



UNIVERSIDAD DE GRANADA

Departamento de Medicina

**DISTRIBUCIÓN TOPOGRÁFICA DE LAS CÉLULAS NEUROENDOCRINAS
DEL ESTÓMAGO EN PACIENTES
CON ULCUS PÉPTICO.**

Memoria que presenta para acceder al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

MARÍA DEL PILAR ALAMINOS GARCÍA

Granada, junio de 2005.



Universidad de Granada
Departamento de Medicina

D. Manuel Valenzuela Barranco, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada y Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universidad de Granada

CERTIFICA

Que el presente trabajo de investigación titulado **“Distribución topográfica de las células neuroendocrinas del estómago en pacientes con ulcus péptico ”** ha sido realizado bajo mi dirección por el doctorando Dña. María Pilar Alaminos García, a fin de obtener el grado de Doctor. El doctorando reúne, a mi juicio, preparación y capacidad investigadora suficiente para la lectura y defensa de este trabajo ante el Tribunal designado, así como para obtener el mencionado grado de Doctor.

En Granada, a 1 de mayo de 2005



D. Juan Manuel Herrerías Gutiérrez, Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla y Jefe de Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla.

CERTIFICA

Que el presente trabajo de investigación titulado **“Distribución topográfica de las células neuroendocrinas del estómago en pacientes con ulcus péptico ”** ha sido realizado bajo mi dirección por el doctorando Dña. María Pilar Alaminos García, a fin de obtener el grado de Doctor.

El doctorando reúne, a mi juicio, preparación y capacidad investigadora suficiente para la lectura y defensa de este trabajo ante el Tribunal designado, así como para obtener el mencionado grado de Doctor.

En Granada, a 1 de mayo de 2005



D. Francisco Rivera Hueto, Profesor Titular del Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica de la Universidad de Sevilla.

CERTIFICA

Que el presente trabajo de investigación titulado **“Distribución topográfica de las células neuroendocrinas del estómago en pacientes con ulcus péptico ”** ha sido realizado bajo mi dirección por el doctorando Dña. María Pilar Alaminos García, a fin de obtener el grado de Doctor. El doctorando reúne, a mi juicio, preparación y capacidad investigadora suficiente para la lectura y defensa de este trabajo ante el Tribunal designado, así como para obtener el mencionado grado de Doctor.

En Granada, a 1 de mayo de 2005

AGRADECIMIENTOS

El autor desea dar las gracias:

Al doctor Manuel Valenzuela Barranco por su inestimable ayuda, su apoyo constante, su permanente dedicación, su paciencia, su sabia dirección y su activa participación en todos los aspectos desarrollados en este trabajo. Sin su colaboración no habría sido posible la realización de mi tesis doctoral.

Al Hospital Clínico Virgen Macarena y en especial a los doctores Juan Manuel Herrerías Gutiérrez y Francisco Rivera Hueto por haberme brindado los medios necesarios para realizar esta investigación.

Al profesor Francisco Javier Gómez Jiménez, por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo, por tu gran ayuda en todos y cada uno de los pasos de este proyecto que por fin ve la luz.

Al Departamento de Medicina, y en especial a Juan Chacón, jefe de administración, por haberme ayudado en tantos pasos burocráticos.

DEDICATORIAS

A Manolo, mi esposo y compañero infatigable tanto en la vida personal como en la profesional. Gracias por caminar a mi lado.

A mis padres, porque me han acompañado siempre con amor e inmensa paciencia desde el principio, en todos los acontecimientos de mi vida. A ellos se lo debo todo, lo que soy y lo que he conseguido. En ellos he visto lo que significa el espíritu de lucha y sacrificio; ellos me han motivado a tener pasión por vivir.

A mis abuelos que me han querido tanto, que me han transmitido tantos valores buenos, enseñándome a recibir y dar amor infinito.

A mis hermanos por haber creído en mí y haberme apoyado en todo momento. A mi hermano Salvador que partiste muy temprano de nuestro lado, sé que desde allá me estás ayudando.

A todos y cada uno de los compañeros de profesión que me he encontrado en el camino, especialmente a mis tutores Pilar Ruiz, Agustín Colodro, Encarnación Cabrera, Dionisio Carrillo, Mariano Cubero y Francisco Báñez . Vosotros hacéis realidad cada día el *arte de sanar*.

A Pilar Martos, por enseñarme el lado humano de la medicina, por haberme brindado todos sus conocimientos de enfermería y haber dado mis primeros pasos en las técnicas instrumentales a su lado. Donde quiera que estés, sé que permanecerás a mi lado y estarás en mi corazón siempre.

“Obsérvalo todo, estudiar al paciente más que a la enfermedad, hacer una evaluación imparcial y ayudar a la naturaleza”

Corpus Hipocraticum, 400 a.d.C

A mi Familia

TABLA DE CONTENIDO

I.- INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1. PERSPECTIVA HISTÓRICA	1
HISTORIA DE LA INVESTIGACIÓN DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA.....	1
BREVE RESEÑA HISTÓRICA DE LA ÚLCERA PÉPTICA.....	6
CAPÍTULO 2. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DEL ESTÓMAGO	9
ONTOGENIA DEL ESTÓMAGO.....	9
FORMAS Y DIMENSIONES DEL ESTÓMAGO ADULTO.....	10
ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DE LA PARED GÁSTRICA.....	11
CAPÍTULO 3. DESCRIPCIÓN DE LA MUCOSA GÁSTRICA.....	12
ANATOMÍA DE LA MUCOSA GÁSTRICA.....	12
ARQUITECTURA DE LA MUCOSA GÁSTRICA.....	13
CITOLOGÍA DE LA MUCOSA GÁSTRICA.....	15
CAPÍTULO 4. SECRECIÓN ÁCIDA GÁSTRICA.....	20
REGULACIÓN NERVIOSA CENTRAL DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA.....	20
REGULACIÓN NERVIOSA PERIFÉRICA DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA.....	23
REGULACIÓN PARACRINA DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA.....	27
REGULACIÓN ENDOCRINA DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA.....	28
CAPÍTULO 5. CÉLULAS ENDOCRINAS GÁSTRICAS. REGULACIÓN.....	31
CELULAR DE LA SECRECIÓN ÁCIDA.....	32
CÉLULAS ENTEROCROMAFIN LIKE (ECL).....	32
CÉLULAS PRODUCTORAS DE GASTRINA O CÉLULAS G.....	43
CÉLULAS PRODUCTORAS DE SOMATOSTATINA O CÉLULAS D.....	47
CAPÍTULO 6. ANÁLISIS DE IMAGEN Y MORFOMETRÍA. ASPECTOS	
GENERALES.....	49
VISIÓN ARTIFICIAL.....	50
MORFOMETRÍA. ASPECTOS GENERALES.....	51
APLICACIONES DE LA MORFOMETRÍA AL ESTUDIO HISTOLÓGICO.....	52
II.- FIGURAS.....	57
III.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	60
IV.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	62
DISEÑO DEL ESTUDIO.....	62
SELECCIÓN DE PIEZAS ANATÓMICAS.....	62
PROTOCOLO HISTOLÓGICO.....	62

ESTUDIO MORFOMÉTRICO.....	64
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	67
DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS POBLACIONES CELULARES.....	64
RECOPIACIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	68
V.- RESULTADOS.....	69
DATOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	69
DATOS MORFOMÉTRICOS.....	69
TOPOGRAFÍA CELULAR.....	86
VI.- DISCUSIÓN.....	89
VII.- CONCLUSIONES.....	96
VIII.- BIBLIOGRAFÍA.....	98
IX.- ABREVIATURAS.....	120

I. INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1

PERSPECTIVA HISTORICA.

HISTORIA DE LA INVESTIGACIÓN DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA.

Hipócrates, filósofo griego en el año 460 aDC, describe al estómago “...como un recipiente para el agua seca y húmeda...”, y emite una teoría según la cuál, el alimento ingerido sufre en el estómago una especie de “cocción”. Esta opinión prevaleció durante casi 2000 años. En el siglo XVIII esta tesis evoluciona y se piensa que más que un proceso de cocción, lo que realmente sufre la comida en el estómago, es una transformación en una mezcla homogénea semifluida, debido a la acción solvente de un fluido secretado por el estómago. Lázaro Spallanzani fue el defensor de esta última teoría y en 1784, este autor publicó sus descubrimientos realizados tras una serie de experimentos con gatos, perros y con él mismo, para estudiar las propiedades digestivas del referido fluido (1). En 1793, Spallanzani manifiesta: que el solvente referido puede ser denominado “jugo gástrico”; que éste es totalmente neutro, preservando la materia del animal de la putrefacción, y disolviendo dicha materia con la ayuda de calor.

Los experimentos de Spallanzani, contrastan con los realizados por el francés Réaumur (2) tras los cuales en 1752 concluye que el jugo gástrico es ácido. Réaumur extrae este fluido del estómago de un buitre, que previamente había entrenado para tragarse pequeñas esponjas que empapaban la secreción gástrica. El buitre es un ave de presa capaz de eyectar comida indigestible de su estómago y Réaumur observa en él que el jugo gástrico extraído tras la regurgitación de las esponjas, es capaz de digerir la carne.

En el año 1824 el fisiólogo inglés Willian Prout describe la presencia de un ácido en el jugo gástrico(3). Habla del “ácido muriático”; hoy más conocido como ácido clorhídrico. Este descubrimiento fue corroborado posteriormente en 1833 por otro autor llamado Dunglison.

Finalmente el hallazgo más importante para el conocimiento “in vivo” de muchos aspectos de la fisiología del estómago humano fue fruto de la casualidad, como veremos a continuación. Alexis St Martín fue un joven canadiense trapero que en 1822, cuando regresaba a Fort Mackinac, en la frontera este entre EEUU y Canada, sufrió varias heridas al dispararse accidentalmente un mosquetón a corta distancia. St Martín fue atendido por el Médico militar Willian Beaumont, quien le curó las heridas sufridas en costillas, pulmón y tracto digestivo. Tras 18 meses de convalecencia, Beaumont describe la existencia de un agujero de 6 cm de diámetro en la zona del estómago del herido, existiendo además un pequeño pliegue o doblez en el límite del estómago que gradualmente, crecía hasta cubrir la citada apertura. Esta especie de “válvula”, permitía la salida de contenido gástrico a través del agujero siendo además fácilmente deprimida con un dedo, formando así una ventana que permitía un rápido acceso al

estómago. Inmediatamente Beaumont vio en esta una gran oportunidad, para realizar una serie de observaciones y experimentos *in vivo* del estómago y sus funciones.

Entre los años 1823 y 1833 Beaumont realiza una serie de estudios (4) con St Martín, interrumpidos tan solo durante un breve espacio de tiempo en que éste último decide regresar a Canadá, reiniciando posteriormente la actividad gracias a un acuerdo comercial entre ambos, mediante el cual St Martín recibe 150 dólares como pago por prestarse a estos experimentos. Atando los alimentos a una fina cuerda, y sacándolos a través de la “ventana” del estómago a intervalos de una hora, midió los tiempos de digestión de los distintos sustratos en el estómago. Así, observó por ejemplo, que la carne magra era más fácilmente digerida que la materia vegetal y que la primera se digería a su vez con mayor facilidad que la carne grasa. Vio además, que el agua y otros fluidos, no sufrían ninguna modificación en el estómago, mientras que por ejemplo la leche era coagulada y digerida en el estómago. Beaumont observó también que el jugo gástrico eliminado por St Martín, era activo también *in vitro*, aunque esa digestión era generalmente más completa *in vivo*, propiedad que él atribuía al calor del cuerpo y a los movimientos del estómago.

Beaumont confirmó además, gracias a estos experimentos que la comida introducida en el estómago, se convertía dentro de éste en “*el quimo*” (5). Observó que éste pasa a duodeno, en pequeñas porciones, lentamente en un principio y más lentamente después. El quimo, posteriormente es expelido y el estómago pasa a un estado quiescente, donde no se secreta más jugo gástrico hasta que éste es nuevamente estimulado, mediante la “*irritación*” de su revestimiento (mucosa) o la administración de más comida.

Todas las observaciones realizadas por Beaumont, acerca de la fisiología gástrica y de la naturaleza y el papel que juega el jugo gástrico en la digestión han sido posteriormente confirmadas en nuestros días por modernos métodos de investigación.

A pesar de la importante contribución de Beaumont, descrita anteriormente acerca la existencia del “*jugo gástrico*”, quedaba un importante interrogante aún sin resolver: ¿cuál era la fuente del “*ácido*” o “*jugo gástrico*”?

La respuesta a esa pregunta vino de la mano, de las descripciones, consecuencia de una serie de trabajos realizados por distintos autores, a principios del S.XIX, facilitados en esta época por el desarrollo de las técnicas de microscopía óptica. En 1837, un fisiólogo e histólogo checoslovaco llamado Purkinje, describe la estructura del estómago con detalle. Con ayuda de un pequeño microscopio identifica las glándulas gástricas y los principales tipos de células en el estómago. Uno de los tipos celulares descritos es la “*célula parietal*”, se trata de una célula de morfología típica, situadas en la pared de las glándulas gástricas.

Años más tarde el anatomista e histólogo italiano Camilo Golgi, describe la estructura de la célula parietal. Golgi consigue a través de una cámara fotográfica, imágenes de las glándulas Gástricas, en diferentes condiciones. Este autor muestra en sus investigaciones que la actividad gástrica secretora

va acompañada por un cambio marcado en la apariencia de las glándulas. En particular, él notó que en minutos, una serie de túbulos o vesículas que se distribuían en el citoplasma de la célula parietal, se alargaban y se fundían constituyendo una única estructura, que es lo que hoy llamamos “**canalículo secretor**”. De esta manera se producía un aumento importante de la superficie del área celular.

En el año 1895 se establece la teoría de que el ácido gástrico es rápidamente secretado cuando se estimula el estómago. Esto, apoyado por las observaciones anteriores, conduce a Golgi a postular que la célula parietal es la responsable de la secreción ácida.

No obstante, la ultraestructura de la célula parietal tal como la conocemos ahora, con su gran cantidad de mitocondrias y sus estructuras especializadas llamadas *tubulovesículas* y *canalículo secretor*, no se conoce hasta la publicación de los trabajos de Dalton y cols en 1951(6).

Sin embargo, y pese a que 100 años antes ya describe Golgi la transformación de las tubulovesículas en el canalículo secretor para producir la secreción de ácido en el estómago, hemos de esperar hasta 1988 para tener una visión detallada de dicha transformación, gracias a las investigaciones de Helander (7) con microscopía electrónica.

En 1843 Claude Bernard presenta su tesis doctoral en la facultad de Medicina de París. En su tesis, este autor nos demuestra que: la digestión gástrica es tan solo “un acto preparatorio”. Describe en particular, el importante papel que juega desde el punto de vista enzimático, la glándula pancreática. Demuestra que “el jugo pancreático” emulsiona las grasas, convierte el almidón en azúcar y actúa como solvente de las proteínas no digeridas en el estómago (8).

En 1840 un cirujano, discípulo de Bernard, llamado Nicholas Blondlot, utilizando un innovador modelo de secreción gástrica canina, demuestra que en los animales en los que no hay ácido clorhídrico en el estómago, la secreción de éste puede activarse mediante la administración de fosfato cálcico al 1%.

La influencia de la actividad nerviosa (inervación) sobre la secreción gástrica, comienza a ser estudiada por Brodie, quien en 1914 publica las conclusiones de sus experimentos en los que realiza vagotomías infradiaphragmáticas a animales, concluyendo que en éstos se produce una disminución de la secreción gástrica (9). En el siglo XIX Rokitansky y Bernard confirman las observaciones realizadas por Brodie acerca de la disminución de la secreción y de la motilidad gástrica, tras las vagotomías. Paulov (10) y sus colaboradores, posteriormente definieron la regulación nerviosa de los mecanismos que modulan la secreción ácida en el estómago.

Bayliss y Starling (11) en 1902, describieron la **secretina**, la primera sustancia que se denominaría “hormona”. Además estos autores aportan una importante novedad, al demostrar la existencia junto al sistema nervioso, de un **sistema hormonal** que actúa como un segundo mensajero químico capaz de regular la función secretora gástrica. El descubrimiento de ésta interrelación entre un sistema nervioso y un sistema hormonal como regulador de la secreción gástrica, se amplió posteriormente con la descripción de las glándulas gástricas del fundus y los distintos subtipos celulares

que tienen sus específicas funciones como la síntesis de moco, la producción de Pepsina y la secreción de ácido.

En 1938 Komarov demuestra la existencia de una sustancia compuesta por un extracto de mucosa antral, que inyectada a una serie de gatos anestesiados, produce una importante respuesta secretora ácida en el estómago de éstos (12). En este momento y gracias a los trabajos de Komarov, es cuando se comienza a considerar a la **histamina** como el principal factor regulador de la secreción gástrica.

Este descubrimiento fue posteriormente corroborado y ampliado por Gregory y Tracy, los cuales concibieron un método de extracción de gastrina, empleando ácido tricloroacético en acetona. Estos autores identifican dos tipos de gastrina, a las que llaman Gastrina I y Gastrina II, describiendo al menos tres sistemas diferentes interrelacionados, que participan en la secreción gástrica.

En 1967 James McGuigan emplea el radioinmunoanálisis, obteniendo así un método para medir gastrina en suero humano. Además en este mismo año, se pone en evidencia que la hipergastrinemia asociada a hipercloridria puede inhibirse administrando vía oral 300 ml de HCl 0.1 N, instilándolo en el estómago mediante un tubito o pajita.

En 1967 Enrico Solcia describe unas células argilófilas en la mucosa antral a las que llama **células G**, responsabilizando a estas células de la secreción de gastrina. Posteriormente Pearse y W Creutzfeldt, utilizando anticuerpos anti-gastrina, demuestran definitivamente que la gastrina es secretada por las mencionadas células G.

El desarrollo posterior de las nuevas técnicas inmunohistoquímicas, ha permitido que los investigadores, hayan relacionado el número (o la actividad de estas células) con algunas patologías. Por ejemplo; la hiperplasia de células G representa una causa de úlcera péptica, mientras que en condiciones de aclorhidria, la hiperplasia significativa de Células G se relaciona con la hipergastrinemia que acompaña a la anemia perniciosa y a la atrofia gástrica.

En 1870, tras los trabajos de Heidenhain, tenemos la primera noticia de la existencia de las **Células Enterocromafín-Like** o células ECL (13), aunque éste autor no define claramente el papel de dichas células. Habríamos de esperar hasta 1971 para que Capella y Hakanson descubrieran el papel que juegan las células ECL como productoras de histamina en los estómagos de animales mamíferos (14;15) y años más tarde en humanos (16).

Con la identificación de los distintos subtipos de células endocrinas del fundus gástrico y el reconocimiento de las células ECL como responsables de la secreción de histamina gástrica, tras ser estimuladas por la gastrina, se cierra el ciclo de descubrimientos básicos para una aproximación general a la comprensión del misterioso mecanismo de la secreción gástrica.

El posterior descubrimiento de los receptores H1 y H2 los antagonistas respectivos de éstos, junto con la descripción de otros receptores en la célula parietal (receptores muscarínicos, de acetilcolina, y de gastrina) (17;18), el descubrimiento de la bomba $H^+ - K^+ - ATP$ -asa que regula la

secreción de H⁺ a través del canalículo secretor de dicha célula (19) y por último la formulación del omeprazol en 1979, supusieron la base fundamental de la terapéutica en los estados de hipersecreción gástrica.

BREVE RESEÑA HISTORICA DE LA ULCERA PEPTICA.

A lo largo de la historia, la úlcera péptica ha sido considerada como una enfermedad provocada por factores ambientales, genéticos o psicosomáticos.

En el Corpus Hipocrático se hace referencia a la “*Enfermedad negra*”, en probable alusión a una complicación de la enfermedad ulcerosa: la hematemesis (20). La medicina galénica describió la existencia de la úlcera, definiéndola como la afección que podía padecer cualquier órgano debido a un desorden fisiológico. Esta concepción se ha mantenido a lo largo de siglos, hasta que en el XVI la úlcera péptica es identificada en un cadáver, adquiriendo así dicha enfermedad un concepto bien definido.

Durante el siglo XIX, mucho antes de que los clínicos contasen con el análisis químico del jugo gástrico como recurso de investigación, Pavy en 1863 señala a los ácidos de fermentación (láctico, acético y butírico) como responsables causales y del mantenimiento de la úlcera de estómago (21). Posteriormente Briton y Luton (22) evidenciaron que una lesión cualquiera de la mucosa gástrica disminuye su vitalidad, quedando ésta “*indefensa frente a la acción corrosiva del fluido digestivo*”.

Con la aparición en 1886 de los primeros trabajos, basados en el empleo de sondas para la recogida del jugo gástrico, se corroboraron dichas presunciones. Riegel (23) en una serie de 42 observaciones, practicando 382 análisis, estableció que la úlcera se asociaba constantemente de un exceso de acidez clorhídrica, cuya proporción media alcanzaba de 3 á 4 por 1000. Korczinski y Jaworski (24), Von den Velden (25), Bourget (26;27), Stienon (28), Georges (29), Lyon (30), Bouvert (31), Hayem (32;33), y la casi unanimidad de los médicos que analizaron químicamente el contenido estomacal de los ulcerosos, manifestaron, sin discrepancia que siempre se apreciaba un aumento, generalmente considerable, del componente ácido mineral del líquido ensayado.

Bizzozero en 1893 (34) y Krienitz en 1906 (35), demostraron la existencia de bacterias espirales en la mucosa gástrica. Sin embargo este descubrimiento no llamó la atención, puesto que en el inicio del siglo XX todo el colectivo científico estaba de acuerdo en que la secreción ácida gástrica era la principal causa de la úlcera péptica.

En 1971 James Black identificó un subtipo de receptores de histamina (H₂) que parecían ser los mediadores de la secreción gástrica. Posteriormente se desarrollaron los fármacos antagonistas de estos receptores; el primero de los cuales fue la cimetidina, descubierto en 1976 y años más tarde la ranitidina en 1981.

A mediados de los años 70 Steer (36;37) comienza a asociar la inflamación de la mucosa gástrica con la existencia de bacterias espirales, aunque este autor no llega a cultivar las mencionadas bacterias. Unos años más tarde, en los años 80, un patólogo australiano llamado Warren y un joven residente de Medicina Interna llamado Marshall, tras realizar una serie de estudios sobre biopsias gástricas de pacientes con úlcera péptica, identifican la presencia de una bacteria que logran cultivar “*in vitro*”, denominándola en un primer momento *Campylobacter pyloridis* (38;39). Posteriormente este germen fue englobado en otro género de bacterias espirales denominado *Helicobacter*, llegando a llamarse años más tarde *Helicobacter pylori*. Por otra parte Marshall (40) y Morris (41) realizaron experimentos de autoinoculación, confirmando que el referido microorganismo provocaba gastritis y que no era un simple comensal de la mucosa gástrica.

La hipótesis de la relación etiológica entre el germen y la úlcera péptica fue corroborada en los años siguientes por varios estudios. Uno de los más importantes fue el de Tygat y cols, (42) llevado a cabo con enfermos con úlcera péptica. Los pacientes en los que se erradicó la bacteria, solo presentaron un 3% de recidivas frente al 74% de aquellos en los que persistía la infección. McNulty y colaboradores (43) por otra parte, demostraron que el tratamiento antimicrobiano producía una reducción de la inflamación de la mucosa gástrica causada por *H. pylori*, sugiriendo de éste modo que la eliminación de la infección podía curar la gastritis. En 1989 Borody (44) desarrolla el primer tratamiento eficaz frente al *H. pylori* empleando una triple terapia con tetraciclina, metronidazol y sales de bismuto. Posteriormente Graham (45;46) en un ensayo clínico controlado y randomizado demostró que la curación de la infección evitaba la recaída de úlcera gástrica y duodenal.

Desde la creación de un Grupo de Trabajo Internacional en el Congreso Mundial de Gastroenterología celebrado en 1990 en Sydney, se han organizado todo tipo de reuniones cuyo principal tema de discusión es el *H.pylori*. En ellas se intenta llegar a un consenso, sobre las indicaciones para tratar la infección, así como las pautas de tratamiento, poniendo al alcance de todos los investigadores los últimos conocimientos acerca del germen.

Finalmente en 1994 se celebra una reunión de consenso, convocada por el Instituto Nacional de Salud Americano (47), donde se señala al *H. pylori* como el principal causante de la úlcera péptica, recomendándose la erradicación de la bacteria en todos los individuos ulcerosos infectados. En este mismo año, la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer, luego de haberse publicado un buen número de trabajos (48-50), declara a este germen como agente carcinógeno, implicándolo en el desarrollo de determinados tipos de cánceres gástricos (51).

CAPÍTULO 2

DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DEL ESTÓMAGO

ONTOGENIA DEL ESTÓMAGO

El estómago forma parte del intestino anterior embrionario que comprende además la faringe, el aparato respiratorio inferior, el esófago, el duodeno hasta la entrada del colédoco, el hígado, el páncreas y el árbol biliar (52). El tubo digestivo en embriones humanos de unos 7 milímetros (31-32 días), está dispuesto en la línea mediosagital del cuerpo, y en su porción subdiafragmática es posible distinguir, en dirección craneocaudal, una porción dilatada fusiforme, que corresponde al estómago (*ventriculus*), al que sigue un largo conducto que por haber crecido en longitud más que el tronco se ve obligado a adoptar la forma de asa de convexidad ventral, esta estructura corresponde al intestino (*ansa intestinales*).

El estómago es la parte caudal del intestino anterior que, como ya hemos mencionado, se dilata y se especializa de tal forma que ya no será un mero conducto para el paso de los alimentos, sino que tomará parte en la digestión propiamente dicha.

La forma del estómago, que al principio es un huso aplanado, con dos caras laterales, un borde dorsal y otro ventral, se caracteriza por un crecimiento, más intenso en su borde dorsal, que se hace convexo, mientras que el ventral, recto o ligeramente cóncavo, se queda más corto, por lo que desde ahora lo podemos llamar *curvatura minor*, en contraposición al dorsal o *curvatura mayor*. En el estómago, comienza a notarse un proceso de rotación axial, gracias al cual la cara lateral izquierda se va haciendo ventral, y la derecha, dorsal, y por lo tanto, la curvatura mayor se orienta hacia la izquierda, y la minor, a la derecha. Simultáneamente realiza el estómago una rotación alrededor de su eje sagital, de tal forma que el extremo primitivamente caudal (futuro píloro) se desplaza hacia la derecha y arriba, y el craneal (cardias), ligeramente hacia la izquierda y abajo. Este desplazamiento se debe, en gran medida, al gran desarrollo que adquiere el hígado, que empuja hacia la izquierda la curvatura menor, que de rectilínea se va haciendo cóncava (53). La rotación de este órgano hasta su orientación “adulta” concluye hacia la séptima semana (54).

FORMAS Y DIMENSIONES DEL ESTÓMAGO ADULTO

En realidad, no se puede hablar de “una forma del estómago”, sino que presenta formas muy variadas, tanto en el vivo como en el cadáver. Es muy interesante el estudio del estómago vivo a rayos X, previa ingestión de papilla de bario; la forma de este órgano varía según los individuos por el variable tono de su musculatura. Cuando el individuo está en actitud bípeda, el estómago adquiere forma de J, o de anzuelo, o de asta de toro (53).

El estómago está adecuadamente dividido en zonas según los tipos de células mucosas presentes (internamente) y las relaciones con las estructuras próximas (externamente) (*Figura 1*). La zona *cardial* es la parte del estómago inmediatamente adyacente a la unión esofagogástrica. Su borde cefálico está bien delimitado internamente por la transformación del epitelio escamoso en glándulas gástricas. Sin embargo, el borde mucoso distal no está definido. El *fundus* o *fórnix* es la parte del estómago que está por encima de una línea horizontal que va desde la unión esofagogástrica a la curvatura mayor. El fundus no tiene un límite anatómico apreciable a simple vista y el histológico tampoco está bien definido. El *corpo* del estómago se encuentra entre el fundus y un punto de la curvatura menor denominado *incisura angularis*. El borde distal del fundus es inconstante y cambia con la edad. Por tanto, no existe a simple vista una limitación anatómica precisa del borde cuerpo-antro. El *antro* empieza donde termina el cuerpo y se prolonga hasta el *píloro*. El borde distal del antro es invariable, ya que en circunstancias normales la mucosa antral no se prolonga más allá del píloro (52,55).

Las dimensiones del estómago de un individuo normal y en estado de semirrepleción son aproximadamente de unos 25 centímetros de cárdias a píloro siguiendo la parte media de la cara anterior del estómago, es decir, aproximadamente igual a la longitud del esófago. Su diámetro transversal máximo es de unos 12 centímetros (53).

ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DE LA PARED GÁSTRICA

Un corte transmural a través de la pared gástrica muestra cinco capas distintas, desde la más interna a la más externa, son:

Capa serosa: es la más superficial, es sinónima de “peritoneo visceral” y su origen es mesotelial

Capa Muscularis propia: está formada por fibras musculares, dispuestas en espiral y orientadas en tres direcciones distintas; la capa interna es longitudinal, la media circular y la externa oblicua. En ésta última, se encuentra el plexo mientérico de Auerbach, una red de nervios y ganglios autonómicos.

Capa Submucosa: formada por un tejido conjuntivo, en su mayor parte colágeno. Esta red colágena contiene una rica anastomosis de vasos sanguíneos y linfáticos. Está infiltrada por células linfoides y mastocitos.

Capa Muscularis Mucosae: es una capa más gruesa y está formada por dos o tres capas de músculo liso. En dirección a la luz del órgano parten de ella fibras musculares lisas que penetran en la lámina propia; al contraerse estas fibras forman pliegues en la superficie interna del estómago. La contracción de la musculatura ayuda a la compresión de las glándulas gástricas, contribuyendo así a eliminar su secreción. Esta capa permite además la movilización de la mucosa aumentando el

contacto con el bolo alimenticio y promoviendo la mezcla y la progresión del alimento. La función contráctil de éste estrato depende de los plexos nerviosos allí existentes, formados por fibras pre y postganglionares del sistema nervioso autónomo parasimpático con neuronas multipolares viscerales que forman pequeños ganglios. Una red de ricas fibras nerviosas une y comunica estos ganglios entre si. La densidad de estos ganglios es mayor en las regiones que tienen mayor motilidad.

Mucosa: tiene un color grisáceo y pálido y está revestida por un epitelio cilíndrico simple (20). Se puede considerar “el aparato químico” del estómago, ya que alberga importantes glándulas que segregan sustancias importantes para el proceso digestivo. Entre el epitelio superficial y la muscularis mucosae se encuentra la *lámina propia*, es una capa de tejido conjuntivo que mantiene al epitelio superficial y las estructuras glandulares de la mucosa. Dentro de la lámina propia hay capilares, venas y vasos linfáticos. La histología de la mucosa gástrica se describe detalladamente en el capítulo siguiente.

