

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Odontología

DENSIDAD DE RECEPTORES DE TACTO FINO EN LENGUA DE MAMÍFEROS

Madrid, curso académico 2024/2025

Número identificativo: TFG_Nº18

RESUMEN

Introducción: los mecanorreceptores son fundamentales en la percepción de estímulos táctiles y vibratorios. Entre ellos, los corpúsculos de Meissner destacan por su sensibilidad al tacto fino y a vibraciones de baja frecuencia. La lengua, es clave en funciones como la deglución, la percepción gustativa y el habla. Este estudio se centró en la anatomía e histología de los corpúsculos de Meissner en la lengua, evaluando su cantidad, distribución y posibles implicaciones sensoriales. **Objetivos:** el objetivo fue analizar histológicamente las diferencias estructurales del epitelio lingual, así como la cantidad y distribución de los corpúsculos de Meissner entre el dorso y el vientre de la punta de la lengua de una oveja. **Metodología:** se procesaron muestras mediante técnicas de fijación, crioprotección, inclusión en OCT y cortes con criostato. Posteriormente, se tiñeron con Hematoxilina-Eosina y se analizaron con microscopía óptica. Se midió el espesor epitelial y se cuantificaron los corpúsculos usando el software ImageJ. **Resultados:** Se evidenció un mayor número de corpúsculos de Meissner en el vientre y un epitelio más grueso en el dorso, con variabilidad entre regiones. **Conclusiones:** Se identificó una mayor cantidad de corpúsculos de Meissner en el vientre y un mayor grosor epitelial en el dorso de la lengua, lo que sugiere una especialización funcional por regiones. Estos hallazgos podrían ser relevantes en estudios sobre percepción sensorial y posibles aplicaciones clínicas.

PALABRAS CLAVE

Odontología, Corpúsculos de Meissner, mecanorreceptores, lengua, epitelio lingual.

ABSTRACT

Introduction: Mechanoreceptors are essential for the perception of tactile and vibratory stimuli. Among them, Meissner's corpuscles stand out due to their sensitivity to fine touch and low-frequency vibrations. The tongue plays a key role in functions such as swallowing, taste perception, and speech. This study focused on the anatomy and histology of Meissner's corpuscles in the tongue, evaluating their quantity, distribution, and possible sensory implications. **Objectives:** The aim was to histologically analyze the structural differences of the lingual epithelium, as well as the quantity and distribution of Meissner's corpuscles between the dorsal and ventral sides of the tip of a sheep's tongue. **Methodology:** Samples were processed through fixation, cryoprotection, OCT embedding, and cryostat sectioning. They were then stained with Hematoxylin-Eosin and analyzed using optical microscopy. Epithelial thickness was measured, and corpuscles were quantified using the ImageJ software. **Results:** A higher number of Meissner's corpuscles were found in the ventral region, while the dorsal epithelium was thicker, with regional variability. **Conclusions:** A greater quantity of Meissner's corpuscles was identified in the ventral area, and greater epithelial thickness in the dorsal region of the tongue, suggesting functional specialization by region. These findings may be relevant for research on sensory perception and potential clinical applications.

KEYWORDS

Dentistry, Meissner's corpuscles, mechanoreceptors, tongue, lingual epithelium.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Mecanorreceptores	
1.1.1. Tipos de mecanorreceptores	1
1.2. Inervación somatosensorial de los tejidos humanos sanos	2
1.3. La lengua: Anatomía, fisiología e histología	3
1.3.1 Tipos de papilas linguales	4
1.3.2. Papilas gustativas	5
1.3.3. Corpúsculos de Meissner	6
1.3.3.1. Anatomía y fisiología de los Corpúsculos de Meissner	6
1.4. Antecedentes	8
1.5. Justificación	8
1.6. Pregunta Pico	9
1.7. Hipótesis	9
2. OBJETIVO	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS	9
3.1. Obtención de muestras	10
3.2. Conservación y fijación de muestras	10
3.3 Selección y clasificación de las muestras	11
3.4. Preparación de muestras	11
3.4.1. Inclusión en OCT	11
3.5. Cortes histológicos	12
3.5.1. Criostato	12
3.6. Tinciones con Hematoxilina y Eosina	12
3.6.1. Protocolo de tinción	13
3.7. Obtención de imágenes al microscopio óptico	14
3.8 Mediciones del espesor del epitelio de las imágenes obtenidas al microscopio	15
4. RESULTADOS	16
4.1 Dorso y vientre en la punta de la lengua de oveja	
4.1.1. Corte 1	16
4.1.2. Corte 2	18

4.1.3. Corte 3	20
4.1.4. Corte 4	22
4.1.5. Corte 5	24
4.2 Análisis estadístico	25
5. DISCUSIÓN	27
6. CONCLUSIONES	28
7. SOSTENIBILIDAD	28
8. BIBLIOGRAFÍA	29
9. ANEXOS	31

1. INTRODUCCIÓN

1.1. MECANORRECEPTORES

Los mecanorreceptores son de vital importancia en muchos seres vivos para las aferencias sensitivas relacionadas con la vibración y el tacto. Son sensibles a estímulos bien definidos de diferente naturaleza: táctil, fuerza o presión, propiocepción y vibración. Los corpúsculos de Pacini, Meissner y discos de Merkel son responsables de la captación de los estímulos de vibración y táctiles y, podemos encontrarlos en diferentes partes del cuerpo como la piel, el sistema muscular, el sistema circulatorio y órganos internos (1).

Cabe destacar que, la compleja fisiología de este tipo de receptores, brinda al organismo la capacidad de mantener una correcta homeostasis para poder entender mejor el entorno (1)(2).

1.1.1. Tipos de mecanorreceptores

Existen diferentes tipos de mecanorreceptores que, en general, se clasifican según su estructura en función de si son encapsulados o no encapsulados (2).

- Los no encapsulados son tres: a) terminaciones nerviosas libres de adaptación rápida para el dolor, tacto (grueso), presión, calor y frío; b) Discos de Merkel de adaptación lenta para el tacto relacionado con la presión; y, por último, c) receptores de los folículos pilosos de adaptación rápida para el tacto relacionado con el pelo de las diferentes partes del cuerpo (2).
- Los encapsulados son 5: a) los corpúsculos de Meissner de adaptación rápida que son bastante sensibles al tacto otorgando la capacidad de discriminar entre dos puntos; b) los corpúsculos de Pacini de adaptación rápida sirven principalmente para detectar la vibración; c) los corpúsculos de Ruffini son de adaptación lenta y sirven para valorar el grado de distensión respondiendo al estiramiento de la piel; por último d) los receptores de los husos neuromusculares y neurotendinosos, ambos de adaptación rápida respondiendo al estiramiento y compresión muscular, respectivamente (2).

1.2. INERVACIÓN SOMATOSENSORIAL DE LOS TEJIDOS HUMANOS SANOS

Los mecanorreceptores que se encuentran en la cavidad oral aportan información al organismo de vital importancia para la supervivencia y el desarrollo del mismo tales como: forma, textura, tamaño, temperatura y hasta incluso contenido del alimento (3).

La información somatosensorial de la cavidad oral está mediada principalmente por el quinto par craneal o nervio trigémino. Contiene tres ramas principales que se encargan de inervar las diferentes partes de dicha cavidad: ramas oftálmica, maxilar y mandibular (4).

La lengua está inervada por diferentes pares craneales en toda su amplitud: por un lado, la tercera rama del trigémino o rama mandibular, tiene varias ramificaciones, entre ellas un nervio exclusivamente sensitivo denominado nervio lingual que se encargará de inervar los dos tercios anteriores de la lengua. Por otro lado, el tercio posterior de la lengua se encuentra inervado por las fibras somatoaférentes del IX par craneal o nervio glossofaríngeo (5).

En cuanto a la musculatura, el XII par craneal o nervio hipogloso inerva prácticamente todos los músculos de la lengua, con excepción del músculo palatogloso que se encuentra inervado por fibras visceroeferentes especiales de la rama faríngea que derivan del X par craneal o nervio vago (5).

Las neuronas que se encuentran en cada uno de estos nervios son pseudounipolares, es decir, tienen una única prolongación que cumple ambas funciones: transmitir señales desde el cuerpo celular y recibir estímulos. De esta forma cada neurona proyecta una fibra nerviosa amielínica hasta llegar a una bifurcación en T en donde, uno de los axones derivará en dendritas de terminaciones específicas y, el otro, en el sistema nervioso central (2).

La lengua, por tanto, es un órgano muy valioso en muchos seres vivos ya que hace uso de todos estos elementos para facilitar las funciones fundamentales de deglución, respiración y, en el caso de los seres humanos, el habla (4).

Está presente en prácticamente todos los anfibios adultos y en la totalidad de reptiles, aves y mamíferos que existen. Por eso, es posible que este órgano sea un mecanismo más de adaptación de estas especies a la vida terrestre ya que, las

especies acuáticas no poseen una lengua similar, sino un órgano parecido a la lengua no muscular compuesto por el cartílago glosohial y el hueso basihial (4,6).

A nivel sensitivo, con el fin de cumplir con las funciones ya comentadas antes, tales como la detección de diferentes texturas y formas, sustancias químicas y cambios físicos, entre otros, se identifican tres variedades diferentes de terminaciones nerviosas: terminaciones nerviosas libres, discos de Merkel y corpúsculos de Meissner (7).

1.3. LA LENGUA: ANATOMÍA, FISIOLOGÍA E HISTOLOGÍA

Se trata de un órgano que forma parte de la mucosa oral compuesto por una base y, a continuación el cuerpo de la lengua. En conjunto, forma una estructura de músculo esquelético cubierto de una mucosa de revestimiento o especializada que se divide en 2 mitades iguales mediante un tabique central (8,9).

En cuanto a la musculatura, está formada por 2 grupos de músculos con funciones diferentes: por un lado, los músculos extrínsecos que provienen del exterior de la lengua (hiogloso, geniogloso y estilogloso), se encargan de mover a esta bilateralmente y de adentro hacia fuera con el propósito de facilitar la alimentación formando el bolo alimenticio y llevándolo hacia adentro; por otro lado, están los músculos intrínsecos (longitudinal superior, longitudinal inferior, transverso y vertical) que nacen en el tejido conectivo de la lengua y se introducen en este favoreciendo también la deglución y, además, el habla (8).

