

Universidad de Sevilla.  
Facultad de Biología. Departamento de Biología Celular.

## Acción del fármaco pirenzepina sobre células parietales en regeneración. Estudio morfológico y cuantitativo

Ibáñez, F.\*; Torreblanca, J.; López-Campos, J. L.\*\* y Moreno, F. J.

### RESUMEN

Se ha realizado un estudio experimental en ratas para comprobar la acción del fármaco antiulceroso pirenzepina. Se han utilizado ocho grupos. En tres de ellos se provocó una úlcera por cauterización a nivel del *fundus* gástrico, administrado diferentes dosis de pirenzepina.

El grupo testigo fue también operado, pero sólo se le administró suero fisiológico por sondaje intragástrico. Del resto de los grupos no operados, uno se consideró testigo, recibiendo suero fisiológico y los restantes, las mismas dosis del fármaco que los operados. El tiempo experimental fue de 90 días.

Morfológicamente, los animales bajo la acción del fármaco ofrecieron un aumento del componente conectivo en la mucosa fúndica.

Mediante el estudio cuantitativo se comprobó un descenso del porcentaje de mucosa ocupada por células parietales al disminuir su número, manteniendo el tamaño celular en los grupos no operados y aumentándolo en los grupos operados de dosis media y alta. Esto podría, en parte, explicar la disminución de la secreción gástrica ácida.

### SUMMARY

An experimental study was made in rats to test the effects of the antiulcer drug pirenzepine. Eight groups were used, in three of which an ulcer was provoked by cauterization of the gastric fundus, and different dosages of pirenzepine were administered.

A control group was operated on, but only given saline solution by an intragastric tube. Of the groups not operated on, one was considered a control and received saline solution. The others were given the same drug dosages as the operated groups. The experiment lasted 90 days.

Morphologically, the animals that received the drug showed an increase in the connective component of the fundic mucosa.

The quantitative study showed a decrease in the percentage of mucosa occupied by parietal cells when their number declined. Cell size was conserved in the unoperated groups and was increased in the operated groups that received the intermediate and highest doses. This partly explains the decrease in gastric acid secretion.

### INTRODUCCION

Determinadas úlceras gástricas están íntimamente relacionadas con la hipersecreción de ácido clorhídrico y, por lo tanto, con la actividad funcional de los elementos encargados de sintetizarlo, las células parietales.

Se han estudiado en la célula parietal la existencia de tres tipos de receptores: receptores de acetilcolina, receptores de histamina H<sup>2</sup> y receptores de gastrina. Han sido diversas sustancias las que se han utilizado en la clínica humana, pero son, sin duda, aquéllas que antagonizan a estos receptores las que en la actividad tienen mayor aplicación.

Desde hace tiempo se conocían sustancias antagonistas de los receptores muscarínicos de distintas localizaciones, pero fue preciso, después de estudios bioquímicos y farmacológicos, delimitar los subtipos de receptores (A, B, C), según su mayor o menor afinidad (1).

La pirenzepina, compuesto tricíclico perteneciente al grupo de las piridobenzodiazepinas, es el primer antagonista muscarínico que distingue entre las diferentes subclases de receptores muscarínicos, teniendo su mayor afinidad por los receptores A o M<sub>1</sub> localizados, entre otros sitios, en la mucosa gástrica, como ha sido demostrado en diferentes trabajos sobre mucosa gástrica de rata (2-6), inhibiendo la secreción gástrica de ácido y pepsina basal o estimulada (7, 8).

Igualmente, se ha demostrado citoprotector en estudios experimentales sobre mucosa gástrica de rata (9, 10). Los trabajos realizados sobre biopsias gástricas humanas y en animales de experimentación (11, 12), han demostrado la presencia de alteraciones citoplasmáticas en células parietales, con los que se ha podido postular la inhibición de la secreción ácida gástrica. Por ello, la pirenzepina es utilizada en clínica humana, habiendo sido comprobada su eficacia en múltiples trabajos (13-15).

El objetivo de este estudio es establecer los cambios morfológicos en las células parietales de mucosa gástrica de ratas a las que les habíamos producido una úlcera, siendo tratadas con distintas dosis de pirenzepina. Mediante un estudio de microscopía óptica, hemos determinado el porcentaje de mucosa ocupado por células parietales, así como la fracción celular ocupada por el núcleo, el área media celular y el área media del núcleo.

