

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

Efectos de la pirenzepina sobre células parietales en regeneración

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

SUMMARY

In this work, we have carried out a stereological and ultrastructural study in order to verify the action of Pirenzepine on regenerating parietal cells. We have used a control group and operated or non-operated groups treated with 1, 5 and 25 mg/kg/day Pirenzepine. In operated groups an ulcer was provoked by cauterization with a metallic plate in the gastric fundus.

Parietal cells in operated groups showed mitochondria with altered crests, a fine granular matrix and a large number of tubulo-vesicles. The comparative stereological analysis demonstrates a generalized decrease in the mitochondria, canaliculi and lisosomal volume density, and an increase in the tubulo-vesicle volume density. Changes detected in these cellular structures would originate a decrease in the production of CIH.

KEY WORDS: Pirenzepine, parietal cells, stereological study.

Ibáñez Delgado, F.; Torreblanca López, J.; López-Campos, J. L.; Moreno Onorato, F. J. Effect of pirenzepine on regenerating parietal cells. Rev Esp Enf Digest, 1990, 78, 3, 123-129.

RESUMEN

Para comprobar la acción de la pirenzepina sobre células parietales en regeneración, hemos realizado un estudio estereológico y ultraestructural. Para ello utilizamos grupos controles y de tratamiento con el fármaco a dosis de 1, 5 y 25 mg/kg/día, operados y no operados. En los grupos operados se realizó una úlcera por cauterización mediante una platina metálica a nivel de fundus gástrico.

Morfológicamente, las células parietales de los grupos operados presentaban mitocondrias con alteración de crestas y una matriz finamente granular, así como gran cantidad de tubulovesículas. El análisis estereológico comparativo entre grupos controles y de tratamiento muestra un descenso ge-

neralizado en la densidad de volumen mitocondrial, canalicular y lisosomal, y un aumento de la densidad de volumen tubulovesicular. Los cambios detectados en estas estructuras celulares provocarían un descenso en la producción de CIH.

PALABRAS CLAVE: Pirenzepina, células parietales, estudio estereológico.

INTRODUCCION

Durante la última década hemos vivido importantes cambios en el conocimiento de la enfermedad ulcerosa gastroduodenal, sobre todo con respecto a los factores fisiopatológicos, evolución y posibilidades terapéuticas.

La secreción de ácido clorhídrico está íntimamente relacionada con las células parietales de las glándulas fúndicas de la mucosa gástrica. Hoy se conocen bien tres tipos de receptores:

- Colinérgicos. De tipo muscarínico en la célula parietal.
- Histaminérgicos. De tipo H_2 en la célula parietal.
- Gastrínicos.

Trabajos recientes nos indican que pueden existir receptores para otros tipos de péptidos, tales como B_2 simpaticomiméticos y opiáceos (1, 2).

Tradicionalmente, el sistema nervioso colinérgico ha sido considerado como mediador de un amplio espectro de acciones biológicas a través de receptores muscarínicos y nicotínicos. La pirenzepina, un compuesto tricíclico perteneciente al grupo de las piridobenzodiazepinas, es el primer antagonista que distingue entre diferentes subclases de receptores muscarínicos (A o M_1 , B y C o M_2) según su mayor o menor afinidad (3-9), habiéndose demostrado que inhibe la secreción de ácido y pepsina basal y estimulada tanto en animales como en la clínica humana (10-14), así como un efecto citoprotector en estudios experimentales sobre mucosa gástrica de rata (15-17).

Las células parietales se originan por diferenciación de las células madres localizadas en la región del cuello glandular. A medida que maduran migran a zonas más profundas de la glándula, haciéndose menos activas en la secreción de

* Hospital «Infanta Elena».

** Departamento de Ciencias Morfológicas. Universidad de Sevilla.

CIH, es por ello que en nuestro trabajo hemos escogido la zona del «cuello», por ser la región más rica en células parietales (11, 18-20).

Morfológicamente, estas células presentan canalículos secretores revestidos de microvellosidades, resultado de la invaginación de la membrana plasmática apical. En el citoplasma de estas células también encontramos formaciones membranosas como el sistema tubulovesicular, y como orgánulo más representativo las mitocondrias. Se han reconocido varias categorías funcionales atendiendo a estos parámetros morfológicos (18, 21-23).