El vientre de la lengua está formado por una mucosa de revestimiento rodeada por una capa delgada de epitelio no queratinizado y una lámina propia por debajo de este. Este epitelio está formado por células en forma de cubo que se conoce como estrato basal. A este le seguiría el estrato espinoso con células ovaladas y aplanadas y, por encima, encontramos el estrato superficial con células completamente aplanadas. La lámina propia o dermis está compuesta por tejido conectivo papilar y reticular (4).

Por otro lado, la zona dorsal de la lengua está recubierta por una mucosa especializada queratinizada compuesta de cuatro tipos diferentes de estructuras denominadas papilas (4).

1.3.1. Tipos de papilas linguales

- Las **papilas filiformes** son prolongaciones de células epiteliales queratinizadas y las más abundantes, pudiendo encontrarse en la totalidad de la capa rugosa de la lengua (figura 1). Estas papilas pueden visualizarse unos 2 a 3 mm por encima de la lengua (5,6).

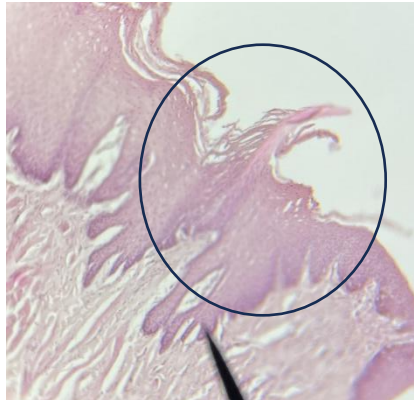


Figura 1. Imagen al microscopio óptico de una papila filiforme obtenida de la universidad Europea de Madrid

- Las **papilas fungiformes** se ubican entre las papilas filiformes ya mencionadas antes. Tienen forma de hongo y, aunque son menos en cantidad, podemos ver una mayor densidad de las mismas en la punta de la lengua. Están rodeadas por un epitelio no queratinizado albergando en su superficie las papilas gustativas (véase figura 2) (5,6).

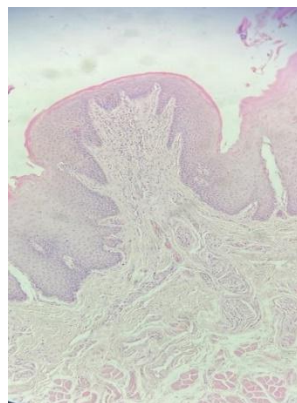


Figura 2. Imagen al microscopio óptico de una papila fungiforme obtenida de la Universidad Europea de Madrid

- Otro tipo de papila serían las **circunvaladas**, de las cuales podemos encontrar entre diez y catorce dispuestas en el cuerpo y la base de la lengua. Tienen un diámetro

de 3 mm, estableciéndose así como las más grandes de los cuatro tipos. Cada una de ellas, tiene glándulas serosas por debajo (glándulas de Von Ebner) que abren su conducto entre los surcos que se encuentran alrededor de las papilas. De igual forma, hay papilas gustativas rodeándolas (5,6).

- Finalmente, bilateralmente a nivel posterior de la lengua, encontraríamos el último tipo: las **papilas foliadas** que también contiene papilas gustativas y, al igual que las circunvaladas, tienen glándulas serosas (5).

1.3.2. Papilas gustativas

Las papilas gustativas, se encargan de transferir información sobre el gusto y están relacionadas principalmente con las diferentes papilas descritas, aunque pueden encontrarse también en otras estructuras de la mucosa oral como el paladar, la epiglotis, la laringe y la faringe. No son exactamente células neuronales, sino más bien, células epiteliales relacionadas con terminaciones nerviosas que provienen de los pares craneales VII(nervio facial), IX(nervio glossofaríngeo) y X(nervio vago) (4).

Podemos encontrar de diez a catorce células gustativas en cada papila gustativa. Cada una de las papilas tiene una estructura bien definida a base de: por un lado, células de soporte alrededor de la papila; por otro lado, microvellosidades que pueden variar de tamaño y que se dirigen hacia el poro; y, finalmente, células basales que se encuentran en torno a la lámina basal (figura 4) (4).

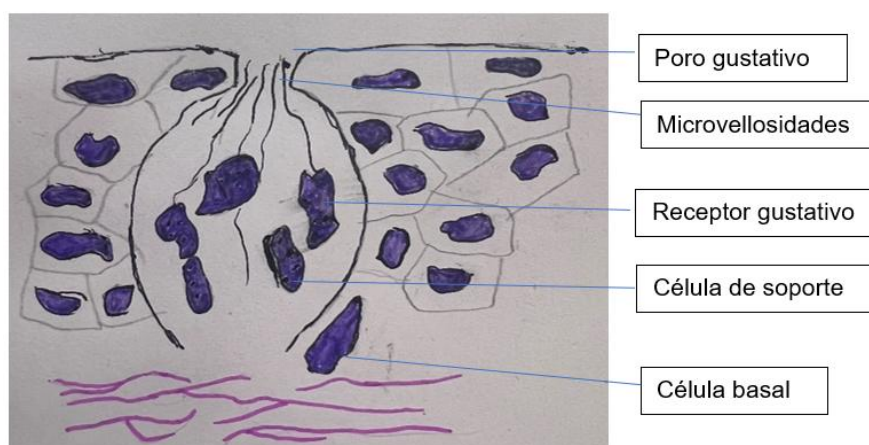


Figura 3. Dibujo de un botón gustativo en el que se pueden observar de forma esquemática los diferentes atributos a nivel histológico.

Cabe destacar que existen cinco tipos de sensaciones gustativas o “sabores” que son capaces de detectar estas papilas. Estos son: dulce, salado, amargo, ácido y umami. Sobre ellos, se sabe que las papilas en conjunto son capaces de detectar todos los sabores descritos, aunque la sensibilidad de detección varía según la región (4).

1.3.3. Corpúsculos de Meissner

También conocidos como corpúsculos del tacto, son un tipo de mecanorreceptor que fueron definidos en un principio por el Profesor Georg Meissner y el Profesor Rudolf Wagner (Wagner-Meissner) en 1852. Se encuentran en las papilas dérmicas de la piel glabra formando estructuras terminales nerviosas especializadas rodeadas por una cápsula con la función de transmitir información sobre el tacto fino y vibraciones de baja frecuencia (7).

1.3.3.1. Anatomía y fisiología de los Corpúsculos de Meissner

Los corpúsculos de Meissner están clasificados como mecanorreceptores elipsoidales que se encuentran dentro de la dermis a unos 150 micrómetros. Tienen un diámetro entre 20 y 40 micrómetros y una longitud de entre 80 y 150 micrómetros y se ubican entre 2 o hasta 4 papilas dérmicas (figura 4) (10). Cada uno de los corpúsculos se componen de tres estructuras diferentes: células de Schwann, una cápsula de tejido conectivo y el axón del centro (10).

Por un lado, las células de Schwann, que tienen como principales componentes colágeno y microfilamentos, se disponen apiladas sobre el final de una matriz interlaminar; por otro lado, la cobertura o cápsula proviene del tejido conectivo fibroblástico endoneural y perineural; finalmente, el ápice de la cápsula contiene fibrillas de colágeno interlaminar que se prolonga y une el corpúsculo a la zona inferior de la epidermis (10).

La innervación de cada corpúsculo está mediada por una fibra aferente mielinizada de tipo beta con un tamaño más o menos grande. Normalmente se encuentran innervados por un solo axón como se comentaba antes pero cabe la posibilidad de encontrar corpúsculos con hasta 7 ramificaciones más. Así mismo, se pueden ver múltiples corpúsculos innervados por una sola neurona (10).

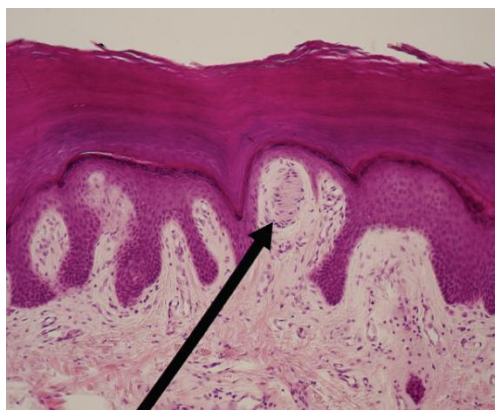


Figura 4. “OpenStax Anatphys fig.5.15- Micrografía óptica de un corpúsculo de Meissner – Etiquetas en inglés” de OpenStax y Wbensmith, licencia: CC BY. Tinción de Hematoxilina – Eosina.

En cuanto a su función, los corpúsculos de Meissner se encargan del tacto fino y discriminativo y detectar vibraciones de baja frecuencia de entre 10 y 50 Hz y pueden responder a defectos provocados en la piel por debajo de 10 micrómetros. La vibración es un efecto producido por la oscilación de objetos que se posicionan en la piel. El umbral de adaptación de cada receptor está relacionado con la capacidad de detectar dichas vibraciones (10)(11).

También son capaces de identificar el deslizamiento para controlar la respuesta ante estos. Reciben la información de los estímulos de una manera uniforme en un diámetro de 3 a 5 mm. Las fibras de colágeno adaptan su forma a los diferentes estímulos transmitiendo esta fuerza a las terminaciones nerviosas asociadas para generar un potencial de acción (10).

Así mismo, captan información sobre la estructura de los objetos en cuanto a forma, orientación y distancia entre estos. Esto resulta útil, por ejemplo, a las personas ciegas para leer mediante el Braille (11).

Pueden localizarse en las yemas de los dedos, las palmas de las manos y plantas de los pies, labios, paladar, lengua y genitales. Aun así, a pesar de que se han hecho varios estudios sobre estos corpúsculos, no se ha llegado a un consenso sobre la densidad de los mismos en las diferentes partes del cuerpo (10).