CAPÍTULO 3

DESCRIPCIÓN DE LA MUCOSA GÁSTRICA

ANATOMÍA DE LA MUCOSA GÁSTRICA

Macroscópicamente la mucosa y submucosa subyacente del estómago vacío presentan pliegues longitudinales grandes y alargados, más evidentes en la curvatura mayor y fórnix, denominados **pliegues de la mucosa** (*plicae mucosae*). La función de estos pliegues es la de multiplicar hasta por cinco la superficie mucosa. De esta forma, aunque la superficie del área de la mucosa gástrica en un humano adulto es de 600 a 800 cm², gracias a estos pliegues se aumenta en varias veces este tamaño (7). Uno o dos de estos pliegues mucosos son paralelos y próximos a la curvatura menor, no anastomosándose entre sí, mientras que tres o cuatro ocupan las caras del estómago, pero se unen entre sí. Al llenarse el estómago estos pliegues desaparecen en gran parte, y vuelven a reaparecer en los mismos sitios al vaciarse el estómago(53).

Esta disposición normal de los pliegues de la mucosa gástrica tiene gran importancia en clínica, ya que es posible verlos en el vivo por gastroscopia o visualizar su sombra por radioscopia usando métodos adecuados. Su alteración (atrofia o hipertrofia, local o generalizada), son de gran significación diagnóstica.

En la superficie interna de los pliegues, se observan unas pequeñas regiones irregulares delimitadas por surcos poco profundos denominados **áreas gástricas** (56), las cuales contienen múltiples orificios denominados **criptas** o fositas gástricas. Las glándulas de la mucosa gástrica desembocan en el fondo de estas criptas (57).

Existen a nivel gástrico dos zonas de predominio mucosecretor, **el cardias y el antro**; y otra encargada de la secreción clorhidro-péptica, **el cuerpo**. La transición entre unas zonas y otras no es en ningún caso brusca. Mediante endoscopia digestiva alta es posible tomar biopsias de la mucosa para analizar todo su espesor.

ARQUITECTURA DE LA MUCOSA GÁSTRICA

Las estructuras que integran la mucosa gástrica son: criptas, glándulas y lámina propia

Criptas

Son invaginaciones del epitelio de revestimiento dentro de la lámina propia. En la zona mucosecretora (cardias y antro) son más profundas, llegando a la mitad de la profundidad de la mucosa. En el fórnix y en el cuerpo sólo alcanzan a la cuarta parte de dicha profundidad. El epitelio de superficie es muy similar en todas las zonas gástricas y está compuesto por **células mucosas superficiales**; las cuales se componen de un núcleo basal, con cromatina homogénea y un nucleolo poco marcado. Poseen además, cada una de ellas, un conglomerado apical de gránulos de mucígeno; lo que convierte al epitelio en una lámina de células glandulares (56).

Los gránulos se disuelven durante la preparación de la muestra por lo que el citoplasma celular apical aparece no-teñido (vacío) con la técnica de hematoxilina-eosina de rutina. El núcleo y el aparato de Golgi se encuentran subyacentes al conglomerado de gránulos descrito y en general, la región basal de la célula contiene un retículo endoplásmico rugoso escaso, que le confiere una ligera basofilia al citoplasma. El moco que producen estas células es neutro y PAS positivo (reacciona con el ácido periódico de Schiff).

Glándulas

En el estómago hay alrededor de 15 a 20 millones de éstas. Las glándulas abocan al fondo de las criptas a través de conductos secretores (uno por cada 3-5 glándulas) (58) y sus características, formas y contenidos celulares difieren según su localización en la mucosa (*Figura 2*). Se localizan siempre en la lámina propia, no pasando nunca de la *muscularis mucosae*.

Glándulas del cuerpo y fundus gástrico.

Ocupan la superficie mayor del estómago, produciendo la mayor parte de las enzimas y el ácido de la mucosa gástrica. Se suelen describir tres regiones bien diferenciadas en estas glándulas(*Figura 2*):

- **Cuello:** zona más alta y en contacto con el fondo de las criptas. Las **células mucosas del cuello** son el estrato germinativo de la mucosa gástrica y tienen caracteres de células madre o

pluripotenciales (stem cells). Estas pueden emigrar y convertirse en células mucosas superficiales, parietales y principales.

- **Istmo:** rico en **células parietales u oxínticas** (productoras de ácido) que se caracterizan por ser triangulares, estar apoyadas sobre la membrana basal y tener un núcleo central con cromatina difusa. El citoplasma es claro y rico en mitocondrias. Como desarrollaremos posteriormente, la proporción de su contenido (tubulovesículas y canalículo secretor) varía según la fase funcional (activa o en reposo) en que se encuentre. Es el lugar de mayor producción de ácido de todo el organismo. También a este nivel se encuentran células mucosas, pero son escasas y se localizan entre las células parietales.

- **Base:** especialmente rica en **células principales** productoras de pepsinógeno, que en el medio ácido del estómago se transforma en la enzima activa, pepsina cuya función es la hidrólisis de proteínas. Esta actúa a un pH óptimo de 2. Estas células tienen núcleo basal y citoplasma con coloración azul grisáceo con la tinción hematoxilina-eosina. La glándula en esta zona adopta una disposición espiroidal como en ovillo.

En las glándulas del cuerpo y fundus hay células endocrinas, de dos tipos fundamentales: **células enterocromafín-like** (ECL) productoras principalmente de histamina, y **células D**, productoras de Somatostatina.

Glándulas del antro gástrico.

El antro gástrico muestra criptas profundas que ocupan la mitad del espesor de la mucosa; por ello las glándulas son cortas por lo general, con un diámetro amplio, y están enrolladas disponiéndose en ovillo. Están constituidas por **células productoras de moco** con bordes bien definidos, nucleolo basal y citoplasma abombado por su contenido mucoso.

Entre estas células productoras de moco podemos encontrar células enteroendocrinas como **las células G**, productoras de gastrina; y **células D**, productoras de somatostatina, cargadas de gránulos de sus hormonas correspondientes que secretan éstas hacia la lámina propia y al torrente circulatorio. También hay **células ECL**, aunque en menor cantidad que en el cuerpo, células mucosas semejantes a las del cuello de las glándulas del cuerpo (zona mucosecretora), células indiferenciadas (*“stem cells”*) y mastocitos.

Lámina propia

Está formada por algunos fibroblastos y células reticulares, y también por fibras de elastina y colágeno bajo la membrana basal. Dispersos por la red existen linfocitos que a veces, se encuentran agrupados en pequeñas nodulaciones locales, más evidentes en las regiones cardial y pilórica, encontrando además otras células como plasmocitos, mastocitos histiocitos y polimorfonucleares. En esta región los linfocitos B tienen una activa producción de Inmunoglobulinas (IgA, IgG e Ig M), sobre

todo de IgA secretora o *SigA*. La *SigA* es resistente a la digestión y protege además frente a la invasión de virus y bacterias.

Otras estructuras de la lámina propia son capilares, folículos linfoides y fibras nerviosas no mielinizadas (20).

CITOLOGÍA DE LA MUCOSA GÁSTRICA

En la mucosa gástrica se distinguen por lo menos seis poblaciones celulares (*Figura 2*).

Células epiteliales superficiales

Al retirar la cubierta de moco más superficial, y con microscopía electrónica de barrido, se aprecia un epitelio de células hexagonales alargado con ápices que protruyen hacia la luz gástrica. Entre éstas células, y mediante la observación con microscopía electrónica de transmisión, se ven uniones íntimas con muchos *desmosomas* “*en mancha*” que forman una auténtica barrera al paso de algunos iones evitando la retrodifusión de estos.

El núcleo basal es redondeado y el citoplasma presenta cierta basofilia debido a un retículo endoplásmico rugoso prominente y abundantes mitocondrias. Junto al polo luminal del citoplasma presentan gránulos de moco densos ovoides o esféricos, que dan positivo a la reacción de Schiff (PAS positivos); estos contienen una mucina alcalina viscosa que se adhiere a la superficie de la mucosa gástrica para formar una capa protectora de 1 mm de grueso que se combina con los iones de CO_3H . Entre el núcleo y la membrana se aprecian gotitas de glucógeno con anhidrasa carbónica que demuestran, al menos en parte, el papel que juegan estas células en la producción de bicarbonato (59).

Células del cuello de las glándulas

Son más escasas y están situadas entre el istmo de la glándula, rico en células parietales y el fondo de las criptas. Están consideradas como un verdadero estrato germinativo pluripotencial. Son bajas, cilíndricas, con un nucleolo prominente y contienen gránulos de moco y ribosomas libres, algunos de ellos en el retículo endoplásmico rugoso. El aparato de Golgi está bien desarrollado y presenta escasas mitocondrias.

Estas células cambian poco con la estimulación y en su microambiente es posible observar la presencia de *H. pylori*. Pueden diferenciarse en células de las criptas o células mucosas superficiales en una semana, y por medio de una migración más lenta hacia abajo pueden formar células mucosas del cuello, células parietales, células principales o células enteroendocrinas.

Células mucosas antrales profundas

Situadas en la zona profunda de la mucosa antral, se diferencian poco de las del cuello. Los núcleos, situados en la base celular, son más aplanados; en el polo apical la membrana presenta unas vellosidades cortas de un material filamentoso fino que le confieren un aspecto afelpado. Las células se unen entre sí mediante *desmosomas interdigitados*.

En la región apical hay abundantes gránulos de moco que se tiñen bien con PAS y mucicarmín. Al microscopio electrónico estos gránulos son menos densos y más grandes y esféricos, que los de las células del cuello y producen un moco ácido, a diferencia del moco neutro producido por las células mucosas superficiales. Presentan un aparato de Golgi bien desarrollado en posición supranuclear y abundantes mitocondrias.

Células parietales (o células oxínticas)

Tienen forma triangular o esférica. Son las células de mayor tamaño de la mucosa gástrica y las encargadas de la producción de ácido. Son abundantes en el istmo y en el cuello glandular del fórnix y cuerpo gástricos. Su núcleo es esférico y central con el aparato de Golgi debajo o al lado de él. Una característica poco común es la presencia en ellas de conductillos intracelulares, que son invaginaciones profundas de la superficie luminal, relacionadas con microvellosidades, modificaciones que producen un gran aumento de la superficie (*Figura 3*). La zona de su membrana que está en contacto con la luz glandular, es en donde se abre el canalículo secretor, auténtico laberinto que se adentra hasta el interior de la célula parietal.

A través de este elemento fundamental, que se configura en un estado de activación celular como más adelante veremos, se produce la secreción de ácido clorhídrico, dado que estas células son las únicas del organismo capaces de concentrar los H^+ en la luz glandular hasta 3.000.000 de veces. Sus principales características estructurales son: la gran cantidad de mitocondrias que poseen, sus tubulovesículas y el canalículo secretor (18).

En un estado de reposo hay en el citoplasma de la célula parietal muchas tubulovesículas y los conductillos están dilatados con relativamente pocas microvellosidades. Durante la secreción ácida las microvellosidades se hacen más abundantes, las tubulovesículas disminuyen y se conforma el **canalículo secretor**.

Las células parietales también secretan el *factor intrínseco* (60), glucoproteína que se une con la vitamina B_{12} , favoreciendo la absorción de esta última en el intestino delgado.

Células principales o zimógenas.

Están situadas en la zona más profunda del fónix y cuerpo gástricos. Secretan pepsinógeno, una potente proteasa en medio ácido. Tienen forma de sector de círculo en torno a la luz glandular. El núcleo está muy próximo a la base celular. En la zona apical, junto a la luz glandular, existen numerosos gránulos que contienen pepsinógeno. Presentan un retículo endoplásmico rugoso muy desarrollado, con abundantes ribosomas basófilos, situado entre la zona basal y el núcleo. El aparato de Golgi se dispone más hacia la zona apical junto a los gránulos. Tras la estimulación de la célula disminuyen los gránulos y aumentan las mitocondrias y el aparato de Golgi.

Células endocrinas.

Son células epiteliales con función endocrina y paracrina, de localización difusa. Se distinguen por los gránulos electrodensos de su citoplasma. Su forma, tamaño, membrana y aparato de Golgi son diferentes al resto de las células. Pero por lo general son células piramidales pequeñas con citoplasma claro no teñido (20,59,61,62).

En este apartado realizaremos una breve introducción de cada uno de los tipos celulares; ya que posteriormente hablaremos de ellas con más amplitud en el capítulo siguiente.

Mediante técnicas inmunicitoquímicas se ha demostrado que cada célula produce mayoritariamente un péptido hormonal, por lo que podemos distinguir varios tipos de ellas (63).

Células productoras de Gastrina o Células G.

Se encuentran en la base de la glándula, entre las células mucosas del cuello y están distribuidas de forma relativamente densa en la mucosa glandular del antro gástrico (64). Poseen dos tipos de gránulos que representan los distintos estadios de evolución de los mismos. Unos gránulos electro-densos, de pequeño tamaño y con más progastina (G-34) que gastrina (G-17). Y otros electrón-lucentes, más grandes y con más gastrina (G-17) que progastrina (G-34).

Se piensa que una zona de la membrana celular que está en contacto con la luz gástrica, rica en microvilli, tiene función de receptor de superficie, ya que los gránulos no secretan hacia la luz gástrica sino hacia el polo basal. Existen también, células productoras de gastrina en el intestino delgado y a estas se les llama *células IG*.

Células productoras de Somatostatina o células D.

Están presentes en el páncreas, en el intestino y en la mucosa del antro y cuerpo gástricos. Tienen unas prolongaciones citoplasmáticas que las unen a las células vecinas, especialmente a las productoras de gastrina del antro pilórico o a las células parietales del fundus gástrico. Secretan somatostatina, cuya acción primordial es la de inhibir otras hormonas peptídicas. Este péptido en diferentes circunstancias puede actuar como hormona, transmisor paracrino, neurotransmisor, o potencialmente como transmisor luminal. Las semejanzas entre estas células y las neuronas son numerosas y evidentes. Así

ambas entregan sus mensajes, no a través de la sangre, sino por contacto directo con las células efectoras. Por tanto estas células aparecen como intermedias entre las células nerviosas y las endocrinas (63).

Células Enterocromafín-Like o células ECL.

Son células productoras de histamina principalmente, pero también de serotonina, calbindina (un péptido posiblemente implicado en la homeostasis del calcio), factor de crecimiento de fibroblastos y pancreastina (un inhibidor de las secreciones pancreática y ácida). Tienen un papel fundamental en la regulación de la secreción ácida, como más adelante veremos. Están distribuidas por toda la mucosa, aunque principalmente se encuentran en el cuerpo gástrico (64) y se caracterizan por presentar gránulos pequeños electrodensos e irregulares.

Otras células enteroendocrinas.

Las células *P* de secreción desconocida al igual que las células *X*; células *D1* productoras de motilina y gastrina; células *A* productoras de glucagón.

CAPÍTULO 4

SECRECIÓN ÁCIDA GÁSTRICA

El estómago de los mamíferos, presenta una importante peculiaridad, la capacidad de producir grandes cantidades de ácido clorhídrico 0.16 N. La secreción ácida se produce como respuesta a una serie de factores como son la ingesta de alimento y la condición calórica del individuo en ese preciso instante.

Clásicamente se describe la secreción gástrica como un fenómeno que ocurre en una serie de fases, (*fases cefálica, gástrica e intestinal*) (65) las cuales se suceden de forma solapada e integrada. Así pues; se puede deducir que los mecanismos de regulación de la secreción gástrica se originan, bien en el sistema nervioso central (*fase cefálica*) o bien en el sistema nervioso periférico (*fases gástrica e intestinal*). Ambos sistemas funcionan dentro de un proceso solapado y perfectamente integrado y coordinado.

La regulación central de la secreción ácida se relaciona con estructuras corticales y de la médula espinal, mientras que la regulación periférica parece más bien depender de los sistemas nervioso, endocrino y paracrino.

A continuación se describirán numerosos ligandos o factores que, a través de una serie de receptores, estimulan o inhiben aisladamente a las distintas células que participan en la secreción gástrica, constituyendo una serie de procesos interrelacionados e integrados que aún hoy están en estudio.

REGULACIÓN NERVIOSA CENTRAL DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA.

El nervio vago en el sistema nervioso central (SNC), es el responsable del inicio de la secreción ácida (66). Como sabemos, determinados estímulos como el olfato, el gusto o ciertos alimentos (67), pueden estimular la secreción ácida. Sin embargo la hipoglucemia constituye el mayor estímulo central para dicha secreción. De lo que se deduce que la insulina es un potente estimulante para ésta.

Hay dos acontecimientos cruciales para el inicio de la secreción ácida; estos son: **la activación de la célula parietal** (68) y **el incremento del flujo sanguíneo**.

El incremento del flujo depende a su vez de la secreción de prostaglandinas (69) y del óxido nítrico liberado por las células endoteliales de los vasos sanguíneos gástricos, principalmente subepiteliales (70,71). A su vez, esta liberación viene mediada por un neuropéptido liberado por las terminaciones nerviosas entéricas del sistema nervioso autónomo llamado *CGRP* (Péptido Genrelacionado con la Calcitonina) (72) o también por la acción de la histamina actuando a través del receptor H2 (73,74). Ambas sustancias estimulan la producción de ácido nítrico.

La activación de la célula parietal, se produce a través de la estimulación vagal del llamado sistema nervioso entérico (SNE) (75,76). Todas las conexiones interneuronales en el SNE se ha visto que son muscarínicas, (77) puesto que adecuadas dosis de atropina son capaces de suprimir la secreción ácida inducida por una “*falsa comida*” o por la administración intravenosa de TRH (hormona estimulante de tireotropina).

A nivel del SNC son muchas las regiones que se han implicado como responsables de la detección y transmisión central de los estímulos. Pero parece claro que el hipotálamo (78), el núcleo dorso-motor del Vago (NDMV), y el núcleo del tracto solitario (NTS), participan en este proceso regulador (79). Las dos últimas estructuras (NTS y NDMV), forman el denominado **Complejo vagal dorsal**, que se considera el principal centro regulador de la secreción ácida (80).

Todo parece indicar que la integración de los estímulos centrales que van a participar en la secreción gástrica, tiene lugar en el NDMV. A partir de este núcleo parten fibras nerviosas eferentes hacia el estómago a través del nervio vago (*Figura 4*); estas fibras suministran estímulos positivos para la secreción gástrica (81). No obstante, el NDMV no parece que participe en el comienzo del estímulo secretor, sino más bien en la integración de un estímulo inicial que procede, en principio, del hipotálamo o del tracto solitario a través de vías viscerales sensitivas. Ramas aferentes del nervio vago pueden proceder también del núcleo ambiguo, si bien estas, parecen estar más relacionadas con la motilidad gástrica que con la secreción ácida.

En el hipotálamo se han identificado zonas que influyen tanto en la estimulación como en la inhibición de la secreción ácida (78,79). El núcleo ventromedial del hipotálamo (VMH) se relaciona con un efecto supresor, inhibiendo las señales procedentes del hipotálamo lateral y de la región medial a la circunvolución frontal (MFB). Estas dos últimas estructuras median la respuesta de la secreción ácida a la hipoglucemia (82). Se han identificado además, conexiones directas e indirectas desde el hipotálamo lateral y la MFB hacia el núcleo NDMV.

El NTS también responde directamente a la disminución de la glucemia en sangre, produciendo la estimulación de la secreción ácida a través de la vía del NDMV (76). Además de esta respuesta a la hipoglucemia, las ramas aferentes viscerales del NTS proceden, primariamente de las sinapsis del ganglio inferior del vago.

Más del 95 % de las fibras nerviosas vagues son aferentes. Esto significa que las vías viscerales hacia el SNC forman una parte importante de la regulación central de la función gástrica; y son por tanto, necesarias para asegurar la integración del SNC y los mecanismos periféricos que participan en la secreción (83).

La información sensitiva procedente del estómago se transmite hacia el SNC a partir de fibras eferentes vagues y simpáticas (75). Los receptores sensoriales del estómago consisten en terminaciones nerviosas que detectan estímulos mecánicos (distensión y tacto), químicos y térmicos. Las áreas que reciben las ramas aferentes simpáticas aparecen dentro de las capas de musculatura lisa y alrededor de

los vasos sanguíneos. A pesar de su localización, las fibras sensoriales son más sensibles a estímulos químicos (como a la bradiquinina) que a estímulos mecánicos (81). El hecho de que la bradiquinina sea un mediador de la respuesta inflamatoria sugiere que las aferencias simpáticas reciben sensaciones dolorosas asociadas a procesos patológicos como las gastritis y úlceras.

Excepto en situaciones de una gran distensión, el estómago normal es relativamente insensible a estímulos mecánicos y químicos, al menos en lo que se refiere al dolor. Sin embargo, las regiones inflamadas de la mucosa son sensibles a la aplicación de estímulos químicos y a pequeños contactos. Por tanto, el dolor asociado a la gastritis, parece deberse más bien a la liberación de mediadores inflamatorios o a la sensibilización de las fibras sensitivas simpáticas.

Las fibras aferentes vagales se localizan en las capas de musculatura lisa y en la mucosa gástrica. Los receptores de las capas musculares responden a la distensión y al movimiento. También estos receptores detectan y regulan la motilidad de los referidos estratos musculares y se relacionan con los reflejos vasovagales (llamados *reflejos largos*) asociados a la distensión que dependen de la actividad secretora, elemento importante en la regulación periférica de la secreción ácida (83).

REGULACION NERVIOSA PERIFERICA DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA.

La principal función de la regulación nerviosa periférica en la secreción gástrica es modular e integrar los estímulos (fundamentalmente histamina y gastrina) que actúan directamente sobre la célula parietal. A continuación señalaremos los factores neuronales conocidos que actúan sobre dicha célula.

Regulación colinérgica

Las fibras eferentes del nervio vago, como anteriormente describimos, no inervan directamente las células parietales, sino que establecen sinapsis con células ganglionares del sistema nervioso entérico (SNE) (84).

La mayoría de los cuerpos ganglionares entéricos se encuentran en dos importantes plexos nerviosos que se distribuyen por todo el sistema digestivo: el mientérico (**plexo de Auerbach**) y el submucoso (**plexo de Meissner**). El plexo mientérico se encuentra entre las capas circular y longitudinal de la musculatura lisa y se relaciona fundamentalmente con la coordinación de la motilidad gástrica. Las neuronas del plexo submucoso aportan fibras nerviosas directamente a las células mucosas, contribuyendo así a la relajación de las células de la musculatura lisa contenidas dentro de la submucosa. Los ganglios de la submucosa reciben gran cantidad de sinapsis de fibras nerviosas procedentes del plexo mientérico y de las fibras simpáticas postganglionares.

Una propiedad característica muy importante del SNE es que las fibras nerviosas postganglionares liberan neurotransmisores. Cada fibra puede contener los neurotransmisores,

acetilcolina (Ach) o norepinefrina y uno o más neuropéptidos, como el péptido activador de la adenilciclase pituitaria (PACAP) (85) galanina o el péptido-gen relacionado con la calcitonina (CGRP) (72). Esta propiedad permite a una única fibra nerviosa, diversidad de respuestas. Otra propiedad importante del SNE es que la transmisión del estímulo puede ocurrir a lo largo de cualquier parte del axón de dichas fibras nerviosas.

Las sinapsis existentes entre las fibras nerviosas postganglionares y las células epiteliales del estómago, no son como cualquier otra sinapsis neuronal, sino que son muy semejantes a uniones neuromusculares; aunque algunas fibras nerviosas terminan muy cerca de las células mucosas. Por tanto los neurotransmisores son liberados al espacio extracelular, difundiendo hacia la proximidad de las células efectoras para actuar sobre receptores celulares concretos y de esta forma inducir determinadas respuestas de estas células.

La Ach liberada en la mucosa fúndica es capaz de producir diversas acciones. Por un lado activa directamente a la célula parietal uniéndose a un receptor muscarínico (concretamente del subtipo M3) (77,86,87), que emplea mecanismos dependientes del calcio para su activación. También estimula en un 10-20% a algunas células ECL a través del receptor M1 (88) para liberar histamina que a su vez, estimula a la célula parietal mediante su unión con el receptor de histamina H2.

En el antro gástrico, la Ach es capaz de activar a las células G para secretar gastrina. Esta hormona se transporta al fundus por vía sistémica activando a las células ECL a través del receptor para la gastrina CCK-B, con la consiguiente liberación de histamina. También actúa sobre las células D del antro, inhibiendo la liberación de somatostatina (89) y por tanto, aumentando indirectamente la secreción ácida mediante el aumento de la secreción de gastrina.

Regulación adrenérgica

En general, la inervación del sistema nervioso simpático parece jugar un papel menos importante en la regulación de la función gástrica. Algunas investigaciones apuntan a que las fibras simpáticas en la mucosa gástrica, se relacionan con la regulación del flujo sanguíneo de esta, siendo también quizás, capaces de estimular a las células ECL (90).

Vías peptidérgicas.

Existe una gran variedad de neuropéptidos relacionados con la secreción ácida gástrica, actuando algunos de ellos sobre algunas células endocrinas de la mucosa gástrica. A la hora de analizar las posibles consecuencias biológicas tras la liberación de estas sustancias, podemos encontrarnos con un hecho que puede inducirnos a errores en la interpretación de los datos; y es que tanto los péptidos activadores como los inhibidores, pueden liberarse al mismo tiempo.

Péptido liberador de la gastrina (GRP).

Es un péptido de 27 aminoácidos encontrado en mamíferos, miembro de la subfamilia de péptidos cuya secuencia final de aminoácidos es Leu-Met-NH₂. Fue descubierto al identificarlo entre otros péptidos con propiedades liberadoras de gastrina y como homólogo de un péptido de la piel de la rana llamado **“bombesina”**. De hecho, el decapeptido C-terminal del GRP y de la bombesina, responsables de su actividad biológica, son idénticos excepto en una sustitución simple. No obstante, el ADN de los mamíferos que codifica el GRP es homólogo a un ADN expresado en el estómago de los anfibios, que es diferente del ADN que codifica la bombesina. Además técnicamente el GRP no es la bombesina de los anfibios.

Con frecuencia se hace referencia al GRP y sustancias afines nombrándolos como **péptidos bombesina-similares (bombesin-like peptides)**, aludiendo al grupo de probablemente más de un péptido, con acción similar a la bombesina y estructura homóloga a esta, presentes en el hombre (64). Se encuentra inmunorreactividad a este péptido en los nervios y también en las células endocrinas gástricas; y no en las células endocrinas intestinales. Existen neuronas de bombesina en cuerpo y antro gástricos. La estimulación vagal de estas, aumenta el GRP en el retorno venoso gástrico (sobre todo a nivel antral) (91). Los receptores del GRP han sido identificados y clonados y muestran actividad fosfolipasa C (92).

Los anticuerpos frente al GRP o los antagonistas de éste, reducen la liberación de gastrina si está causada por estímulos vagales o alimentos proteicos. Existen por tanto evidencias de que este péptido es un mediador neurológico no colinérgico de la secreción gástrica.

El GRP también estimula la liberación de otras hormonas (**Enterogastronas fisiológicas**) que ejercen control inhibitorio sobre la secreción ácida: colecistoquinina (CCK), secretina, péptido inhibidor gástrico (PIG), péptido intestinal vasoactivo (VIP), neurotensina y enteroglucagón (93-95). Estos neuropéptidos inhiben la respuesta ácida, actuando a nivel de la liberación de gastrina y a nivel de los receptores de gastrina (inhibiéndolos) en la propia célula parietal (96-98).

La liberación de somatostatina que se observa tras la administración de GRP parece ser indirecta, quizás debida al efecto del aumento de la gastrina sobre las células D fúndicas (99,100), aunque también se piensa que los referidos péptidos pueden estimular por sí mismos la secreción de somatostatina por las células D de la mucosa antral y oxíntica (101,102).

Péptido-gen relacionado con la calcitonina (CGRP).

Es un péptido residual con un puente disulfuro y un amino-carbono terminal. La inmunorreactividad de las fibras nerviosas aferentes al CGRP se encuentra en el plexo mientérico gástrico, músculo y vasos sanguíneos de la submucosa y de la mucosa gástricas (72). Inhibe la secreción ácida gástrica tras su liberación, tanto a nivel central como periférico (103). La inhibición de la secreción

ácida tras la inyección de CGRP, probablemente se deba a los efectos de este sobre el antro, sobre las células D fúndicas o a la acción sobre ambas.

Galanina.

Es un péptido de 29 aminoácidos que se encuentra en las terminaciones nerviosas, en la mucosa gástrica. Existen tres isoformas de receptores para la galanina, uno de los cuales inhibe y otro parece que estimula las señales del Calcio (104). Este péptido, al igual que las taquiquininas (sustancia P y neuroquinina) y la enterogastrona, inhibe experimentalmente la secreción ácida basal y la estimulada con pentagastrina (105). La galanina inhibe, no sólo la liberación de gastrina, sino también la acción estimulante de la secreción gástrica que esta produce. No parece ejercer ninguna influencia sobre otros estimulantes de la secreción gástrica como la histamina o el bethanecol. Tiene un efecto inhibitorio tanto sobre las células G, como sobre las células ECL. Sobre estas últimas actúa por un mecanismo que emplea una vía sensitiva de la toxina pertussi al igual que otro péptido inhibitorio, cual es el péptido YY (PYY).

Péptido activador de la adenilato ciclasa pituitaria (PACAP).

Es el nuevo miembro de la familia VIP/glucagón/secretina. Se libera a partir de fibras nerviosas, aunque su localización en el tracto gastrointestinal no está bien establecida. Los receptores para el PACAP, concretamente el PAC-1 (o PACAP-1) y sus variantes producen un aumento del calcio iónico (Ca^{2+}) en las células ECL, en las células parietales adyacentes y en las células acinares pancreáticas, mediados por la adenilciclasa y la fosfolipasa C (104,106). La liberación local de PACAP da lugar a la estimulación de la secreción de histamina por las células ECL, e indirectamente por tanto, aumenta la secreción ácida gástrica. También estimula el crecimiento de las células ECL al igual que la gastrina, ejerciendo un efecto trófico sobre estas células (*Figura 5*). Presumiblemente la liberación de este péptido es aguda, y no crónica como la gastrina.

En cuanto a la liberación de histamina, conviene decir que los receptores más importantes son los CCK-B y los PACAP receptores.

Vasopresina.

Es un péptido inhibitorio de la secreción gástrica, pero sólo en el animal intacto. Inhibe la secreción ácida ejerciendo su acción a nivel de la regulación del flujo sanguíneo de la mucosa gástrica. Concretamente disminuye el flujo sanguíneo, produciendo una hipoxia relativa de las células parietales inhibiendo de esta forma la secreción ácida.

REGULACION PARACRINA DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA

Histamina.

Esta sustancia es liberada fundamentalmente por las células ECL del fórnix gástrico, aunque también en menor cantidad por los mastocitos y las terminaciones nerviosas del plexo submucoso (107). Su acción fundamental es la de estimular la secreción gástrica, actuando sobre las células parietales de la mucosa oxíntica a través de su unión a los receptores H₂. Su liberación, como veremos más adelante, está regulada por factores nerviosos, endocrinos, paracrinos y por vía autocrina, por el PACAP o la galanina.

