct epithelial cells by cytosolic Cl⁻ and Na⁺. Eur J Morphol 1998; 36: 67-73
 37. Melvin JE. Chloride Channels and Salivary Gland Function. CROBM 1999; 10: 199-209
 38. Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. Texto/atlas de histología. Interamericana McGraw-Hill: México 1998
 39. Stevens A, Lowe J. Texto y atlas de histología. Mosby Doyma: Barcelona 1993
 40. Greenwald SE, Brown AG. Histology and staining. In Biomedical Technology and Devices Handbook, Zouridakis G and Moore J (editors). CRC Press: London 2004
 41. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques. Sixth edition. Churchill Livingstone Elsevier: USA 2008