\* Hospital de Valme.

\*\* Departamento de Ciencias Morfológicas.

## MATERIAL Y METODOS

Nuestro estudio experimental ha sido realizado utilizando ratas macho Sprague-Dawley de unos 2-3 meses de edad y con un peso medio entre 225/275 gramos. Los animales fueron criados y mantenidos en el laboratorio en condiciones normales, con libre acceso al agua y una dieta estándar *ad libitum*. Todos los animales permanecieron en las jaulas habituales con suelo de malla metálica para evitar las coprolagias.

Se dividieron en 8 grupos, de los que dos fueron considerados como grupos testigo. Su distribución fue hecha en relación a las diferentes dosis de pirenzepina utilizada.

Estos son:

- Grupo I: Ratas operadas ( $n^{\circ}=6$ ). Dosis de 1 mg/kg/día.  
 Grupo II: Ratas operadas ( $n^{\circ}=6$ ). Dosis de 5 mg/kg/día.  
 Grupo III: Ratas operadas ( $n^{\circ}=6$ ). Dosis de 25 mg/kg/día.  
 Grupo IV: Ratas no operadas ( $n^{\circ}=6$ ). Dosis de —1 mg/kg/día.  
 Grupo V: Ratas no operadas ( $n^{\circ}=6$ ). Dosis de 5 mg/kg/día.  
 Grupo VI: Ratas no operadas ( $n^{\circ}=6$ ). Dosis de 25 mg/kg/día.

## Testigos

- Control operado (C.O.).—Ratas operadas ( $n^{\circ}=6$ ). Dosis de 1 ml de solución salina.  
 Control no operado (C.N.O.).—Ratas no operadas ( $n^{\circ}=6$ ). Dosis de 1 ml de solución salina.

Para ajustar las diferentes dosis se realizaron controles de peso periódicos. Los grupos I, II, III y C.O. fueron previamente operados después de 24 horas de ayuno, con acceso libre al agua hasta 8 horas antes de la intervención. Las ratas fueron anestesiadas con hidrato de cloral al 35% (10 ml/kg), administrado intraperitonealmente y posteriormente laparotomizadas.

Se practicó una incisión de la pared abdominal, con exteriorización del estómago gaseoso y glandular. A nivel de la curvadura mayor del estómago gaseoso se realizó una abertura de 1 cm aproximadamente; a través de la misma era evertido el estómago glandular, determinando una zona estandarizada correspondiente a la región fúndica, inmediatamente inferior a la hendidura gástrica.

La úlcera por cauterización era producida mediante una platina metálica de 1,5 cm de diámetro, calentada a 70°C, aplicada durante un minuto a la región antes comentada. El estómago y la pared abdominal se cerraron con puntos sueltos de seda.

Posteriormente, a los distintos grupos tanto operados como no operados, se les administraron las respectivas dosis de pirenzepina disuelta en 1 ml de solución salina por medio de sondaje intragástrico por vía oral, entre las 14 y 16 horas, durante 90 días. A los grupos C.O. y C.N.O. se les administró de igual manera 1 ml de solución salina durante el mismo tiempo. Una vez terminado el periodo experimental, tras 24

horas de ayuno con agua *ad libitum*, hasta 8 horas antes, fueron sacrificadas siguiendo la sistemática anteriormente

descrita.

Se practicó la apertura de la cavidad abdominal y torácica, introduciéndose a través del ventrículo izquierdo una cánula que situábamos en el cayado de la aorta, comenzándose una perfusión con suero fisiológico a 25 ml/minuto durante 5 minutos. Apertura de la aurícula derecha para evitar el taponamiento cardíaco y al mismo tiempo permitir la extravasación de toda la sangre.

Tras comprobación de que los vasos gástricos no contenían sangre y el aspecto pálido del estómago, se continuaba con la fijación utilizando una solución preparada en ese momento, compuesta por paraformaldehído al 3% y glutaraldehído al 4% en tampón cacodilato sódico 0,1M a pH 7,2. Después de unos 10 minutos de fijación con dicha sustancia, el estómago era extraído y sumergido en una placa de Petri que contenía la misma solución fijadora. Posteriormente, se abrió por la curvadura menor para que no fuese comprometida aquella zona donde se había realizado la lesión ulceroza mediante cauterización. Identificada esta zona o bien una zona anatómica similar en los casos no operados, se procedió al troceado en fragmentos de 1 mm<sup>2</sup>, aproximadamente. Todas las piezas permanecieron en la solución fijadora a 4°C, tras lo cual fueron lavadas en tampón cacodilato sódico 0,1M a pH 7,2 con sacarosa al 7,5% y post fijadas en tetróxido de osmio (OsO<sub>4</sub>) al 1% en cacodilato sódico durante 2 horas y posteriormente lavadas en el mismo tampón varias veces para proceder a la deshidratación con acetona a concentraciones crecientes, para

realizar la inclusión en resina.