Somatostatina.

La somatostatina es liberada por las células D tanto fúndicas como antrales (más numerosas). Estas células se localizan en la proximidad de las células parietales del cuerpo gástrico y de las células G del antro, ejerciendo un efecto inhibitorio sobre ambas (108,109). Las neuronas colinérgicas inhiben la secreción de esta sustancia como más tarde veremos. La somatostatina se considera universalmente como un regulador negativo de la secreción ácida gástrica puesto que actúa, al parecer, inhibiendo el efecto estimulante de la secreción de histamina que la gastrina produce en las células ECL (110). A pesar de ser un péptido, posee una vida media corta para asegurar su órgano-especificidad. Esta característica permite catalogarlo como un mediador no sólo endocrino, sino también paracrino, de la secreción ácida (111).

REGULACION ENDOCRINA DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA

Gastrina.

Es el péptido más importante que participa en el proceso de la secreción gástrica. Estimula la secreción y liberación de histamina por parte de las células ECL (112). Este péptido, que estimula la secreción de las células parietales, es producido por las células G de las glándulas antrales, aproximadamente en la región media del estómago humano (113). La gastrina se libera en respuesta a estímulos colinérgicos o tras la liberación del GRP a partir de las fibras postganglionares del nervio vago (108).

La presencia de aminoácidos aromáticos en la luz gástrica estimula la secreción de gastrina, (114) mientras que la acidificación del medio en dicha luz, inhibe la secreción de ésta (*Figura 6*). Aunque su efecto sobre la secreción ácida ha sido relegado a un segundo plano por la histamina, la gastrina

continúa siendo el mayor regulador endocrino de la secreción ácida gástrica. Las variaciones de los niveles en la sangre de este péptido, se producen en la mayoría de las ocasiones, como respuesta del estómago a los alimentos (115).

Colecistoquinina (CKK).

Se trata de un octapéptido, que está presente en páncreas y en duodeno y que tiene un amplio espectro de acción. Es de interés su capacidad para estimular a las células D y a las células principales de la mucosa gástrica con una elevada afinidad sobre los receptores CCK-A, los cuales parecen tener poca relación con la secreción gástrica (116), aunque últimamente se cree que la CCK a través de estos receptores, estimula la secreción de somatostatina en las células D (117).

Los receptores de gastrina tiene una demostrada analogía con otro tipo de receptor de la colecistoquinina: el receptor CCK-B (118). Podemos decir que la colecistoquinina es equipotente a la gastrina en la estimulación de las células ECL, activando a los receptores CCK-B (119) a través de un mecanismo que emplea el calcio iónico (Ca^{2+}) como segundo mensajero (120). El estímulo trófico sobre las células ECL se explica por la acción (sobre todo de la gastrina) sobre sus receptores CCK-B (121) y no por la estimulación de los CCK-A.

Péptido YY (PYY).

Fue el primer péptido aislado en el intestino. El PYY y el péptido neural (NPY) interactúan sobre tres subtipos de receptores: Y1, Y2 e Y3. Su liberación tiene lugar en una fase postprandial en ileon y colon. Este péptido, podría ser un componente de *las enterogastronas fisiológicas*, un grupo de factores complejo, liberado durante la fase intestinal de la digestión, que producen una inhibición de la secreción ácida. Las células ECL contienen el receptor Y1, cuya activación conduce a la inhibición de la liberación de histamina y de las señales del calcio iónico (122).

Enterogastronas.

Como hemos dicho anteriormente se trata de una serie de sustancias (péptidos en su mayoría) liberados durante la fase intestinal de la digestión, que inhiben la secreción ácida. El péptido inhibidor gástrico (GIP) y el péptido glucagón-like (GLP) podrían ser dos de estas sustancias, además de otras como VIP, neurotensina, enteroglucagón, péptido YY e incluso colecistoquinina y secretina (123-125). Dosis altas de GIP y GLP, inhiben la liberación de la gastrina y el efecto de ésta sobre sus receptores en la célula parietal, así como la liberación de histamina por parte de las células ECL (126,127).

Factor de crecimiento epidérmico.

La familia de factores de crecimiento epidérmico incluye al menos, 7 polipéptidos: EGF (FGE en español), TGF- α (factor transformador del crecimiento alfa; del inglés *transforming growth factor alfa*), anfiregulina, criptogulina, heregulina, betacelulina y HB-EGF (del inglés heparin-binding EGF-like growth factor) (128). Su acción principal es inhibir la secreción ácida gástrica, ejerciendo además un efecto protector sobre la mucosa (129,130). Todos los péptidos excepto cripto y heregulina, se unen y activan el mismo receptor, el receptor EGF de la tirosin-quinasa, activando la proteína Gi, e inhibiendo por tanto, la secreción ácida estimulada por la histamina (131,132). En el caso de ulceraciones mucosas, el EGF induce el desarrollo de una nueva línea celular en la mucosa gástrica.

Se ha comprobado que las células parietales contienen el mensaje para TGF- α , y se ha determinado la presencia de HB-EGF en las células parietales y células G humanas, lo que indica que estas sustancias podrían regular la secreción ácida por un mecanismo autocrino o paracrino (133-135).

Secretina.

Existe un complejo mecanismo de feed-back que relaciona estómago e intestino. La secretina inhibe la secreción ácida, en parte mediante la activación de las células D. Pero también inhibe, al menos en algunas especies, la histamina secretada, reivindicando así una acción directa sobre la célula parietal. En humanos parece claro que reduce la liberación de gastrina (136).

CAPÍTULO 5

CÉLULAS ENDOCRINAS GÁSTRICAS. REGULACION CELULAR DE LA SECRECIÓN ACIDA.

La mucosa gástrica está provista de una gran variedad de células endocrinas. Se han identificado al menos, 7 tipos distintos según sus características ultraestructurales. Como grupo, estas células tan sólo representan en los humanos un 0.5-1 % de las células de la mucosa fúndica. Sin embargo, funcionalmente constituyen un órgano endocrino, cuya importancia es casi equiparable a la del páncreas endocrino (137).

La mucosa del cuerpo gástrico contiene *células ECL* productoras de histamina, *células D* productoras de somatostatina y células con secreción desconocida (*células X (A-like)*, *células P*, *células D₁*) (138). En el antro hay *células G* productoras de gastrina, *células enterocromafines (EC)* productoras de serotonina y *células D* productoras de somatostatina. Todos estos tipos celulares producen cromogranina A (CgA), aunque cada tipo produce una secuencia única y específica de péptidos derivados de CgA; por lo que es posible reconocerlos individualmente con antiseros específicos (139). Las células cromafines comparten muchas similitudes con las células endocrinas productoras de aminas y péptidos de todo el cuerpo y con las neuronas centrales y periféricas. Sus equivalentes neoplásicas constituyen los tumores denominados feocromocitomas (140).

La interacción entre las células ECL, células G y células D regula la secreción de histamina (128) como puede observarse en la figura 7. La histamina, la Ach y posiblemente la gastrina son responsables de la activación de la célula parietal. Mientras que la somatostatina, el factor de crecimiento epidérmico (EGF), la galanina y la secretina inhiben a dicha célula.

La secreción de ácido se produce por tanto, gracias a una serie de interacciones nerviosas, endocrinas y paracrinas, tanto positivas como negativas, como más adelante veremos. El objetivo final de toda esta serie de procesos es la regulación de la acidez del contenido gástrico. Los mecanismos reguladores deben por lo tanto, poder detectar el pH intragástrico respondiendo a este estímulo con rapidez y precisión. El único mecanismo conocido, que responde a estas características es la inhibición de la liberación de gastrina cuando existe un pH intraluminal (gástrico) menor de 3. El descenso del pH es detectado por las células D antrales que a través de la secreción de somatostatina, producen la supresión de la secreción ácida (141,142).

Aunque la secreción ácida dependiente del pH represente el mecanismo más importante conocido para el control de la acidez gástrica, es difícil pensar que sólo este mecanismo de feed-back pueda justificar totalmente el mantenimiento de pH gástrico. Deben por lo tanto, existir otros mecanismos independientes que aún desconocemos. A continuación describiremos los mecanismos de control de la

secreción gástrica, dependientes de las distintas células endocrinas y la interacción entre estas, que permite dicho control.

CELULAS ENTEROCROMAFIN LIKE (ECL)

Características generales de las células ECL.

Las células ECL constituyen el eje fundamental de la regulación central y periférica de la secreción ácida. Ejercen su papel mediante la secreción de histamina, siendo activadas sobre todo por la gastrina mediante la influencia del PACAP y otros factores que posteriormente describiremos (143).

Hay evidencia de al menos 4 receptores activadores en la población de células ECL aisladas de la mucosa gástrica de ratas. Los receptores CCK-B (114) y PACAP-R (144) son los que predominan como receptores que estimulan la función de las células ECL. La somatostatina y la galanina son los mayores inhibidores locales, ejerciendo su efecto inhibitorio de las células ECL, a través de los receptores SST-2 (110) y GAL-1 respectivamente. A la Secretina y al PYY también se les ha atribuido el papel de inhibidor de las Células ECL; este último ejerce su acción inhibitoria a través de los receptores Y-1 (122). En cuanto a la mediación colinérgica en la secreción ácida, seguramente se debe a los efectos directos de la acetilcolina sobre la propia célula parietal a través de los receptores M3.

Las células ECL captan y descarboxilan ciertos aminoácidos aromáticos (precursores de las aminas), como 5-hidroxitriptamina (5-HT) exógeno, L-3-4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA) y almacenan las respectivas aminas formadas. Esta capacidad las incluye dentro de la familia de células secretoras endocrinas, que se engloban dentro de lo que clásicamente se ha denominado: sistema APUD (de Amine content of Precursor Uptake and Decarboxylation) (145). Recientemente se ha demostrado que no todas las células de este sistema concentran aminas y por ello, la designación de APUD está siendo sustituida por Sistema Neuroendocrino Difuso (SNED).

Las células ECL suponen 1/3 de las células endocrinas en la mucosa oxíntica (146,147) de la mayoría de los vertebrados. En los mamíferos se encuentran en la mucosa fúndica siendo más evidentes en el tercio basal de la misma.

Son pequeñas con un tamaño aproximado de 8-10 micras de diámetro celular, mostrando una estructura única y característica: forma irregular con protusiones citoplásmicas numerosas y prominentes (148). Presentan un gran núcleo excéntrico rodeado de numerosas vesículas translúcidas de formas variables con un centro oscuro (145). Estas vesículas almacenan histamina según el gradiente ácido y contienen **histidina-decarboxilasa (HDC)**, enzima necesaria para la síntesis de histamina (148) (*Figura 7*). No obstante, se ha demostrado que las referidas vesículas de las células ECL, contienen también otras sustancias reguladoras, tales como la cromogranina o la pancreastatina (148), aunque no se ha demostrado que estas tengan una importancia relevante (150).

Las células ECL tienen localización subepitelial sin contacto con la luz gástrica, por lo que el contenido gástrico no influye de forma directa en ellas. En las glándulas gástricas tienen una ubicación periférica y a pesar de encontrarse en la proximidad de las células parietales parecen estar asociadas sobre todo, con áreas ricas en células principales (151). El principal papel de las células ECL es la liberación de histamina, sustancia que actúa como agente paracrino, estimulando la secreción ácida de las células parietales (114;152). Al igual que las células ECL, los mastocitos también tienen la capacidad de producir histamina; aunque parece que estas células participan más bien en los procesos inflamatorios gástricos, dudándose de un hipotético papel de estas, en la secreción ácida (107).

Las células ECL se pueden identificar mediante técnicas de tinción de plata y más específicamente, mediante técnicas de inmunohistoquímica, utilizando anticuerpos frente a la histamina o a la histidina-decarboxilasa (HDC) (153). Las células ECL presentan inmunorreactividad para anticuerpos frente a un amplio grupo de marcadores que incluyen: la cromogranina A (154), la enolasa neuroespecífica, la calbindina y la subunidad α de la gonadotropina coriónica humana (137).

Función de las células ECL.

La función primordial de estas, como hemos referido en párrafos anteriores, es liberar histamina en respuesta a diversos factores. Este proceso tiene lugar en tres fases: aguda, intermedia y crónica (155).

Histamina, identificación, secreción, transporte y receptores sobre los que actúa.

De las sustancias identificadas en las células ECL o liberadas por ellas, la histamina es la más importante desde el punto de vista fisiológico. La gastrina secretada por las células G es la reguladora principal de su secreción (114). Esta afirmación puede corroborarse experimentalmente, viendo como al añadir gastrina en un preparado de células ECL se produce un pico inicial de histamina a los cinco minutos y posteriormente, la liberación de ésta es lineal durante al menos 60 minutos. La liberación de histamina se puede bloquear mediante una gran variedad de antagonistas de los receptores CCK-B (156), añadiendo mínimas dosis de estos. Al contrario para inhibir la liberación de histamina mediante el bloqueo de los receptores CCK-A, son necesarias altas dosis de antagonistas de estos, en presencia de receptores CCK-B (112).

En el interior de las células ECL se ha demostrado actividad de la enzima formadora de histamina denominada histidina decarboxilasa (HDC) (149,157). La rápida elevación de esta enzima inducida por la gastrina "*in vitro*" sugiere, que además de un aumento en la transcripción genética, podría producirse la activación de una enzima preexistente, como ya se ha descrito en la regulación de otras decarboxilasas (158).

La histamina producida en las células ECL se almacena en el interior de la misma, en unas vacuolas o vesículas secretoras, en las que penetra debido a un gradiente ácido generado por una ATP-

asa tipo V y a la presencia de una proteína transportadora de histamina en la membrana vacuolar, expresada como VMAT-2 (149) (*Figura 7*). El transportador vesicular de monoaminas VMAT-2 se expresa en el epitelio fúndico, (159) quizás por su apetencia por diaminas como la histamina. La expresión de VMAT-2 se regula por los estados de hipoacidez, probablemente mediante un mecanismo secundario a la hipergastrinemia.

Finalmente la secreción de la histamina tiene lugar mediante un proceso de exocitosis, en el que participan una serie de proteínas que promueven la fusión entre los gránulos transportadores de histamina y la membrana plasmática. Así, estos gránulos son transportados desde la zona del aparato de Golgi hasta la porción más periférica de la célula, donde permanecen. Posteriormente tras la estimulación (por ejemplo con gastrina) se produce la fusión de estas vesículas secretoras con la membrana, liberándose su contenido mediante exocitosis (148).

A continuación describiremos detalladamente, la secuencia de hechos que tienen como último y primordial objetivo la estimulación o inhibición de la liberación de histamina.

Estimulación de la liberación de la histamina.

La histamina se libera por acción directa de la gastrina (114). Los receptores que median los efectos de la gastrina en el estómago son análogos de los receptores de colecistoquinina tipo B (CCK-B) (156). Se han clonado a partir de células parietales de perro y cerebro de rata, mostrando una secuencia típica de guaninas unidas por una proteína (proteína G) acoplada al receptor (al igual que el subtipo CCK-A). La proteína G trimérica acoplada a estos receptores está expuesta a las variaciones del AMPc y del Ca^{2+} intracelular, que actúan como segundos mensajeros (160).

La histamina liberada por las células ECL "*in vitro*" se estimula también por el PACAP con igual efectividad que la gastrina (144). Este neuropéptido, como describimos anteriormente, eleva el Ca^{2+} intracelular, (mediado por la adenilciclasa y la fosfolipasa C) a niveles similares que la gastrina en las células ECL, estimulando la secreción gástrica a través de la proliferación y el aumento de actividad de estas células (120,144) (*Figura 5*).

Teniendo en cuenta que la acetilcolina (Ach) es un estimulador débil de las células ECL, el PACAP podría tener un importante papel como mediador neural fundamental, en la liberación de histamina (161). Paradójicamente se ha comprobado de manera experimental que la introducción del PACAP inhibe la secreción ácida; por el contrario, cuando se administra conjuntamente con somatostatina, estimula dicha secreción. Partiendo de esta última observación, posteriores investigaciones han sugerido que el PACAP, podría estimular tanto a las células D como a las ECL; situación ya vista en modelos "*in vitro*". La estimulación de las células D se realiza, presumiblemente a través de un receptor VIP (VIP-R), mientras que la estimulación de las células ECL se produce a través del receptor PACAP-1 (o PAC-1) (144,161,162). El significado fisiológico de la estimulación de las células ECL mediante agonistas β -adrenérgicos no está aún muy bien establecido, pero podría indicar la

existencia de múltiples factores neurales en la regulación de su función. Existe alguna evidencia de que los receptores β de las células ECL, pertenecen al subtipo β -3.

La cantidad de histamina liberada de una única célula ECL, es extremadamente pequeña. De tal forma que el contenido total de histamina en una célula se estima en unos 30 fmol, liberándose aproximadamente un 3% cada hora bajo una estimulación constante “*in vitro*”. No debe sorprendernos por tanto, que sea difícil detectar histamina en sangre durante la secreción ácida; y que en condiciones normales, no se detecten efectos sistémicos de esta sustancia.

Puesto que las células ECL están distribuidas en la porción más basal de las glándulas oxínticas (163), se ha sugerido que la activación de las células parietales localizadas a más distancia, puede realizarse a través de células que posean procesos dendríticos largos, o mediante el transporte de histamina a través de la microcirculación. No obstante, por el momento existen pocas evidencias que corroboren estas teorías.

Los lipopolisacáridos de la pared bacteriana del *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), estimulan la síntesis de DNA y la proliferación y secreción de las células ECL “*in vitro*”, actuando sobre el receptor CD14 (164;165). En la infección por *H. pylori*, se pueden liberar ciertas citoquinas como la Interleuquina (IL) 1- β , linfoquina inflamatoria relacionada con la gastritis producida por el germen. Esta citoquina, induce la secreción de histamina por las células ECL (166). Se ha propuesto que la IL 1- β podría ser la responsable de la regulación periférica de la secreción ácida, durante la infección por *H. pylori*.

Inhibición de la liberación de histamina.

Como ya referimos al hablar de la regulación paracrina de la secreción ácida, la somatostatina se considera universalmente como la sustancia inhibidora fisiológica de dicha secreción. En el anterior apartado, señalamos que su naturaleza de péptido, con una vida media muy corta le confiere una cierta órgano-especificidad, permitiendo catalogarlo como un mediador tanto endocrino, como paracrino de la secreción ácida gástrica (111).

En el estómago se han descrito hasta 5 receptores para somatostatina (SSTR). El primero que se describió contiene 391 aminoácidos y está acoplado a proteínas fijadoras de la guanina (167). En general se relaciona a los receptores SSTR-2 y SSTR-5 con las células endocrinas, y a todos menos al SSTR-1 con las células parietales, principales y productoras de moco (155,168). Tanto la somatostatina natural como la somatostatina-14 (169), y un agonista sintético selectivo para el subtipo de receptor 2 de la somatostatina (SSTR-2), inhiben la secreción de histamina y la liberación constante de Ca^{2+} debidas al estímulo de la gastrina.

La somatostatina inhibe “*in vivo*” la secreción ácida, bloqueando la liberación de gastrina a partir de las células G antrales e inhibiendo el efecto estimulante que ésta produce sobre las células ECL para producir histamina (110). “*In vitro*”, inhibe la secreción ácida estimulada por la histamina en cultivos donde se aislaron glándulas gástricas y células parietales, sin relación alguna con la gastrina. Es por esto,

por lo que se ha sugerido que la somatostatina podría actuar directamente sobre las células parietales. De hecho la unión de la somatostatina con su receptor en la célula parietal, activa la proteína Gi (109) (proteína inhibidora; una de las dos enzimas fijadoras de guanina que modulan la actividad de la Adenilciclase, la otra es la proteína estimuladora; Gs), inhibiendo así la producción de adenosín monofosfato cíclico (AMP_c) y guanosín monofosfato cíclico (GMP_c) (170). Experimentalmente se ha comprobado que la proteína Gi es inhibida por la toxina pertussis. Quizás también parte de esta acción inhibitoria sobre las células parietales, podría resultar de la regulación que ejerce la somatostatina sobre la actividad de las células ECL (110).

Los inhibidores de la bomba de protones producen un aumento del ARNm de la gastrina y una disminución del ARNm de la somatostatina y de esta forma, son capaces de alterar los mecanismos normales de la secreción ácida de la mucosa gástrica (171-174).

Las células D, que contienen la somatostatina, se encuentran tanto en el antro como en la mucosa oxíntica (109). Algunas fibras nerviosas postganglionares de la submucosa contienen somatostatina, pudiendo así también ésta, actuar como un neurotransmisor (108,160). Tanto en el antro como en el fundus las células D poseen en su base prolongaciones, por lo que localmente, como más adelante veremos, la somatostatina podría funcionar también, como un regulador paracrino (175).

En los últimos años, se ha sugerido la existencia de un mecanismo de feed-back autocrino en la inhibición de la histamina, que no se ha demostrado de forma fisiológica. El agonista para el receptor de la histamina H3 (176), alfa-metil-histamina, actuaría como inhibidor mientras que un antagonista del mismo receptor, la tioperamida sería capaz de potenciar la liberación de histamina mediada por el estímulo de la gastrina (177).

La galanina es un péptido que se encuentra en las neuronas y nervios gástricos. Experimentalmente se ha comprobado que inhibe la liberación de histamina y podría ser un importante mediador nervioso que a nivel gástrico, modularía de alguna forma la actividad de las células ECL tras la digestión. Como anteriormente señalamos la galanina tiene también un efecto inhibitorio sobre las células G, además de sobre las ECL. Aunque su mecanismo de acción es aún desconocido, se ha visto que estimula las señales del Ca²⁺ (calcio iónico) en las células (120).

PYY es un péptido liberado por las células endocrinas intestinales, que podría ser un componente de la enterogastrona. Actuando sobre el receptor Y1, inhibe de forma eficaz las señales del Ca²⁺ y la liberación de histamina en preparados de células ECL de ratas (122). Por otra parte se han observado efectos inhibidores de forma aditiva, no sinérgica, del PYY y la somatostatina sobre la liberación de la histamina inducida por gastrina.

Utilizando técnicas de hibridación "*in situ*", se halló el RNAm de un receptor relacionado con el receptor de la insulina (IRR) localizado en el tercio basal de las glándulas oxínticas fúndicas, donde también fue hallado el RNAm de la enzima histidín-decarboxilasa (HDC), enzima que media la secreción de histamina y que se encuentra en el interior de las células ECL. Este es un receptor de la

familia de los “Receptores de Insulina”, que es altamente selectivo de los túbulos corticales renales y del estómago. Aunque la función de los IRR es desconocida, su localización en las células ECL sugiere que podrían tener un papel importante en estas células (117).

Transducción de la señal para la liberación de Histamina.

No se ha descrito claramente hasta hoy, el sistema de segundos mensajeros y la cascada que se pone en marcha para que se produzca la secreción y posterior liberación de la histamina. A continuación revelaremos una idea intuitiva de estos procesos.

Células ECL aisladas estudiadas con una cámara de perfusión, muestran un incremento bifásico del calcio iónico (Ca^{2+}) intracelular tras la exposición a gastrina o a PACAP (120,161). Una transitoria inestabilidad se produce en la célula ECL, debido seguramente a la liberación del Ca^{2+} intracelular almacenado. Posteriormente la célula se vuelve estable tras la entrada de Ca^{2+} al interior de ésta. Este movimiento del Ca^{2+} tiene lugar a través de los canales del calcio. Experimentalmente el bloqueo de dichos canales, impidiendo la entrada del catión en la célula, produce una inhibición de la liberación de histamina. Por el contrario todos los procesos y las vías que incrementen el Ca^{2+} intracelular estimulan la liberación de histamina.

Dentro de estas últimas se incluye la vía de la proteín-kinasa C; un agonista de ésta (tetradecacyl-13-phorbol acetato) estimula la secreción de histamina. Por lo que se supone que la proteín-kinasa es un componente de la vía de la liberación de histamina dependiente del Ca^{2+} (117,178). Por otra parte el forskolín, un estimulador intracelular de la adenilato-ciclasa, es también un potente agonista de la liberación de histamina. De aquí se ha podido deducir que el incremento de los niveles de AMP_C estimula a las células ECL.

La histamina es sintetizada en el citoplasma a partir de L-histidina a través de la enzima histidina decarboxilasa (HDC) y posteriormente acumuladas en vesículas o gránulos a través del cootransportador vesicular de aminas tipo 2 (VTAM-2) (*Figura 7*) (149,160). La Histamina liberada procede de dos vías fundamentales: la preexistente en los gránulos o vacuolas, inmediatamente liberada tras la entrada de Ca^{2+} , o la histamina sintetizada nuevamente por inducción de la enzima HDC tras la estimulación de gastrina (160).

Por último, la estimulación de la gastrina y la entrada de Ca^{2+} al interior de las células ECL inducen la exocitosis de los gránulos cargados de histamina (148). La membrana del gránulo, contiene ATPasa tipo V, que genera como ya dijimos un gradiente electroquímico de protones a expensas del ATP (*Figura 7*). Esta bomba electrogénica necesita la existencia de conductancia a otro ión paralelamente, para que se genere este gradiente ácido. En este sentido se ha propuesto que tanto la conductancia del Cl^- como la del K^+ a través de la membrana generan dicho gradiente (149). Durante el proceso de exocitosis los gránulos de histamina se funden con la membrana plasmática, adquiriendo de esta forma la conductancia al Cl^- . Las células ECL intactas muestran un potencial de reposo de -50 mV en contraste con los mastocitos cuyo potencial de reposo está próximo a cero. Este potencial se debe en gran parte,

a la activación producida por la corriente despolarizante de K^+ , que entra en la célula. Este movimiento de K^+ también mantiene la diferencia de potencial tras la estimulación de la exocitosis.

Gastrina, CCK-8 y tetradecyl-13-phorbol acetato (agonista de la proteína-kinasa C) aumentan la liberación de histamina, presumiblemente estimulando la exocitosis y por tanto, activando la corriente de Cl^- que representa a la fusión de las vesículas de histamina con la membrana plasmática. El aumento de la concentración de K^+ intracelular es el resultado de la estimulación de la liberación de histamina (117).

Regulación de la histidina-decarboxilasa.

El papel de la histamina como reguladora de la actividad de la HDC fue postulado inicialmente por Kahlson en 1964 (179). La liberación inicial de histamina mediante el referido proceso de exocitosis va seguida de una activación lineal de HDC (158,180); de lo cual se deduce que la actividad de la HDC es una respuesta a la secreción de histamina. En este sentido hay un trabajo que demuestra la existencia de un proceso de autorregulación de esta sustancia a través de autorreceptores con características semejantes a los receptores H_3 (181). La gastrina también parece tener un importante papel en la regulación de la HDC (149). Estudios "*in vivo*" indican que la actividad de la HDC y la concentración de histamina, dependen directamente de los niveles de gastrina circulantes. La activación de la HDC inducida por la gastrina se asocia con un aumento progresivo de los niveles de RNAm de la HDC "*in vivo*" (178). El aumento del RNAm provocado por la gastrina es más lento y menos marcado que el incremento en la actividad de la HDC.

Regulación de la proliferación de las células ECL.

Durante mucho tiempo los tumores carcinoides o las hiperplasias de las células ECL se han reconocido en el contexto de una hipergastrinemia masiva asociada con anemia perniciosa y gastritis atrófica (183-185). Sin embargo con el avance en la investigación de las células ECL se han identificado también, niveles elevados de gastrina asociados al uso de inhibidores de la bomba de protones en ratas (163,172,186).

Gastrina.

Producida por las células G del antro gástrico, la gastrina además de estimular la liberación y la resíntesis de histamina (149,160,187), actúa como factor trófico sobre las células ECL (114,188,189). La respuesta hipertrófica e hiperplásica de estas células empezaron a considerarse al observar tumores carcinoides de células ECL tras terapias prolongadas con antiseoretos en ratas (183).

Actualmente se conoce que la proliferación de las células ECL puede ocurrir en otras condiciones relacionadas con una elevación persistente de los niveles plasmáticos de gastrina (172,190,191). Es importante reseñar esta capacidad de la gastrina para producir hipertrofia, hiperplasia y finalmente neoplasias de las células ECL (113), dado que ninguna otra célula oxíntica es capaz de

aumentar su número en respuesta a la gastrina. La gastrina estimula directamente la síntesis del DNA en las células ECL sobre todo (*Figura 5*), pero también en las células parietales, a través del subtipo de receptor gastrina/CCK-B (192). Se ha demostrado que la activación del receptor de la gastrina se asocia con la actividad de una proteína tirosin-kinasa (113). Tanto el efecto trófico de la gastrina como el efecto secretor inmediato de la histamina mediado también por aquella, se producen a través del subtipo de receptor gastrina/CCK-B (119,193).

Polipéptido activador de la adenilato-ciclase pituitaria (PACAP).

Este péptido, ampliamente distribuido por todo el fundus gástrico, se localiza en los nervios entéricos (161), desde donde se libera. PACAP “*in vitro*”, ha demostrado un efecto estimulante de la proliferación de las células ECL significativamente más potente que la gastrina, que hasta hace poco era considerada como el principal regulador de la proliferación de estas células. La especificidad de este efecto se confirmó tras la identificación de un receptor PACAP, concretamente PACAP-1 (o PAC-1), (144) en las células ECL (*Figura 5*). La inhibición de la respuesta proliferativa con un antagonista de este receptor, PACAP-38, estableció el significado funcional de este péptido (194). En cuanto al mecanismo de acción como estimulante de la secreción de histamina, ya se señaló anteriormente la importancia de los mecanismos que aumentan el Ca^{2+} en el interior de la célula, mediados por la adenil-ciclase y fosfolipasa C (120,161). El péptido intestinal vasoactivo (VIP), miembro de la misma familia, es significativamente menos potente actuando a través del receptor PAC-1, debido a su baja afinidad por este receptor. La ausencia en las células ECL de receptores específicos para VIP (VPAC) puede ser la causa de este hecho (161).

Factor α transformador del crecimiento (TGF- α).

Esta proteína es un potente mitógeno que al ser liberado por las células parietales, actúa como un factor de crecimiento paracrino sobre las células replicativas circundantes. Ante un daño agudo en la mucosa gástrica, la síntesis de DNA no ocurre hasta pasadas unas horas; sin embargo se ha comprobado en modelos animales que la producción de TGF- α aumenta desde los primeros minutos, modulando la migración de células epiteliales para reparar el daño agudo. Cultivando células ECL con TGF- α y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) se ha visto que aumenta el número total de células cultivadas. De hecho, estos factores producen una importante inhibición de la apoptosis celular (195) inducida por la IL-1- β (166).

La proliferación de las células ECL inducida por la gastrina, provoca un aumento de producción de TGF- α que podría ser responsable de una fase proliferativa celular, independiente de la gastrina (135,196).

Histamina.

Trabajos experimentales realizados con antagonistas de los receptores H1 y H3 revelan que la histamina potencia la proliferación de las células ECL inducida por la gastrina, a través de estos dos subtipos de receptores.

Somatostatina.