En anteriores trabajos, tanto a microscopia óptica como electrónica (11, 12), hemos podido observar que la pirenzepina a diferentes dosis produce alteraciones tanto de la célula parietal como en sus orgánulos. El objeto del presente estudio experimental ha sido correlacionar los cambios ultraestructurales de determinados parámetros citoplásmicos de células parietales en mucosa gástrica en regeneración, con el estado funcional de la célula bajo tratamiento con diferentes dosis del fármaco pirenzepina. Para ello hemos realizado un análisis estereológico basándonos en las determinaciones estadísticas de diferentes estructuras celulares.

MATERIAL Y METODOS

En nuestro estudio experimental hemos utilizado ratas macho de la raza Sprague-Dawley de una misma camada, con peso medio entre 225 y 275 gramos y edad de unos dos-tres meses, siendo distribuidas en diferentes grupos. Grupo control operado (CO), grupo control no operado (CNO), grupos de tratamiento con pirenzepina a distintas dosis, operados y no operados. La distribución de los distintos grupos es la siguiente:

CO: Operados ($n=6$). Dosis 1 ml solución salina.

CNO: No operados ($n=6$). Dosis 1 ml solución salina.

Grupos pirenzepina:

- I. Operados ($n=6$). Dosis de 1 mg/kg/día.
- II. Operados ($n=6$). Dosis de 5 mg/kg/día.
- III. Operados ($n=6$). Dosis de 25 mg/kg/día.
- IV. No operados ($n=6$). Dosis de 1 mg/kg/día.
- V. No operados ($n=6$). Dosis de 5 mg/kg/día.
- VI. No operados ($n=6$). Dosis de 25 mg/kg/día.

Los animales fueron criados y mantenidos en laboratorio con idénticas condiciones ambientales, en jaulas habituales con suelo de malla metálica para evitar la coprofagia, dieta estandar y agua libre.

A los grupos controles se les administró diariamente entre las catorce y dieciséis horas, 1 ml de solución salina a través de una sonda intragástrica; de igual manera a los grupos tratados con pirenzepina se les administraron las diferentes dosis anteriormente expuestas disueltas en 1 ml de solución salina.

En los grupos operados, tras veinticuatro horas de ayuno con acceso libre al agua hasta ocho horas antes a la inter-

vección, se procedió a una anestesia intraperitoneal con hidrato de cloral al 35% (0,1 ml/100 mg de peso), posteriormente se practicó laparotomía media con exteriorización del estómago glandular a través del no glandular previa incisión, determinándose una zona estandarizada a nivel de la curvatura mayor del fundus, inferior a la hendidura gástrica. En esta zona se producía una úlcera por cauterización aplicando, durante un minuto, una platina metálica de 1,5 cm de diámetro calentada a 70° C.

Tras noventa días de tratamiento todos los animales fueron anestesiados y se procedió a la apertura de tórax y abdomen, canulándose la aorta a través del ventrículo izquierdo y comenzando una perfusión con suero fisiológico a 25 ml/minuto durante cinco minutos; para evitar el taponamiento cardiaco y permitir la extravasación de la sangre se procedía a la apertura de la aurícula derecha.

Una vez que el estómago mostraba sus vasos sin sangre se continuaba con la fijación, mediante una solución preparada en ese momento y compuesta por paraformaldehído al 3% y glutaraldehído al 2,5% en tampón cacodilato sódico 0,1 M a pH 7,2. Tras diez minutos de fijación el estómago era extraído y colocado sobre una placa de Petri, abriéndose por la curvatura menor para no interferir sobre la zona ulcerada. Identificada esta zona o bien una zona anatómica similar en los no operados, se procedió al troceado en fragmentos de aproximadamente, 1 mm². Estas piezas se fijaron durante tres horas y posteriormente fueron lavadas en tampón cacodilato sódico 0,1 M pH 7,2 con sacarosa al 7,5%, manteniéndolas durante veinticuatro horas a 4° C. Posteriormente, fueron postfijadas durante dos horas con tetróxido de osmio (OsO₄) al 1% en tampón cacodilato sódico. A continuación se lava en el mismo tampón siguiéndose con el proceso de deshidratación en acetonas de concentraciones crecientes para realizar, por último, la inclusión en resina.

El estudio ultraestructural fue realizado sobre secciones finas (80 nm) obtenidas en un ultramicrotomo LKB III y recogidas en rejillas de cobre. Las muestras fueron contrastadas con acetato de uranilo y citrato de plomo, observándose en un microscopio electrónico Siemens Elmiscope 102. Las microfotografías se realizaron en placas Agfa-Gevaert Scientia (6×9).