Para el estudio por microscopía óptica se realizaron cortes de 0,5  $\mu$ m en un ultramicrotomo Ultracut E y se obtuvo mediante un fotomicroscopio Carl Zeiss II, siendo procesado a papel con un aumento final de 1.200.

El estudio morfométrico fue realizado usando el método de recuento de puntos (16). Sobre las fotografías, 10 por grupo, se colocaba una malla cuadrada de 0,5 cm entre las líneas horizontales y verticales. Las intersecciones de estas eran usadas como puntos test.

La fracción de la mucosa Vvp,m compuesta por células las partiales se calculó por la fórmula  $Vvp,m = Pp/Pm$ , donde Pp son los puntos sobre las células parciales y Pm los puntos ocupados por la mucosa gástrica. La fracción celular ocupada por el núcleo se calculó por la fórmula siguiente:  $Vvn,p = Pn/Pt$ , siendo Pn el número de puntos comprendidos en los núcleos de las células parciales y Pt el número de puntos que contenían estas células.

La diferencias entre los valores morfométricos en condiciones basales, así como de los diferentes grupos operados y no operados, se analizaron mediante la prueba t de Student o U de Mann-Whitney, considerándose significativa estas para  $p > 0,05$ .

## RESULTADOS

Desde el punto de vista macroscópico, el aspecto de los diferentes estómagos era uniforme, presentando una coloración rosada pálida. Sólo aquellos en los que se había producido una úlcera mostraban un leve enrojecimiento en la zona afectada.

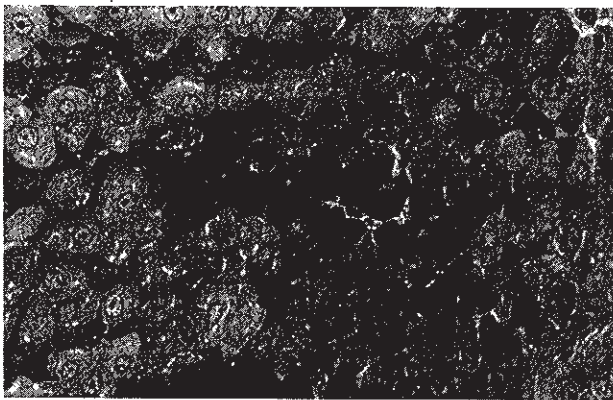


Fig. 1.—Corte longitudinal de la zona del cuello de la glándula del control no operado (C.N.O.), en el que se observa gran cantidad de células parietales (flechas) y el aspecto normal de la lámina propia (cabeza de flecha). x1.200.

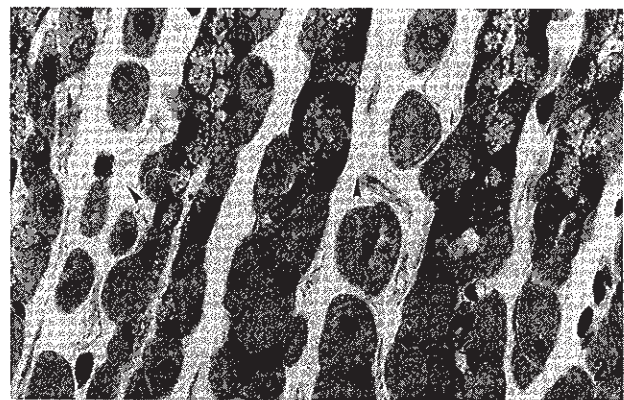


Fig. 2.—Zona del cuello en el control operado (C.O.). La diferencia más significativa es el gran desarrollo de la lámina propia (cabeza de flecha). x1.200.

**Grupo control no operado (C.N.O.).** Este grupo presenta una mucosa gástrica de aspecto normal, no observándose ninguna alteración debida al sondaje intragástrico diario con suero fisiológico. La lámina propia se nos muestra normal y el aspecto de la mucosa es compacto y homogéneo (fig 1).