Se ha demostrado un efecto inhibitorio de la proliferación de células ECL tanto en cultivos celulares como “in vivo” con esta sustancia.

En resumen se puede decir que existen diferentes agentes aparentemente relacionados con la estimulación o inhibición de la división celular de las células ECL, dependiendo de la fase de transformación celular en que se encuentren dichas células.

El primer regulador y más potente en fase aguda, podría ser el PACAP, mientras que la gastrina podría funcionar como modulador endocrino, relacionando las células ECL y la actividad secretora ácida con el número de dichas células. La regulación autocrina podría participar sobre todo, cuando la célula se transforma a un fenotipo neoplásico (113). En cuanto al TGF- α , parece ejercer una influencia importante, como ya hemos mencionado, estimulando la proliferación de las células ECL. La somatostatina es el principal inhibidor de la proliferación a través del subtipo 2 (SST2) del receptor para la somatostatina. (*Figura 5*).

CÉLULAS PRODUCTORAS DE GASTRINA O CÉLULAS G

Generalidades de las células G

En el adulto la gastrina se produce principalmente en las células G del antro gástrico y del duodeno, aunque se han identificado pequeñas cantidades de estas células en la pituitaria y en algunas fibras nerviosas vagales (151). Incluso el feto y el páncreas neonatal producen gastrina, pudiendo ser la fuente de una hipergastrinemia neonatal. Las células G se identifican con tinciones argirófilas o con inmunohistoquímica, utilizando anticuerpos frente a la gastrina (197).

En la circulación sanguínea la forma de gastrina predominante es el heptadecapéptido G17, aunque se han identificado otras formas como la G34, que son más bien progastrina (135). La secuencia biológicamente activa es un pentapéptido C-terminal, que se ha conservado en múltiples especies. La gastrina comparte una amida idéntica con la colecistoquinina (CCK), permitiendo la unión de aquella a un receptor análogo al de la colecistoquinina tipo B (CCK-B) (112). El hallazgo de células fetales humanas con inmunorreactividad frente a gastrina y a CCK apunta a la existencia de un origen neuroendocrino común de ambas sustancias (198). Las diferencias en la estructura molecular entre estos dos péptidos son muy escasas. La CCK contiene un residuo sulfatado de tirosina en la posición 7

del grupo carboxilo, mientras que la gastrina tiene una tirosina no sulfatada en la posición 6 del mismo grupo. La posición y sulfatación del residuo de tirosina parece pues, ser de vital importancia para reconocer el subtipo de receptor CCK-A. Por tanto, la diferencia en la estructura de estos dos péptidos, determina una selectividad a cada uno de los subtipos de receptores (CCK-A o CCK-B), determinando la actividad biológica.

Por otra parte conviene recordar, como ya explicamos anteriormente, que la transcripción de la síntesis de RNAm de gastrina es regulada positivamente por el TGF- α e inhibida por la somatostatina (199)

Las células G del antro gástrico son de las denominadas de “**tipo abierto**”; es decir, sus superficies apicales alcanzan la luz glandular. Por tanto el contenido luminal (protones, aminoácidos y NH₃) puede modular directamente la actividad de las células G y la liberación de gastrina (114).

Los gránulos intracelulares que contienen gastrina, son abundantes en la porción basal de la célula y tras la estimulación de esta, la gastrina se libera mediante exocitosis hacia el fluido extracelular, con lo cual difunde a la circulación alcanzando el fundus gástrico. Por tanto, se puede decir que la gastrina cumple los criterios clásicos de Hardy que definen una verdadera hormona (200).

Regulación de las células G

La presencia de alimento en el estómago es el principal factor responsable de la liberación fisiológica de gastrina (201,202). El mecanismo responsable de este proceso, compromete al menos 3 vías de estimulación que a continuación analizaremos y que incluyen: la activación nerviosa central, la distensión del antro y componentes específicos de los alimentos que actúan como factores estimulantes de la secreción de dicha sustancia (*Figura 8*). A nivel celular, estas vías regulan la liberación de gastrina mediante la acción de la acetilcolina (Ach), el péptido liberador de gastrina (GRP), la somatostatina y los efectos químicos directos de los H⁺ y aminoácidos aromáticos (135) (*Figura 9*). “*In vitro*” la gastrina se libera por estímulo de citoquinas inflamatorias (203). Por último, hay que decir que es más dudoso el significado fisiológico de otros efectores celulares como la adenosina, galanina o epinefrina.

Influencias vagales.

Dado que la gastrina se libera en respuesta (entre otros) a estímulos orofaríngeos centrales a través del nervio Vago (204), la vagotomía antral selectiva elimina la liberación de ésta; tanto la inducida por la hipoglucemia, como la que se produce ante el estímulo de “*la falsa comida*”. Por otro lado, considerando que la vagotomía fúndica selectiva, aumenta la liberación vagal de gastrina, podemos afirmar que el nervio Vago también posee una acción inhibitoria de la secreción de dicha sustancia a nivel del fundus gástrico. Puesto que la atropina inhibe tanto la liberación antral, como el reflejo fúndico inhibitorio de la gastrina, es evidente que las sinapsis muscarínicas están relacionadas también con dicho proceso (205).

La presencia de alimentos en el estómago, activa las vías nerviosas periféricas en las cuales participan mecanismos asociados, tanto con la distensión gástrica, como con la composición química del contenido gástrico (135). El aumento de la gastrina va seguido también, de una distensión significativa de la porción antral del estómago. De otra parte, la distensión del fundus, inhibe la secreción de dicha sustancia. Este fenómeno de distensión inducido por la liberación de gastrina, es inhibido por la atropina y dependiente de la dosis añadida de esta sustancia.

En definitiva, las conclusiones de los experimentos "*in vivo*" sugieren que la distensión gástrica está mediada por reflejos nerviosos locales (136). Además, en estudios realizados "*in vitro*", se ha comprobado que la Ach estimula la liberación de gastrina, aunque también inhibe la liberación de somatostatina por parte de las células D astrales (206).

Ácido.

Existen una serie de componentes químicos específicos en el antro, que modulan la liberación de gastrina. El ph antral es el más efectivo y mejor estudiado. Valores menores de 3, suprimen completamente la liberación de gastrina, reduciendo por tanto el estímulo de la secreción gástrica (114). Si el ph antral permanece elevado en presencia de una estimulación continua, tendrá lugar una hipergastrinemia (189,207). La presencia de ácido en el duodeno estimula la liberación de la hormona secretina, la cuál inhibe a nivel gástrico la secreción ácida, mediante la disminución de la liberación de gastrina (136).

Aminoácidos y aminos.

La presencia de aminoácidos aromáticos en la luz gástrica, estimula también la liberación de gastrina (114). Las proteínas completas disminuyen la liberación de dicha sustancia, mientras que los péptidos o la mezcla de proteínas parcialmente digeridas, son estimulantes potentes de la misma. El efecto de los aminoácidos sobre la liberación de gastrina representa una acción directa sobre las células G. Dado que las células G están en contacto con la luz gástrica, los efectores químicos pueden unirse a la membrana apical o bien ser internalizados por dichas células para modular, al menos en parte, la secreción de gastrina.

Péptido liberador de gastrina (GRP).

Ya nos referimos a él ampliamente en apartados anteriores. Recordemos que es un péptido neuroendocrino localizado en el cerebro, médula espinal y fibras nerviosas entéricas. Precisamente, la estimulación vagal de las neuronas de cuerpo y antro gástrico, producen un aumento del GRP en el retorno venoso de este órgano a nivel antral (208). Ya referimos en anteriores apartados su similitud estructural con los péptidos similares a la bombesina (bombesin-like) (151) y la trascendencia que esto tiene para determinar algunas de sus acciones. Tanto el GRP como los receptores del GRP están ampliamente distribuidos en el cuerpo, incluyendo el epitelio bronquial fetal y neonatal. Esta última localización es de gran importancia clínica, ya que el GRP actúa como factor de crecimiento autocrino en tumores humanos como en el cáncer de pulmón de células pequeñas.

El GRP se localiza en las fibras nerviosas y en las células endocrinas gástricas, principalmente en las células G, responsables de la liberación de gastrina; en el fundus este péptido se ha querido relacionar con la regulación de la motilidad gástrica. El GRP antral se libera a partir de los nervios entéricos a través, en parte de vías colinérgicas (nicotínicas) no muscarínicas (209). Sin embargo, dado que la atropina bloquea gran parte de la liberación vagal de gastrina, se duda de hasta qué punto el GRP se relaciona con este proceso. De la misma forma, el papel que juega el GRP endógeno tras la distensión gástrica, o como consecuencia de la presencia de componentes químicos de los alimentos en el estómago, está aun por determinar.

A pesar de todo, existe un papel real de este péptido, estimulando la liberación de gastrina (135) y mediando también la liberación de somatostatina (210). Esta última acción, ya dijimos, que podía ser por el efecto de la gastrina sobre la célula D fúndica o por la liberación de enterogastrona, que a su vez estimula la secreción de somatostatina por las células D de la mucosa antral y oxíntica (211,212).

El receptor del GRP pertenece a la súper familia de receptores relacionados con la proteína G, los cuales se asocian a su vez a la activación de la fosfolipasa C en otras células. Puesto que los análogos del AMPc y el forskolin también estimulan la liberación de gastrina, tanto el AMPc como el Ca^{2+} aparecen como agentes acopladores o segundos mensajeros en las células G (117).

Somatostatina.

La somatostatina inhibe experimentalmente la liberación de gastrina; pero la dosis de somatostatina suficiente para inhibir la secreción ácida es muy inferior a la que se necesita para inhibir la secreción de gastrina. Posiblemente la explicación a este hecho esté en que el efecto inhibitor de la somatostatina sobre las células ECL, ocurra de forma más rápida que sobre las células G. La inmunoneutralización de la somatostatina, aumenta la liberación de gastrina; tanto la basal como la estimulada, demostrando así que su liberación local, ejerce un efecto directo sobre las células G (109). Puede decirse por lo tanto, que la somatostatina actúa como un agente paracrino (111), suprimiendo la secreción de gastrina. Se conocen 5 subtipos de receptores de somatostatina siendo probablemente el subtipo 2 (SST2), el que se relaciona con las células G (110). El dibujo de la *Figura 8* muestra la regulación de la célula G antral.

CÉLULAS PRODUCTORAS DE SOMATOSTATINA O CÉLULAS D

Generalidades de las células D.

Se encuentran tanto en el antro como en el fundus y contienen somatostatina. Las del antro sobre todo, presentan prolongaciones que alcanzan tanto a la porción basal de las células G, como a la luz de las glándulas astrales (213). Las células D fúndicas se encuentran relativamente dispersas y no contactan con la luz de las glándulas fúndicas. Al igual que las células G, contienen gran número de gránulos

secretoras siendo algo más largas que las células ECL y más densas, dado que no tienen vacuolas vacías. Ya nos referimos en su momento a las numerosas semejanzas existentes entre estas células y las neuronas (214). Ambas entregan su información por contacto directo con las células efectoras.

Regulación de las Células D

Gastrina y CCK.

La liberación de somatostatina está regulada por mecanismos complejos aun no definidos claramente. La gastrina y la CCK estimulan la secreción de somatostatina a partir de las células D antrales que contienen 2 tipos de receptores: CCK-A y CCK-B (112). La CCK estimula la secreción ácida “*in vitro*” mediante la liberación de histamina, a partir de las células ECL (108), pero inhibe la secreción ácida “*in vivo*” (debida a la liberación de somatostatina a través de los receptores CCK-A). La gastrina también activa la célula D a través de un mecanismo de retroalimentación negativo, relacionado con la función tanto de las células G, como de las células ECL, a través de los receptores CCK-B (111,117,215).

Secretina/VIP

Como ya mencionamos, los péptidos de la familia secretina/VIP estimulan la liberación de somatostatina (125,127). Como consecuencia de dicha estimulación se suprime la liberación de gastrina, por lo que se puede deducir, que estos péptidos poseen la capacidad de inhibir la secreción ácida “*in vivo*”.

Acetilcolina

A diferencia de otras células de la mucosa gástrica, las células D tienen receptores muscarínicos inhibidores (subtipos M2 o M4) (134,209), con lo cual la estimulación vagal a través de estos, inhibe la liberación de somatostatina.

Ácido.

Las células D antrales (diferentes de las del fundus), se proyectan hacia la luz gástrica, siendo capaces de detectar componentes químicos de los alimentos. Es de particular interés que la somatostatina antral se libera en respuesta a la acidificación de la luz gástrica. Esto podría representar un mecanismo de supresión de liberación de gastrina a un pH intraluminal bajo (114), factor importante en la regulación fisiológica de la acidez gástrica. Tanto las células G como las células D del antro poseen mecanismos sensibles a determinadas condiciones químicas en la luz de las glándulas. Probablemente, los aminoácidos aromáticos eleven el Ca^{2+} en el interior de la célula G, y la reducción del pH antral a cifras menores de 3, aumente el mismo segundo mensajero en la célula D (117).

CAPÍTULO 6

ANÁLISIS DE IMAGEN Y MORFOMETRÍA.

ASPECTOS GENERALES

Dentro de la patología digestiva, el estómago representa unos de los órganos más afectados y mejor estudiados. La posibilidad de acceso al estómago de diferentes y variados métodos de exploración hace que éste sea uno de los campos de investigación más fecundos. La radiología proporcionó, ya a principios del siglo XX, importantes avances en el conocimiento de la patología gástrica y duodenal. Naciendo entonces el concepto de *diagnóstico por la imagen* en patología gástrica. La endoscopia permitió un acceso más directo al estómago. Las imágenes obtenidas eran más reales, pasaban de ser sombras indirectas a mostrar la realidad de la capa mucosa. Además de la obtención de una imagen clara, la endoscopia posibilitó la toma directa de muestras biópsicas de la mucosa, que condujo al diagnóstico histológico de lesiones en estadios previos a la cirugía o la necropsia. Este punto es de una importancia crucial pues, a partir de este momento fue posible el seguimiento por métodos incruentos de los procesos patológicos. Paralelamente, la fácil obtención de muestras biopsicas que mantenían la vitalidad celular proporcionó un material óptimo para estudios fisiológicos. El fácil acceso al estómago a través de canales endoscópicos de muy diverso instrumental, como sondas, electrodos, manómetros, transductores ecográficos, colorantes, etc., contribuyó al desarrollo vertiginoso del conocimiento de la fisiología y fisiopatología de las enfermedades del estómago.

El gran avance de los sistemas electrónicos en las últimas dos décadas, se ha dejado notar en el campo médico. La visión artificial electrónica ha permitido que aparatos totalmente exentos de capacidad visual, como el caso de la tomografía axial computarizada o la ecografía, se sirvan de técnicas matemáticas para representar planos de un sujeto vivo. En ambos casos se obtienen datos a través de mediciones en intervalos regulares sobre la franja circular de un paciente. Cada una de estas mediciones produce series de valores indicando reflejos, refracciones o intensidades, datos que son usados por un ordenador para reconstruir una imagen de la zona en estudio (216).

VISIÓN ARTIFICIAL

Captación de imágenes:

Los sistemas digitales no alcanzan la resolución de la imagen analógica. La información que ofrece una cámara de televisión sobre una imagen es una medida de la intensidad de luz en cada uno de los puntos de tal imagen. Ésta se puede considerar dividida por una cuadrícula la cual, en una cámara de televisión convencional, se refresca línea por línea cada 40 milisegundos. Durante este periodo, 625 líneas son refrescadas conteniendo cada una de ellas un equivalente de más de mil puntos de imagen. Este flujo de datos está en forma analógica y tiene que ser convertido a forma digital por un

convertidor de alta velocidad antes de que esta imagen sea introducida en el ordenador. Cada punto de imagen o píxel puede tener un valor variable de intensidad que depende de la cantidad de luz que reciba el punto del detector de imágenes. En forma digital cada píxel necesita 8 bits (unidades de memoria digital) para representarse. Esto se traduce en un flujo de 50 a 100 millones de bits por segundo. Si esta imagen es extraída de una cámara de TV en color la cantidad de datos sería aún mayor.

Manipulación de la imagen

Cuando una imagen ha sido digitalizada y puesta en un ordenador, puede ser manipulada para mejorarla o extraer más información de ella (217).

La imagen será almacenada en matrices de píxels, con un valor de intensidad para cada uno de ellos. Cada píxel usaría un byte (unidad de memoria representada por datos que contienen 8, 16 o 32 bits de información manejables en bloque por el procesador de un ordenador) que permitiría tener una escala de 256 niveles de grises. Con imágenes a color esto estaría repetido tres veces, una para cada uno de los colores principales rojo, verde y azul, lo que se conoce como sistema RGB (*red-green-blue*).

El primer paso en la manipulación de la imagen es la eliminación de interferencias o ruidos que pudieran haberse originado durante el proceso de recogida de imagen. Estos pueden ser eliminados localizando píxels que muestren un cambio de brillo anormal respecto a los que los rodean. El brillo es modificado a la media del brillo de los píxels contiguos.

Se puede homogeneizar la imagen corrigiendo la distorsión generada por las lentes de captación y modificándose el brillo mediante la obtención de histogramas de la intensidad de los píxels en la imagen (218).

El contraste de una imagen puede ser alterado también por medio del análisis de histogramas de la intensidad de píxels. Ya que el ojo humano no puede discriminar pequeñas variaciones de intensidad luminosa, es de gran utilidad la manipulación del contraste para extraer el máximo de información de una imagen, que de otra forma no sería posible. Una de las formas de esta manipulación es el pseudocoloreado. Esta técnica se puede utilizar para identificar ciertas intensidades de luz. De esta manera es posible diferenciar variaciones mínimas de intensidad de luz asignando un color diferente para cada rango de intensidad establecido. Esta técnica se ha utilizado para dar color a las viejas películas en blanco y negro.

La manipulación de imágenes digitalizadas por ordenador permite que partes de estas imágenes sean extraídas, modificadas, rotadas, ampliadas, coloreadas y tratadas matemáticamente, lo que abre nuevos campos de aplicación médica, industrial y general.

Reconocimiento de imágenes

El reconocimiento de imágenes es un proceso que comprende el análisis de una escena visual y la extracción de información de dicho análisis para obtener un mayor conocimiento del entorno de esa

imagen.

El siguiente paso consiste en la toma de decisiones o actuaciones basadas en los datos anteriores. Este es un campo aún poco desarrollado dentro de la inteligencia artificial. Hoy por hoy, y dentro de la medicina, la toma de decisiones o actuaciones esta reservada al hombre, pero quizá en un futuro no muy lejano se pueda desarrollar máquinas capaces de efectuar labores precisas basadas en el reconocimiento de imágenes, o visión artificial (219). Hoy día no existe ningún sistema de inteligencia artificial capaz de tomar una decisión inteligente basada en el conocimiento de imágenes (220).

MORFOMETRÍA. ASPECTOS GENERALES

La morfometría estudia los cambios morfológicos que ocurren en el organismo. Estos cambios pueden acontecer en sujetos afectos de una enfermedad determinada al ser comparados con un grupo control de sujetos sanos, o en diferentes estadios de una enfermedad, así como también en investigación como respuesta a un situación experimental dada en contraste con la situación basal u otras condiciones experimentales distintas (221). Estos cambios morfológicos informan sobre los mecanismos del daño o la progresión de las lesiones. El diagnóstico patológico constituye su principal aplicación práctica (222).

La manera tradicional de acercamiento al análisis morfométrico es descriptiva. Los patólogos reconocen visualmente características estructurales que consideran diferentes de lo normal. Si la enfermedad estudiada produce cambios cualitativos, el método descriptivo es suficiente, pero si se pretende analizar cambios cuantitativos el método será subjetivo y poco reproducible (223). En la práctica, para el diagnóstico de una lesión han de evaluarse datos cualitativos y cuantitativos.

La morfometría es especialmente útil para evaluar cambios cuantitativos, propósito para el cual es superior a la descripción visual. Además, puede apreciar cambios cualitativos mediante reconstrucciones tridimensionales o comparando las distribuciones de los parámetros morfométricos de lesiones reconocidas visualmente.

Un punto clave de los estudios morfométricos es el análisis estadístico, resultado de su naturaleza comparativa (224). La interpretación morfológica basada en la morfometría está ligada a posibles fallos. Si el análisis estadístico no es correcto puede abocar a interpretaciones erróneas: puede haber información que no se reconozca, o hipertrofiarse las conclusiones sobre los hallazgos obtenidos. Por esto el diseño de las investigaciones ha de ser cuidadoso y el proceso de recogida y análisis de datos ha de ser escrupulosamente escogido.

La morfometría es de gran utilidad en el estudio algunos parámetros histológicos. El método más simple y antiguo es el estudio de la densidad de las partículas, esencialmente núcleos celulares y mitosis (225). Si el corte histológico no es fino o la partícula a estudiar es demasiado grande, el número de partículas puede ser estimado erróneamente. El área a examinar debe ser representativa de la totalidad

de la estructura.

APLICACIONES DE LA MORFOMETRÍA AL ESTUDIO HISTOLÓGICO

Contaje de mitosis

El índice mitótico de especímenes de una estructura homogénea puede ser clasificado groseramente como bajo, moderado o alto. Si la dimensión del área de estudio es conocida puede expresarse como número de partículas por unidad de superficie. La densidad puede ser fácilmente establecida con propósitos diagnósticos contando el número de partículas en un número dado de campos microscópicos. Estas medidas han sido utilizadas a menudo en patología tumoral para comparar las densidades de mitosis de tumores benignos o malignos del mismo origen (226). En el cáncer de pulmón, el índice mitótico del tumor se relaciona con el pronóstico del paciente (227). La frecuencia mitótica definida como el número de células en mitosis dividida por el número total de células puede servir para evaluar el índice proliferativo de tumores en secciones de tejidos (228).

Contaje de células

El contaje de células suele ser de menor utilidad que el punto anterior, especialmente en el estudio de tumores. La densidad celular puede no estar en relación con la malignidad de un tumor determinado (229). Puede ser de cierto valor en neuropatología, y tiene un valor innegable en el estudio de hiperplasias.

Los sistemas electrónicos de análisis de imágenes pueden contar núcleos celulares, medir su área y establecer relaciones con la superficie citoplásmica. Las estimaciones de volúmenes y áreas medias pueden ser calculadas matemáticamente (230).

Diámetro nuclear y área nuclear

El diámetro nuclear se considera a menudo medida del volumen nuclear. Esta ecuación se ve afectada por algunos errores: Los núcleos celulares no son totalmente redondos por lo que, la medida de su diámetro mayor no es suficiente para conocer su volumen. Si se considera a los núcleos como esferoides, desde el punto de vista geométrico, la estimación de su volumen será más exacta al medir sus diámetros mayor y medio (231). Además, el corte histológico puede no coincidir con el centro geométrico del núcleo. En consecuencia, el número y dimensiones de los núcleos son a menudo subestimado. Estos errores pueden ser parcialmente evitados por procedimientos matemáticos (232). Los estudios de los parámetros nucleares con la ayuda de analizadores de imágenes indirectos, como los videoplanímetros, con frecuencia subestiman las medidas, por lo que deben ser controlados mediante validación estadística de la muestra de la población estudiada y mediante repetición del proceso por el propio o diferentes observadores (233, 234). Los errores de los planímetros han sido corregidos con los

nuevos sistema de análisis de imagen directos (235).

Las diferencias entre distintas variables que incluyen perímetros y áreas nucleares y celulares, y la relación núcleo-citoplasmática pueden ser estudiadas con analizadores de imágenes y evaluadas mediante el test de Wilcoxon (236).

La tendencia de los núcleos celulares a aparecer agrupados puede ser evaluada dividiendo el tamaño medio del grupo de núcleos por el área nuclear media (237).

Fracciones de volumen

Cuando un componente morfológico está compuesto de varios subcomponentes, la densidad de volumen de un determinado subcomponente puede ser determinada mediante la relación entre la fracción de volumen del subcomponente y la del componente completo. Por ejemplo, la densidad de volumen de las células G de la mucosa gástrica es una estimación mejor de su concentración que de sus simples fracciones de volumen (238). La superficie de los hepatocitos medida como área celular dividida por el número de núcleos, se correlaciona con la presión intrahepática (239).

Los analizadores de imágenes pueden calcular rápidamente las fracciones de volumen. Los sistemas automáticos identifican los distintos componentes gracias a sus distintas densidades ópticas, obviando los problemas de los sistemas semiautomáticos que precisaban de delimitación manual pudiendo alterar los resultados.

Superficie por unidad de volumen y longitud por unidad de volumen

La comparación de estas variables morfométricas puede proporcionar datos de las relaciones espaciales de los componentes tisulares. El área por unidad de volumen puede ser deducida a partir del número de intersecciones de la superficie problema con una rejilla de líneas de longitud conocida. Esta relación representa el grado de plegamiento de la superficie y puede ser empleada para estudiar los cambios arquitecturales de diferentes estructuras biológicas (240).

La relación de la longitud y la unidad de volumen de estructuras elongadas de distribución aleatoria hace referencia al número de perfiles de estas estructuras interceptadas por el corte histológico por unidad de superficie.

El área de la membrana nuclear por unidad de volumen es una medida del plegamiento, debido a la configuración irregular del núcleo.

Calibre

El calibre de estructuras cilíndricas, como los túbulos, puede ser medido directamente en secciones histológicas y corresponde al diámetro transversal del perfil menor interceptado por las secciones. Pueden determinarse variables adicionales relacionadas con el calibre. En las arterias pueden medirse los volúmenes lumbales, de la íntima y media y la longitud de la elástica. El grado de

constricción arterial puede ser estimado por el índice de la íntima, un factor deducido de las variables anteriores y que representa la medida del área de la íntima corregida por la cantidad de plegamiento de la elástica.

Grosor

El grosor de una lámina puede ser medido directamente en cortes transversales, pero estos son difíciles de obtener. En el intestino se puede considerar un corte perpendicular al plano luminal sólo si la misma glándula alcanza desde la luz a la *muscularis mucosae*. El grosor de la mucosa en cortes oblicuos es superior al de cortes perpendiculares. Cuando hay cortes oblicuos puede calcularse el grosor de la mucosa T a partir de la siguiente fórmula: $T = w(1 - 1/Q^2)^{1/2}$, donde w es el grosor de la mucosa interceptado en el corte y Q es la media de la relación axial de los perfiles glandulares (241).

Forma

La forma de estructuras finitas puede ser estimada comparando diferentes factores dimensionales. Este es un proceso fácil de ejecutar cuando se dispone de un analizador de imágenes programado para evaluar áreas, perímetros y perfiles automáticamente. El factor de forma ($S_f = 4\pi \text{área}/\text{perímetro}^2$) varía entre 0 y 1 correspondiendo ella las estructuras perfectamente redondas (242). Su estimación puede ser útil para estudiar el estado de los capilares.

Reconstrucciones tridimensionales

Los anteriores datos morfométricos ofrecen una información bidimensional de la estructura estudiada, pudiendo sólo evaluar indirectamente estructuras espaciales. Las reconstrucciones tridimensionales reproducen directamente la arquitectura de las estructuras (243). El método de efectuar una reconstrucción tridimensional consiste en archivar y comparar perfiles de las estructuras en cortes histológicos seriados. Estos métodos han permitido conocer que los adenomas de la poliposis rectocólica familiar se originan en la porción media de la mucosa y desde allí se extiende a la lámina propia y migran a la superficie luminal (244), o que los nódulos de la cirrosis están interconectados y forman un sistema continuo, estando rodeados y comprimidos por los vasos (245).

Perspectivas

La recogida de datos morfológicos a través de la morfometría es útil en la definición de estructuras biológicas anormales. Los resultados son más objetivos que los obtenidos de la simple descripción histológica.