1.4. ANTECEDENTES

La literatura ha evidenciado que existen adaptaciones específicas en cuanto a la morfología de la lengua y a la distribución de las papilas linguales entre diferentes especies mamíferas (12).

Moayed et al. (2018), mediante inmunohistoquímica, analizaron la lengua de un ratón y encontraron terminaciones nerviosas alrededor de las papilas fungiformes y filiformes. Entre ellas se visualizaron estructuras con una morfología similar a la de los corpúsculos de Meissner (13).

En contraste con esto, en un estudio hecho por Zhang et al. (2024) sobre lengua de ratones, donde se utilizaron métodos de trazado neuronal para detectar receptores de bajo umbral, tales como corpúsculos de Meissner, se evidenció una gran inervación de las papilas filiformes y fungiformes pero no se encontraron hallazgos relacionados con corpúsculos sensoriales (14).

En humanos y gatos, es normal encontrar mecanorreceptores de adaptación rápida como corpúsculos de Meissner, de lo cual se entiende que la lengua, entre otras cosas, se especializa en la detección de estímulos en movimiento (15).

1.5. JUSTIFICACIÓN

El presente estudio tiene como objetivo realizar un análisis histológico de la mucosa lingual, con especial atención a la cantidad y distribución de los corpúsculos de Meissner en la lengua de mamíferos, con el fin de profundizar en la comprensión de su función sensorial y las adaptaciones evolutivas de esta estructura en diferentes especies. Estos receptores son esenciales en la detección de estímulos, especialmente en zonas de elevada sensibilidad como la lengua, un órgano crucial para la percepción del entorno, la alimentación y otros comportamientos fundamentales en mamíferos, tales como la comunicación.

La cantidad y distribución de estos corpúsculos varía según la especie, lo que sugiere adaptaciones evolutivas a las necesidades sensoriales de cada uno.

1.6. PREGUNTA PICO

¿En una especie mamífera, cuáles son las diferencias epiteliales, y de la cantidad y distribución de los corpúsculos de Meissner entre el dorso y el vientre de la punta de la lengua, cuando se analizan histológicamente al microscopio óptico?

1.7. HIPÓTESIS

Existen diferencias histológicas en los epitelios de la punta de la lengua en posiciones dorsal y ventral. Consideramos que puede existir un marcado reparto de la cantidad de estructuras histológicas, como los corpúsculos de Meissner, entre dichas posiciones anatómicas de la lengua de especies mamíferas.

2. OBJETIVO DEL TRABAJO.

Analizar histológicamente al microscopio óptico mediante técnicas de laboratorio de obtención, preparación y tinción, las diferencias de los epitelios linguales y sobre la cantidad y distribución de los corpúsculos de Meissner entre el dorso y vientre de la punta de la lengua de una especie mamífera.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

En el presente estudio, se recolectaron muestras de la lengua del cadáver de una oveja donado por la Facultad de Veterinaria de la Universidad Europea de Madrid. Concretamente, se obtuvieron 10 muestras en total que se cortaron longitudinalmente y transversalmente del lado izquierdo de la punta de la lengua: cinco trozos del dorso y otros cinco del vientre (figura 5).

El estudio cuenta con la aprobación de la facultad con un código de departamento que es **OD.019/2425** y código CI: **2024-974**.

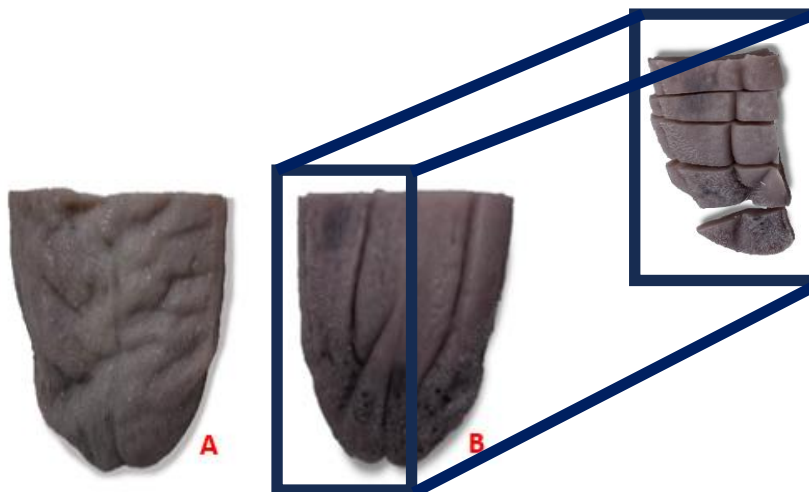


Figura 5. Imagen del dorso (A) y vientre (B) de la punta de la lengua de oveja

El estudio se desarrolló en el laboratorio y sala de disecciones de la Universidad Europea de Madrid siempre utilizando las barreras de protección personal adecuadas, además de instrumental como pinzas, mango de bisturí y hojas de bisturí del N°5.

También se hizo uso de sustancias químicas como paraformaldehído al 10% (PFA), tampón fosfato salino (PBS), sacarosa al 20%, 30% y 40%, etanol, OCT (Optimal Cutting Temperature), hematoxilina-eosina (H&E). Por otro lado, se utilizó equipo de laboratorio para el análisis histológico que comprendió una nevera, un criostato, botes de ensayo, portaobjetos, lupas y un microscopio óptico.

3.1. Obtención de muestras.

Las muestras de la punta de la lengua se extrajeron mediante el uso de bisturí y unas pinzas que se extrajeron del cadáver de una oveja donada.

3.2. Conservación y fijación de muestras

En primer lugar, se sumergieron las muestras en paraformaldehído al 10% con el fin de fijar las células y, a su vez, preservar el tejido. Una semana después, se retiró el paraformaldehído y se lavaron dichas muestras con PBS al 0,1% M para mantener un pH constante y mantener estable el tejido (16,17).

Posteriormente, se sumergieron las muestras en una mezcla de sacarosa a distintas concentraciones: 20% y 30% durante 1h, y al 40%/24h para crioproteger (18,19).

3.3. Selección y clasificación de las muestras

Después de haber fijado la muestra, se cortó el lado izquierdo de la punta de la lengua de la oveja transversalmente en dos mitades que se seccionaron cada una de ellas en cinco trozos pertenecientes al dorso y, por otro lado, al vientre de la punta.

Tras obtener los cortes, se clasificaron según la superficie lingual y se les estableció un valor numérico a cada una de ellos junto con una letra que hace referencia a la superficie lingual.

Tabla 1. Clasificación numérica y alfabética de las muestras. El número hace referencia a la zona y la letra indica la superficie lingual (dorsal o ventral)		
ANIMAL	SUPERFICIE LINGUAL	CÓDIGO NUMÉRICO
OVEJA	DORSO	25.01 D
		25.02 D
		25.03 D
		25.04 D
		25.05 D
	VIENTRE	25.01 V
		25.02 V
		25.03 V
		25.04 V
		25.05 V

Figura 6. Tabla con la clasificación numérica y alfabética de las muestras del dorso y del vientre de la punta de la lengua

3.4. Preparación de muestras

En este estudio se utilizó la técnica de inclusión en OCT para congelar las muestras y prepararlas para su posterior corte histológico. Este proceso sirvió para mantener la integridad de las muestras histológicas durante la congelación y facilitar el corte fino de las mismas.

3.4.1. Inclusión en OCT

El OCT es una mezcla de glicoles y resinas solubles en agua muy útiles para mantener un soporte adecuado para cortar muestras histológicas a temperaturas de -10°C o inferiores mediante el uso del criostato. Actúa

protegiendo las muestras, manteniendo su integridad y conservando mejor las diferentes estructuras para el análisis histológico (19,20).

Cada uno de los cortes se colocó en un molde adecuado y se recubrieron por completo de OCT para después congelarlo a -80°C (20).

3.5. Cortes histológicos

Una vez incluidas y congeladas las muestras en OCT en la cámara de refrigeración a -80°C , se procedió a realizar los cortes histológicos utilizando el equipo denominado “criostato”.

3.5.1. Criostato

El criostato es un equipo sofisticado de corte con un sistema de refrigeración que se suele fijar entre unos -20 y -35°C . En primer lugar, se sacaron los moldes de la cámara de refrigeración y se cortó dicho molde para obtener la muestra congelada y posteriormente colocarlo en el disco del criostato (20,21).

Los cortes se realizaron en este aparato dentro de una cámara en la que se mantuvo la temperatura indicada en un grosor fijado en $15\text{ }\mu\text{m}$. Estos, se fueron disponiendo en unos portaobjetos que estaban numerados y bien clasificados.



Figura 7. De izquierda a derecha; imagen de la muestra en el molde congelada, imagen del criostato e imagen de la muestra embebida en OCT congelada en la cámara refrigerada del criostato.

3.6. Tinciones con Hematoxilina y Eosina

Al terminar de recoger todos los cortes histológicos en sus respectivos portaobjetos, estos se volvieron a introducir en una cámara de refrigeración para proceder con su

tinción. De la totalidad de los portaobjetos obtenidos, se hizo una selección de portaobjetos que tuvieran muestras de cada uno de los 5 cortes, tanto del dorso como del vientre de la punta de la lengua.

3.6.1. Protocolo de tinción

Equipos y materiales utilizados:

- Batería de tinción
- Clearance como sustituto del xilol
- Etanol desde 100° a 70°
- Agua
- Hematoxilina
- Eosina

Para la correcta visualización en el microscopio óptico se recurrió al protocolo de tinción de Hematoxilina de Mayer que se encargó de teñir sustancias procedentes del núcleo y las acumulaciones ribosomales del citoplasma de color azul – violeta o púrpura. Por otro lado, se utilizó eosina amarillenta, un colorante ácido que teñirá elementos del citoplasma y la matriz extracelular de color rojo a rosa (22).