**Grupo control operado (C.O.).** Morfológicamente, el dato más llamativo es el amplio desarrollo que muestra la lámina propia, sobre todo en el fondo de la glándula (fig 2).

Cuantitativamente, el área celular no varía con respecto al C.N.O. (tablas I y II). Sin embargo, la densidad de volúmen de las células parietales disminuye (tablas III y IV).

**Grupo I.** A microscopía óptica observamos que la lámina propia está más engrosada y la mucosa es menos uniforme.

Cuantitativamente, encontramos un valor inferior del área celular y de la densidad de volúmen de las células parietales con respecto al Grupo C.O. (ver tablas).

**Grupo II.** Al igual que en el grupo anterior, la lámina propia está muy engrosada y con amplia vascularización. Las células parietales presentan un tamaño de  $154,39 \mu\text{m}^2$ , siendo éste superior a los  $124,26 \mu\text{m}^2$  del grupo C.O. La relación núcleo/célula disminuyó al 12,66% respecto al 15,83% del C.O. y la densidad de volúmen fue de 22,46% frente a 29,31% del grupo C.O.

**Grupo III.** La mucosa tiene un aspecto más homogéneo que en el grupo anterior, destacando la menor longitud de la glándula y el engrosamiento de la *muscularis mucosae* en algunas zonas (fig 4).

Cuantitativamente, se vio un aumento significativo del tamaño celular y una disminución de la densidad de volúmen de las células parietales (ver tablas).

**Grupo IV.** El aspecto de la mucosa es más homogéneo que en los grupos anteriores.

Cuantitativamente, la densidad de volúmen de las células parietales y el tamaño celular fueron similares a los del grupo C.N.O. (ver tablas).

Tabla I

Pirenzepina en grupos operados

	Control operado	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Área celular: $\bar{X} \pm \text{ES}$ ( $\mu\text{m}^2$ )	124,26 ± 2,85	108,90 ± 2,75*	154,39 ± 4,81*	146,22 ± 3,17*
Área nuclear $\bar{X} \pm \text{ES}$ ( $\mu\text{m}^2$ )	19,74 ± 0,51	20,00 ± 0,44	19,78 ± 0,57	20,93 ± 0,68
N=6 * P<0,05 con respecto al grupo de control. T de Student.				

Tabla II

Pirenzepina en grupos no operados

	Control no operado	Grupo IV	Grupo V	Grupo VI
Área celular: $\bar{X} \pm \text{ES}$ ( $\mu\text{m}^2$ )	119,28 ± 2,54	114,80 ± 2,29	118,47 ± 2,46	124,26 ± 3,22
Área nuclear $\bar{X} \pm \text{ES}$ ( $\mu\text{m}^2$ )	18,83 ± 0,39	17,68 ± 0,48	19,08 ± 0,60	16,48 ± 0,56*
N=6 * P<0,05 con respecto al grupo de control. T de Student.				

**Tabla IV**  
Pirenzepina en grupos no operados

Grupo	Densidad de vol. cels. parietales (% vol. de mucosa)	Densidad de vol. nuclear (% vol. celular)
Control no operado	36,32 ± 0,72	16,23 ± 0,67
Grupo IV	32,35 ± 1,24**	15,41 ± 0,58
Grupo V	28,03 ± 1,50*	16,11 ± 0,42
Grupo VI	31,29 ± 1,01*	13,23 ± 0,45**

N = 6  
\* P < 0,05 con respecto al grupo de control. U de Mann-Whitney.  
\*\* P < 0,05 con respecto al grupo V. U de Mann-Whitney.  
X ± ES.

**Tabla III**  
Pirenzepina en grupos operados

Grupo	Densidad de vol. cels. parietales (% vol. de mucosa)	Densidad de vol. nuclear (% vol. celular)
Control operado	29,31 ± 1,12	15,83 ± 0,67
Grupo I	24,48 ± 2,08*	19,96 ± 1,26**
Grupo II	22,46 ± 2,01*	12,66 ± 0,66*
Grupo III	24,92 ± 1,75*	14,52 ± 0,47**

N = 6  
\* P < 0,05 con respecto al grupo de control. U de Mann-Whitney.  
\*\* P < 0,05 con respecto al grupo II. U de Mann-Whitney.  
X ± ES.