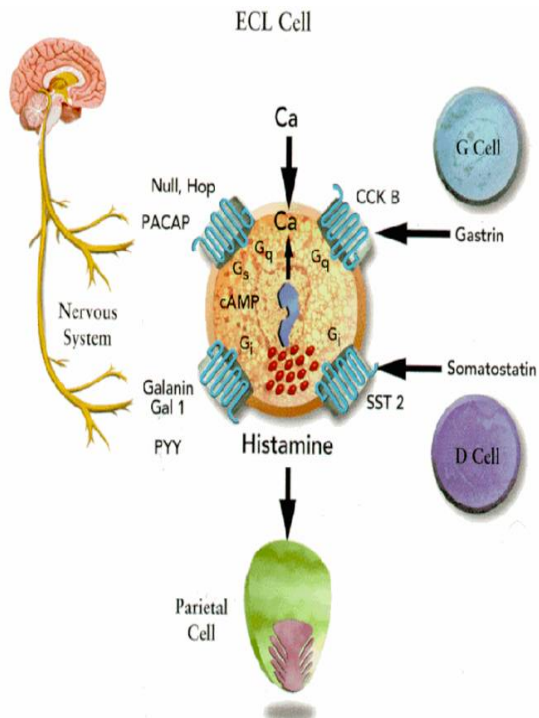
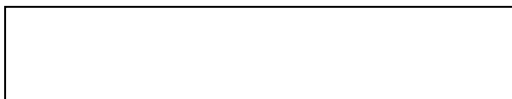
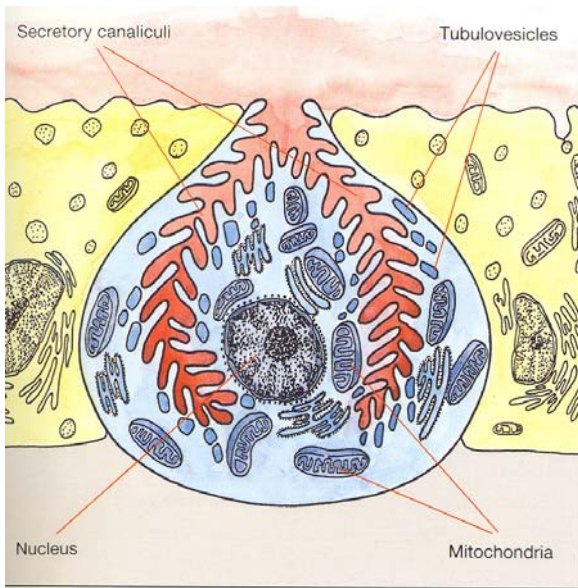
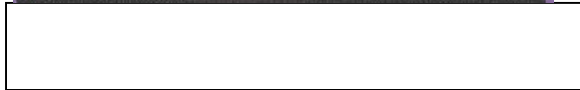
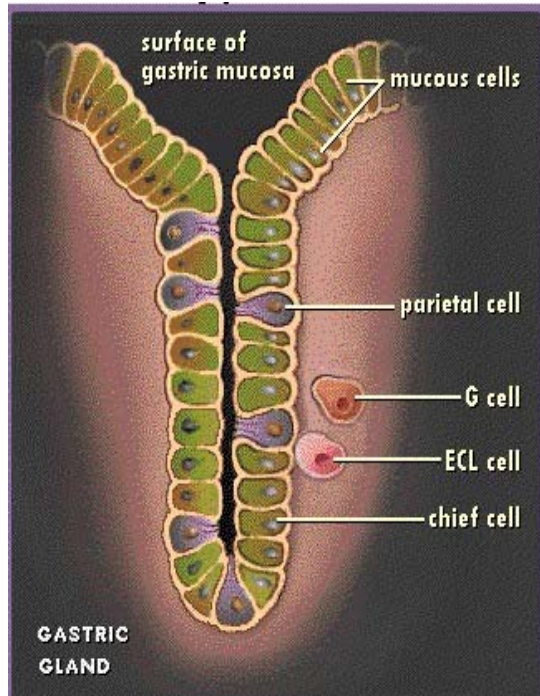
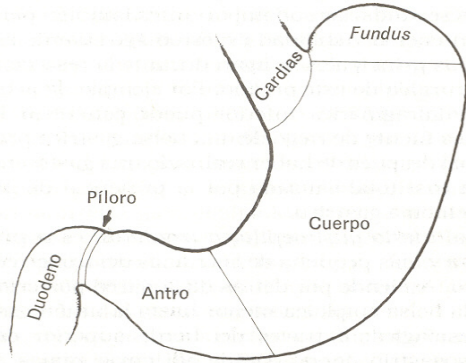
La morfometría sirve para dos propósitos principales:

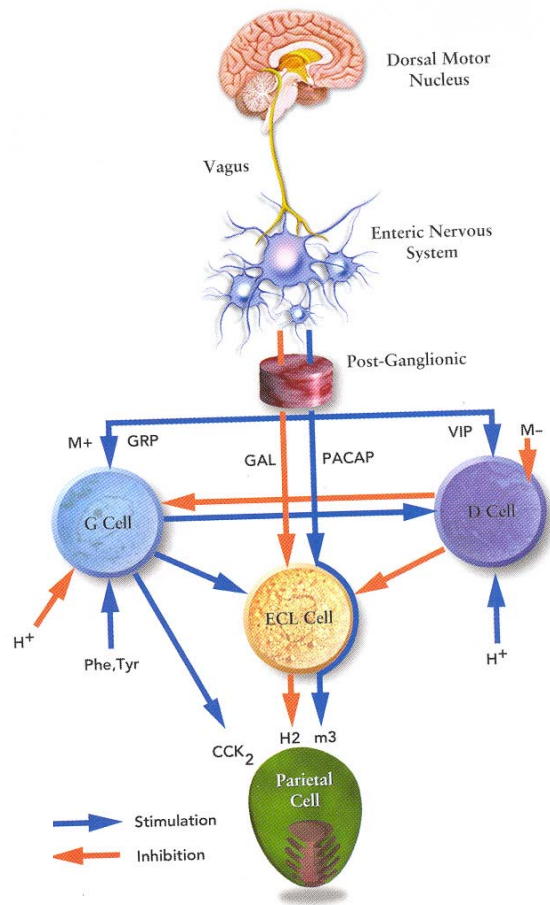
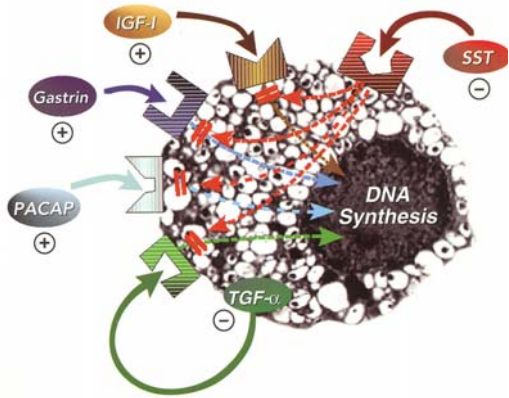
- 1) Identificación y diferenciación de las estructuras anormales, como método de ayuda al diagnóstico histológico.

2) Proporcionar información de la patogénesis e historia natural de una enfermedad, especialmente cuando se comparan valores de diferentes variables.

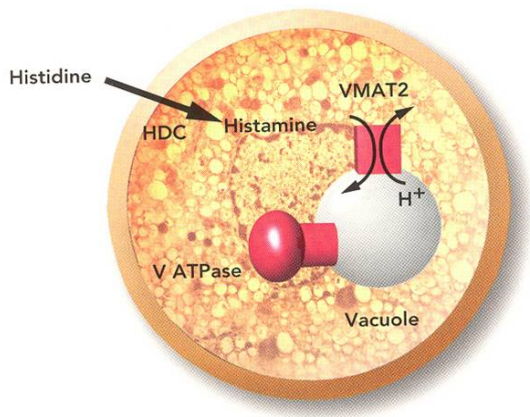
Uno de los objetivos de la morfometría es la recolección de la información necesaria para desarrollar cartas de flujo para el diagnóstico automático de especímenes histológicos. Este sin embargo es difícil de conseguir debido a la gran cantidad de errores de estimación que deben ser evitados en el análisis de un espécimen, como la orientación del tejido, grosor del corte e irregularidades de las tinciones.

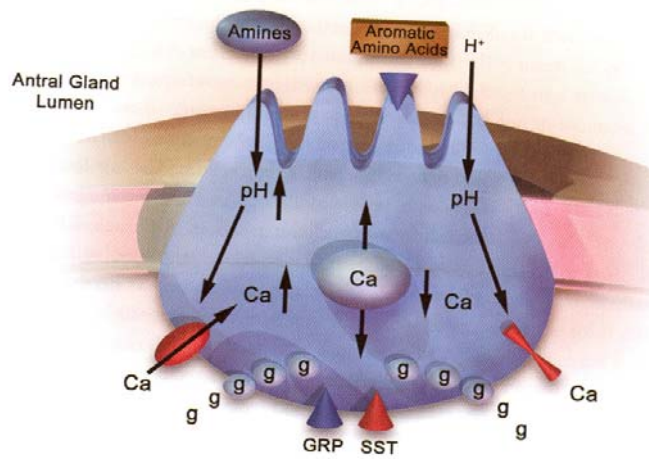
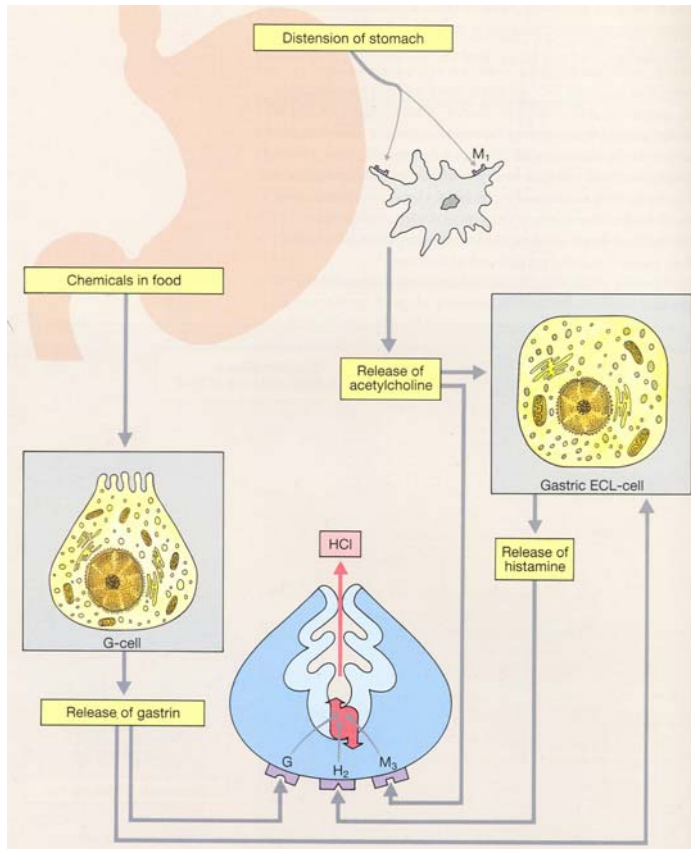
II. FIGURAS





ECL Cell





III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Presentamos el estudio de cuatro piezas de gastrectomía total en las que se ha realizado un muestreo histológico de todo el área de la mucosa gástrica, habiéndose sectorizado y codificado cada punto de la toma histológica. Sobre estas muestras se han estudiado las poblaciones de células neuroendocrinas presentes en la mucosa. Concretamente las densidades de células D, G y ECL.

El presente trabajo supone una aportación inédita al conocimiento de la distribución de las poblaciones de células endocrinas de la mucosa gástrica, ya que los trabajos disponibles hasta la fecha, se basan en la obtención de muestras por endoscopia, de tamaño inferior a 5mm y que con dificultad alcanzan la *muscularis mucosae*. El muestreo obtenido por endoscopia siempre es escaso y dada la variabilidad topográfica de las densidades celulares de la mucosa gástrica no es posible un conocimiento preciso de la distribución de estas poblaciones celulares. Es justamente, esta limitación la que hemos pretendido subsanar con el estudio de piezas completas de resección gástrica, proyecto que no había sido acometido con anterioridad.

HIPÓTESIS

Planteamos como hipótesis que la distribución de las células neuroendocrinas del estómago debe tener zonas de diferente densidad relacionadas con la actividad funcional de la secreción gástrica.

OBJETIVOS

Según la hipótesis planteada nos proponemos los siguientes objetivos:

1. Utilizar la morfometría computerizada para cuantificar y hacer un mapa de la distribución de las poblaciones de células neuroendocrinas G, D y ECL de la mucosa gástrica.
2. Aplicar esta técnica al estudio del estómago completo obtenido mediante gastrectomía total.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio cerrado descriptivo transversal, que supone la obtención y procesado adecuado de muestras de mucosa gástrica de 4 estómagos completos procedentes de gastrectomía total. Y posterior estudio morfométrico.

El estudio se ha realizado en el Departamento de Medicina de la Universidad de Granada y ha contado con la colaboración de los Servicios de Aparato Digestivo y Anatomía Patológica del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla.

SELECCIÓN DE PIEZAS ANATÓMICAS

Se obtuvieron 4 estómagos completos mediante gastrectomía total. Se guardaron en recipientes individuales con formaldehído al 10% y a temperatura ambiente, en el mismo quirófano, se etiquetaron cada uno de ellos con un código numérico de identificación, y se transportaron inmediatamente al Servicio de Anatomía Patológica.

Procedencia de las piezas anatómicas:

Pieza número 1: corresponde a un varón de 45 años de edad, con antecedentes de ulcus duodenal y *Helicobacter pylori* positivo; sin otra patología concomitante.

Pieza número 2: corresponde a un varón de 67 años de edad, con antecedentes de gastritis crónica y ulcus duodenal con *H.pylori* positivo.

Pieza número 3: corresponde a un varón de 62 años de edad, con antecedentes de úlcera gástrica y *H.pylori* positivo.

Pieza número 4: corresponde a un varón de 71 años de edad, con antecedentes de úlcera duodenal y *H.pylori* positivo.

PROTOCOLO HISTOLÓGICO

Obtención de muestras histológicas:

Las piezas anatómicas se abrieron por la curvatura mayor, se extendieron sobre una cuadrícula numerada. Se recogieron muestras para biopsia de las distintas secciones en las que se había dividido la pieza anatómica. Se incluyeron en bloques de parafina, se cortaron a 5 micras de espesor.

Codificación de las muestras histológicas:

Cada muestra estaba identificada con un código numérico compuesto por seis dígitos. Los cuatro primeros números corresponden al estómago de donde se tomó la biopsia y los dos siguientes se corresponden con el lugar señalado en la cuadrícula numerada, sobre la que se extendió la pieza anatómica.

Tinciones Histológicas:

A cada muestra de biopsia destinada a estudios de microscopía óptica se le realizaron dos tinciones: hematoxilina-eosina (HE) y cromogranina.

Inmunohistoquímica

Para la detección de las poblaciones de células G se hizo uso de un anticuerpo policlonal antigastrina-17 (MD Granada), que reacciona con las fracciones sulfatadas y no sulfatadas de gastrina-17 y gastrina-34. Se utilizó sobre los cortes de mucosa incluida en parafina y también tras incubación a temperatura ambiente. El revelado con peroxidasa confiere, a las células positivas, un intenso color rosado de fácil identificación.

Las células D fueron identificadas en las muestras de mucosa antral mediante un anticuerpo policlonal de conejo (BioGenex Lab., San Ramon, California) y según el mismo procedimiento. La evaluación de los hallazgos histológicos se hizo sobre cortes de las biopsias teñidos con HE y somatostatina, de acuerdo con la clasificación de Sydney (1990) modificada por el International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994 (Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Am J Surg Pathol 1996; 20:1161-81). La valoración se realizó siempre por un mismo anatomopatólogo que analizó cada una de las muestras de modo subjetivo.

ESTUDIO MORFOMÉTRICO

El estudio morfométrico de las poblaciones celulares se lleva a cabo mediante la digitalización y el análisis computerizado de las muestras de biopsias, preparadas para su visualización al microscopio.

Grabación y digitalización de imágenes.

El proceso del análisis de imagen inicialmente, es el mismo en todos los casos. La imagen del portaobjetos colocado en el microscopio era captada por una cámara de televisión acoplada a un analizador de imágenes. El analizador de imagen es un ordenador especializado. En nuestro caso constaba de una unidad central de procesamiento o CPU, con un procesador Intel Pentium-4 de 2.4GB con memoria RAM de 512 Mbytes. Cuenta con unidad de disco flexible de 3.25 pulgadas, unidad de disco duro de 40 GBytes de memoria, unidad de disco DVD-ROM y grabadora de DVD y CD. Tiene una tarjeta gráfica Nvidia G Force de 64Mb de RAM que sirve a un monitor multifrecuencia que alcanza 1.280 X 1.024 pixels de resolución. Dispone de una tarjeta digitalizadora en color (color frame grabber) Matrox Meteor con capacidad para 4 imágenes en color de 1.024 X 1.024 pixels de resolución.

La tarjeta digitalizadora, está dotada de una salida para un monitor multifrecuencia de alta resolución Itek-iiyama de 21 pulgadas. Para el análisis de imagen usamos el programa Visilog 5.0.2 para Windows de Noesis Vision Inc. (St Laurent, Quebec, Canadá).

Procesado de las imágenes

La imagen histológica original era captada en color por la cámara de televisión, acoplada al microscopio óptico, digitalizada en formato de 768 X 512 pixels, en color RGB, y archivada en un disco DVD, una vez codificada. De cada muestra teñida con los anticuerpos específicos se grabaron y digitalizaron entre 2 y 5 imágenes.

Todo el procedimiento de análisis se realiza de modo automático mediante macroprocesos que utilizan rutinas escritas en lenguaje C. De esta manera, la lectura del archivo de imagen codificado, los filtros, la discriminación densitométrica, la escritura de nuevas imágenes auxiliares y los cálculos de parámetros prescinden del operador, que sólo participa interactivamente en el dibujo de los contornos de las máscaras, garantizando el análisis a ciegas de las muestras.

Estudio de las densidades celulares:

En la mucosa del antro gástrico se distingue una zona superficial (A), constituida por las células mucosas superficiales de las criptas, y una zona profunda (B), constituida por las células mucosas de las glándulas profundas. La división entre ambas zonas se establece a nivel de los cuellos glandulares. La mucosa del cuerpo gástrico se divide en tres zonas: zona superficial, constituida por el epitelio de superficie de las criptas (A), zona intermedia glandular, ocupada fundamentalmente por células parietales (B), y zona profunda glandular, ocupada por células principales (C).

El procesado de imágenes, con el fin de medir las áreas correspondientes a estas zonas para el cálculo de las densidades celulares, sigue los siguientes pasos:

1. Calibración: grabación de una rejilla graduada (cámara cuentaglóbulos Neubauber) para cada aumento del microscopio, con el fin de establecer escalas de calibración para la conversión de medidas píxel a medidas métricas decimales.
2. Grabación: proceso por el que se digitalizan las imágenes reales procedentes del microscopio, captadas con la cámara de TV en formatos estándares y en subdirectorios y discos específicos.
3. Escritura del programa en lenguaje C: en éste se programan los pasos del análisis para su realización automática, impidiendo así variaciones individuales en el desarrollo de los cálculos de los parámetros preestablecidos.
4. Escrituras de máscaras binarias: es la parte interactiva del programa. El investigador delimita manualmente los contornos de la imagen, excluyendo los bordes mal iluminados. La conversión de la zona delimitada a una máscara binaria permite su medición expresada en milímetros cuadrados; esto servirá para el cálculo final de la densidad celular.

5. Discriminación de estructuras: la imagen original se convierte a una imagen de 256 niveles de gris, desde el negro absoluto (nivel 0) hasta el blanco absoluto (nivel 255). Las estructuras fuertemente teñidas tienen rangos de grises entre 60 y 90, y pueden ser extraídas del resto de la imagen original. Las características digitales de la imagen permiten seleccionar un rango de intensidad lumínica que sea común a las estructuras que interesan analizar.
6. Cálculo de parámetros:
 - i. Densidad celular: se considera densidad celular (DC) a la proporción del área mucosa delimitada en la máscara binaria (S), ocupada por las células elegidas (ST). Se expresa, por tanto, como porcentaje.
 - ii. Células por milímetro cuadrado: en el caso particular del análisis de células neuroendocrinas o de células inflamatorias, interesa conocer el número de estructuras individuales que han sido teñidas con el marcador específico por unidad de área. Conociendo el área ocupada por la máscara binaria y el número de estructuras presentes en esa zona concreta, se infiere directamente el número de células por milímetro cuadrado de la mucosa.
7. Base de datos: los datos numéricos obtenidos se transfirieron automáticamente a una base de datos creada ex profeso para este estudio y posteriormente, eran enviados al programa de análisis estadístico.

Valoración semicuantitativa.

Paralelamente a la grabación de las imágenes histológicas de las muestras, se elabora un cuaderno de campo donde se consignan los siguientes datos: código de la muestra, tipo de tinción, lugar de la muestra (cuerpo: 1 ó antro:2), intensidad del infiltrado inflamatorio (gradación de 1 a 3), profundidad de la muestra, (1: sólo cripta, 2: sólo glándula y 3:criptas y glándulas), valoración subjetiva del investigador (0: ausencia de células, 1: pocas células, 2: moderadas células, 3: abundantes células y 4: error o espécimen inservible) y comentarios, donde se hacen constar: la buena o mala orientación de la muestra, así como la calidad de la imagen obtenida.

También se realizó una cuantificación visual del número de células neuroendocrinas en las glándulas y en las criptas, y la suma total de ambas en cada imagen analizada, para posteriormente contrastar este número con el cálculo automático de células que realizaba el programa informático. Ante la existencia de discrepancias importantes entre el número de células calculadas automáticamente y las contadas visualmente se procedía a repetir la cuantificación automática. Si tras este nuevo procesado seguían existiendo grandes discrepancias entre el recuento celular automático y el manual, se desechaba definitivamente la referida imagen como fuente de datos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Estadística descriptiva.

Las variables cuantitativas se describen como media aritmética y mediana

Programa Informático.

En el análisis de variables y su tratamiento estadístico se ha utilizado el programa SPSS 11.5 para Windows XP.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS POBLACIONES CELULARES

Se dibuja un mapa de la distribución de las diferentes poblaciones celulares, asignando una intensidad de color a cada rango de densidad celular. Para medir la densidad de células productoras de cromogranina se escogió el color azul, para la densidad de células D (somatostatina), el verde y para las células G (gastrina), el color rosa.

Las densidades celulares se agruparon en 11 categorías (desde $<10 \text{ cél/mm}^2$ a $> 190 \text{ cél/mm}^2$), a cada categoría se le asignó un rango de intensidad de color distinto y gradual, utilizando el sistema RGB (red-green-blue). Así pues, las densidades celulares teñidas con cromogranina se representan desde el azul más intenso para las $> 190 \text{ cél/mm}^2$ al blanco para las $<10 \text{ cél/mm}^2$. Siendo igual para las poblaciones de células G y D.

Una vez observada la distribución de las distintas estirpes celulares estudiadas, se crea un mapa con una escala de tres intensidades de color (alto, medio y bajo) para representar la distribución de manera más práctica.

Para conseguir plasmar la distribución neuroendocrina en el estómago, se utilizan los procesadores de imágenes PCStitch.7, Paint Shop Pro 4.12, Adobe Photoshop 5.0, MGI PhotoSuite 4.00.

RECOPIACIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Para la recopilación bibliográfica se ha utilizado el programa informático *Reference Manager* con acceso a la base de datos *Medline*, revisándose los trabajos publicados hasta el 31 de mayo de 2005. Los trabajos fueron descargados en formato PDF desde la Biblioteca *on line* de la Universidad de Granada.

V. RESULTADOS

DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

Según el protocolo establecido para la toma de muestras, los estómagos se dividieron en 83 áreas codificadas para las tres primeras piezas, y en 65 para la cuarta; consiguiendo un total de 314 áreas codificadas de las que se obtuvieron 942 muestras. De éstas, 758 se consideraron óptimas para su análisis microscópico.

Para la tinción de cromogranina se utilizaron 279 muestras; para la tinción de somatostatina 199 y para la gastrina 280. (tabla 1)

Tabla 1

	pieza 1	pieza 2	pieza 3	pieza 4	TOTAL
<i>áreas de codificación</i>	83	83	83	65	314
<i>muestras todas tinciones</i>	249	249	249	249	942
<i>muestras válidas todas tinciones</i>	195	219	184	160	758
<i>muestras perdidas todas tinciones</i>	54	30	65	35	184
<i>muestras válidas cromogranina</i>	73	76	71	59	279
<i>muestras válidas gastrina</i>	45	64	49	41	199
<i>muestras válidas somatostatina</i>	77	79	64	60	280
<i>muestras perdidas cromogranina</i>	10	7	12	6	35
<i>muestras perdidas gastrina</i>	38	19	34	24	115
<i>muestras perdidas somatostatina</i>	6	4	19	5	34

DATOS MORFOMÉTRICOS
POBLACIÓN DE CÉLULAS D

Para la medición de la densidad de las células D, se utilizaron muestras teñidas con anticuerpo monoclonal anti-somatostatina.

En todas las piezas anatómicas, la población de células D presenta mayor densidad en las glándulas respecto a las criptas. Consiguiendo valores mayores en el antro gástrico.

Los resultados obtenidos se muestran en las tablas 2 a 6 y en el mapa 1.

Tabla 2

DENSIDAD CÉLULAS D EN PIEZA NÚMERO 1						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²
Antro prepilórico						
cara anterior	6,59	52,88	23,81	9,21	47,23	26,96
cara posterior	17,92	77,38	54,73	18,05	84,40	51,27
curvadura mayor	17,21	79,09	49,18	18,33	97,22	63,01
curvadura menor	14,49	48,41	34,65	23,06	52,91	39,07
Antro alto						
cara anterior	7,71	121,20	60,00	9,60	144,95	74,04
cara posterior	0,00	119,48	60,72	0,61	94,03	45,99
curvadura mayor	6,07	97,52	58,38	12,50	147,13	72,22
curvadura menor	14,66	72,18	32,89	10,47	72,14	38,69
Cuerpo medio						
cara anterior	3,71	10,91	8,59	5,11	15,99	12,14
cara posterior	0,00	26,92	21,01	1,30	32,49	19,77
curvadura mayor	0,00	22,87	17,75	3,85	35,74	23,62
curvadura menor	8,71	12,09	10,77	8,71	12,09	10,77
Cuerpo alto						
cara anterior	7,94	38,25	30,88	9,43	58,39	40,58
cara posterior	0,00	28,80	19,56	3,35	27,04	19,50
curvadura mayor	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
curvadura menor	3,68	33,51	22,40	3,74	39,49	27,85

Tabla 3

DENSIDAD CÉLULAS D EN PIEZA NÚMERO 2						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²
Antro prepilórico						
cara anterior	6,25	10,23	7,23	8,04	85,64	60,05
cara posterior	3,02	23,04	16,57	5,48	23,08	12,38
curvatura mayor	7,11	34,63	21,06	13,21	34,04	20,58
curvatura menor	2,05	6,67	0,75	9,20	90,92	33,98
Antro alto						
cara anterior	68,63	316,40	169,27	57,26	348,69	194,62
cara posterior	96,15	397,26	215,55	77,29	394,45	214,86
curvatura mayor	25,38	247,10	154,57	45,49	269,62	158,65
curvatura menor	42,47	325,68	180,71	0,00	0,00	0,00
Cuerpo medio						
cara anterior	2,69	38,36	23,05	11,18	36,56	25,55
cara posterior	4,56	38,23	20,28	3,70	48,40	24,38
curvatura mayor	10,30	48,57	30,09	17,65	87,71	48,70
curvatura menor	2,55	68,69	29,65	2,55	63,19	31,00
Cuerpo alto						
cara anterior	0,72	10,60	6,82	11,18	36,56	25,55
cara posterior	1,53	12,50	10,27	3,70	48,40	24,38
curvatura mayor	1,65	10,57	6,67	17,65	87,71	48,70
curvatura menor	2,32	15,31	10,75	2,55	63,19	31,00

Tabla 4

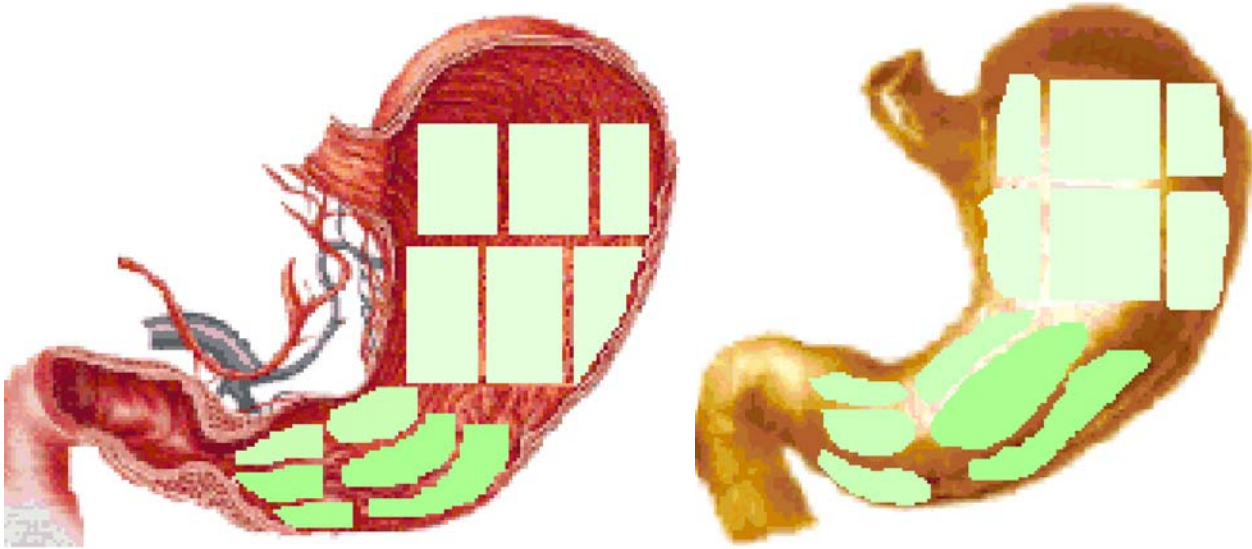
DENSIDAD CÉLULAS D EN PIEZA NÚMERO 3						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²
Antro prepilorico						
cara anterior	6,25	10,23	7,23	1675,28	694,34	1174,61
cara posterior	3,02	23,04	16,57	3,47	77,48	46,11
curvatura mayor	7,11	34,63	21,06	33,88	273,82	140,66
curvatura menor	2,05	6,67	0,75	5,39	32,26	18,28
Antro alto						
cara anterior	68,63	316,40	169,27	4,03	70,68	40,01
cara posterior	96,15	397,26	215,55	1,58	74,32	40,63
curvatura mayor	25,38	247,10	154,57	11,48	89,43	49,97
curvatura menor	42,47	325,68	180,71	1,30	71,44	34,02
Cuerpo medio						
cara anterior	2,69	38,36	23,05	8,82	41,91	26,52
cara posterior	4,56	38,23	20,28	2,45	64,97	32,77
curvatura mayor	10,30	48,57	30,09	1,95	33,34	17,27
curvatura menor	2,55	68,69	29,65	4,50	92,29	38,61
Cuerpo alto						
cara anterior	0,72	10,60	6,82	27,28	58,43	47,94
cara posterior	1,53	12,50	10,27	6,73	61,16	38,30
curvatura mayor	1,65	10,57	6,67	22,27	29,48	26,34
curvatura menor	2,32	15,31	10,75	20,32	25,84	19,91

Tabla 5

DENSIDAD CÉLULAS D EN PIEZA NÚMERO 4						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²
Antro prepilórico						
cara anterior	75,81	124,13	105,29	75,81	124,13	105,29
cara posterior	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
curvatura mayor	9,80	64,68	40,30	9,80	64,68	40,30
curvatura menor	28,60	37,33	33,60	28,60	37,33	33,60
Antro alto						
cara anterior	21,34	70,09	54,69	25,14	65,46	48,87
cara posterior	7,47	54,33	43,99	13,17	49,41	35,99
curvatura mayor	16,41	63,44	50,16	23,73	89,13	58,14
curvatura menor	25,11	40,62	30,19	0,00	0,00	0,00
Cuerpo medio						
cara anterior	5,87	79,41	55,30	11,46	80,96	57,41
cara posterior	4,62	80,99	50,50	4,37	76,08	48,07
curvatura mayor	10,85	82,05	43,87	9,39	66,75	38,90
curvatura menor	14,27	39,94	24,87	15,12	47,50	35,10
Cuerpo alto						
cara anterior	10,76	31,75	26,02	10,07	39,68	30,06
cara posterior	5,18	30,88	19,23	5,76	35,75	24,72
curvatura mayor	6,36	31,33	21,33	8,23	37,39	28,59
curvatura menor	2,90	30,82	20,69	3,06	49,23	29,53

Tabla 6

DENSIDAD CÉLULAS D TOTALES						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²
Antro prepilórico						
cara anterior	41,20	88,50	64,55	442,08	237,84	341,73
cara posterior	3,02	76,50	44,39	9,00	61,65	36,59
curvadura mayor	13,51	71,89	44,74	18,81	117,44	66,14
curvadura menor	8,34	28,13	21,37	16,56	53,36	31,23
Antro alto						
cara anterior	14,53	95,65	57,35	24,01	157,45	89,38
cara posterior	4,70	97,83	52,35	23,16	153,05	84,37
curvadura mayor	11,24	87,89	54,27	23,30	148,83	84,75
curvadura menor	19,88	60,44	31,54	5,89	71,79	36,35
Cuerpo medio						
cara anterior	4,79	32,75	18,66	9,14	43,85	30,40
cara posterior	2,79	50,37	27,13	2,95	55,49	31,24
curvadura mayor	5,15	39,95	24,58	8,21	55,89	32,12
curvadura menor	5,63	50,84	26,84	7,72	53,76	28,87
Cuerpo alto						
cara anterior	9,35	35,00	28,45	11,98	41,84	31,38
cara posterior	0,77	29,84	19,39	4,67	34,85	23,40
curvadura mayor	6,36	31,33	21,33	10,95	25,84	20,65
curvadura menor	3,29	30,35	19,75	7,41	32,11	21,85



Mapa 1. DENSIDAD DE CÉLULAS D

POBLACIÓN DE CÉLULAS G

Para la medición de la densidad de las células G, se utilizaron muestras teñidas con anticuerpo policlonal antigastрина-17.