Procedimiento:

Se colocaron los portaobjetos en las baterías de tinción. En primer lugar, las muestras se introdujeron en clearance dos veces, durante 5 minutos cada una. A continuación, se realizaron dos inmersiones en etanol al 100%, también durante 5 minutos cada una, y luego se repitió el proceso con etanol al 96% y al 70%. Posteriormente, se realizó un lavado con agua durante 15 segundos y, acto seguido, se introdujeron en Hematoxilina de Mayer durante 5 minutos. Transcurrido ese tiempo, se repitió el lavado con agua por 15 segundos y se sumergieron en eosina durante 30 segundos. Finalmente, se repitió el proceso inicial con alcoholes y xileno, pero de forma inversa, comenzando con etanol al 70% y finalizando con el clearance.



Figura 8. A) Portaobjetos sin teñir B) Portaobjetos teñidos mediante la técnica de H&E.

Al terminar la tinción de cada muestra, se procedió a proteger las muestras con “cubreobjetos” utilizando como elemento de adhesión el TPX (polimetilpenteno), el cual sirvió para pegar el cubreobjetos al portaobjetos.

3.7. Obtención de imágenes al microscopio óptico

El microscopio óptico es un aparato de visualización de imágenes utilizado en el análisis histológico. Está constituido de una base, que ofrece la fuente de luz y que puede ser regulable; el brazo con un revólver de objetivos con diferentes aumentos que van desde el 4x hasta el 100x; la platina que es donde se colocan los portaobjetos con la muestra y, finalmente, dos herramientas que sirven para hacer enfoques: por un lado el macrométrico (4x a 10x) y, por otro lado, el micrométrico (40x a 100x) (23,24).

Se siguió un orden de visualización en el que se fueron mirando uno a uno los cinco cortes del dorso y el vientre desde la zona medial hasta la lateral (figura 9).

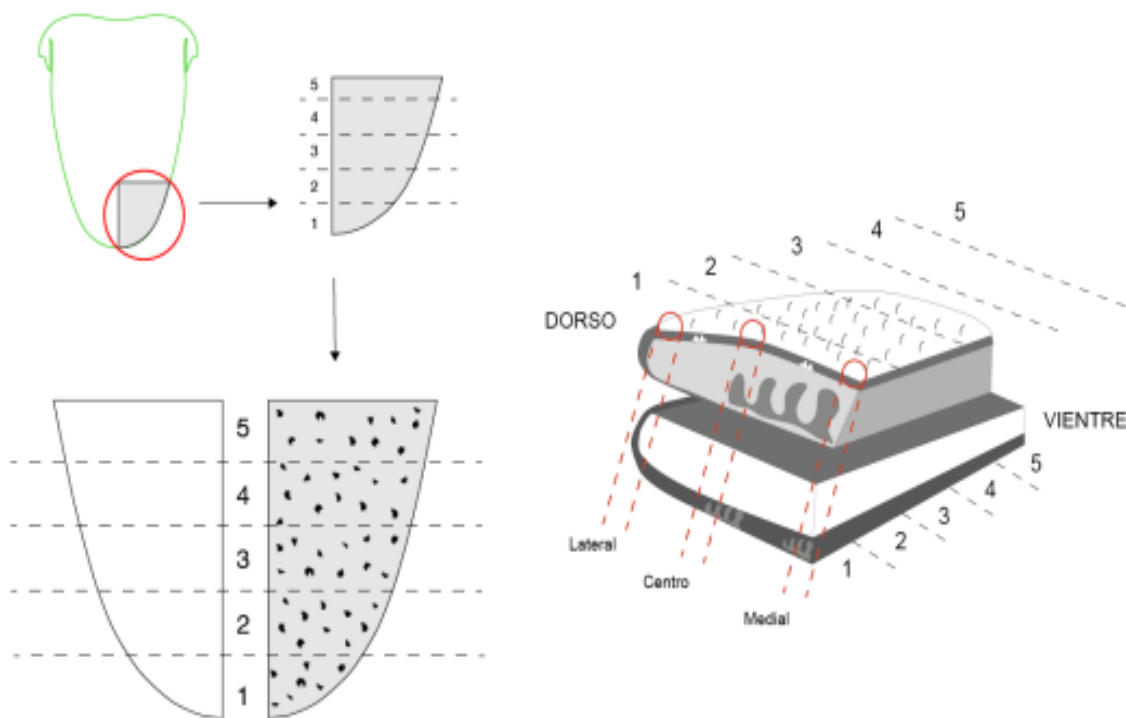


Figura 9. Dibujo esquemático de los cortes utilizados en la lengua de oveja y las diferentes zonas estudiadas (medial, centro y lateral). El número 1 dorsal representa el 25.01 D de la tabla 1 y así, sucesivamente con el resto.

3.8. Mediciones del espesor del epitelio de las imágenes obtenidas el microscopio

Para medir el espesor del epitelio y el tamaño de los diferentes corpúsculos se utilizó el programa “ImageJ”. Las medidas se realizaron en todas las fotos que componían un corte (Fig 10). En cada foto se tomaron 3 medidas. Este protocolo se siguió en la cara ventral y en la cara dorsal.

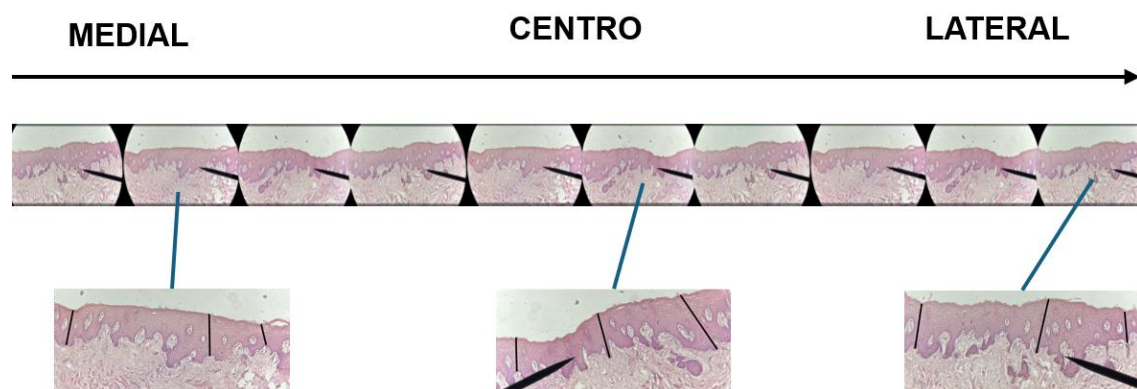


Figura 10. Montaje del perfil de la muestra del corte 4 dorsal (25.04D) acoplando todas las fotos realizadas. De izquierda a derecha, posición **medial** del perfil a posición **lateral** del perfil. Se muestran 3 fotos de 3 zonas distintas donde se observan las tres medidas del espesor. Sobre todas las fotos se realizaron las 3 mediciones.

4. RESULTADOS

Una vez finalizado el proceso de inclusión en OCT y tinción en Hematoxilina y Eosina, se procedió a la recopilación de los datos obtenidos.

Para ello, se llevó a cabo el análisis de las imágenes obtenidas directamente del microscopio, utilizando objetivos de 10x y 20x, basándose en la bibliografía existente sobre los corpúsculos de Meissner. Este análisis se centro en características específicas como su morfología, localización, contenido, diámetro, longitud y la profundidad a la que se encuentran en el epitelio. Paralelamente, se analizaron las mediciones utilizando ImageJ de cada imagen y se midieron los propios corpúsculos con el objetivo de confirmar que se encontraban dentro del rango de tamaño descrito en la literatura.

4.1. Dorso y vientre de la punta de la lengua de oveja

4.1.1. Corte 1

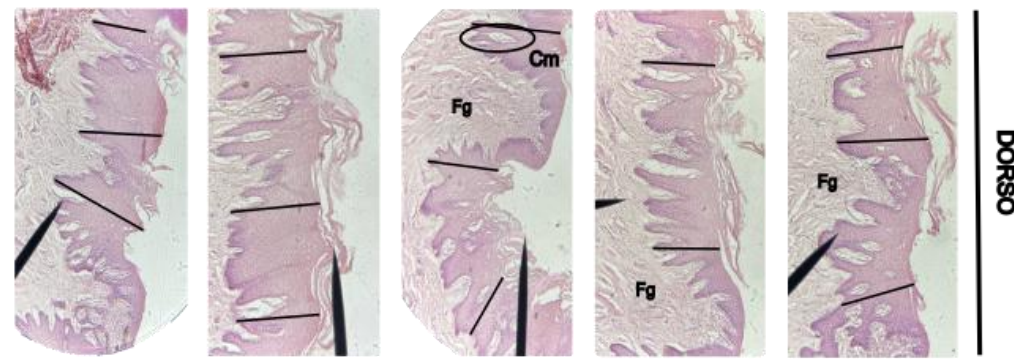


Figura 11. Muestra del dorso del corte 1 teñida con H&E. Imágenes con aumento de 10x con tres mediciones por imagen; Corpúsculo de Meissner (**Cm**); Papila Fungiforme (**Fg**).

En el corte 1, se identificaron numerosas papilas fungiformes. Asimismo, se observaron al menos dos corpúsculos de Meissner en casi todas las imágenes y, en algunos casos se encontraban cercanos a las papilas. En total, se cuantificaron once corpúsculos en esta muestra.

Se midió el espesor del epitelio del corte 1 a nivel del dorso. El perfil del corte 1 del dorso estuvo conformado por 5 fotos a 10x consecutivas de medial a laterla. Siendo la foto1 la de posición medial y la 5 la más lateral. A su vez cada foto presenta 3 tomas de la distancia del espesor (ver fig 10). Los valores cuantitativos se muestran en una gráfica de histograma de barras. Cada barra representa la media de las tres distancias medidas en cada foto (Figura 12).

Se realizó un análisis estadístico (ANOVA) comparando los promedios obtenidos en cada foto. Las diferencias entre los espesores desde medial a lateral en el corte 1 no fueron estadísticamente significativas..

En el vientre no se pudo hacer ningún análisis a nivel de este corte debido a su pérdida al realizar las tinciones.