El estudio estereológico se realizó siguiendo el método de conteo de puntos descritos por WEIBEL (24). Se escogieron 10 fotografías al azar por grupo, con un aumento final de ×30.000, sobre las que se colocaba una malla cuadrada de 0,5 cm de lado por cuadrícula, las intersecciones entre las líneas verticales y horizontales eran usadas como puntos test.

Determinamos una serie de parámetros, como la densidad de volumen de diferentes estructuras celulares (mitocondrias, canalículos, tubulovesículas y lisosomas) mediante la fórmula $V_v = P_o/P_t$, siendo P_o la media de puntos contados sobre cada uno de los orgánulos y P_t la media de puntos de la célula parietal descontando aquéllos del núcleo. Para el área mitocondrial utilizamos la fórmula $A_m = P_m \times A_p/A_f^2$, donde P_m es la media de puntos contados en las mitocondrias, A_p es el área correspondientes a una cuadrícula del sistema de análisis utilizado y A_f el aumento final de las fotografías estudiadas.

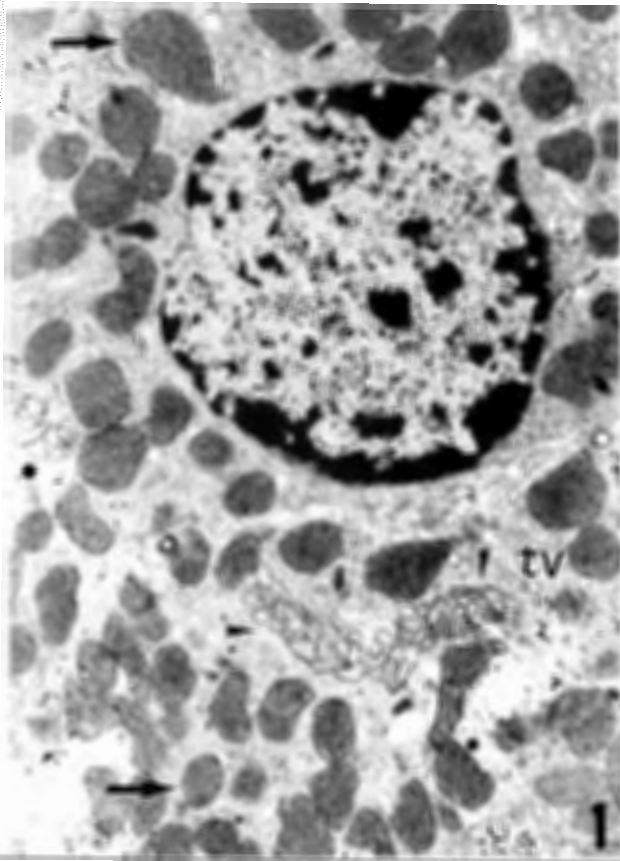


FIG. 1.—Grupo control no operado. Aspecto general de una célula oxíntica en la que se observa gran cantidad de mitocondrias con gruesas cristas (flecha), el canalículo aparece ocupado totalmente por microvellosidades (cabeza de flecha). En el citoplasma se ven tubulovesículas (tv) y cuerpos multivesiculares (*). 4000×.

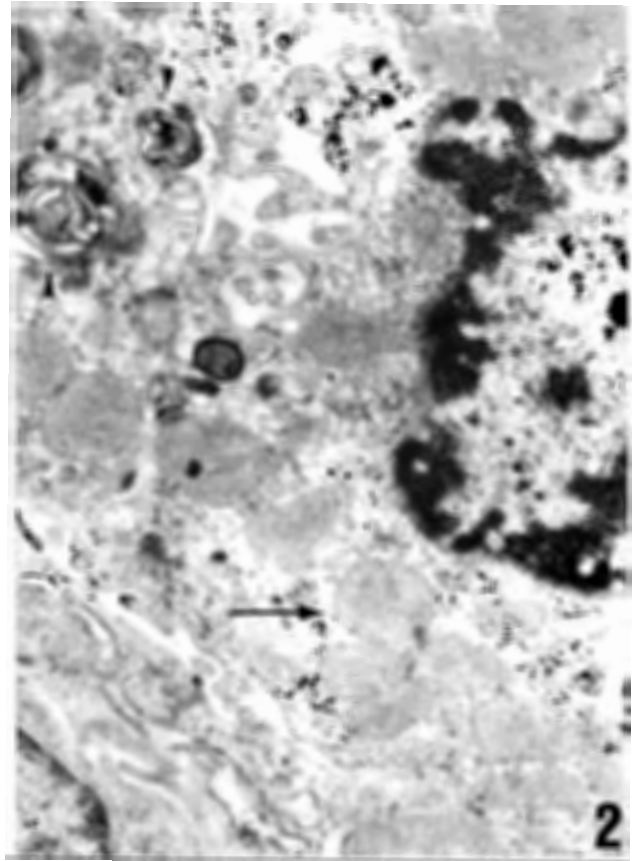


FIG. 2.—Grupo control operado. Célula parietal en la que se observan mitocondrias sin crestas (flecha) y figuras mielínicas (cabeza de flecha) provenientes de la degradación de estructuras celulares. 8000×.