Según los valores que se muestran en las tablas 7 a 11, la mayor densidad de células G se encuentra en el antro gástrico. Representándose su distribución en el mapa 2.

Tabla 8

DENSIDAD CÉLULAS G EN PIEZA NÚMERO 2						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	<i>cél.crip/mm²</i>	<i>cél.glan/mm²</i>	<i>cél.total/mm²</i>	<i>cél.crip/mm²</i>	<i>cél.glan/mm²</i>	<i>cél.total/mm²</i>
Antro prepilórico						
cara anterior	0,12	4,08	2,63	1,30	26,64	19,05
cara posterior	1,57	15,84	10,29	2,09	10,74	7,41
curvatura mayor	4,21	10,23	7,99	0,97	2,80	1,02
curvatura menor	0,13	16,39	13,82	1,97	13,46	5,37
Antro alto						
cara anterior	7,17	87,56	59,44	9,83	94,53	57,69
cara posterior	10,27	62,06	34,92	9,03	59,77	33,30
curvatura mayor	10,78	53,35	35,54	10,00	56,59	35,25
curvatura menor	10,00	68,17	40,68	10,62	75,74	38,54
Cuerpo medio						
cara anterior	6,41	37,75	21,58	5,79	34,04	22,57
cara posterior	8,19	49,91	28,76	7,82	52,89	31,64
curvatura mayor	12,23	24,75	19,85	11,63	29,48	21,63
curvatura menor	3,67	73,38	48,90	4,27	70,20	45,59
Cuerpo alto						
cara anterior	0,93	21,25	15,38	8,47	25,54	17,04
cara posterior	3,16	8,27	6,19	2,49	19,11	12,89
curvatura mayor	0,00	10,25	8,04	1,99	18,08	13,31
curvatura menor	0,86	0,00	0,73	0,90	0,95	0,88

Tabla 9

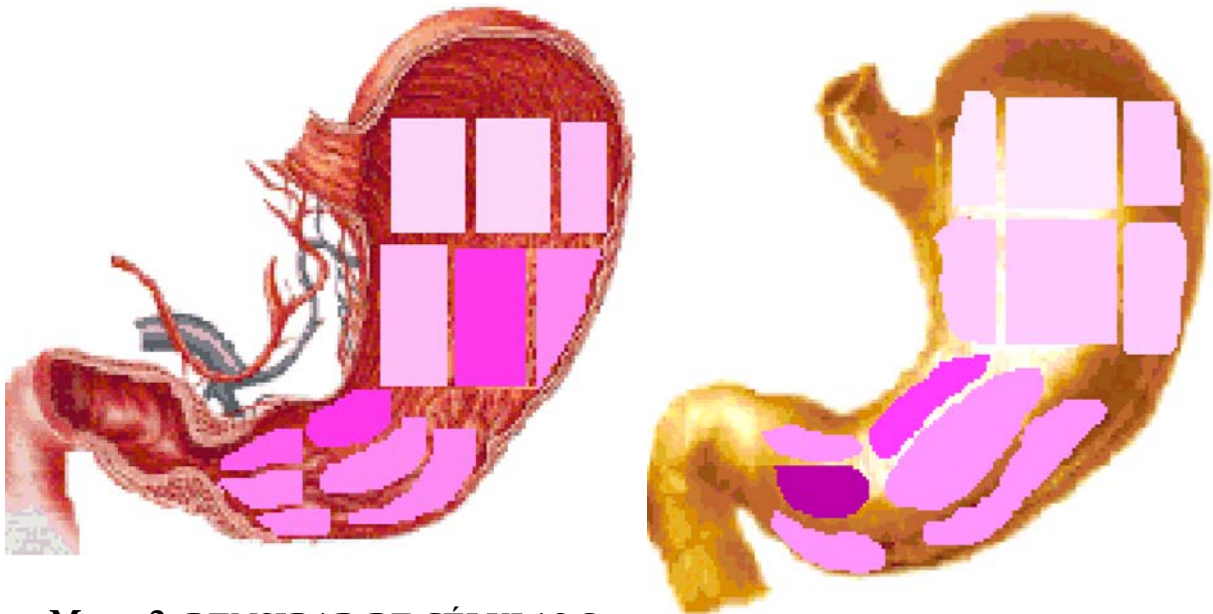
DENSIDAD CÉLULAS G EN PIEZA NÚMERO 3						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²
Antro prepilórico						
cara anterior	0,00	116,76	67,68	0,00	116,76	67,68
cara posterior	18,99	122,86	76,51	18,99	122,86	76,51
curvadura mayor	1,93	77,75	40,66	1,93	77,75	40,66
curvadura menor	8,24	124,34	70,75	8,24	124,34	70,75
Antro alto						
cara anterior	0,00	161,25	77,31	1,56	163,47	84,70
cara posterior	1,81	197,75	106,18	3,17	175,60	90,61
curvadura mayor	9,68	108,94	58,11	8,74	104,64	54,30
curvadura menor	14,64	205,91	113,34	12,46	190,75	107,30
Cuerpo medio						
cara anterior	14,59	78,38	48,65	12,30	77,91	47,23
cara posterior	0,00	174,09	94,54	8,98	195,87	97,60
curvadura mayor	1,76	87,75	49,68	1,76	87,75	49,68
curvadura menor	4,71	77,55	37,39	4,91	104,50	56,62
Cuerpo alto						
cara anterior	0,00	74,78	37,77	0,00	74,78	37,77
cara posterior	4,69	26,83	13,85	4,69	26,83	13,85
curvadura mayor	0,00	100,84	56,76	0,00	100,84	56,76
curvadura menor	0,00	40,37	23,73	0,00	40,37	23,73

Tabla 10

DENSIDAD CÉLULAS G EN PIEZA NÚMERO 4						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²
Antro prepilórico						
cara anterior	53,44	361,26	327,45	53,44	361,26	327,45
cara posterior	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
curvatura mayor	134,10	297,83	230,24	134,10	297,83	230,24
curvatura menor	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Antro alto						
cara anterior	8,05	318,21	155,18	9,20	299,60	160,83
cara posterior	12,37	66,33	44,07	12,37	66,33	44,07
curvatura mayor	6,77	123,85	68,47	9,52	162,00	92,19
curvatura menor	43,41	313,23	233,69	45,17	350,04	233,10
Cuerpo medio						
cara anterior	38,16	166,43	118,10	47,17	213,43	142,03
cara posterior	23,92	281,16	162,68	32,11	315,48	177,63
curvatura mayor	4,96	447,40	250,20	4,96	447,40	250,20
curvatura menor	16,31	77,89	63,56	13,98	92,58	61,76
Cuerpo alto						
cara anterior	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
cara posterior	20,24	85,05	46,32	19,08	250,67	105,18
curvatura mayor	11,87	70,01	30,20	9,82	101,55	37,23
curvatura menor	15,90	89,35	57,64	14,78	130,72	80,04

Tabla 11

DENSIDAD CÉLULAS G TOTALES						
MEDIANA				PROMEDIO		
	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²
Antro prepilórico						
cara anterior	0,59	124,70	67,90	14,65	161,80	120,41
cara posterior	1,57	122,86	63,45	7,03	87,57	49,12
curvadura mayor	3,07	99,71	54,00	36,21	130,06	87,68
curvadura menor	5,66	124,34	70,75	3,97	75,36	42,92
Antro alto						
cara anterior	7,61	148,94	68,38	8,77	177,14	94,02
cara posterior	7,83	132,04	61,60	8,77	184,92	81,34
curvadura mayor	10,23	116,39	63,29	18,42	119,08	69,03
curvadura menor	18,68	171,06	90,83	18,42	119,08	69,03
Cuerpo medio						
cara anterior	10,50	64,07	38,76	18,48	92,43	59,05
cara posterior	9,29	227,63	99,84	18,70	169,13	95,47
curvadura mayor	4,96	87,75	49,68	7,19	216,69	106,67
curvadura menor	4,49	75,46	43,15	6,86	75,21	44,08
Cuerpo alto						
cara anterior	0,47	48,02	26,57	4,23	50,16	27,40
cara posterior	4,69	26,83	13,85	8,76	98,87	43,97
curvadura mayor	0,00	70,01	30,20	3,94	73,49	35,77
curvadura menor	0,86	40,37	23,73	5,23	57,35	34,88



Mapa 2. DENSIDAD DE CÉLULAS G

DENSIDAD DE CÉLULAS TEÑIDAS CON CROMOGRANINA

La densidad de células teñidas con cromogranina A (ECL, D y mastocitos), muestran una distribución más o menos homogénea a lo largo del cuerpo y antro de la mucosa gástrica, con cierta tendencia a ser mayor la concentración celular en cuerpo medio y antro alto. Los resultados se expresan en las tablas 12 a 16 y en el mapa 3.

Tabla 12

DENSIDAD CÉLULAS TEÑIDAS CON CROMOGRANINA EN PIEZA 1						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²
Antro prepilórico						
cara anterior	10,60	79,60	47,02	8,72	89,45	57,57
cara posterior	0,00	38,46	19,85	0,00	37,87	18,49
curvadura mayor	11,91	114,06	59,58	10,70	111,78	63,86
curvadura menor	7,73	89,04	52,94	6,34	87,59	58,06
Antro alto						
cara anterior	0,00	52,85	27,19	1,10	75,77	41,25
cara posterior	0,00	151,29	75,02	0,82	144,56	66,51
curvadura mayor	1,84	81,10	45,75	2,64	108,15	54,00
curvadura menor	0,00	52,69	25,22	7,18	84,29	55,05
Cuerpo medio						
cara anterior	10,75	58,32	42,19	26,07	64,76	53,28
cara posterior	4,17	44,72	39,36	13,51	59,20	42,77
curvadura mayor	16,58	80,96	57,57	17,91	67,72	53,56
curvadura menor	15,34	47,26	33,20	15,34	47,26	33,20
Cuerpo alto						
cara anterior	11,50	85,88	61,42	15,68	77,07	57,63
cara posterior	2,75	96,02	65,43	12,11	80,71	58,69
curvadura mayor	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
curvadura menor	11,75	131,47	100,83	21,60	120,63	92,66

Tabla 13

DENSIDAD CÉLULAS TEÑIDAS CON CROMOGRANINA EN PIEZA 2						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²	cél.crip/mm²	cél.glan/mm²	cél.total/mm²
Antro prepilórico						
cara anterior	0,96	15,83	12,40	0,25	21,65	12,63
cara posterior	5,66	8,09	6,05	5,23	11,23	7,82
curvatura mayor	3,05	12,01	8,09	2,13	8,06	6,02
curvatura menor	2,17	13,77	13,07	5,84	5,74	4,88
Antro alto						
cara anterior	4,10	76,23	48,46	5,38	81,32	51,60
cara posterior	9,41	69,98	40,78	19,64	79,59	46,24
curvatura mayor	6,75	74,97	45,31	9,42	63,73	39,60
curvatura menor	16,87	70,94	59,67	39,33	74,16	58,29
Cuerpo medio						
cara anterior	7,29	54,48	36,37	11,13	60,20	40,81
cara posterior	19,39	512,14	227,61	31,71	595,18	301,50
curvatura mayor	4,62	63,61	34,93	4,94	49,16	28,47
curvatura menor	7,41	342,03	130,85	6,05	371,79	170,28
Cuerpo alto						
cara anterior	0,87	28,88	21,03	6,29	38,78	24,14
cara posterior	1,58	49,86	30,19	2,76	52,55	32,51
curvatura mayor	2,17	51,52	30,34	7,25	51,79	34,25
curvatura menor	3,83	41,62	27,39	4,41	50,83	33,15

Tabla 14

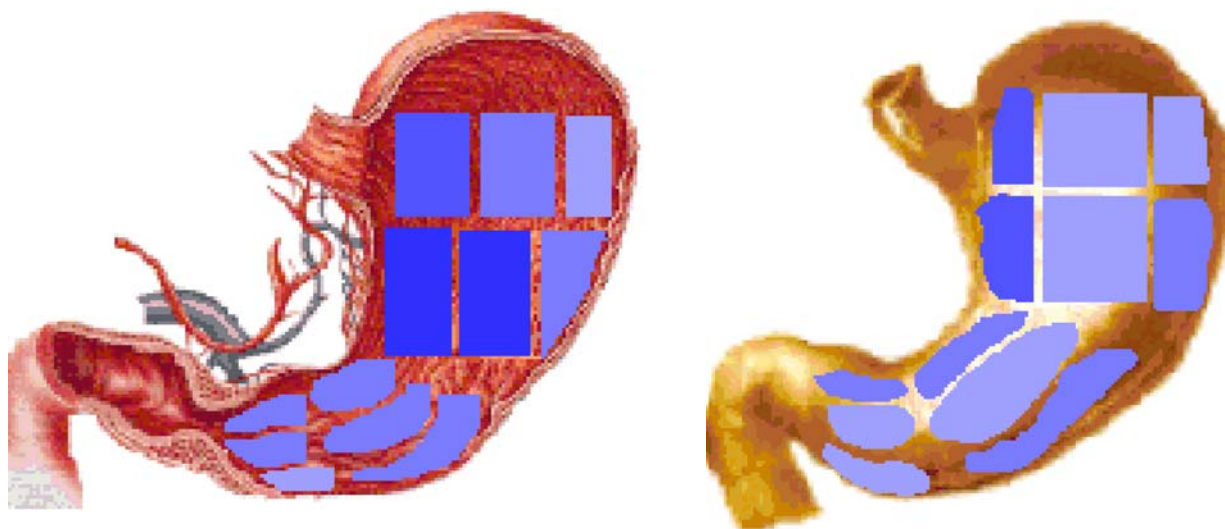
DENSIDAD CÉLULAS TEÑIDAS CON CROMOGRANINA EN PIEZA 3						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²
Antro prepilórico						
cara anterior	6,57	76,79	43,54	10,74	93,42	61,04
cara posterior	2,73	76,22	38,16	3,49	68,29	34,34
curvadura mayor	0,00	99,59	59,51	0,00	99,59	99,59
curvadura menor	0,00	83,54	40,31	5,44	68,53	39,27
Antro alto						
cara anterior	2,37	88,86	43,47	3,43	96,49	48,35
cara posterior	2,35	33,24	19,44	7,43	43,96	27,29
curvadura mayor	2,69	89,83	59,12	2,87	108,86	58,42
curvadura menor	6,36	88,68	44,43	9,05	73,09	38,23
Cuerpo medio						
cara anterior	3,00	102,63	57,66	4,53	123,08	64,84
cara posterior	2,73	105,20	47,31	4,51	111,87	57,41
curvadura mayor	2,89	81,31	44,15	2,69	93,22	49,95
curvadura menor	2,76	100,02	51,31	2,39	99,25	50,52
Cuerpo alto						
cara anterior	0,00	45,16	29,73	8,67	92,60	55,91
cara posterior	5,60	86,28	40,27	4,61	87,11	43,75
curvadura mayor	4,29	73,67	37,03	5,47	79,82	45,64
curvadura menor	9,95	93,70	50,20	7,45	95,97	49,26

Tabla 15

DENSIDAD CÉLULAS TEÑIDAS CON CROMOGRANINA EN PIEZA 4						
<i>MEDIANA</i>				<i>PROMEDIO</i>		
	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²
Antro prepilórico						
cara anterior	118,73	434,94	423,79	118,73	434,94	423,79
cara posterior	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
curvatura mayor	270,34	518,61	447,62	270,34	518,61	447,62
curvatura menor	95,01	372,92	264,74	95,01	372,92	264,74
Antro alto						
cara anterior	27,10	257,22	165,18	39,46	274,94	162,57
cara posterior	48,00	262,71	152,04	77,57	269,57	200,05
curvatura mayor	53,49	382,18	234,72	53,23	394,20	239,12
curvatura menor	57,91	491,21	244,70	70,60	491,85	267,74
Cuerpo medio						
cara anterior	38,05	223,87	192,33	56,90	304,59	175,34
cara posterior	26,14	251,86	133,88	26,00	372,64	189,31
curvatura mayor	43,94	256,01	213,28	49,46	408,32	248,89
curvatura menor	57,62	232,23	172,42	73,32	282,36	187,43
Cuerpo alto						
cara anterior	20,34	140,80	101,75	22,24	159,25	104,50
cara posterior	23,51	178,88	109,67	23,20	185,67	117,05
curvatura mayor	28,72	152,19	94,93	32,47	165,55	101,10
curvatura menor	17,24	175,56	111,37	22,06	140,50	90,90

Tabla 16

DENSIDAD CÉLULAS TEÑIDAS CON CROMOGRANINA. TOTALIDAD						
MEDIANA				PROMEDIO		
	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²	cél.crip/mm ²	cél.glan/mm ²	cél.total/mm ²
Antro prepilórico						
cara anterior	8,58	78,20	45,28	34,61	159,86	138,76
cara posterior	2,73	38,46	19,85	2,91	39,13	20,22
curvadura mayor	7,48	106,83	59,54	70,79	184,51	154,27
curvadura menor	4,95	86,29	46,63	28,16	133,69	91,74
Antro alto						
cara anterior	7,43	82,54	45,96	12,34	132,13	75,94
cara posterior	5,88	110,64	57,90	26,37	134,42	85,02
curvadura mayor	4,72	85,47	52,43	17,04	168,73	97,79
curvadura menor	11,61	79,81	52,05	31,54	180,85	104,83
Cuerpo medio						
cara anterior	9,02	80,48	49,92	24,66	138,16	83,57
cara posterior	11,78	178,53	90,59	18,93	284,72	147,75
curvadura mayor	10,60	81,14	50,86	18,75	154,60	95,22
curvadura menor	11,37	166,13	91,08	24,28	200,16	110,36
Cuerpo alto						
cara anterior	6,19	65,52	45,58	13,22	91,92	60,54
cara posterior	4,17	91,15	52,85	10,67	101,51	63,00
curvadura mayor	4,29	73,67	37,03	15,06	99,05	60,33
curvadura menor	10,85	112,59	75,51	13,88	101,98	66,49



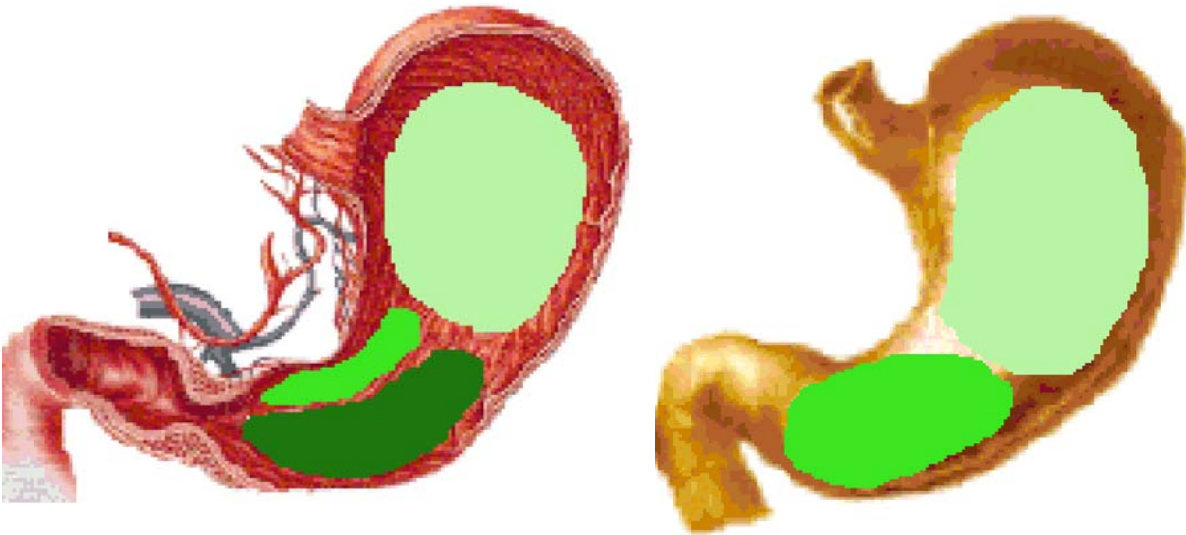
Mapa 3. DENSIDAD DE CÉLULAS TEÑIDAS CON CROMOGRANINA

TOPOGRAFÍA CELULAR

Cuando fusionamos las medias de las distintas densidades celulares obtenidas del estudio morfométrico y lo representamos en un mapa tricolor que va desde el color claro para densidades bajas al color oscuro para densidades altas, obtenemos los siguientes resultados.

DISTRIBUCIÓN CÉLULAS D

Las células D alcanzan su mayor densidad celular en el antro gástrico a nivel de la curvatura mayor y es mínima en la totalidad del cuerpo gástrico. Ver mapa 4.



Mapa 4. DISTRIBUCIÓN DE CÉLULAS D EN LA MUCOSA GÁSTRICA.

DISTRIBUCIÓN DE CÉLULAS G

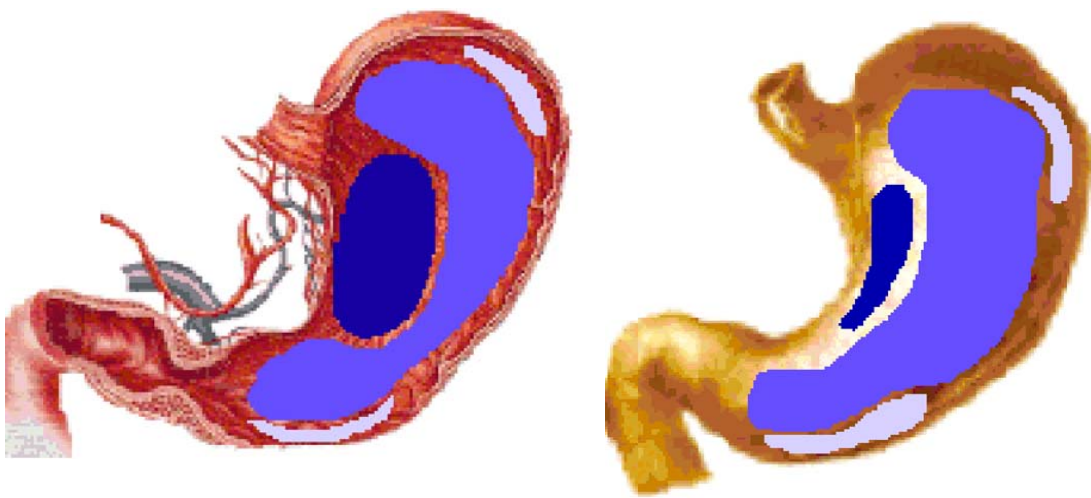
Las células G se distribuyen en mayor cantidad en el antro gástrico y cara posterior de cuerpo medio, siendo escasas en cuerpo alto. Ver mapa 5.



Mapa 5. DISTRIBUCIÓN DE CÉLULAS G EN LA MUCOSA GÁSTRICA

DISTRIBUCIÓN DE CÉLULAS TEÑIDAS CON CROMOGRANINA

Las células teñidas con cromogranina A (ECL, D y mastocitos), muestran una clara tendencia a concentrarse en las áreas próximas a la curvatura menor, tanto en el antro como en el cuerpo, siendo mayoritarias en éste último. Ver mapa 6.



Mapa 6. DISTRIBUCIÓN DE CÉLULAS TEÑIDAS CON CROMOGRANINA.

VI. DISCUSIÓN

Pocos campos de la Medicina han despertado tanto interés como el que concierne al estómago, a su funcionamiento y a sus alteraciones. El espectacular avance de la tecnología en todos los campos de la ciencia, permite disponer de nuevos métodos de investigación que ayudan a conocer la existencia y posterior identificación de un buen número de sustancias que están implicadas en los mecanismos digestivos en general, y en la secreción gástrica en particular.

El control del ácido producido por las células parietales es complejo, con numerosas sustancias de orden neuroendocrino y paracrino implicadas que interconectan grupos celulares especializados situados en puntos estratégicos de la mucosa gástrica, y donde destacan las células G y las células D. Este sistema neuroendocrino gastrointestinal constituye una pieza clave en el control de la secreción gástrica y existen evidencias de que la infección por *H.pylori* provoca alteraciones en su funcionamiento.

La utilización de la morfometría asistida por ordenador permite analizar la imagen con dos cualidades especialmente favorables: la primera, es la identificación de estructuras de interés (células, organelas, etc) de modo objetivo, y en segundo lugar, su conteo de forma automática. Con ello podemos conocer muchos aspectos como la densidad y la superficie con un índice de reproductibilidad notable y con mínimas variaciones inter- e intraensayo (248,249). La subjetividad de la valoración histológica convencional de parámetros tales como la inflamación o la atrofia queda así superada.

El estudio de la mucosa gastroduodenal en humanos mediante morfometría es relativamente reciente. Giacosa en 1989 (250) describe el método y sus hallazgos en mucosa duodenal normal, y Goodlad y cols (251) la revisan más tarde. Sin embargo, existen pocos trabajos sobre poblaciones neuroendocrinas, salvo los del grupo de D'Adda (252) y los de Valenzuela y cols en nuestro grupo (248, 249) que evalúan las densidades de células neuroendocrinas en humanos relacionadas con la infección por *H.pylori*. Este método de conteo tiene evidentes ventajas sobre los métodos planimétricos utilizados habitualmente, permitiendo el manejo de variables precisas y sólo limitadas por una adecuada preparación y elección de la muestra objeto del estudio.

Nuestro grupo de investigación trabaja activamente en el estudio de los factores celulares que intervienen en la patogenia de la enfermedad ulcerosa péptica. En 1990 comprobamos que la hipersecreción de ácido presente en la úlcera duodenal se debía a una hiperactividad de las células parietales de la mucosa gástrica (246,253). A continuación evidenciamos que, en sujetos con úlcera duodenal relacionado con la infección por *H.pylori*, existía un descenso importante de la población de células D productoras de somatostatina y un incremento de la población de células G productoras de gastrina, en la mucosa del antro gástrico. Tales alteraciones no se correlacionaron con la hiperactividad de las células parietales y se atribuyeron a la acción del germen. Después de un tratamiento erradicador de la bacteria, las poblaciones endocrinas del antro se normalizaban alcanzando valores similares a los de la población sana no infectada (247, 254-256). Más adelante, se estudió la actividad de las células parietales de la mucosa del cuerpo gástrico en pacientes con úlcera duodenal, comprobándose que tras la erradicación disminuye la actividad de las células parietales en sujetos que están en tratamiento con

fármacos inhibidores de la bomba de protones (257). Ya en el año 2003 se estudió la población de células ECL, encontrando un mayor número de estas células en la porción superficial de la mucosa del cuerpo gástrico de los pacientes ulcerosos, en comparación con los dispépticos, sin que se modificaran estos hallazgos pasados 6 meses de la erradicación (259). Recientemente, hemos estudiado la densidad de las células neuroendocrinas G, D y ECL en la mucosa del cuerpo y antro gástrico, así como la actividad de las células parietales en pacientes con úlcera duodenal e infección por *H. pylori*, demostrando que a los seis meses de la erradicación del germen se produce una normalización de las poblaciones de células G y D del antro, y de la población de células neuroendocrinas de cuerpo gástrico. Por otra parte, la población de células ECL y la actividad de las células parietales del cuerpo gástrico permanecían elevadas, tras este periodo de tiempo, sugiriendo que la hiperplasia de células ECL y la hiperactividad de las células parietales son factores determinantes de úlcus duodenal, independientemente de la existencia de la infección por *H. pylori* (260).

Tras este largo peregrinar en el estudio del comportamiento y funcionamiento de las células neuroendocrinas de la mucosa gástrica en el paciente ulceroso, hemos considerado la importancia de estudiar la distribución de todas estas poblaciones celulares en la totalidad del estómago. Hasta ahora, los estudios morfométricos al respecto, se han venido realizando sobre muestras de biopsias obtenidas mediante endoscopia, ningún trabajo se ha llevado a cabo sobre piezas anatómicas completas. En este estudio consigue salvar esta carencia. Así, mediante la distribución topográfica de las células neuroendocrinas en la mucosa de estómagos completos, podemos conocer su situación y su comportamiento en relación con la secreción ácida gástrica.

Aunque son numerosos los estudios llevados a cabo para conocer la estructura y el funcionamiento de las células neuroendocrinas, el conocimiento de éstas es relativamente reciente. Se puede decir que fue Enrico Solcia en 1967, quien contribuyó en la identificación inicial de las células neuroendocrinas del estómago. A continuación, Steven Bloom y Julia Pollack fueron los primeros en elucidar la fisiología del sistema de regulación neuroendocrino gástrico.

La mucosa gástrica está dotada con un rico entramado de diferentes tipos de células endocrinas. Por lo menos han sido identificadas siete tipos distintos de células endocrinas basándose en los rasgos ultraestructurales: las células ECL, las células D, las células A, las células P, las células D1, las células G y las células X. En los humanos, este grupo de células representan aproximadamente del 0.5 al 1 % del total de células de la mucosa fúndica. En conjunto constituyen un órgano endocrino equivalente al páncreas endocrino.

En los seres humanos, las células enterocromafines se encuentran en el antro y en la mucosa oxíntica. Las células D, productoras de somatostatina, se encuentran distribuidas en la mucosa del cuerpo y antro gástricos, pero son más numerosas en este último. Las células G se localizan en el antro. Las células X, cuya función es aún desconocida, se confinan exclusivamente en la mucosa del cuerpo gástrico. Las células P y D1 se encuentran distribuidas en la mucosa antral y en la oxíntica. Las células

ECL, que son la interfase entre la regulación periférica y la central de la secreción ácida se encuentran fundamentalmente en el cuerpo gástrico, constituyendo más del 30% de la masa celular neuroendocrina de esta área.(262).

Con la realización de un mapa cartográfico de la distribución neuroendocrina en el cuerpo y antro gástricos, no sólo hemos conseguido corroborar la disposición exacta de las poblaciones celulares, sino que podemos observar su comportamiento. Así encontramos que las células G y D se hallan dispuestas mayoritariamente en la mucosa antral ejerciendo sus acciones estimuladora (gastrina) e inhibidora (somatostatina) desde esta localización. Las células que se tiñen con cromogranina (células ECL y neuronas) se localizan en el cuerpo gástrico. Desde un punto de máxima densidad, localizado en la curvatura menor, se extienden por el cuerpo gástrico hasta la curvatura mayor con densidades cada vez menores, como si se tratara de una onda que va perdiendo fuerza desde el centro a la periferia, como la ola que genera la piedra lanzada al estanque. (*Figura 10*)

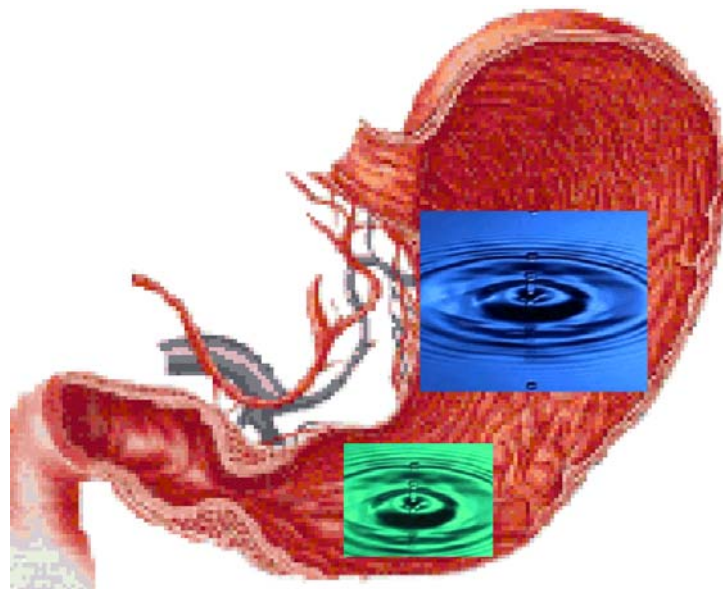


Figura 10. Las células neuroendocrinas se distribuyen como una onda.