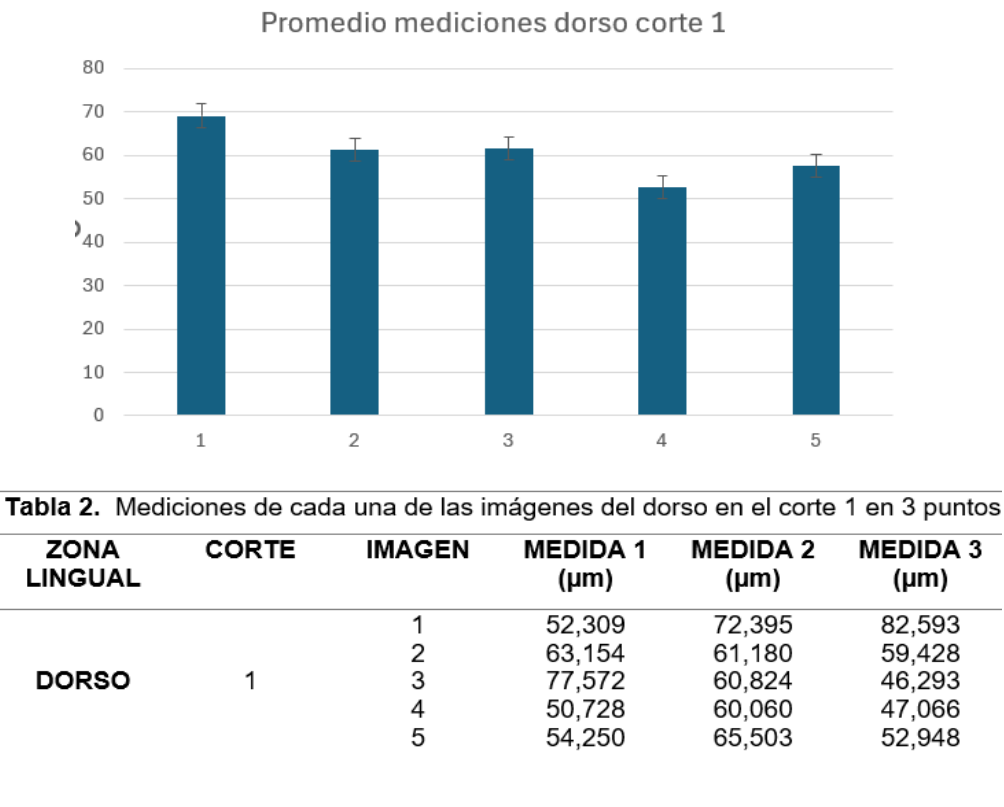


Figura 12. Tabla de mediciones en tres puntos y gráfica del promedio de mediciones en el corte 1 a nivel dorsal

4.1.2. Corte 2

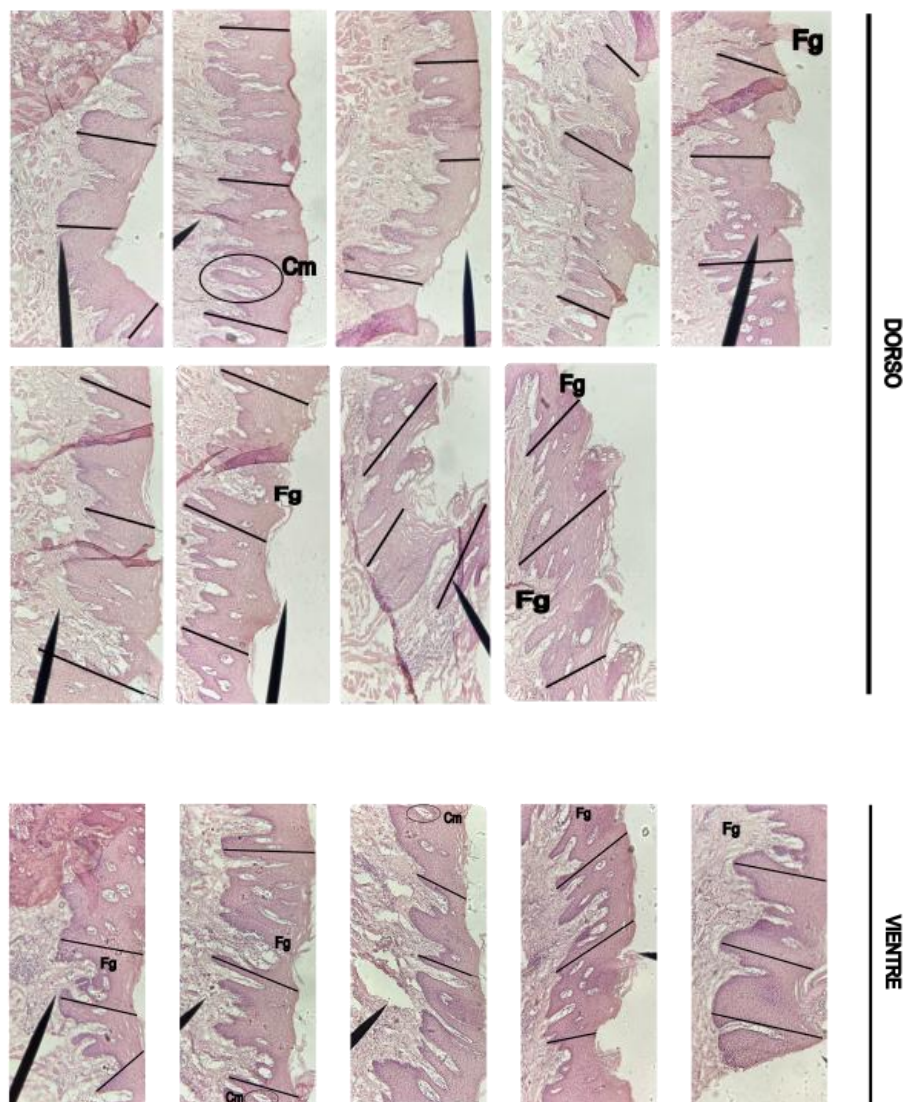


Figura 13. Muestra del dorso y vientre del corte 2 teñida con H&E. Imágenes con aumento de 10x con tres mediciones por imagen; Corpúsculo de Meissner (**Cm**); Papila fungiforme (**Fg**).

En el segundo corte, se apreció una disminución en el volumen de papilas fungiformes y de corpúsculos a nivel del dorso. Se localizaron cinco corpúsculos repartidos de manera irregular y con un tamaño variable. A nivel del vientre, se visualizaron papilas fungiformes y 15 corpúsculos repartidos de forma regular y próximos a las papilas con acumulaciones de hasta 4 corpúsculos en un mismo lugar.

Al igual que en el corte 1, en el corte 2, también se realizaron mediciones del espesor epitelial en tres puntos en el mismo orden (medial a lateral) y las tablas cuantitativas

e histograma de barras (fig 14). En este caso, el test de ANOVA mostró diferencias significativas a nivel del vientre.

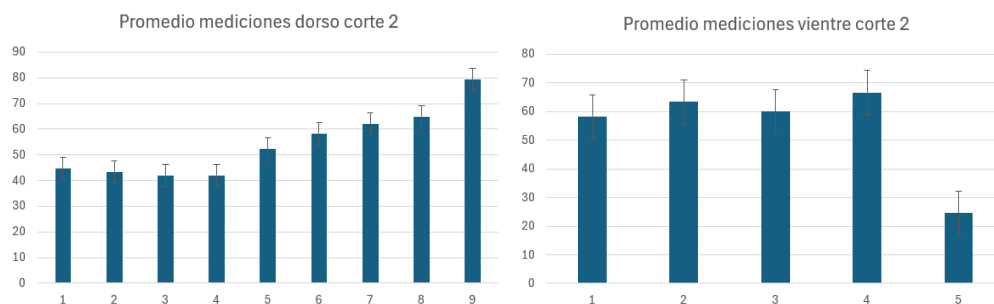


Tabla 3. Mediciones de imágenes en 3 puntos en dorso y vientre en el corte 2

ZONA LINGUAL	CORTE	IMAGEN	MEDIDA 1 (μm)	MEDIDA 2 (μm)	MEDIDA 3 (μm)
DORSO	2	1	57,873	48,1	28,502
		2	39,601	40,742	49,960
		3	43,794	27,615	54,649
		4	34,699	51,163	40,341
		5	46,617	49,979	60,237
		6	33,773	51,690	89,401
		7	69,203	64,144	52,348
		8	57,124	84,497	53,132
		9	94,166	61,674	82,350
VIENTRE	2	1	67,327	59,950	47,434
		2	64,038	67,331	58,828
		3	68,017	46,098	65,901
		4	75,434	81,479	43,078
		5	22,432	24,118	27,002

Figura 14. Tabla de mediciones en tres puntos y gráfica del promedio de mediciones en el corte 2 a nivel dorsal y ventral.