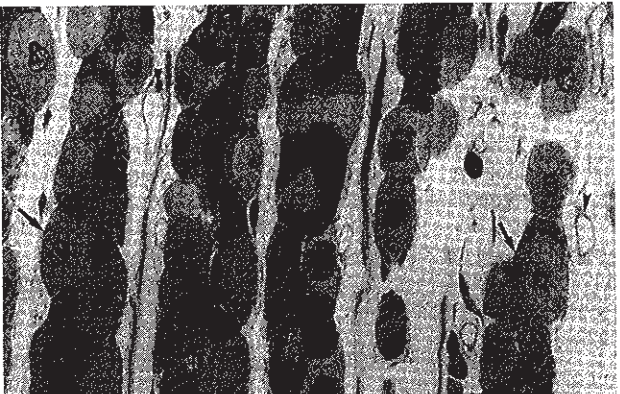


Fig. 3.—Cuello de la glándula del grupo III. Se observa la presencia de elementos parietales (flecha) en una lámina propia dilatada en la que podemos ver vasos sanguíneos (cabeza de flecha), x 1.200.

**DISCUSION**

Las células parietales son los elementos encargados de la síntesis de CIH en la mucosa gástrica. Por ello, cualquier sustancia que actúe sobre este tipo celular, modifi-

**Grupo V.** Este grupo mostró diferencias cuantitativas con respecto al C.N.O. en el porcentaje de mucosa ocupada por células parietales, que era del 28,03% frente al 36,32% de aquel. Sin embargo, el tamaño celular se mantuvo inalterado (tabla II).

**Grupo VI.** Tras nuestras observaciones no hemos detectado diferencias morfológicas por microscopía óptica con respecto al grupo C.N.O.

Cuantitativamente, encontramos un menor porcentaje de mucosa ocupada por células parietales (ver tablas).

cando su metabolismo, actuará en última instancia variando la presencia de CIH en la luz del estómago. Los diferentes valores morfométricos y cuantitativos que se obtienen para las células parietales se deben a la zona de la glándula escogida. En nuestro caso, ésta es el «cuello», por ser la región más rica en células parietales (17).

La pirenzepina es un fármaco utilizado como inhibidor de la secreción ácida (7, 8). Este efecto, según nuestros resultados, se debería a la disminución de los elementos parietales de la mucosa, como refleja el descenso en la densidad de volumen de células parietales en los grupos no operados tras tratamiento de pirenzepina con respecto a su control.

Es conocido (18, 19) que en úlceras en regeneración la densidad de volumen de las células parietales es menor que en condiciones normales. En nuestro estudio, este descenso se ve acentuado por la acción de la pirenzepina. Estos resultados corroboran los obtenidos por otros autores (11, 20). Sin embargo, ZANGER y cols. (11) detectan además un descenso del tamaño celular. Este dato no concuerda con los nuestros, ya que en los grupos operados, los valores de la sección celular son significativamente superiores a los del control, a excepción del grupo de dosis baja, que es menor. En los grupos no operados, el tamaño de la sección se mantuvo, cualquiera que fuese la dosis de pirenzepina suministrada. Por lo tanto, en todos los grupos, la disminución en la proporción de mucosa ocupada por células parietales se debe al descenso en el número de éstas, y no a una disminución en su tamaño. Nuestras diferencias con lo observado por ZANGER y cols. (11), a pesar de que estos no presentaban datos cuantitativos, se deberían a que el tiempo de tratamiento (4 semanas) sólo permitiese detectar en la úlcera células en regeneración que, por ser menos diferenciadas, presentan un tamaño menor (18, 19, 21).

La zona de la glándula donde se originan las células parietales es el cuello (17, 22); por ello, es en ella donde

existe una mayor proporción de células parietales inmaduras, cuya relación núcleo/citoplasma es elevada (21). La utilización de la pirenzepina hace que esta relación disminuya en los grupos II, III y VI (condiciones experimentalmente extremas) con respecto a sus controles; esto se debería a un rápido tránsito de estado inmaduro a maduro antes de que las células parietales alcanzasen el fondo de la glándula, que es donde se localizan las células más diferenciadas (17, 22).