La distribución cartográfica de las células teñidas con cromogranina, en el cuerpo gástrico, coincide con la entrada de las ramas del nervio vago y las arterias gástricas. Las fibras del nervio vago son en su mayoría preganglionares y se interrumpen en las células que forman los plexos de Auerbach y Meissner, para dar lugar a las fibras postganglionares que constituyen el sistema nervioso entérico, responsable de la activación de las células parietales. (261). A la cara anterior de la curvatura menor llegan el nervio vago anterior y la arteria gástrica izquierda. A la cara posterior de la curvatura menor llegan el nervio vago posterior y la arteria gástrica derecha. Las ramas vagales y las ramas arteriales alcanzan el estómago por la curvatura menor y se van ramificando a nervios y arterias terminales en su

camino hacia la curvatura mayor (53). En la curvatura menor, por tanto, la densidad neuronal es máxima. La acción estimuladora de la secreción gástrica mediada por el vago debe encontrar un elemento amortiguador, capaz de modular de modo preciso la actividad de las células parietales. Este elemento amortiguador es la población de células endocrinas. Si la estimulación neuronal puede poner el interruptor de las células parietales en *on* o en *off*, la población de células endocrinas es capaz de regular la intensidad de la secreción, como un reostato que permite graduar la intensidad de la luz, no sólo encenderla o apagarla. (Figura 11)

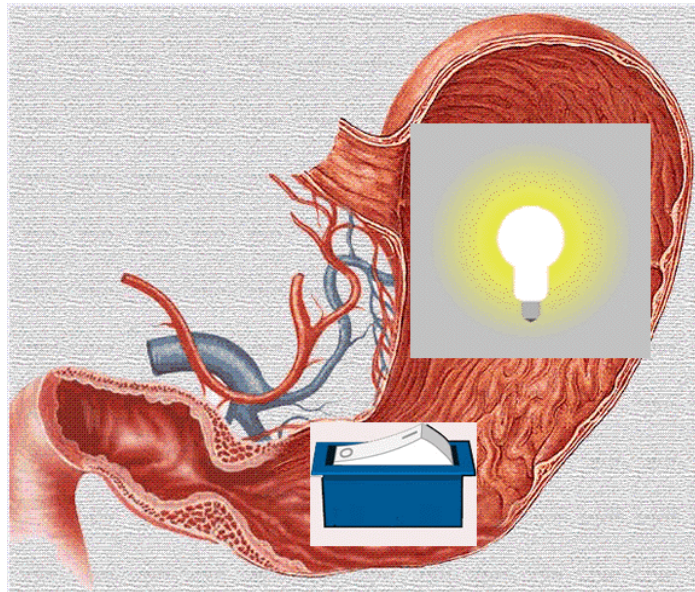


Figura 11. Acción de la población celular neuroendocrina sobre la célula parietal.

Este sistema modulador tiene un efector final que es la célula ECL productora de histamina. Esta célula recibe estímulos secretagogos de las neuronas, recibe información de la presencia antral de comida mediada por la gastrina producida por la células G del antro y recibe información del exceso de secreción ácida a través de las células D productoras de somatostatina, de modo que adecua su producción de histamina en función de los estímulos excitatorios o inhibitorios recibidos (66-68,263).

La infección por *Helicobacter pylori* afecta inicialmente al antro. La mucosa antral infectada muestra una infiltración por polimorfonucleares que producen citoquinas que provocan un marcado descenso de la población de células D. En este primer paso, la célula ECL pierde el efecto frenador de la somatostatina y, además, siente un estímulo proliferativo mediado por su receptor CD14. El aumento de la población de células ECL y el descenso de la población de células D antrales se ve pronto acompañado por un incremento de la población de células G productoras de gastrina. El efector ECL se encuentra fuertemente estimulado y escasamente inhibido. Este sería posiblemente el mecanismo que explica la hipersecreción de ácido que acompaña a la úlcera duodenal relacionada con la infección por *Helicobacter pylori* (114, 149,264-267).

La evolución histórica del tratamiento de la úlcera duodenal es paralela al conocimiento de la patogenia de la enfermedad. A principios del siglo XX, sólo era posible un tratamiento quirúrgico de las complicaciones agudas. La sutura de una perforación, la ligadura de un vaso sangrante o la derivación (gastroenteroanastomosis) de una estenosis pilórica. Más adelante se intentó tratar la enfermedad. Se conoció que la célula parietal situada en el cuerpo gástrico era la responsable de la secreción, y que “sin ácido no hay úlcera”. La solución aplicada fue resecar la mayor parte del cuerpo gástrico (masa de células parietales) e incluir en la resección el antro estimulador. Estas grandes amputaciones se mantuvieron como tratamiento de elección de la úlcera duodenal en la primera mitad del siglo XX. En los años 1960 los estudios fisiológicos demostraron que las células parietales eran estimuladas principalmente por las ramas del nervio vago. La sección de los grandes troncos del vago (vagotomía troncular) y la posterior sección de sólo los nervios vagales, que se dirigen al cuerpo gástrico preservando las ramas motoras antrales (vagotomías selectiva y supraselectiva), fue un importante avance en un enfoque mucho más conservador y fisiológico del tratamiento de la úlcera duodenal (268). A mediados de los años 70 la cirugía dejó paso a la farmacología. La aparición de los fármacos inhibidores selectivos de los receptores H₂ de la histamina relegó la cirugía de la úlcera duodenal al tratamiento de las complicaciones (269). Este descubrimiento puso el acento en la inhibición de la acción estimuladora de la célula ECL productora de histamina, bloqueando los receptores de la célula parietal donde ésta actuaba. También supuso la demostración de que la secreción de histamina por la célula ECL era el proceso fundamental para la secreción de ácido por la célula parietal (270).

El siguiente paso era frenar el propio ácido, no ya los sistemas de modulación. El nacimiento de los fármacos inhibidores de la bomba de protones en los años 1980 supuso conseguir la curación de más del 90 % de las úlceras duodenal con la toma de una cápsula al día (271,272).

El ciclo se cerraba actuando sobre el origen de todo el proceso, la infección por *Helicobacter pylori*. Conseguir erradicar el germen y frenar la secreción de ácido no sólo cura la lesión ulcerosa sino que impide la recaída, hecho ligado a la propia naturaleza de la enfermedad ulcerosa (273).

En nuestro estudio hemos podido establecer el papel fundamental que tiene el sistema neuroendocrino en la secreción gástrica. Hasta ahora no se había descrito la distribución cartográfica de las células endocrinas del estómago, intuida por estudios sobre pequeñas muestras de biopsia endoscópica. Las células estimuladoras siguen una distribución paralela a la de las neuronas vagales, extendiéndose cada vez con menor densidad desde la curvatura menor hasta la mayor, de un modo concéntrico.

En el antro aparece otro centro de células inhibitorias, que también se extiende en modo concéntrico desde la curvatura menor a la mayor, y cuya misión es reconocer la cantidad de ácido secretada por las células parietales para emitir una señal inhibitoria cuando ésta es excesiva. Este estómago inhibitor se ve alterado por la infección por *Helicobacter pylori* y se recupera tras la erradicación.

Convive con el antro inhibidor un antro estimulador representado por las células G productoras de gastrina. Este antro funcional estimulador se encuentra en equilibrio con el antro inhibidor; pero en la infección por *Helicobacter pylori* se hiperplasia, desborda al inhibidor y mantiene un estímulo secretorio que excede las capacidades inhibitoras de la somatostatina. También en este caso, la erradicación puede devolver el sano equilibrio.

En resumen, gracias al estudio de cerca de 1.000 muestras de biopsia gástrica de 4 estómago completos hemos podido establecer las distintas regiones funcionales del estómago y su relación con la úlcera duodenal y la infección por *Helicobacter pylori*.

VII. CONCLUSIONES

1. Nuestro trabajo es el primero de la literatura en abordar la distribución de las poblaciones de células endocrinas en estómagos humanos completos.
2. La máxima densidad de células D productoras de somatostatina se encuentra en los puntos centrales del antro, justo por debajo de la incisura angular, disminuyendo en dirección pilórica y siendo menor en dicha incisura. En la parte central del cuerpo la densidad es mínima y vuelve a crecer en la región juxtacardial.
3. Las células D muestran una mayor densidad en la porción profunda de las glándulas gástricas con respecto a la superficial en todas las localizaciones.
4. La máxima densidad de células G productoras de gastrina se localiza en la cara posterior de la zona de unión entre el cuerpo y el antro gástricos, se mantiene muy elevada en el antro, especialmente en la curvatura menor y disminuye en la región pilórica. Hacia la porción alta del cuerpo gástrico, desde el punto de máxima densidad, la expansión de la población de células G es escasa.
5. Las células G muestran una mayor densidad en la porción profunda de las glándulas con respecto a la superficial en todas las localizaciones.
6. Las células teñidas con cromogranina (células ECL, mastocitos y neuronas) tienen una densidad máxima en la porción central del cuerpo gástrico, sobre todo en la incisura angular y la cara posterior del estómago. La densidad de estas células se mantiene alta en la porción fronteriza del antro gástrico y pierde intensidad en las direcciones pilórica y cardial.
7. Las células teñidas con cromogranina tienen una mayor densidad en las glándulas con respecto a las criptas gástricas.
8. La distribución cartográfica de las células endocrinas del estómago ayuda a comprender el funcionamiento de los complejos mecanismos implicados en la secreción ácida gástrica y, las modificaciones patológicas relacionadas con la úlcera duodenal y la infección por *Helicobacter pylori*.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- (1) J.Murray, editor. Dissertations relative to the natural history of animals and vegetables, translated from the Italian of the Abbé Spallanzani. London: 1784.
- (2) Réaumur RAF de. Sur la digestion des oiseaux. Seconde mémoire. De la maniere dont elle se fait dans l'estomac des oiseaux de proie. Mém Acad Roy Sci, 1^a[2^o], 461-495. 1752. Paris. Ref Type: Serial (Book,Monograph).
- (3) Prout W. On the nature of the acid and saline matters usually existing in the stomachs of animals. Philos Trans R Soc Lond 1824; 114:45-49.
- (4) Beaumont W. Further experiments on the case of Alexis St. Martin, who was wounded in the stomach by a load of buck-shot, detailed in the Recorder for 1825. Med Recorder 1826; 9(4):94-97.
- (5) Beaumont W. Experiments and observations on the gastric juice and the physiology of digestion. Facsimile of original 1833 edition. Oxford: 1989.
- (6) Dalton AJ Kahler H Lloyd BJ. The structure of the free surface of a series of epithelial cell types in the mouse as revealed by the electron microscope. Anat Rec 1951; 111(11):67-77.
- (7) Helander HF. Physiology and pharmacology of the parietal cell. 1988; 2: 539-54. Balliere's Clinical Gastroenterology 1988; 2:539-554.
- (8) Bernard C. The Gastric Juice and its Role in nutrition. Faculty of Medicine, Paris, 1843. Ref Type: Thesis Doctoral.
- (9) Brodie B. Experiments and observations on the influence of the nerves of the eighth pair on the secretion of the stomach. In: Taylor, Red Lion, Court, Fleet Street, editors. Abstracts of the Papers Printed in the Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 1800-1814. London: Royal Society of London, 1832: 102-106.
- (10) Pavlov IP. The work of the digestive glands. Charles Griffin and Company, editor. 1-196. 1902. London. Ref Type: Serial (Book,Monograph).
- (11) Bayliss WM, Starling EH. The mechanism of pancreatic secretion. J Physiol 1902; 28:325-330.
- (12) Komarov S. Gastrin. Proc Soc Exp Biol Med 1938; 38:514-536.
- (13) Heidenhain R. Untersuchungen über den Bau der Labdrüsen. Arch Mikro Anat 1870; 6:368-406.
- (14) Hakanson R, Owman CH. Electron microscopic identification of the histamine-storing argyrophil (enterocromaffin-like) cells in the stomach. Z Zellforschung Mikroskop Anatomie 1971; 122:460.
- (15) Capella C Vasallo G Solcia E. Light and electron microscopic identification of the histamine-storing argyrophil (ECL) cell in murine stomach and of its equivalent in other mammals. Zeitschrift Zellforschung 1971; 118:68.
- (16) Hakanson R, Boettcher G, Ekblad F, Panula P, Simonsson M, Dohlsten M et al. Histamine in endocrine cells in the stomach. Histochemistry 1986; 86:5-6.

- (17) Sachs G, Hersey SJ. The gastric parietal cell. Its clinical relevance in the management of acid-related diseases. Oxford, Oxford Clinical Communications, editors. 1990. Ref Type: Personal Communication.
- (18) Sachs G. The parietal cell as a therapeutic target. *Scand J Gastroenterol* 1986; 21(suppl 118):1-10.
- (19) Smolka A Helander HF Sachs G. Monoclonal antibodies against H⁺-K⁺-ATPase. *Am J Physiol* 1983; 245:G589-G596.
- (20) Junqueira LC, Carneiro J. *Histología básica*. 4^a ed. Barcelona. 1996.
- (21) Pavy J. On the immunity enjoyed by the stomach from being digested by its own secretion during life. *Philos, Trans* 1863; 153[1], 161.
- (22) Luton L. Ulcere simple. In: D, editor. *Dict de med et chir pract*. Paris: Royal Academi française de medicine., 1871: 221.
- (23) Rieguel M. Zur Lehre vom ulcus ventriculi rotundum. *Deutsch Med Wochens*. Berlin: Zeitschr f. Klin med, 1886: 2135-2137.
- (24) Korezinski M Jaworski K. Klinische Befunde bei ulcus und Carcinoma Ventriculi. *Deutsch Med Wochens*. Berlin: Zeitschr f.Klin med, 1886: 1840-1842.
- (25) Von del Velden K. Ueber Hypersecretion und hyperaciditat des Magensaftes. *Sammlung Klin Vortrage* 1891; 280(2):1120-1122.
- (26) Bourget J. Des alterations chimiques du suc gastrique. *Rev med de la Suisse Romande*, 1888; 12(2):54-56.
- (27) Bourget J. Recherches sur la secretion gastrique, hyperchloxydrie et hypochloxydrie. *La Méd Moderne* 1892; 31(3):146-148.
- (28) Stienon JP. Le suc gastrique et les phénoménés chimiques dela digestion dans les maladies de l'estomac. 1^aed[1^o], 142-154. 1888. Bruxelles, Leubre. 1888. Ref Type: Serial (Book,Monograph)
- (29) Georges C. De l'étude chimique du contenu estomacal et de rapports avec le diagnostique et le traitement des maladies de l'estomac. Marssal, editor. 1^aed[1], 69-73. 1890. Paris. Ref Type: Serial (Book,Monograph).
- (30) Lyon C. L'analyse du suc gastrique, sa technique, ses applications cliniques et thérapeutiques. Claudet Ch, editor. 1^aed[1], 96-107. 1890. Paris. 14-4-1890. Ref Type: Serial (Book,Monograph).
- (31) Bouvert P. *Traité des maladies de l'estomac*. 1^aed[1], Paris: 1893: 246-254. Ref Type: Serial (Book,Monograph).
- (32) Hayem H. Les medications. In: Lettulle et Cruvoiller, editor. *Leçons de de thérapeutiques*. Paris: 1890: 222-228. Ref Type: (Book Chapter).
- (33) Hayem H, Lion M. Maladies de l'estomac. In: Brouardel J Gilbert T, editor. *Traité de medicine et thérapeutique*. Paris: 1897: 429-454. Ref Type: (Book Chapter).
- (34) Bizzorezo G. Ueber die schlauchförmigen Drüsen des Magendarmkanals und die Beziehungen ihres Epithels zu dem Oberflächenepithel dar Schleimhaut. *Arch Mikr Anat* 1893; 42(77):82-158.

- (35) Krienitz W. Ueber das Auftreten von Spirochäten verschiedener Form im Mageninhalt bei Carcinoma ventriculi. *Deutsch Med Wochens* 1906; 28(1):872.
- (36) Steer HW. Ultrastructure of cell migration through the gastric epithelium and its relationship to bacteria. *J Clin Pathol* 1975; 28(8):639-646.
- (37) Steer HW, Colin-Jones DG. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut* 1975; 16(8):590-597.
- (38) Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; i(5):1311-1315.
- (39) Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; i(3):1273-1275.
- (40) Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985; 142:436-439.
- (41) Morris A, Nicholson G. *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987; 82:192-199.
- (42) *Helicobacter pylori*: causal agent in peptic ulcer disease? Sydney: 1990.
- (43) McNulty CA, Gearty JC, Crump B, Davis M, Donovan IA, Melikian V, Lister DM, Wise R. *Campylobacter pyloridis* and associated gastritis: Investigator blind, placebo controlled trial of bismuth salicylate and erythromycin ethylsuccinate. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986; 293:645-649.
- (44) Borody TJ, Cele P, Noonan S, Morgan A, Lenne J, Hyland L, Brandl S, Borody EG, George LL. Recurrence of duodenal ulcer and *Campylobacter pylori* infection after eradication. *Med J Aust* 1989; 151:431-435.
- (45) Graham DY, Lew GM, Evans DG, Evans DJ, Klein PO. Effect of triple therapy (antibiotics plus bismuth) on duodenal ulcer healing. A randomized controlled trial. *Ann Intern Med* 1991; 115:266-269.
- (46) Graham DY, Lew GM, Klein PD, Evans DG, Evans DJ, Saeed IA, Malaty HM. Effect of treatment of *Helicobacter pylori* infection on the long-term recurrence of gastric or duodenal ulcer. A randomized, controlled study. *Ann Intern Med* 1992; 116:705-718.
- (47) NIH Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in Peptic Ulcer Disease. *JAMA* 1994; 272:65-69.
- (48) Stolte M, Eidt S. Healing gastric MALT lymphomas by eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993; 342(1):568.
- (49) Eurogast Study group. An international association between infection with *Helicobacter pylori* and the risk of gastric cancer. *Lancet* 1993; 341:1359-1362.
- (50) Wotherspoon AC, Doglioni C, Diss TC. Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993; 342(575):577.

- (51) Anonymous. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 1994; 61:1-241.
- (52) Dunn DH, Eisenberg MM. Anatomía aplicada y anomalías del estómago. En: Haubrich WS, Kalsner MH, Roth MD, Scahffner F, editors. Bocks, Gastroenterology. Philadelphia: WB Saunders, 1987: 959-982.
- (53) Orts Llorca F. Anatomía humana. 6th ed. Barcelona: Editorial Científico Médica, 1987.
- (54) Moore KL. The developing human-clinically oriented embriology. 3th ed. Philadelphia: WS Sauders, 1982: 227-252.
- (55) Oi M, Oshidak, Sugimuras. The location of gastric ulcer. Gastroenterology 1959; 36:45.
- (56) Ros MJ, Reith EJ, Romrell LJ. Histología. Texto y atlas. 3ª ed. Mexico: 1999.
- (57) Bloom W FD, Fawcett DW. A textbook of histology. 9ª ed. Philadelphia: 1968.
- (58) Sachs G, Hersey SJ. The Gastric Parietal Cell. 1ª ed. Oxford: AB Astra, 1994.
- (59) Burkit HG, Young B, Heath JW. Histología Funcional Weater. 1ª ed. Madrid: 1996.
- (60) Levine JS, Nakane PK, Allen RH. Inmunocytochemical localization of human intrinsic factor: the nonstimulated stomach. Gastroenterology 1980; 79:493-502.
- (61) Richards S, Snell MD. Clinical and Funtional Histology for medical students. Philadelphia: 1984.
- (62) Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. Texto Atlas de Histología. 1ª ed. Mexico: 1988.
- (63) Evert BM, Parekh D, Townsed CMJr, Thompson JC. Somatostatin and analogues in the treatment of cancer. A review. Ann Surg 1991; 213:190-198.
- (64) Stevens A, Lowe J. Human Histology. 2ª ed. London: Mosby; 1997.
- (65) Khanna MU, Abraham P. Determinants of acid secretion. J Assoc Physicians India 1990; 38 Suppl 1:727-730.
- (66) Alvarez W. Sixty years of vagotomy: A review of some 200 articles. Gastroebterol 1948; 10:413-441.
- (67) Brillat-Sayarin JA. The Physiology of Taste (Meditation on trascendental gastronomy). San Francisco: CA: Northpoint Press, 1986.
- (68) Edkins J. The chemical mechanism of gastric secretion. J Physiol Lond 1906; 34:133-134.
- (69) Ferraz JPG, Walace JL. Prostaglandins modulate the responsiveness of the gastric microcirculation to sodium nitroprusside in cirrhotic rats. Hepatology 1996; 23:123-129.
- (70) El-Newihi HM, Kanji VK, Mihas AA. Activity of gastric mucosal nitric oxide synthase in portal hypertensive gastropathy. Am J Gastroenterol 1996; 91:535-538.
- (71) Konturek JW, Fischer H, Gromotka PM, Konturek SJ, Domschke W. Endogenous nitric oxide in the regulation of gastric secretory and motor activity in humans. Aliment Pharmacol Ther 1999; 13(12):1683-1691.

- (72) Miyake H, Innaba N, Kato S, Takeuchi K. Increased susceptibility of rat gastric mucosa to ulcerogenic stimulation with aging: role of capsaicin-sensory neurons. *Dig Dis Sci* 1996; 41:339-345.
- (73) Bertaccini G, Coruzzi G. Control of gastric acid secretion by histamine H₂ receptor antagonists and anticholinergics. *Pharmacol Res* 1989; 21:339.
- (74) Gantz I, Schaeffer M, Del Valle J, Logsdon C, Campbell V, Uhler M, Yamada T. Molecular cloning of a gene encoding the histamine H₂ receptor. *Proc Nat Acad Sci USA* 1991; 488:429.
- (75) Hoffman HH, Schnitzlein NN. The number of vagus fibers in man. *Anat Rec* 1969; 139:429.
- (76) Wood JD. Physiology of the enteric nervous system. In: Johnson LR, editor. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. New York, (U.S.A.): Raven Press, 1994: 423.
- (77) Wilkes JM, Kajimura M, Scott DR, Hersey SJ, Sachs G. Muscarinic responses of gastric parietal cells. *J Membrane Biol* 1991; 122:97.
- (78) Dinan TG, Scott LV, Brady D, McNamara D, Keeling PW. Altered hypothalamic cholinergic responses in patients with nonulcer dyspepsia: a study of pyridostigmine-stimulated growth hormone release. *Am J Gastroenterol* 2002; 97(8):1937-1940.
- (79) Tache Y. Central nervous system regulation of acid secretion. In: Johnson LR, editor. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. New York, (U.S.A.): Raven Press, 1987: 911.
- (80) Valenzuela M, Martín Ruiz JL, Caballero AM^a, Alvarez de Cienfuegos I. Regulación de la secreción ácida gástrica. *Rev Esp Enf Digest* 1995; 87:874-882.
- (81) Costa M, Furness JB, Llewellyn-Smith IJ. Histochemistry of the enteric nervous system. In: Johnson L, editor. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. New York (USA): Raven Press, 1987:1.
- (82) Walsh JH. Gastrointestinal Hormones. In: Johnson LR, editor. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. New York (U.S.A.): Raven Press, 1994: 181-254.
- (83) Debas HT, Lloyd KCK. Peripheral regulation of gastric acid secretion. In: Johnson LR, editor. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. New York (U.S.A.): Raven Press, 1994: 1185.
- (84) Berthoud HR, Fox EA, Powley TL. Abdominal pathways and central origin of rat vagal fibers that stimulate gastric acid. *Gastroenterology* 1991; 100:627-637.
- (85) Pisegna JR, Ohning GV, Athmann C, Zeng N, Walsh JH, Sachs G. Role of PACAP-1 receptor in regulation of ECL cells and gastric acid secretion by pituitary adenylate cyclase activating peptide. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 921:233-241.
- (86) Pfeiffer A, Hanack C, Kopp R et al. Human gastric mucosa expresses glandular M₃ subtype of muscarinic receptors. *Dig Dis Sci* 1990; 35:1468-1472.
- (87) Pfeiffer A, Rochlitz H, Noelke B et al. Muscarinic receptors mediating acid secretion in isolated rat gastric parietal cells are of M₃ type. *Gastroenterol* 1990; 98:218-222.

- (88) Lindstrom E, Hakanson R. Neurohormonal regulation of secretion from isolated rat stomach ECL cells: a critical reappraisal. *Regul Pept* 2001; 97(2-3):169-180.
- (89) Hayakawa T, Kaneko H, Konagaya T, Shinozaki K, Kasahara A, Funaki Y, Mori S, Yokoi T, Hirooka Y, Kusugami K, Kakumu S. Enhanced somatostatin secretion into the gastric juice with recovery of basal acid output after *Helicobacter pylori* eradication in gastric ulcers. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18(5):505-511.
- (90) Modlin IM, Sachs G. *Acid Related Diseases. Biology and Treatment*. 1st ed. Milano: Schnetztor-Verlag GmbH Konstanz, 1998.
- (91) Schubert ML. The effect of vasoactive intestinal polypeptide on gastric acid secretion is predominantly mediated by somatostatin. *Gastroenterology* 1991; 100:1195-1200.
- (92) Battey JF, Way JM, Corjay MH et al. Molecular cloning of the bombesin/gastrin releasing peptide receptor from Swiss 3T3 cells. *Biochemistry* 1991; 88:395-399.
- (93) Glad H, Svendsen P, Ainsworth MA, Olsen O, Rehfeld JF, Schaffalitzky DE, Muckadell OB. The effect of gastrin releasing peptide on porcine pancreaticobiliary bicarbonate secretion is mediated by secretin. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29:195-202.
- (94) Greenberg GR, Chan B, McDonald TJ, Alleyne J. The role of vagal integrity in gastrin releasing peptide stimulated gastroenteropancreatic hormone release and gastric acid secretion. *Regul Pept* 1985; 10:179-187.
- (95) Hirschowitz B, Tim LO, Helman CA, Molina E. Bombesin and G-17 doses responses in duodenal ulcer and controls. *Dig Dis Sci* 1985; 30:1092-1113.
- (96) Konturek JW, Stoll R, Kontourek SJ, Domschke W. Cholecystokinin in the control of gastric acid secretion in man. *Gut* 1993; 34:321-328.
- (97) Solomon TE, Adrian TE. Intestinal inhibitors of acid secretion: comparative potencies and effects on inhibitory hormones. *Gastroenterology* 104[A196]. 1993.
- (98) Taylor SD, Soudah H, Chey WY, Sheiman JM. Prostaglandins mediate the inhibition of human gastric acid secretion produced by intraduodenal acidification and secretin but not intraduodenal fast. *Gastroenterology* 104[A207]. 1993.
- (99) Konturek JW. Cholecystokinin in the control of gastric acid and plasma gastrin and somatostatin secretion in healthy subjects and duodenal ulcer patients before and after eradication of *Helicobacter pylori*. *J Physiol Pharmacol* 1994; 45 (4 Suppl 1):3-66.
- (100) Schubert ML, Hightower J. Inhibition of acid secretion by bombesin is partly mediated by release of fundic somatostatin. *Gastroenterol* 1989; 97:561-567.
- (101) Buchan AMJ, Meloche RM, Kwock YN, Kofod H. Effect of cholecystokinin and secretin on somatostatin release from cultured antral cells. *Gastroenterology* 1993; 104:1414-1419.

- (102) Hammer RA, Ochoa A, Fernandez C, Ertan A, Arimura A. Somatostatin as a mediator of the effect of neurotensin on pentagastrin-stimulated acid secretion in man. *Peptides* 1992; 13:1175-1179.
- (103) Barnad JA, Beauchamp RD, Russell WE, Dubois RN, Coffey RJ. Epidermal Growth factor-related peptides and their relevance to gastrointestinal pathophysiology. *Gastroenterology* 1995; 108:564-580.
- (104) Athmann C, Zeng N, Scott DR, Sachs G. Regulation of parietal cell calcium signaling in gastric glands. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279(5):G1048-G1058.
- (105) Lenz HJ, Klapdor R, Hester SE et al. Inhibition of gastric acid secretion by brain peptides in the dog. Role of the autonomic nervous system and gastrin. *Gastroenterol* 1986; 91:905-912.
- (106) Zeng N, Athmann C, Kang T, Lyu RM, Walsh JH, Ohning GV, Sachs G, Pisegna JR. PACAP type 1 receptor activation regulates ECL cells and gastric acid secretion. *J Clin Invest* 1999; 104:1383-1391.
- (107) Hakanson R, Sundler F. Histamine-producing cells in the stomach and their role in the regulation of acid secretion. *Scand J Gastroenterol* 1991; 180:88-94.
- (108) Schubert ML, Makhlof GM. Regulation of gastrin and somatostatin secretion by intramural neurons: effect of nicotinic receptor stimulation with dimethyl-phenylpiperazinium. *Gastroenterology* 1982; 83:626-632.
- (109) Shamburek RD, Schubert ML. Pharmacology of gastric acid inhibition. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1993; 7:23-54.
- (110) Lloyd KC, Amirmoazzami S, Friedik F, Chew P, Walsh JH. Somatostatin inhibits gastrin release and acid secretion by activating SST2 in dogs. *Am J Physiol* 1997; 272:G1481-G1488.
- (111) Schubert ML. Gastric somatostatin: a paracrine regulator of gastrin and acid secretion. *Regul Pept Lett* 1991; 3:7-11.
- (112) Prinz C, Scott DR, Hurwitz D, Helander HF, Sachs G. Gastrin effects on isolated rat enterochromaffin-like cells in primary culture. *Am J Physiol* 1994; 267:G663-G675.
- (113) Rozengurt E, Walsh JH. Gastrin, CCK, signalin and cancer. *Annu Rev Physiol* 2001; 63:49-66.
- (114) Kidd M, Modlin IM, Tang LH. Gastrin and the enterochromaffin-like cell: an acid update. *Dig Surg* 1998; 15(3):209-217.
- (115) Beales I. Serum gastrin levels. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31(5):527-528.
- (116) Wank SA. Cholecystokinin receptors. *Am J Physiol* 1995; 269:G628-G646.
- (117) Modlin IM, Sachs G. *Acid Related Diseases. Biology and Treatment*. 1st ed. Milano: Schnetztor-Verlag GmbH Konstanz, 1998.
- (118) Kopin AS, Lee YM, McBride EW et al. Expression cloning and characterization of the canine parietal cell gastrin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:3605-3609.