Las diferencias en los valores de los distintos parámetros estudiados en los grupos controles y de tratamiento fueron analizadas mediante el test *t* de Student-Fisher. Cuando la aplicación previa del test *f* de Snedecor no nos permitía asegurar la igualdad de las varianzas de los grupos comparados se empleó la prueba no paramétrica *u* de Mann-Whitney. Para una $p < 0,05$ las diferencias entre valores fueron consideradas como significativas.

RESULTADOS

Grupos controles

Morfológicamente, las células parietales del grupo Control no operado presentan un núcleo eucromático y redondeado, un citoplasma ocupado por abundantes mitocondrias con gruesas crestas, un sistema tubulovesicular muy desarrollado y algunos cuerpos multivesiculares. El canalículo se muestra ocupado por numerosas y cortas microvellosidades (fig. 1).

Las principales diferencias morfológicas de los elementos

parietales del grupo Control operado con respecto al anterior grupo, fueron la presencia de mitocondrias con una matriz finamente granular en la que, a veces, aparecían delgadas crestas. En el citoplasma se detectaron numerosas estructuras degradativas (fig. 2).

El análisis estereológico comparativo de ambos grupos demostró una disminución significativa del área mitocondrial y un aumento de la densidad de volumen lisosomal del CO con respecto al CNO (tabla I).

Grupos tratados con pirenzepina. Operados

En estos grupos el rasgo morfológico más destacado fue la presencia de mitocondrias con una matriz finamente granular, sobre todo a dosis media y alta (Grupos II y III). En el citoplasma se aprecia un sistema tubulovesicular muy abundante, mientras que la presencia de lisosomas fue menor que en el CO (fig. 3).

La estereología nos permitió reconocer diversas modificaciones que produce el tratamiento con pirenzepina. En el grupo II (dosis media) provocó un descenso significativo en la densidad de volumen mitocondrial; por el contrario, en el

TABLA I		
Grupos controles		
	CO	CNO
Dens. Vol. Mit. (% Vol. Cit.)	35,25 ± 1,47	34,44 ± 2,03
Area Mitocon. (μm^2)	0,238 ± 0,0042*	0,341 ± 0,0072
Dens. Vol. Canal. (% Vol. Cit.)	2,69 ± 0,59	2,36 ± 0,59
Dens. Vol. T-V (% Vol. Cit.)	6,52 ± 1,40	8,68 ± 1,58
Dens. Vol. Lis. (% Vol. Cit.)	4,36 ± 0,76*	1,13 ± 0,16

 $\bar{X} \pm \text{ES}$.* Dif. Sig. $p < 0,01$ t Student-Fisher.

grupo I (dosis mínima) el área media mitocondrial aumenta significativamente con respecto al CO. Otro componente afectado fue el sistema tubulovesicular, aumentando su presencia en el citoplasma proporcionalmente al aumento de la dosis de fármaco utilizada. Este incremento va acompañado del descenso en la densidad de volumen del canalículo, pues estas dos estructuras están inversamente relacionadas. El descenso de lisosomas ya detectado a nivel morfológico fue confirmado estereológicamente en todos los grupos con respecto al CO (tabla II).

No operados

La observación de estos grupos nos mostró los efectos que la pirenzepina provoca en las células parietales de mucosa gástrica no ulcerada. Este fármaco afecta a la mitocondrias, sobre todo a las dosis media y alta ensayadas (Grupos V