Con los datos aportados anteriormente y los que hemos publicado en un reciente artículo (12), creemos que se obtiene una idea de la acción de la pirenzepina, la cual une a su efecto citoprotector (9, 23, 25, 26), una acción que reduce la presencia de células oxínticas en la zona ulcerada y en las adyacentes (26) y que hace que estas células sean menos activas debido a efectos degenerativos a nivel mitocondrial (12). Por último, y tras nuestras observaciones, podemos postular que las células parietales de los grupos donde hemos encontrado un tamaño celular superior al control se podrían corresponder con elementos diferenciados que, como se sabe, presentan una baja actividad funcional (27) y que en condiciones normales se localizarían en el fondo de la glándula.

Tras el estudio morfológico y cuantitativo que hemos realizado, podemos concluir que la pirenzepina provoca en los grupos operados, un descenso similar en la densidad de volúmen de las células parietales con respecto a la mucosa, con las tres dosis ensayadas. En los grupos no operados existió diferencia entre los de dosis baja y media. Por lo tanto, creemos que con la dosis media (5 mg/kg/día) se obtienen los efectos deseados, tanto en grupos operados como en no operados.

#### BIBLIOGRAFÍA

- GOYAL, R. R. y RATTAN, S.: «Neurohumoral, hormonal and drug receptor for the lower esophageal sphincter.» *Gastroenterology*, 74: 598-602, 1978.
- ALBINUS, M. y WINNE, D.: «Subclasses of muscarinic receptors in isolated gastric mucosal cells: Receptor characterization and parietal cell function.» *Eur. J. Pharmacol.*, 94: 281-295, 1983.
- NAKAMURA, M.; ODA, M. y YONEY, Y.: «Demonstration of the localization of muscarinic acetylcholine receptors in the gastric mucosa. Light and electron microscopic autoradiographic studies using <sup>3</sup>H-quinuclidinyl benzilate.» *Acta Histochem. Cytochem.*, 17: 4: 297-309, 1984.
- NAKAMURA, M.; ODA, M.; YONEY, Y.; TSUKUDA, N.; KOMATSU, H.; KANEKO, K. y TSUCHIYA, M.: «Muscarinic acetylcholine receptors in rat gastric mucosa. A radioautographic study using a potent muscarinic antagonist, <sup>3</sup>H-pirenzepine.» *Histochemistry*, 83: 479-487, 1985.
- NAKAMURA, M.; ODA, M.; KANERO, K.; YONEY, Y.; TSUKUDA, N.; KOMATSU, H.; TSUGU, M. y TSUCHIYA, M.: «Autoradiographic demonstration of gastric binding sites in rat gastric mucosa.» *Peptides*, 8: 2: 391-398, 1987.
- GIACHETTI, A.; GIRALDO, E.; MONTAGNA, E. y HAMMER, R.: «Muscarinic receptor subtypes M<sub>1</sub> and M<sub>2</sub>.» Symposium advances in gastroenterology with the selective antimuscarinic compound pirenzepine. Stockholm. *Experta Medica*, 13-19, 1982.
- HAMMER, R.; ZERRIE, D. P.; BIRDSALL, M. J. M.; BURGEN, A. S.; y HULME, E. C.: «Pirenzepine distinguishes between different subclasses of muscarinic receptors.» *Nature*, 283: 90-92, 1980.
- CARMINE, A. A. y BROGDEN, R. N.: «Pirenzepine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy in peptic ulcer disease and other allied diseases.» *Drugs*, 30: 85-126, 1985.
- LÓPEZ-CAMPOS, J. L.; MORENO, F. J.; PINERO, J.; VILAS, M. G. y JIMÉNEZ CASTELLANOS, M. R.: «Effects of pirenzepine on the histochemistry of gastric cells and on gastric secretory ultrastructures.» Symposium advances in gastroenterology with the selective antimuscarinic compound pirenzepine. Stockholm. *Experta Medica*, 104-114, 1982.
- VARIN, L.; GIACHETTI, A. y BRAMBILLA, A.: «Effect of pirenzepine and PGE<sub>2</sub> on taurocholic acid-induced gastric lesion.» *Pharmacol. Res. Comm.*, 18: 8: 707-715, 1986.