4.1.3. Corte 3

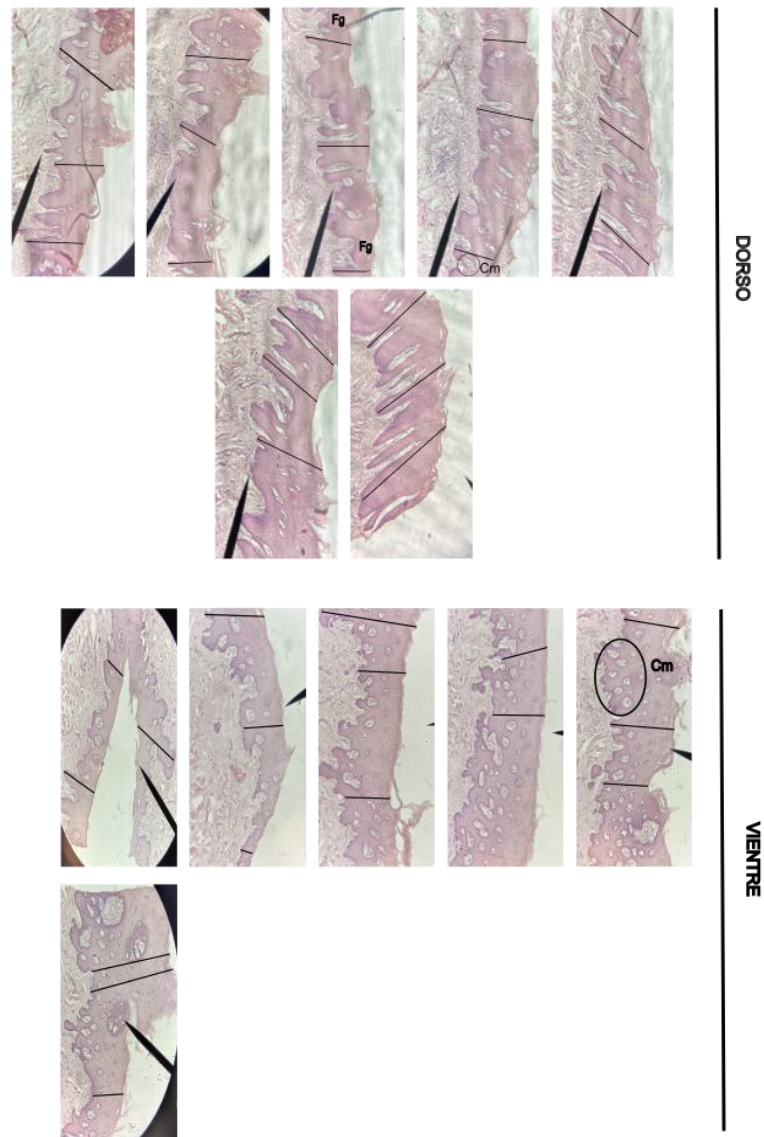


Figura 15. Muestra del dorso y vientre del corte 3 teñida con H&E. Imágenes con aumento de 10x con tres mediciones por imagen; Corpúsculo de Meissner (**Cm**); Papila fungiforme (**Fg**).

En el corte 3, se visualizaron seis corpúsculos distribuidos a lo largo de todo el epitelio y algunas papilas fungiformes. En el vientre, no se identificaron papilas fungiformes pero el número de corpúsculos se mantuvo elevado, aumentando a 19 viéndose acumulaciones regulares en todo el epitelio.

Las mediciones del espesor del epitelio del corte 3 en el dorso y vientre también se representaron (figura 16) y, el test de ANOVA realizado no mostró diferencias estadísticamente significativas a este nivel.

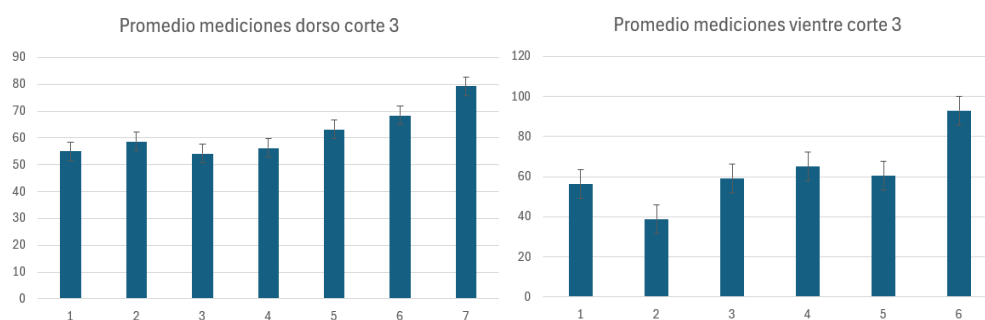


Tabla 4. Mediciones de imágenes en tres puntos en dorso y vientre en el corte 3

ZONA LINGUAL	CORTE	IMAGEN	MEDIDA 1 (μm)	MEDIDA 2 (μm)	MEDIDA 3 (μm)
DORSO	3	1	54,713	48,971	61,457
		2	72,791	49,306	53,901
		3	54,475	62,266	45,773
		4	49,963	64,675	54,099
		5	52,497	67,440	69,400
		6	69,3	63,967	71,873
		7	66,218	75,512	96,230
VIENTRE	3	1	31,466	80,992	57,217
		2	61,603	42,268	12,710
		3	92,454	43,057	42,353
		4	51,680	60,174	83,331
		5	59,719	72,132	49,224
		6	117,747	113,551	47,890

Figura 16. Tabla de mediciones en tres puntos y gráfica del promedio de mediciones en el corte 3 a nivel dorsal y ventral.

4.1.4. Corte 4

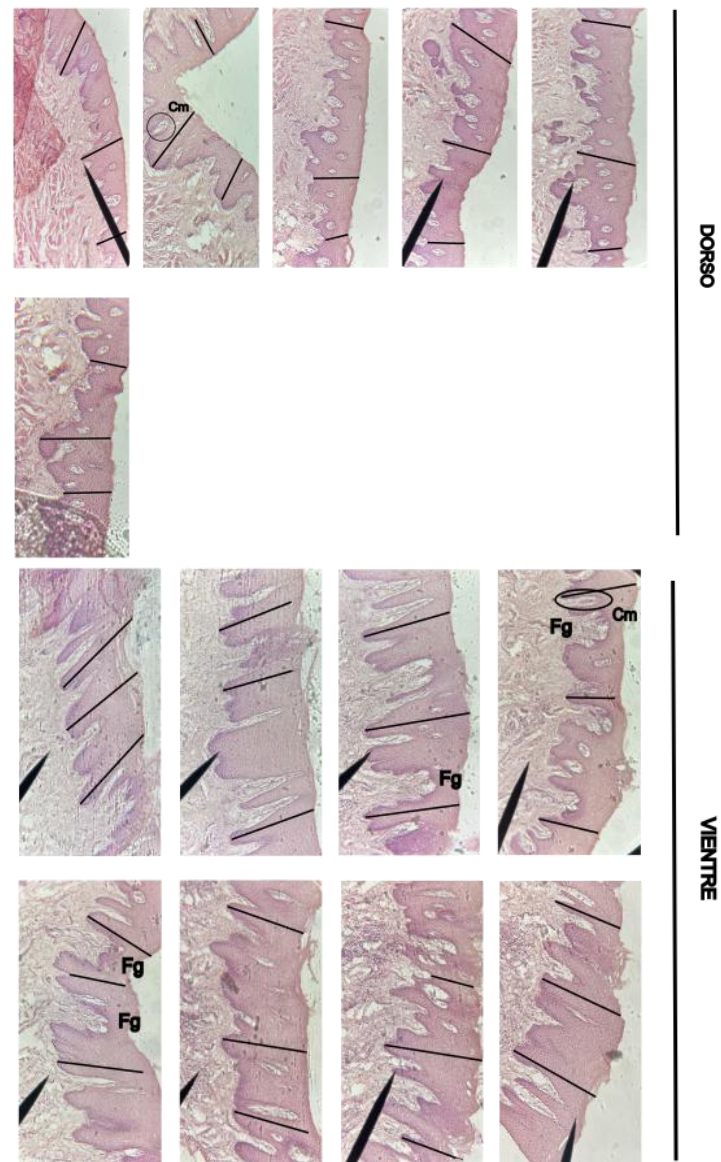


Figura 17. Muestra del dorso y vientre del corte 4 teñida con H&E. Imágenes con aumento de 10x con tres mediciones por imagen; Corpúsculo de Meissner (**Cm**); Papila fungiforme (**Fg**).

En el corte 4, se visualizaron once corpúsculos a nivel del dorso repartidos en todo el epitelio de forma regular. No se identificaron papilas fungiformes a este nivel. En el vientre, se encontraron doce corpúsculos bien repartidos en la totalidad del epitelio. Algunas papilas fungiformes también estaban presentes aquí.

En el corte 4, las mediciones y el promedio de las mismas también fueron cuantificadas (figura 18) y, en esta región, se vieron diferencias estadísticas significativas en ventral utilizando el test de ANOVA.

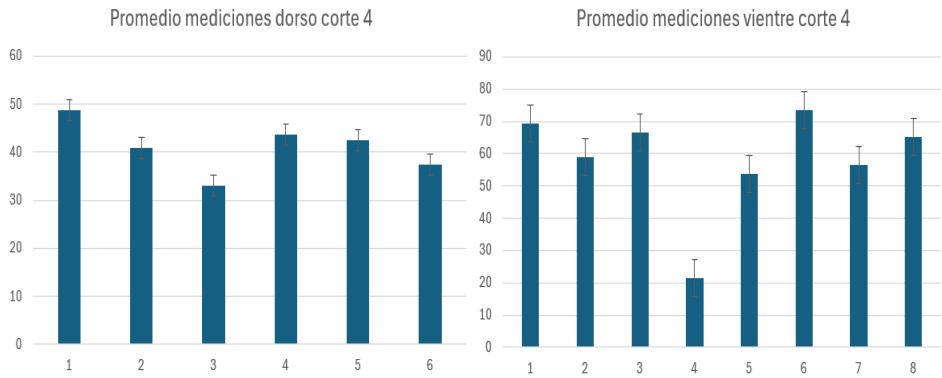


Tabla 5. Mediciones de imágenes en tres puntos en dorso y vientre en el corte 4

ZONA LINGUAL	CORTE	IMAGEN	MEDIDA 1 (μm)	MEDIDA 2 (μm)	MEDIDA 3 (μm)
DORSO	4	1	49,195	54,824	42,1
		2	32,956	56,087	33,624
		3	34,658	41,8	22,466
		4	55,308	43,649	32,144
		5	42,936	53,388	31,112
		6	25,998	52,088	34,438
VIENTRE	4	1	61,964	71,967	73,537
		2	53,802	57,901	64,978
		3	61,964	71,967	65,957
		4	25,590	18,830	20,520
		5	51,921	42,642	66,919
		6	67,704	73,737	78,656
		7	36,506	81,346	51,602
		8	55,609	66,462	73,643

Figura 18. Tabla de mediciones en tres puntos y gráfica del promedio de mediciones en el corte 4 a nivel dorsal y ventral.