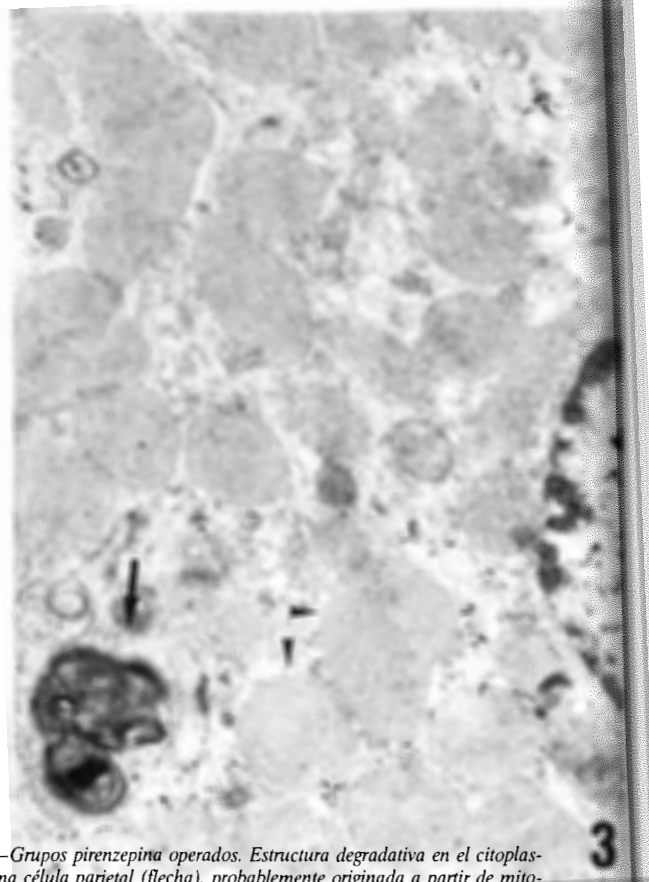


FIG. 3.—Grupos pirenzepina operados. Estructura degradativa en el citoplasma de una célula parietal (flecha), probablemente originada a partir de mitocondrias en las que no aparecen crestas (cabeza de flecha). 8000 \times .

y VI), produciendo la desorganización del interior mitocondrial y la ruptura de las crestas. También fue posible ver en estos grupos células con núcleos picnóticos y con el espacio

TABLA II				
Grupos operados				
	CO	G I	G II	G III
Dens. Vol. Mit. (% Vol. Cit.)	35,25 ± 1,47	35,28 ± 1,59	28,20 ± 1,56*	35,97 ± 1,30
Area Mitocon. (μm^2)	0,238 ± 0,0042	0,327 ± 0,0072*	0,235 ± 0,0057	0,246 ± 0,0051
Dens. Vol. Canal. (% Vol. Cit.)	2,69 ± 0,59	2,05 ± 0,50	1,16 ± 0,27	0,69 ± 0,38(1)
Dens. Vol. T-V (% Vol. Cit.)	6,52 ± 1,40	7,07 ± 1,79	9,73 ± 1,47	12,27 ± 1,58(2)
Dens. Vol. Lis. (% Vol. Cit.)	4,36 ± 0,76(3)	1,22 ± 0,20(3)	0,85 ± 0,09(3)	1,75 ± 0,23(3)

 $\bar{X} \pm \text{ES}$.* Dif. Sig. con el resto de grupos $p < 0,01$ t Student-Fisher(1) Dif. Sig. con CO $p < 0,01$ t de Student-Fisher.(2) Dif. Sig. con CO $p < 0,05$ t Student-Fisher.(3) Dif. Sig. con CO $p < 0,01$ u de Mann-Whitney.