- ZANGER, J.; TAUFER, M.; KRATOCHUIL, P.; BRANDSTATTER, G. y ANBOCK, L.: «Morphology of the duodenal ulcer after treatment with pirenzepine and cimetidine.» Symposium advances in gastroenterology with the selective antimuscarinic compound pirenzepine. Stockholm. *Experta Medica*, 133-144, 1982.
- MORENO, F. J.; TORREBLANCA, J.; IBAÑEZ, F. y LÓPEZ-CAMPOS, J. L.: «Estudio cuantitativo y ultraestructural de la acción de distintos fármacos antiulcerosos sobre las células parietales de la mucosa gástrica de rata.» *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.*, 72: 4-I: 321-328, 1987.
- NIEMELA, S.; JAASKELAINEN, T.; LEHTOLA, J.; MARTIKAINEN, J.; KREKELA, I.; SARNA, S. y SARELIN, H.: «Pirenzepine in the treatment of reflux esophagitis. A placebo-controlled, double-blind study.» *Scand. J. Gastroenterol.*, 21: 10: 1.193-1.199, 1986.
- MATZEK, K. M.; MAC GREGOR, T. R.; KEIRNS, J. J. y VINOCUR, M.: «Effect of food and antacids on the oral absorption of pirenzepine in man.» *Inter. J. Pharmaceutics*, 28: 151-155, 1986.
- LAZZARONI, M.; SANGALETTI, O.; PARENTE, F.; IMBIMBO, B. P. y BIANCHI, G.: «Inhibition of food stimulated acid secretion by association of pirenzepine and ranitidine in duodenal ulcer patients.» *Int. J. Clin. Pharm. Ther. Toxicol.*, 24: 12: 685-693, 1986.
- WEIBEL, E. R.: «Principles and techniques of electron microscopy.» En: Hayat, M. A. Ed. vol. III. Van Nostrand Reinhold Co. New York. 83: 409-426, 1973.
- KATAOKA, K.; TAKEOKA, Y. y MAESAKO, J.: «Electron microscopic observations on immature chief and parietal cells in the mouse gastric mucosa.» *Arch. Histol. Jap.*, 49: 3: 321-331, 1986.
- BLOM, H. y HELANDER, H. F.: «Quantitative ultrastructural studies on parietal cell regeneration in experimental ulcers in rat gastric mucosa.» *Gastroenterology*, 80: 334-343, 1981.
- BLOM, H.: «Cimetidine and parietal cell regeneration in experimental wounds in rat gastric mucosa.» *Scand. J. Gastroenterol.*, 18: 853-857, 1983.
- LEHY, T.; LEWIN, M. J. M. y BONFILS, S.: «Long-term administration of pirenzepine to rats induces parietal and gastrin hypoplasia.» En: Behandlung des ulcus pepticum mit pirenzepin. Eds. Blum, A. L.; Hammer. R. Kall Demeter-Verlag. *Grafefling*, 35, 1978.
- BLOM, H.: «Immature parietal cells in healing gastric wounds respond to stimulation. An experimental study in rats.» *Digestion*, 24: 29-35, 1982.
- KATAOKA, K. y SAKANO, Y.: «Panoramic observation of the mouse gastric mucosa by superwide-field electron microscopy.» *Arch. Histol. Jap.*, 47: 2: 209-221, 1984.
- TRABUCHI, E.; FOSCHI, D.; COLOMBO, R.; BARATTI, C.; DEL SOLDATO, P.; CENTEMERO, A.; RIZZITELLI, E. y MONTORSI, W.: «Cytoprotection by PG<sub>2</sub>, pirenzepine or vagotomy: a transmission and scanning electron microscopic study in rats.» *Pharmacol. Res. Comm.*, 18: 4: 357-369, 1986.
- TAKEDA, F.; KITGAWA, H. y KOHEI, H.: «Gastric cytoprotection by pirenzepine in rats: evaluating method for cytoprotective activity by antisecretory agents.» *Jap. J. Pharmacol.* 38: 337-346, 1985.
- KITAGAWA, H.; HAYASHI, T. y TAKADA, F.: «Effects of antimuscarinic agents and prostaglandin E<sub>2</sub> on the gastric mucosal lesions induced by necrotizing agents and water-immersion stress in rats.» *Jap. J. Pharmacol.*, 41: 409-414, 1986.
- IBAÑEZ, F.; MORENO, F. J.; TORREBLANCA, J. y LÓPEZ-CAMPOS, J. L.: «Acción de fármacos antimuscarínicos sobre células parietales.» *I Congreso de la Federación Iberoamericana de Biología Celular y Molecular*. Barcelona. 13. 1987.
- COULTON, G. R. y FIRTH, J. A.: «Cytochemical evidence for functional zonation of parietal cells within gastric glands of the mouse.» *Histochem. J.*, 15: 1.141-1.150, 1983.