4.1.5. Corte 5

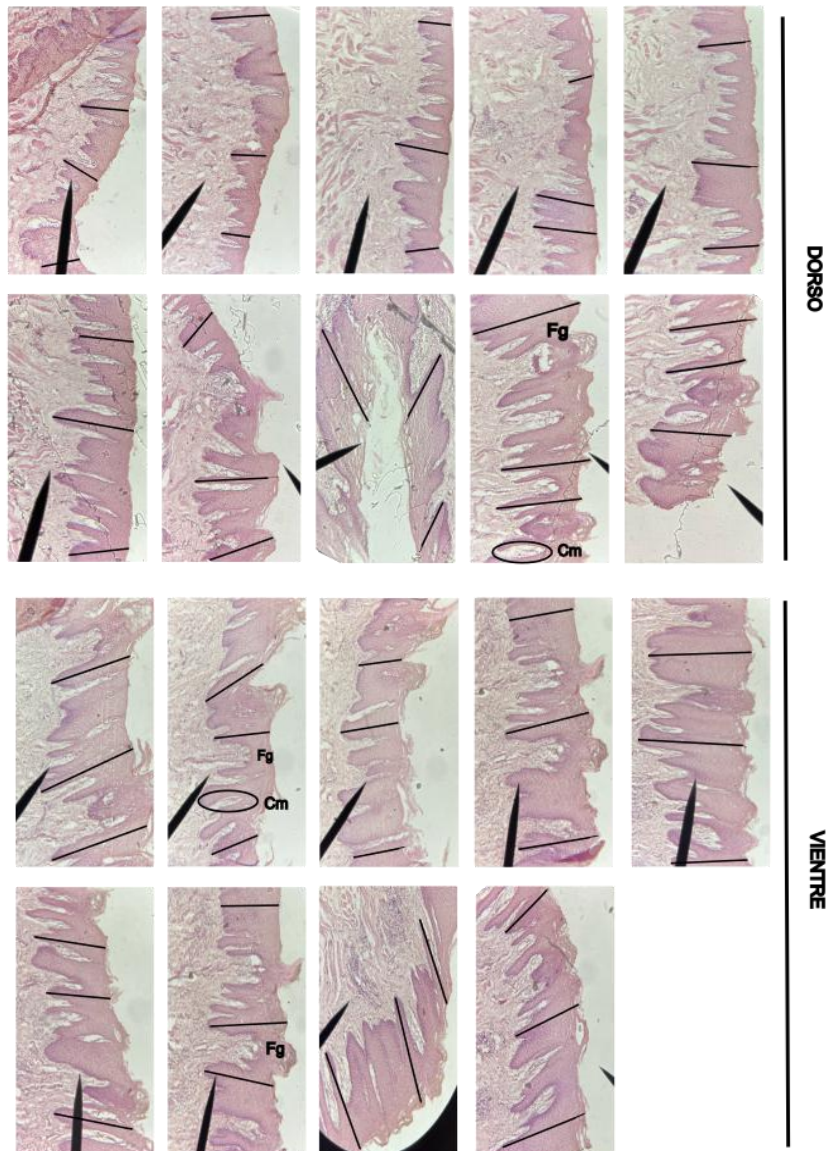


Figura 19. Muestra del dorso y vientre del corte 5 teñida con H&E. Imágenes con aumento de 10x con tres mediciones por imagen; Corpúsculo de Meissner (**Cm**); Papila fungiforme (**Fg**).

En el corte 5, se encontraron 9 corpúsculos en dorsal por todo el epitelio, algunos cercanos a papilas fungiformes. En ventral, se mantuvo un número considerable de 18 corpúsculos. Las papilas fungiformes estaban presentes y próximas a dichos corpúsculos.

En el corte 5, las gráficas e histograma de barras, también evaluaron las mediciones en tres puntos en dorso y vientre (figura 20). En esta región, el test de ANOVA mostró diferencias estadísticamente significativas a nivel del dorso.

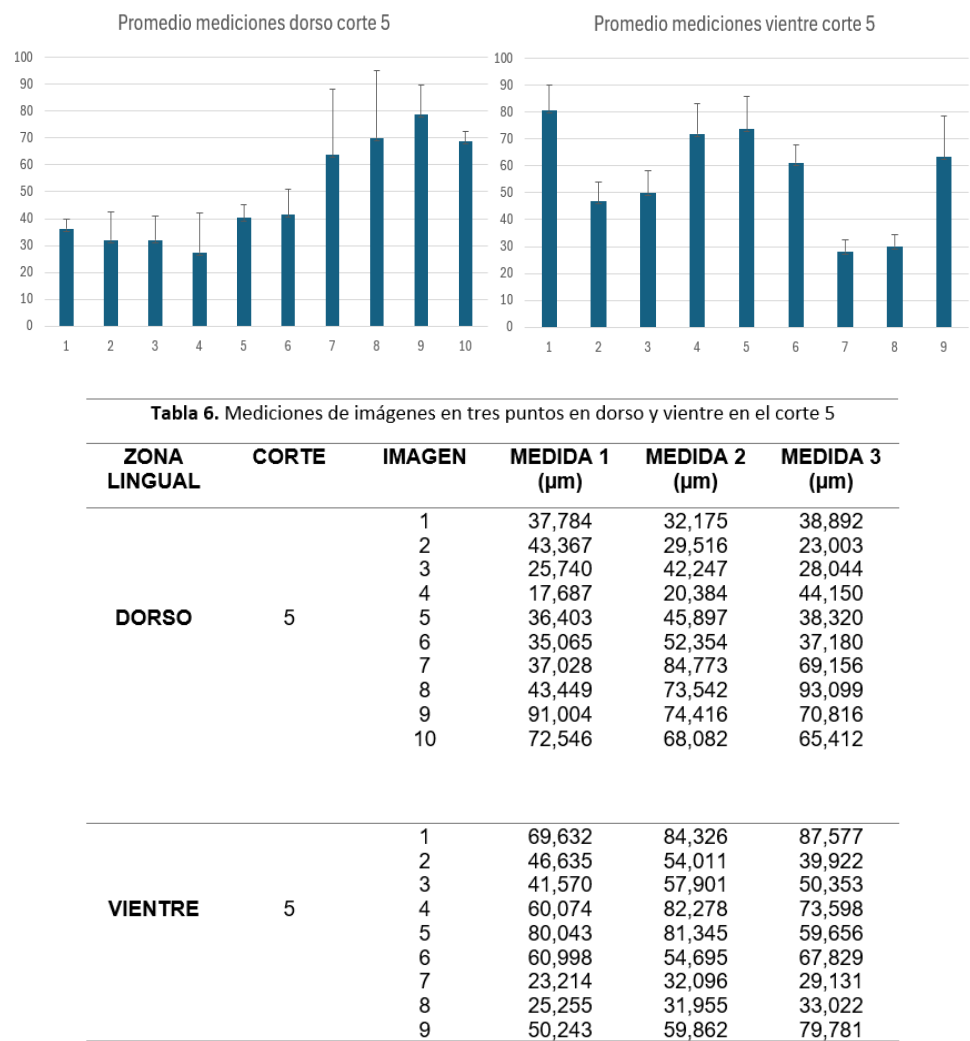


Figura 20. Tabla de mediciones en tres puntos y gráfica del promedio de mediciones en el corte 5 a nivel dorsal y ventral.

4.2. Análisis estadístico

Para analizar los resultados de cantidad de corpúsculos entre el dorso y el vientre (véase figura 28) se efectuó una prueba de t de Student para muestras independientes

con el fin de comparar la cantidad de corpúsculos de Meissner entre el dorso y el vientre de la lengua. Los resultados mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre ambas regiones ($t = -3,93$; $p = 0.00796$), viéndose unos valores en el vientre considerablemente mayores.

Por otro lado, el test de ANOVA se aplicó en las mediciones de espesor epitelial, ya que en este estudio se midieron tres regiones del epitelio (medial, centro y lateral) y este análisis estadístico es el más recomendable para evaluar los diferentes grosores.

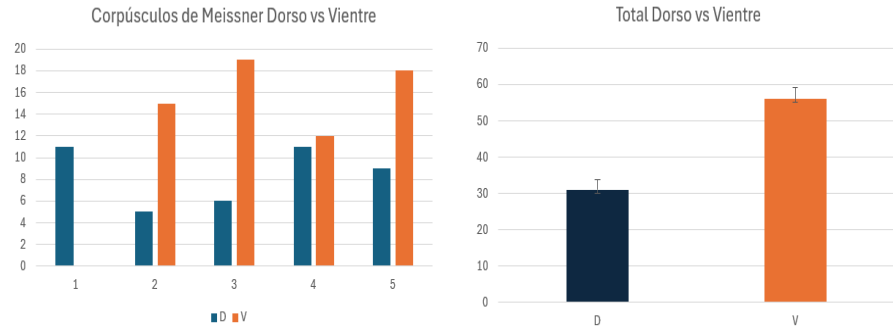


Figura 21. Graficas de cantidad de corpúsculos en el dorso y el vientre.

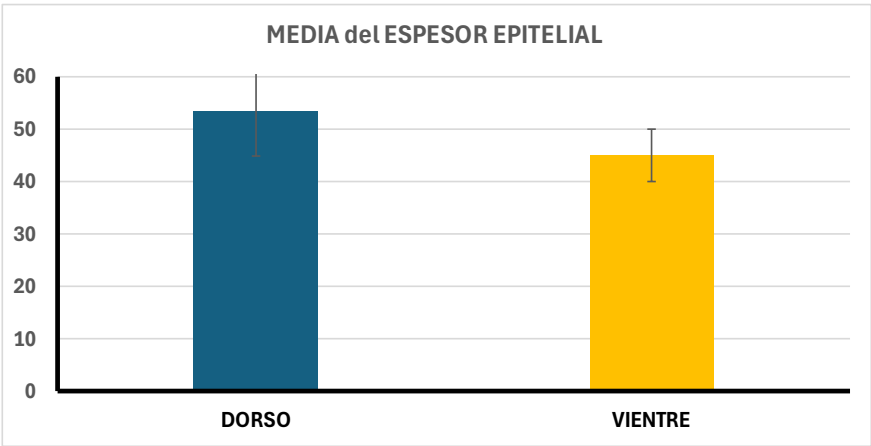


Figura 22. Grafica de comparación de los promedios de espesor de los 5 cortes entre el dorso y el vientre.