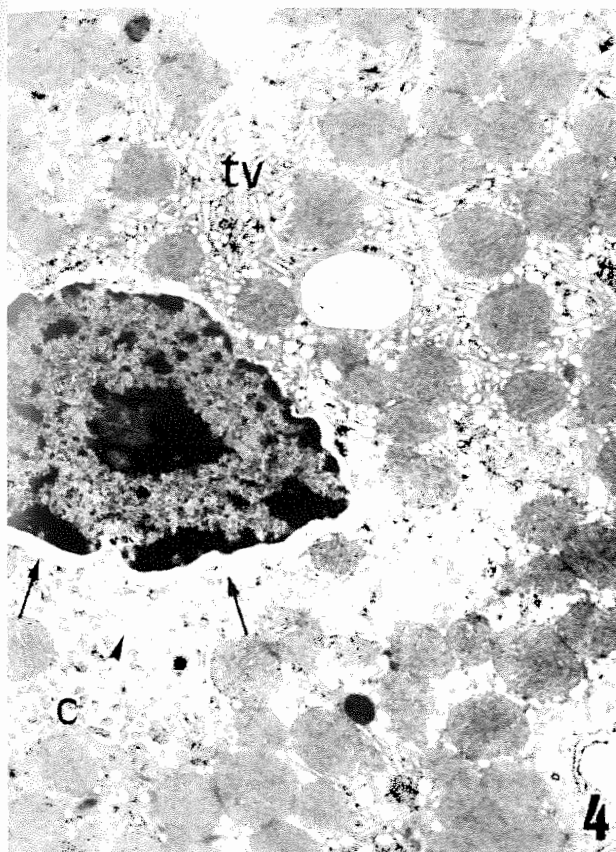


FIG. 4.—Grupos pirenzepina no operados. Célula en la que se muestra un núcleo picnótico y con un espacio perinuclear dilatado (flecha), en las cercanías podemos observar un dictiosoma (cabeza de flecha), mitocondrias con crestas delgadas y otras con un interior homogéneo. El canalículo (c) está totalmente ocupado por microvellosidades y existe un moderado desarrollo del sistema tubulo-vesicular (tv). 8000x.

perinuclear dilatado por un material poco denso a los electrones (fig. 4).

El análisis estereológico de las diferentes estructuras celulares muestra que la pirenzepina provoca un descenso sig-

nificativo en la densidad de volumen mitocondrial en dosis baja y alta y en el componente tubulovesicular del grupo de dosis media (tabla III).

DISCUSION

La célula parietal es una de las células epiteliales más dinámicas, existiendo una estrecha relación entre su estructura y función. Al estimular la producción de CIH aumenta la superficie secretora, y ello podría deberse a la fusión de estructuras endoplásmicas tubulovesiculares con la membrana plasmática apical, como ha sido demostrado en animales (25-27). Es por ello que la variación de estos y otros parámetros nos indicarían de manera indirecta la actividad secretora de este tipo celular.

El análisis comparativo de los grupos controles mostró que la densidad de volumen mitocondrial fue similar en ambos grupos, apoyando la hipótesis de que las células parietales del CO localizadas en úlceras tras noventa días de regeneración son maduras. Estas células se encontrarían en un estado de reposo, mostrando valores tubulovesiculares muy similares a los descritos por otros autores para esta situación (28). Sin embargo, existen diferencias significativas entre el CO y el CNO. El tamaño medio mitocondrial del CO es menor, mientras que la densidad de volumen lisosomal aumentó con respecto al CNO. Ello podría deberse a una rápida renovación de las mitocondrias, haciendo que su tamaño medio descendiese, mientras que la presencia de una mayor cantidad de lisosomas se debería a degradación de estructuras celulares entre ellas las mitocondrias que se observan con alteración de sus crestas.

La pirenzepina provoca un descenso de la densidad de volumen mitocondrial, tanto en los grupos no operados como en el grupo no operado de dosis media. Esta disminución de la densidad de volumen mitocondrial ha sido relacionada con una disminución de la secreción de CIH en las células parietales (29-31).

Por otra parte, el tratamiento con este fármaco, sobre todo a dosis media y alta, provoca fenómenos alterativos en

TABLA III
Grupos no operados

	CNO	G IV	G V	G VI
Dens. Vol. Mit. (% Vol. Cit.)	34,44 ± 2,03	28,51 ± 1,40*	29,41 ± 2,31	27,42 ± 2,17*
Area Mitocon. (µm ²)	0,341 ± 0,0087	0,301 ± 0,0055	0,301 ± 0,0053	0,333 ± 0,0072
Dens. Vol. Canal. (% Vol. Cit.)	2,36 ± 0,59	1,10 ± 0,25	3,07 ± 0,50	2,31 ± 0,68
Dens. Vol. T-V (% Vol. Cit.)	8,68 ± 1,58	5,34 ± 1,17	3,30 ± 1,61*	5,74 ± 1,56
Dens. Vol. Lis. (% Vol. Cit.)	1,13 ± 0,16	0,93 ± 0,15	0,83 ± 0,18	1,21 ± 0,11

$\bar{X} \pm ES.$

* Dif. Sig. $p < 0,05$ t Student-Fisher.

las mitocondrias, con disgregación y rotura de crestas mitocondriales. Estas alteraciones han sido relacionadas con un déficit de moléculas energéticas, limitando, por tanto, el funcionamiento del complejo enzimático ATPasa H⁺, K⁺, localizado a nivel de membrana y encargado del transporte de H⁺ hacia el interior del sistema tubulovesicular, quedando disminuida o inhibida la secreción de CIH (32).

El canalículo y las tubulovesículas son una medida indirecta de la actividad secretora ácida de la célula parietal (33). El aumento progresivo, directamente relacionado con la dosis de fármaco utilizada, que observamos en la densidad de volumen tubulovesicular de los grupos operados y tratados con pirenzepina y que va acompañado con el correspondiente descenso de la densidad de volumen del canalículo, indican que estas células se hallan en reposo en su secreción de CIH. En los grupos no operados hay un descenso generalizado de la densidad de volumen tubulovesicular, aunque sólo significativo en el grupo de dosis media. Esto no conduciría a un aumento de la secreción, ya que la densidad de volumen canalicular debería de haber aumentado al estar inversamente relacionadas (25, 33, 34), y este incremento no se produce.

El descenso de lisosomas en el citoplasma de los grupos operados y tratados con pirenzepina puede deberse a una menor lisis celular o al menor metabolismo de estas células, que no presentarían procesos de recuperación de membrana debido a su estado de reposo en la síntesis de CIH. Esta última hipótesis debía de reflejarse en una disminución similar en los grupos no operados, el descenso que hemos detectado no es significativo, por lo que parece más correcta la primera hipótesis.

Para nosotros los parámetros morfológicos y estereológicos expuestos anteriormente podrían reflejar un descenso en la producción de CIH, que, junto con la disminución del porcentaje de células parietales en la mucosa gástrica propiciada por el tratamiento con pirenzepina (11), haría que este fármaco se mostrara eficaz en el tratamiento de la úlcera gástrica en regeneración.

Correspondencia:

J. Torreblanca López.
Departamento de Biología Celular.
Facultad de Biología. Universidad de Sevilla.
Avenida Reina Mercedes, s/n.
41012 Sevilla.

BIBLIOGRAFIA

- Kramer W, Skowcomek B, Stack H y Metz S. Modulation of acid secretion from enriched guinea pig parietal cells by opioid receptors. *Pharmacology*, 1983, 27: 298-304.
- Rosenfeld GC. Isolated parietal cells: adrenergic response and pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther*, 1984, 229: 763-768.
- Goyal RK y Rattan S. Neurohumoral, hormonal and drug receptors for the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology*, 1978, 74: 598-602.
- Hammer R, Zerrie DP, Birdsall MJM, Burgen AS y Hulme EC. Pirenzepine distinguishes between different subclasses of muscarinic receptors. *Nature*, 1980, 283: 90-92.
- Giachetti A, Giraldo E, Montagna E, y Hammer R. Muscarinic receptors subtype: M₁ and M₂. Symposium advances in gastroenterology with the selective antimuscarinic compound pirenzepine. Stockholm, 17-6-82. *Excerpta Medica*, 1982, 13-19.
- Watson M, Roeske WR, Johnson PC y Yamamura HI. 3H pirenzepine identifies putative M₁ muscarinic receptors in human stellate ganglia. *Brain Research*, 1984, 290: 179-183.
- Albinus M y Winne D. Subclasses of muscarinic receptors in isolated gastric mucosal cells: Receptor characterization in parietal cell function. *Eur J Pharmacol*, 1983, 94: 281-295.
- 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 3H-guinaulidiny benzilate. *Acta Histochem. Cytochem*, 1984, 17, 4: 297-309.
- Nakamura M, Oda M, Yoney Y, Tsukuda N, Komatsu H, Kaneko K y Tsuchiya M. Muscarinic acetylcholine receptors in gastric mucosa. A radioautographic study using a potent muscarinic antagonist, 3H-pirenzepine. *Histochemistry*, 1985, 83: 479-487.
- Pagani F, Schiavone A, Monferini E, Hammer R y Giachetti A. Distinct muscarinic receptor subtypes (M₁, -M₂) controlling acid secretion in rodents. *Trends and Pharm Sci*, 1984 (supp): 66-72.
- Ibáñez F, Torreblanca J, López-Campos JL y Moreno FJ. Acción del fármaco pirenzepina sobre células parietales en regeneración. Estudio morfológico y cuantitativo. *Rev Esp Enf Ap Digest* 1988, 74, 3: 205-209.
- Moreno FJ, Torreblanca J, Ibáñez F y López-Campos JL. 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* 1987, 72, 4-I: 321-328.
- Etienne A, Fimmel CJ, Bron BA, Loizeau E y Blum AL. Evaluation of pirenzepine on gastric acidity in healthy volunteers using ambulatory 24 hour intragastric pH monitoring. *Gut*, 1985, 26: 241-245.
- Kitagawa H, Hayashi T, Takeda F, Kinekawa F y Kohei H. Effects of antimuscarinic agents and prostaglandin E₂ on the gastric mucosal lesions induced by necrotizing agents and water-immersion stress in rat. *Japan. J Pharmacol*, 1986, 41: 409-414.
- López-Campos JL, Moreno FJ, Piñero J, Vilas MG, y Jiménez-Castellanos MR. 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, 17-6-82. *Excerpta Medica*, 1982, 104-114.
- Varin L, Giachetti A y Brambilla A. Effects of pirenzepine and PGE₂ on taurocholic acid-induced gastric lesion. *Pharmacol Res Comm* 1986, 18, 8: 707-715.
- Trabuchi E, Foschi D, Colombo R, Baratti C, Del Soldato P, Centemero A, Rizzitelli E y Montorsi W. Cytoprotection by PGE₂, pirenzepine or vagotomy a transmission, and scanning electron microscopic study in rats. *Pharmacol Res Comm*, 1986, 18, 4: 357-369.
- Coulton GR y Firth JA. Cytochemical evidence for functional zonation of parietal cells within the gastric of the mouse. *Histochem J*, 1983, 15: 1141-1150.
- Kataoka K y Sakano Y. Panoramic observation of the mouse gastric mucosa by superwide-field electron microscopy. *Arch. Histol Jap*, 1984, 47, 2: 209-221.
- Kataoka K Takeoka Y, y Maesako J. Electron microscopic observations on immature chief and parietal cells in the mouse gastric mucosa. *Arch Histol Jap*, 1986, 49, 3: 321-331.
- Ito S y Schofield GC. Studies on the depletion and accumulation of microvilli and changes in the tubulovesicular compartment of mouse parietal cells in relation to gastric acid secretion. *J Cell Biol* 1974, 63: 364-382.
- Helander HF. The cells of the gastric mucosa. *Int Rev Cytol*, 1981, 30: 72-76.
- Forte JG, Black JA, Forte TM, Machen TE y Wolosin JM. Ultrastructural activity in gastric oxyntic cells. *Am J Physiol*, 1981, 241 (5): G349-G358.
- Weibel ER. Principles and techniques of electron microscope. En: Hayat MA. Ed. Vol. III *Van Nostrand Reinhold Co.* New York. 1973, 83: 409-426.