5. DISCUSIÓN

La histología es una herramienta fundamental para el entendimiento de los tejidos en los seres vivos. Este estudio analizó las diferencias de grosor en el epitelio de la punta de la lengua de una oveja (rumiante) y las diferencias en cantidad de corpúsculos de Meissner entre el dorso y el vientre mediante el uso de técnicas histológicas especializadas.

Se observó que el grosor del epitelio aumentó en algunas muestras en la región lateral en comparación a la medial. En cambio, el grosor en el vientre se mostró más irregular en los diferentes cortes. En base al promedio del total de las mediciones en los 5 cortes, se intuye que el grosor es mayor en el dorso pero en nuestras muestras no se aprecia una diferencia estadísticamente significativa (figura 22). Este hallazgo, es consistente con la literatura, donde se describe que el epitelio dorsal, al exponerse más a la fricción y materiales abrasivos, presenta una mayor queratinización y espesor en comparación al vientre (25).

En lo referente a los mecanorreceptores, los resultados mostraron una distribución uniforme de corpúsculos de Meissner a lo largo de todo el epitelio en los diferentes cortes tanto en el dorso como en el vientre localizándose próximos a algunas papilas fungiformes como también se evidenció en un estudio reciente (26). Por otro lado, la prueba estadística de “t de student” reveló diferencias significativas ($p < 0,05$) que mostraban que el vientre tenía una mayor concentración de corpúsculos, sugiriendo esto que la zona ventral podría estar más especializada a nivel funcional y estructural (27).

Una limitación del estudio fue el reducido número de individuos analizados. Sin embargo, los resultados son coherentes y válidos estadísticamente. Se sugiere el uso de técnicas inmunohistoquímicas en futuros estudios para confirmar la presencia de corpúsculos y el análisis comparativo de otras regiones como el medio o la base de la lengua.

Por otro lado, las ovejas carecen de incisivos superiores y presionan el alimento contra una almohadilla dental con los incisivos inferiores. En este proceso, el vientre de la lengua contacta con los dientes inferiores, lo que podría explicar la mayor concentración de corpúsculos de Meissner en esa región, debido a su mayor demanda sensorial durante la alimentación (28).

6. CONCLUSIÓN

Este estudio evidenció una mayor cantidad de corpúsculos de Meissner en el vientre que en el dorso de la punta de la lengua de oveja. Estos hallazgos podrían estar relacionados con la función sensorial especializada en diferentes regiones. Por otro lado, se observó que el grosor del epitelio podría ser mayor en dorsal en comparación a ventral. Además, el análisis histológico permite obtener datos relevantes sobre el desarrollo y la morfología de los Corpúsculos de Meissner, tanto en individuos sanos como en aquellos que puedan presentar alteraciones sensoriales. Este enfoque, por tanto, podría contribuir a futuras investigaciones neurocientíficas relacionadas con el procesamiento sensorial y tener implicaciones clínicas en el diagnóstico y tratamiento de trastornos sensoriales, especialmente relacionados con la percepción táctil de la lengua.

7. SOSTENIBILIDAD

Esta investigación pretende aportar conocimiento de una manera responsable con el medio ambiente. Por eso, los cadáveres utilizados fueron donados para no tener que sacrificar ningún animal de cara al estudio. A nivel económico, se ha procurado utilizar en todo momento materiales, equipos y programas sofisticados para asegurar unos resultados correctos. Asimismo, la implementación de prácticas de conservación más sostenibles ha permitido reducir el empleo de productos químicos costosos y la generación de residuos. Socialmente, ha fomentado la cooperación y responsabilidad ética gracias al trabajo conjunto entre personal docente de laboratorio y facultad de Veterinaria de la Universidad que aportó el espécimen analizado. Por eso, este trabajo está comprometido con la formación científica, favoreciendo el aprendizaje académico en el ámbito experimental.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Orozco H. Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutricion «Salvador Zubiran». Arch Surg. 1 de septiembre de 2003;138(9):940.
2. S.Nell R. Neuroanatomía clínica. Ed.Médica Panamericana; 2007.
3. Iwasaki S. Evolution of the structure and function of the vertebrate tongue. J Anat. julio de 2002;201(1):1-13.
4. Chiego D. essentials of oral Histology and Embryology.
5. TOMO 3 - Prometheus, Texto y Atlas de Anatomia - Tomo 3 Cabeza y Neuroanatomia - Schünke1° Ed.
6. Ross MH, Pawlina W, Barnash ToddA. Atlas de histología descriptiva / Michael H. Ross, Wojciech Pawlina, Todd A. Barnash [Internet]. 2012 [citado 31 de marzo de 2025]. Disponible en: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat06387a&AN=crai.74814&site=eds-live>
7. Hand AR. Fundamentals of Oral Histology and Physiology.
8. Tortora GJ, Derrickson B. Principios de anatomía y fisiología / Gerard J. Tortora, Bryan Derrickson [Internet]. 2015 [citado 16 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat06387a&AN=crai.99073&site=eds-live>
9. Gartner LP. Texto de histología : atlas a color / Leslie P. Gartner [Internet]. 2021 [citado 31 de marzo de 2025]. Disponible en: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat06387a&AN=crai.368109&site=eds-live>
10. Meghan A. Piccinin, Julia H. Miao, Janice Schwartz. Histology, Meissner Corpuscle. 2024.
11. Kandel, E. R., J. H. Schwartz, T. M. Jessell. Principios de Neurociencia. Mcgraw-hill/Interamericana de España;
12. Madkour FA, Soliman SA, Abd-elhafeez HH, Elmansi A. Morphometrical and Scanning Electron Microscopic Investigations on the Rahmani Sheep's Tongue: Adaptive Strategies for Feeding Behaviors [Internet]. Biology and Life Sciences; 2023 [citado 31 de marzo de 2025]. Disponible en: <https://www.preprints.org/manuscript/202306.1376/v1>
13. Moayed Y, Duenas-Bianchi LF, Lumpkin EA. Somatosensory innervation of the oral mucosa of adult and aging mice. Sci Rep. 2 de julio de 2018;8(1):9975.
14. Zhang L, Nagel M, Olson WP, Chesler AT, O'Connor DH. Trigeminal innervation and tactile responses in mouse tongue. Cell Rep. septiembre de 2024;43(9):114665.

15. Moayedi Y, Xu S, Obayashi SK, Hoffman BU, Gerling GJ, Lumpkin EA. The cellular basis of mechanosensation in mammalian tongue. *Cell Rep.* febrero de 2023;42(2):112087.
16. Idziak A, Inavalli VVGK, Bancelin S, Arizono M, Nägerl UV. The Impact of Chemical Fixation on the Microanatomy of Mouse Organotypic Hippocampal Slices. *eneuro.* septiembre de 2023;10(9):ENEURO.0104-23.2023.
17. Kumar Kuna V, Xu B, Sumitran-Holgersson S. Decellularization and Recellularization Methodology for Human Saphenous Veins. *J Vis Exp.* 27 de julio de 2018;(137):57803.
18. Ávila-Portillo LM, Madero JI, López C, León MF, Acosta L, Gómez C, et al. Fundamentos de criopreservación. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 20 de diciembre de 2006;57(4):291-300.
19. Ball R, Bajaj P, Whitehead K. Achieving long-term stability of lipid nanoparticles: examining the effect of pH, temperature, and lyophilization. *Int J Nanomedicine.* diciembre de 2016;Volume 12:305-15.
20. Rohrbach TD, Boyd AE, Grizzard PJ, Spiegel S, Allegood J, Lima S. A simple method for sphingolipid analysis of tissues embedded in optimal cutting temperature compound. *J Lipid Res.* junio de 2020;61(6):953-67.
21. Liyanage S, Dassanayake RS, Bouyanfif A, Rajakaruna E, Ramalingam L, Moustaid-Moussa N, et al. Optimization and validation of cryostat temperature conditions for trans-reflectance mode FTIR microspectroscopic imaging of biological tissues. *MethodsX.* 2017;4:118-27.
22. Megias M, Molist P, Pombal M. Atlas de Histología Animal y Vegetal. En.
23. Shah P, Bao Z, Zaidel-Bar R. Visualizing and quantifying molecular and cellular processes in *Caenorhabditis elegans* using light microscopy. Buelow H, editor. *Genetics.* 30 de julio de 2022;221(4):iyac068.
24. Arraiza N, Viguria PM, Navarro J, Ainciburu A. MATERIAL PARA LABORATORIO.
25. Ding Y, Yu S, Shao B. Anatomical and histological characteristic of the tongue and tongue mucosa linguae in the cattle-yak (*Bos taurus* × *Bos grunniens*). *Front Biol.* abril de 2016;11(2):141-8.
26. Moayedi Y, Michlig S, Park M, Koch A, Lumpkin EA. Somatosensory innervation of healthy human oral tissues. *J Comp Neurol.* agosto de 2021;529(11):3046-61.
27. Farbman AI, Mbiene J. Early development and innervation of taste bud-bearing papillae on the rat tongue. *J Comp Neurol.* 8 de febrero de 1991;304(2):172-86.
28. Erdoğan S, Sağsöz H. Papillary Architecture and Functional Characterization of Mucosubstances in the Sheep Tongue. *Anat Rec.* agosto de 2018;301(8):1320-35.

9. ANEXOS

9.1. Código de aprobación del trabajo de investigación

Villaviciosa de Odón, 9 de enero de 2025

Estimado/a investigador/a,

La Comisión de Investigación de la Escuela de Doctorado e Investigación, una vez revisada la documentación e información, remitida por el investigador responsable con fecha 19/11/2024, relativa al proyecto abajo indicado, autoriza su desarrollo en la Universidad Europea.

Título del proyecto: Densidad de Receptores de tacto fino en lengua de mamíferos.
Tipo de proyecto: TFG
Investigador/a responsable: VICENTE TEJEDOR- JAVIER

Código CI: 2024-974
Código OTRI: Sin especificar
Código Departamento: OD.019/2425
Dictamen: APROBADO

Atentamente,



Fdo. Óscar García López

Director de la Escuela de Doctorado e Investigación