25. Helander HF y Hirschowitz BI. Quantitative ultrastructural studies on gastric parietal cells. *Gastroenterology*, 1972, 63: 951-961.
26. Helander HF y Hirschowitz BI. Quantitative ultrastructural studies on inhibited and on partly stimulated gastric parietal cells. *Gastroenterology*, 1974, 67: 447-452.
27. Torreblanca J, Moreno FJ, Ibáñez F y López-Campos, JL. Respuesta de las células parietales a la ingesta de etanol. Estudio cuantitativo y ultraestructural. *Histol Med*, 1987, 3: 145-152.
28. Frexinos J, Carballido M, Louis A y Ribet A. Effects of pentagastrin stimulation on human parietal cell. An electron microscopy study with quantitative evaluation on cytoplasmic structures. *Dig Dis*, 1971, 16, 12: 1065-1073.
29. Helander HF. Morphological studies on the margin of gastric corpus wounds in the rat. *J Submicrosc Cytol*, 1983, 15, 3: 627-643.
30. Blom H. Cimetidine and parietal cell regeneration in experimental wound in rat gastric mucosa. A light and electron microscopic study. *Scand J Gastroenterol*, 1983, 18: 853-857.
31. Blom H, Elstig H y Helander HF. Effects of pyloroplasty, truncal vagotomy and antrectomy on parietal cell regeneration in experimental gastric wounds in the rat. A light and electron microscopy study. *Scand J Gastroenterol*, 1983, 18: 859-864.
32. Moreno FJ, Piñero J, Coveñas y López-Campos JL. Enzymatic response to HCl inhibition in oxyntic cells of fasting rats. *Acta Histochem. Cytochem*, 1984, 17, 4: 379-386.
33. Jacobs DM, Ackerman SH y Shindler RD. Ontogeny of gastric secretion in the rat ultrastructural changes in relation to secretory changes. *Gastroenterology*, 1986, 91: 667-672.
34. Kieseleva EV, Shilov AG y Khristoliubova NB. Electron microscopic on morphometrical study of gastric parietal cells of rats after administration of gastrine, histamine and cyclic 3,5-adenosinmonophosphate. *Arkh Anat Histol Embriol*, 1975, 69: 29-32.

Recibido: 14-XI-89.