- (119) Nakajima T., Konda Y, Izumi Y, Kanai M, Hayashi N, Chiba T, Takeuchi T. Gastrin stimulates the growth of gastric pit cell precursors by inducing its own receptors. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282(2):G359-G366.
- (120) Athmann C, Zeng N, Scott DR, Sachs G. Regulation of parietal cell calcium signaling in gastric glands. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279(5):G1048-G1058.
- (121) Andersson N, Rhedin M, Peteri-Brunback B, Andersson K, Cabero JL. Gastrin effects on isolated rat enterocromaffin-like cells following long-term hypergastrinemia in vivo. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1451:297-302.
- (122) Yang H. Central and peripheral regulation of gastric acid secretion by peptide YY. *Peptides* 2002; 23:233-246.
- (123) Hirschowitz B, Tim LO, Helman CA, Molina E. Bombesin and G-17 doses responses in duodenal ulcer and controls. *Dig Dis Sci* 1985; 30:1092-1113.
- (124) Greenberg GR, Chan B, McDonald TJ, Alleyne J. The role of vagal integrity in gastrin releasing peptide stimulated gastroenteropancreatic hormone release and gastric acid secretion. *Regul Pept* 1985; 10:179-187.
- (125) Glad H, Svendsen P, Ainsworth MA, Olsen O, Rehfeld JF, Schaffalitzky DE, Muckadell OB. The effect of gastrin releasing peptide on porcine pancreaticobiliary bicarbonate secretion is mediated by secretin. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29:195-202.
- (126) Villar HV, Fender HB, Rayford PL, Bloom SR, Ramus NI, Thompson JC. Suppression of gastrin release and gastric secretion by gastric inhibitory polypeptide (GIP) and vasoactive intestinal polypeptide (VIP). *Ann Surg* 1976; 184:97-102.
- (127) Solomon TE, Adrian TE. Intestinal inhibitors of acid secretion: comparative potencies and effects on inhibitory hormones. *Gastroenterology* 104[A196]. 1993.
- (128) Holts JJ, Fahrenkrug J, Stadil F, Rehfeld JF. Gastrointestinal endocrinology. *Scand J Gastroenterol* 1996; Supp 216:27-38.
- (129) Hui WM, Chen BW, Kung AW, Cho CH, Luk CT, Lam SK. Effect of epidermal growth factor on gastric blood flow in rats: possible role in mucosal protection. *Gastroenterol* 1993; 104:1605-1610.
- (130) Guglietta A, Lesch CA, Romano M, McClure RW, Coffey RJ. Effect of transforming growth factor-alpha on gastric acid secretion in rats and monkeys. *Dig Dis Sci* 1994; 39:177-182.
- (131) Lewis JJ, Goldenring JR, Asher VA, Molin IM. Effects of epidermal growth factor on signal transduction in rabbit parietal cells. *Am J Physiol* 1990; 258:G476-G483.
- (132) Sjodin L, Dahlen HG, Viitanen E. Binding of epidermal growth factor to receptors in preparations of enriched porcine parietal cells and inhibition of aminopyrine uptake. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27:495-500.

- (133) Murayama Y, Miyagawa J, Higashiyama S, Kondo S, Yabu M, Isozaki K, Kayanoki Y, Kanayama S, Shinomura Y, Taniguchi N, Matsuzawa Y. Localization of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in human gastric mucosa. *Gastroenterol* 1995; 109:1051-1059.
- (134) Schubert ML. Gastric exocrine and endocrine secretion. *Curr Opin Gastroenterol* 1996; 12:493-502.
- (135) Dockray G. J. Topical review. Gastrin and gastric epithelial physiology. *J Physiol* 1999; 518 (Pt 2):315-324.
- (136) Sachs G., Hersey SJ. *The Gastric Parietal Cell*. 1^a ed. Oxford: AB Astra, 1994.
- (137) Bordi C, D'Adda T, Azzoni C, Ferraro G. Classification of gastric endocrine cells at the light and electron microscopic levels. *Microsc Res Tech* 2000; 48:258-271.
- (138) Tzaneva MA. Electron microscopic immunohistochemical investigation of chromogranin A in endocrine cells in human oxyntic gastric mucosa. *Acta Histochem* 2001; 103:179-194.
- (139) Norlen P, Curry WJ, Bjorkqvist M, Maule A, Cunningham RT, Hogg RB, Harriott P, Johnston CF, Hutton JC, Hakanson R. Cell-specific processing of chromogranin A in endocrine cells of the rat stomach. *J Histochem Cytochem* 2001; 49:9-18.
- (140) Tischler AS. Chromaffin cells as models of endocrine cells and neurons. *Ann N Y Acad Sc* 2002; 971:336-370.
- (141) Troncon LE, Barbosa AJ, Carvalhais JN, Romanello LM. Lower density of antral somatostatin-immunoreactive cells in the digestive form of chronic Chagas' disease. *Braz J Med Biol Res* 1996; 29(11):1449-1454.
- (142) Calam J. *Helicobacter pylori* and somatostatin cells. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; 10(4):281-283.
- (143) Modlin IM, Tang LH. The gastric enterochromaffin-like cell: an enigmatic cellular link. *Gastroenterology* 1996; 111:783-810.
- (144) Pisegna JR, Ohning GV, Athmann C, Zeng N, Walsh JH, Sachs G. Role of PACAP-1 receptor in regulation of ECL cells and gastric acid secretion by pituitary adenylate cyclase activating peptide. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 921:233-241.
- (145) Sanz Esponera J, Sanz Ortega J. Morfo-patología del sistema neuroendocrino difuso (Sistema APUD). In: Varas Lorenzo, editor. *Endocrinología Gastroentero-pancreatica*. Madrid: Byk Elmu y Parmacia & Upjohn, 1997: 13-34.
- (146) Chen D, Zhao CM, Andersson K, Sundler F, Hakanson R. Ultrastructure of enterochromaffin-like cells in rat stomach: effects of alpha-fluoromethylhistidine-evoked histamine depletion and hypergastrinemia. *Cell Tissue Res* 1996; 283:469-478.
- (147) Kamoshida S, Saito E, Fukuda S, Kato K, Iwasaki A, Arakawa Y. Anatomical location of enterochromaffin-like ECL cells, parietal cells and chief cells in the stomach, demonstrated by immunocytochemistry and electron microscopy. *J Gastroenterol* 1999; 34:315-320.

- (148) Chen D, Zhao CM, Andersson K, Meister B, Panula P, Hakanson R. ECL cell morphology. *Yale J Biol Med* 1998; 71:217-231.
- (149) Prinz C, Zanner R, Gratzl M. Physiology of gastric enterochromaffin-like cells. *Annu Rev Physiol* 2003; 65:371-382.
- (150) Hakanson R, Owman CH. Electron microscopic identification of the histamine-storing argyrophil (enterochromaffin-like) cells in the stomach. *Z Zellforschung Mikroskop Anatomie* 1971; 122:460.
- (151) Stevens A, Lowe J. *Human Histology*. 2^a ed. London; Mosby: 1997.
- (152) Rangachari PK. The fate of released histamine: reception, response and termination. *Yale J Biol Med* 1998; 71:173-182.
- (153) Solcia E, Fiocca R, Villani L, Luinetti O, Capella C. Hyperplastic, dysplastic, and neoplastic enterochromaffin-like-cell proliferations of the gastric mucosa. Classification and histogenesis. *Am J Surg Pathol* 1995; 19 S1:S1-S7.
- (154) Orbeg K. Gastric neuroendocrine cells and secretory products. *Yale J Biol Med* 1998; 71:149-154.
- (155) Sachs G, Prinz C. Gastric enterochromaffin-like cells and the regulation of acid secretion. *News Physiol Sci* 1996; 11:57-62.
- (156) Chen D, Zhao CM, Norlen P, Bjorkqvist M, Ding XQ, Kitano M et al. Effect of cholecystokinin-2 receptor blockade on rat stomach ECL cells. A histochemical, electron-microscopic and chemical study. *Cell Tissue Res* 2000; 299:81-95.
- (157) Lonroth H, Rosengren E, Olbe L, Lundell L. Histamine metabolism in human gastric mucosa. Effect of pentagastrin stimulation. *Gastroenterol* 1990; 98:921-928.
- (158) Dartsch C, Chen D, Hakanson R, Persson L. Histidine decarboxylase in rat stomach ECL cells: relationship between enzyme activity and different molecular forms. *Regul Pept* 1999; 81:41-48.
- (159) Hunyady S, Zóyomi A, Palkovits M, Stefan H, Mezey E. *Gut* Nov 45(5), A293. 1999.
- (160) Prinz C, Zanner R, Gerhard M, Mahr S, Neumayer N, Hohne Zell B, Gratzl M. The mechanism of histamine secretion from gastric enterochromaffin-like cells. *Am J Physiol* 1999; 277:C845-C855.
- (161) Zeng N, Athmann C, Kang T, Lyu RM, Walsh JH, Ohning GV, Sachs G, Pisegna JR. PACAP type 1 receptor activation regulates ECL cells and gastric acid secretion. *J Clin Invest* 1999; 104:1383-1391.
- (162) Sandor A, Kidd M, Lawton G, P Miu K, Tang L. H. Neurohormonal modulation of rat enterochromaffin-like cell histamine secretion. *Gastroenterology* 1996; 110:1084-1092.
- (163) Tielemans Y, Willems G, Sundler F, Hakanson R. Self-Replication of Enterochromaffin-Like Cells in the mouse stomach. *Digestion* 1990; 45:138-146.
- (164) Kidd M, Miu K, Tang LH, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Sandor A, Modlin IM. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide stimulates histamine release and DNA synthesis in rat enterochromaffin-like cells. *Gastroenterology* 1997; 113(4):1110-1117.

- (165) Kidd M, Tang LH, Schmid S, Lauffer J, Louw JA, Modlin IM. Helicobacter pylori lipopolysaccharide alters ECL cell DNA synthesis via a CD14 receptor and polyamine pathway in mastomys. *Digestion* 2000; 62(4):217-224.
- (166) Mahr S, Neumayer N, Gerhard M, Classen M, Prinz C. IL-1beta-induced apoptosis in rat gastric enterochromaffin-like cells is mediated by NOS, NF-kappaB, and Bax protein. *Gastroenterology* 2000; 118(3):515-524.
- (167) Yamada Y, Post SR, Wang K, Tager HS, Bell GI, Seino S. Cloning and functional characterization of a family of human and mouse somatostatin receptors expressed in brain, gastrointestinal tract, and kidney. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:251-255.
- (168) Sandvik AK, Dimaline R, Srenna E, Waldum HL. Differential expression and regulation of SSTR-2 messenger RNA in rat gastric antrum and corpus. *Am J Physiol* 1995; 269:G542-G547.
- (169) Seal AM, Yamada T, Debas HT. Somatostatin 14 and 28, clearance and potency on gastric function in dogs. *Am J Physiol* 1982; 143:G97.
- (170) Yamashita K, Kaneko H, Yamamoto S, Konagaya T, Kusugami K, Mitsuma T. Inhibitory effect of somatostatin on Helicobacter pylori proliferation in vitro. *Gastroenterology* 1998; 115(5):1123-1130.
- (171) Wu SV, Giraud A, Mogard M, Sumii K, Walsh JH. Effects of inhibition of acid secretion on antral gastrin and somatostatin gene expression. *Am J Physiol* 1990; 258:G788-G793.
- (172) Berlin RG. Omeprazole. gastrin gastric endocrine cell data from clinical studies. *Dig Dis Sci* 1991; 36:129-136.
- (173) D'Adda T, Pilato FP, Lazzaroni M, Robutti F, Bianchi-Porro G, Bordi C. Ultrastructural morphometry of gastric endocrine cells before and after omeprazole. a study in the oxyntic mucosa of duodenal ulcer patients. *Gastroenterology* 1991; 100:1563-1570.
- (174) Qvigstad G, Arnestad JS, Brenna E, Waldum HL. Treatment with proton pump inhibitors induces tolerance to histamine-2 receptor antagonists in Helicobacter pylori-negative patients. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33(12):1244-1248.
- (175) Schubert ML, Hightower J. Inhibition of acid secretion by bombesin/GRF neurons of the gastric fundus. *Am J Physiol* 1991; 260:G156-G160.
- (176) Courillon-Mallet A, Launay JM, Roucayrol AM, Callebort J, Emond JP, Tabuteau F, Cattan D. Helicobacter pylori infection: physiopathologic implication of N alpha-methyl histamine. *Gastroenterology* 1995; 108(4):959-966.
- (177) Coruzzi G, Morini G, Adami M, Grandi D. Role of histamine H3 receptors in the regulation of gastric functions. *J Physiol Pharmacol* 2001; 52(4 Pt 1):539-553.
- (178) Valenzuela Barranco M. Mecanismos celulares de la secreción gástrica. *Rev Esp Enf Digest* 1990; 77:279-286.

- (179) Kahlson G, Rosengren E, Svann D et al. Mobilization and formation of histamine in the gastric mucosa as related to acid secretion. *J Physiol Lond* 1964; 174:400-416.
- (180) Konturek PC, Brzozowski T, Karczewska E, Duda A, Bielanski W, Hahn EG, Konturek SJ. Water extracts of *Helicobacter pylori* suppress the expression of histidine decarboxylase and reduce histamine content in the rat gastric mucosa. *Digestion* 2000; 62(2-3):100-109.
- (181) Hollande F, Bali JP, Magous R. Autoregulation of histamine synthesis Through H3 receptors in isolated fundic mucosal cells. *Am J Physiol* 1993; 256:G1039-G1044.
- (182) Hollande F, Combettes S, Bali JP, Magous R. Gastrin stimulation of histamine synthesis in enterochromaffin-like (ECL) cells from rabbit fundic mucosa. *Am J Physiol* 1996; 270:G463-G469.
- (183) Modlin IM, Esterline W, Kim H, Goldenring JR. Enterochromaffin-like cells and gastric argyrophil carcinoidosis. *Acta Oncol* 1991; 30:493-498.
- (184) Torbenson M, Abraham SC, Boitnott J, Yardley JH, Wu TT. Autoimmune gastritis: distinct histological and immunohistochemical findings before complete loss of oxyntic glands. *Mod Pathol* 2002; 15(2):102-109.
- (185) Matsumoto T, Arakawa T. [Autoimmune atrophic gastritis]. *Ryoikibetsu Shokogun Shirizu* 2000;(31):200-203.
- (186) Nakamura S, Watanabe H, Yokota T, Matsui H, Onji M, Maeyama K. Effect of rabeprazole on histamine synthesis in enterochromaffin-like cells of mast cell-deficient (Ws/Ws) rats. *Eur J Pharmacol* 2000; 394(1):9-16.
- (187) Belaiche J, Delwaide J, Louis E, Gast P. Enterochromaffin-like cells and their receptors: physiological role and physiopathological significance. *Acta Gastroenterol Belg* 1993; 56:235-244.
- (188) Walsh JH. Role of gastrin as a trophic hormone. *Digestion* 1990; 47 Suppl 1:11-16.
- (189) Hakanson, R Sundler F. Trophic effects of gastrin. *Scand J Gastroenterol* 1991; 180(Suppl 1):130-136.
- (190) Delle FG, Marignani M, Moretti A D, Ambra G, Martino G, Annibale B. Hypergastrinemia and enterochromaffin-like (ECL) cell hyperplasia. *Yale J Biol Med* 1998; 71:291-301.
- (191) Hage E, Hendel L, Gustafsen J, Hendel J. Histopathology of the gastric oxyntic mucosa in two different patient groups during long-term treatment with omeprazole. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15(7):781-789.
- (192) McColl KE, Gillen D, El Omar E. The role of gastrin in ulcer pathogenesis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2000; 14:13-26.
- (193) Prinz C, Sachs G, Walsh J, Coy D, Wu V. The Somatostatin Receptor Subtype on Rat Enterochromaffin-like cells. *Gastroenterology* 1994; 107:1067.

- (194) Lindstrom E, Eliasson L, Bjorkqvist, M Hakanson R. Gastrin and the neuropeptide PACAP evoke secretion from stomach histamine-containing (ECL) cells by stimulating in Ca^{2+} through different Ca^{2+} channels. *J Physiol* 2001; Sept 15;535 (Pt3):663-677.
- (195) Mahr S, Neumayer N, Kolb HJ, Schepp W, Classen M, Prinz C. Growth factor effects on apoptosis of rat gastric enterochromaffin-like cells. *Endocrinology* 1998; 139:4380-4390.
- (196) Barnad JA, Beauchamp RD, Russell WE, Dubois RN, Coffey RJ. Epidermal Growth factor-related peptides and their relevance to gastrointestinal pathophysiology. *Gastroenterology* 1995; 108:564-580.
- (197) Tzaneva M. Light and electron microscopic immunohistochemical investigation on G and D cells in antral mucosa in *Helicobacter pylori*-related gastritis. *Exp Toxicol Pathol* 2001; 52(6):523-528.
- (198) Solcia E, Vassallo G, Capela C. Cytology and cytochemistry of hormone-producing cells of the upper gastrointestinal tract. In: Creuzfeldt W, editor. *International Symposium Wiesbaden October 24-25 1969*. Stuttgart: FK Schattner Verlag, 1969.
- (199) Beales IL, Post L, Calam J, Yamada T, DelValle J. Tumour necrosis factor alpha stimulates gastrin release from canine and human antral G cells: possible mechanism of the *Helicobacter pylori*-gastrin link. *Eur J Clin Invest* 1996; 26(7):609-611.
- (200) Tresguerres JAF. Introducción al sistema endocrino: concepto de hormona. In: Tresguerres JAF, editor. *Fisiología Humana*. Barcelona: McGraw-Hill- Interamericana, 1999.
- (201) Calam J, Dockray GJ, Walker R et al. Molecular forms of gastrin in peptic ulcer: Comparison of serum and tissue concentration of G17 and G34 in gastric and duodenal ulcer subjects. *Eur J Clin Invest* 1980; 10:241.
- (202) Wittman EM, Verhulst ML, Dekoning AW, Hopman WRM, Jansen JBMJ. Basal serum gastric concentration before and after eradication of *Helicobacter pylori* infection measured by sequence specific radioimmunoassays. *Aliment Pharmacol Ther* 1994; 8:515-519.
- (203) Weigert N, Schaffer K, Schudziarra V, Classen M, Schepp W. Gastrin secretion from primary cultures of rabbit antral G cells: stimulation by inflammatory cytokines. *Gastroenterology* 1996; Jan. 110 (1):147-154.
- (204) Berthoud HR, Fox EA, Powley TL. Abdominal pathways and central origin of rat vagal fibers that stimulate gastric acid. *Gastroenterology* 1991; 100:627-637.
- (205) Feldman M. Inhibition of gastric acid secretion by selective and nonselective anticholinergics. *Gastroenterology* 1984; 86:361-366.
- (206) Debas HT, Lloyd KCK. Peripheral regulation of gastric acid secretion. In: Johnson LR, editor. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. New York (U.S.A.): Raven Press, 1994: 1185.
- (207) Hakanson R, Bottcher G, Sundler F, Vallgren S. Activation and hyperplasia of gastrin and enterochromaffin-like cells in the stomach. *Digestion* 1986; 35 Suppl 1:23-41.

- (208) Battey JF, Way JM, Corjay MH et al. Molecular cloning of the bombesin/gastrin releasing peptide receptor from Swiss 3t3 cells. *Biochemistry* 1991; 88:395-399.
- (209) Holts JJ, Skak-Nielsen T, Orskov C, Seier-Poulsen S. Vagal control of the release of somatostatin, vasoactive intestinal polipeptide, gastrin releasing-peptide and HCl from porcine non-antral stomach. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27:677-685.
- (210) Gibbons AH, Legon S, Walker MM, Ghatei M, Calam J. The effect of gastrin-releasing peptide on gastrin and somatostatin messenger RNAs in humans infected with *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1997; 112(6):1940-1947.
- (211) Hammer RA, Ochoa A, Fernandez C, Ertan A, Arimura A. Somatostatin as a mediator of the effect of neurotensin on pentagastrin-stimulated acid secretion in man. *Peptides* 1992; 13:1175-1179.
- (212) Buchan AMJ, Meloche RM, Kwock YN, Kofod H. Effect of cholecystokinin and secretin on somatostatin release from cultured antral cells. *Gastroenterology* 1993; 104:1414-1419.
- (213) Sumii M, Sumii K, Tari A et al. Expresión of antral gastrin and somatostatin mRNA in *Helicobacter Pylori*-infected subjects. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:1515-1519.
- (214) Evert BM, Parekh D, Townsed CMJr Thompson JC. Somatostatin and analogues in the treatment of cancer. A review. *Ann Surg* 1991; 213:190-198.
- (215) Schubert ML. The effect of vasoactive intestinal polypeptide on gastric acid secretion is redominantly mediated by somatostatin. *Gastroenetrology* 1991; 100:1195-1200.
- (216) Valenzuela Barranco M. Morfología de la mucosa gástrica en la enfermedad ulcerosa péptica. Facultad de Medicina. Universidad de Granada, 1989. Ref Type: Thesis.
- (217) Rey FJ, Albuissou M, Greff M, et al. Electronic videoendoscopy: preliminary results of imaging modification. *Endoscopi* 1988; 20:8-10.
- (218) Kimura K, Yoshida Y, Ito k. Image processing and analysis with the electronic endoscope. *Toshiba Medical Review* 1988; 25:1-10.
- (219) Cacabelos R. Inteligencia Artificial *Jano* 1988; 34(822):77-95.
- (220) PC MAGAZINE. Tendencias: Lo que el ordenador puede ver. *Enero* 1988:140-146.
- (221) Loud AV, Anversa P. Morphometric analysis of biologic processes. *Lab Invest* 1984; 50:250:252.
- (222) Pesce CM. Biology of disease: Defining and interpreting diseases through morphometry. *Lab Invest* 1987; 56: 568-575.
- (223) Ooms ECM, Kurver PHJ, Veldhuizen RW. Morphometric grading of bladder tumors in comparison with histologic grading by pathologist. *Hum Pathol* 1983; 14:144-148.
- (224) Pesce CM. Morphometric studies need review by statisticians. *Am J Clin Pathol* 1985; 84:258-260.
- (225) Bacus JW, Grace LJ. Optical microscope system for standardized cell measurements and analysis. *Applied Optics* 1987; 26(16): 3280-3293.
- (226) Ranchod M, Kempson RL. Smooth muscle tumours of the gastrointestinal tract retroperitoneum:

a pathology analysis of 100 cases. *Cancer* 1977; 255-260.

- (227) Baak JPA., Van Dop H, De Noo Niewlaa TAJE, et al. Prognostic indicators in breast cancer: morphometric methods. *Histopathology* 1982; 6:327-334.
- (228) Stenvist B, Bengtsson E, Eriksson O, et al. Correlation between cytometric feature and mitotic frequency in human breast carcinoma. *Cytometry* 1981; 1:287-291.
- (229) Van Der Linden HC, Baak JPA, Smuelders AWM, et al. Morphometry of breast cancer: comparison of the primary tumours and the auxillary liph node metastases. *Pathol Res Pract* 1986; 181:236-240.
- (230) Bacus S. An optical microscope image analysis system with clinical applications. *International Clinical Products Review (LC.P.R.)* 1988; March-April: 29-35.
- (231) Bhattacharjee DK, Harris M, Faragher EB. Nuclear morphometry of ephiteliosis and intraductal carcinoma of the breast. *Histopathology* 1985; 9:511-516.
- (232) Niazi NH, Leigh R, Crowe P, Marsh MN. Morphometric analysis of small intestinal mucosa: Methodology, epithelial volume compartments and enumeration of inter-epithelial space lymphocytes. *Virchows Arch* 1984; 404:49-56.
- (233) Barry JD, Sharkey FE. Observer reproductibility during computer-assisted lanimetric measurements of nuclear features. *Hum Pathol* 1985; 16:225-227.
- (234) Pitha JV. Computer-assisted planimetry. *Hum Pathol* 1985: 1284-1285.
- (235) Proia AD, Chandler DB, Haynes WL, et al. Quantitation of corneal neovascularization using computerized image analysis. *Lab Invest* 1988; 58:473-479.
- (236) Boon ME, Trot PA, Van Kaam H, et al. Morphometry and cytodiagnosis of breast lessions. *Virchows Arch* 1982; 396:914.
- (237) Stenkvist B, Bengtsson E, Eriksson O, et al. A morphometric expression of differentiation in fine-needle biopsies of breast cancer. *Cytometry* 1981; 1:292-296.
- (238) Overgaard Nielsen H, Halcken S, Lorentzen M. Quantitative studies of the gastrin producing cells of the human antrum. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1980; 88:255-260.
- (239) Blendis LM, Orrego H, Crossley IR, et al. The role of hepatocyte enlargement in hepatic pressure in cirrhotic and noncirrhotic alcoholic liver disease. *Hepatology* 1982; 2:539-545.
- (240) Mueller O. The quantification of the rat gastric mucosa by morphometric methods. *Scand J Gastroenterol* 1984; 101 (Supp 1):1-6.
- (241) Elias H, Hyde DM, Mullens RS, Lambert FC. Colonic adenomas: stereology and growth mechanisms. *Dis Colon Rectum* 1981; 24:33-37.
- (242) Epstein JL, Berry SJ, Eggleston JC. Nuclear roudness factor. *Cancer* 1984; 54:1666-1669.
- (243) Uphold JB. Three-dimensional reconstruction of tissue using computed generated images. *J Neurosci Methods* 1987; 20(2):131-138.
- (244) Nakamura S, Kino I. Morphogenesis of minute adenomas in familial polyposis coli. *J Natl Cancer*

Inst 1984; 73:41-46.

- (245) Takahashi T. Three-dimensional morphology of the liver and related disorders. *Virchows Arch* 1978; 377:97-105.
- (246) Valenzuela M, Martín-Ruiz JL, Caballero AM, Álvarez de Cienfuegos J, Nogales FF, Peña JF. Parietal cell hyperactivity is not due to *Helicobacter pylori* infection in patients with duodenal ulcer. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 2114 -2119.
- (247) Graham DY, Lew GM, Lechago J. Antral G-cell and D-cell number in *Helicobacter pylori* infection: effect of *Helicobacter pylori* eradication. *Gastroenterology* 1993; 104:1655 -1660.
- (248) Valenzuela M, Peña- Angulo JF, Nogales FF. Morfometría de la mucosa gástrica. In: Díaz-Rubio M, ed. *Avances en gastroenterología*, 6th ed. Madrid, Arán, 1989: 51-75.
- (249) Valenzuela M, Peña- Angulo JF, Nogales FF. Interactive computerized morphometry in normal gastric mucosa. *Gastroent Intern* 1988; supp 1: 227.
- (250) Giacoso A. Morphometry of normal duodenal mucosa. *Scand J Gastroenterol* 1989; supp 167: 10-12.
- (251) Goodlad RA, Levi S, Lee CY, Mandir N, Hodgson H, Wright NA. Morphometry and cell proliferation in endoscopic biopsies: evaluation of a technique. *Gastroenterology* 1991; 101: 1235-1241.
- (252) D'Adda T, Pilato FP, Lazzaroni M, Robutti F, Bianchi-Porro G, Bordi C. Ultrastructural morphometry of gastric endocrine cells before and after omeprazole. Study in the oxyntic mucosa of duodenal ulcer patients. *Gastroenterology* 1991; 100: 1563-1570.
- (253) Valenzuela M, Martín JL, Caballero AM, Nogales F. Parietal cell mass, hydrochloric acid secretion and *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1997; 92(6): 1070-1071.
- (254) Valenzuela M, Martín JL, López-Andrade A, Caballero A, Nogales F. Parietal cell activity is not related to antral G cells number in patients with duodenal ulcer. *Gastroenterology* 1998; 114(4): 1298.
- (255) Martín JL, López-Andrade A, Valenzuela M, Caballero AM, Nogales F, Caballero T, Trapero A. Antral D, G and inflammatory cells in patients with duodenal ulcer and funcional dispepsia. Role of *Helicobacter pylori*. *Digestión* 1998; 59: 384.
- (256) López-Andrade A. Densidad celular G y D en antro gástrico de pacientes con y sin úlcera duodenal e infección por *Helicobacter pylori*. Tesis. Granada, Universidad de Granada, Departamento de Medicina, 1997.
- (257) Rodríguez Téllez M. Estudio morfométrico de la mucosa gástrica en la úlcera duodenal asociada a la infección por *Helicobacter pylori*. Tesis. Granada, Universidad de Granada, Departamento de Medicina, 1997.

- (258) Valenzuela M, Rodríguez-Téllez M, Martín JL, Carmona I, Caballero AM. Parietal cell hyperactivity decrease after a triple therapy in duodenal ulcer patients with *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 41(3): 111.
- (259) Trapero Martínez A. Poblaciones leucocitarias y células neuroendocrinas en mucosa gástrica en pacientes con y sin úlcera duodenal. Papel de la infección por *Helicobacter pylori*. Tesis. Granada, Universidad de Granada, Departamento de Medicina, 2003.
- (260) Mendiña Guillén MJ. Relación entre la actividad de las células parietales y las poblaciones de células neuroendocrinas en pacientes con úlcera duodenal. Tesis. Granada, Universidad de Granada, departamento de Medicina, 2004.
- (261) Valenzuela M, Martín JL, Caballero AM, Álvarez de Cienfuegos J. Regulación de la secreción ácida gástrica. *Rev Esp Enf Digest*, 1995; 87: 874-882.
- (262) Modlin IM, Sachs G. Acid related diseases. Biology and treatment. 2th edition. Philadelphia, Lippincott Williams&Wilkins, 2004.
- (263) Joseph IMP, Zavros Y, Merchant JL, Kirschner D. A model for integrative study of human gastric acid secretion. *J Appl Physiol* 2003; 94: 1602-1618.
- (264) Milutinovic AS, Todorovic V, Milosavljevic CT, Micev M, Spuran M, Drndarevic N. Somatostatin and D cells in patients with gastritis in the course of *Helicobacter pylori* eradication: a six month follow-up study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15(7): 755-766.
- (265) Zavros Y, Rieder G, Ferguson A, Samuelson LC, Merchant JL. Hypergastrinemia in response to gastric inflammation suppresses somatostatin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282(1):G175-G183.
- (266) Bakke I, Sandvik AK, Waldum HL. Octreotide inhibits the enterochromaffin-like cell but not peroxisome proliferator-induced hypergastrinemia. *J Mol Endocrinol* 2000; 25(1):109-119.
- (267) Ferraro G, Annibale B, Marignani M, Azzoni C, D'Adda T, D'Ambra G, Bordi C, delle FG. Effectiveness of octreotide in controlling fasting hypergastrinemia and related enterochromaffin-like cell growth. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(2):677-683.
- (268) Modlin IM. From to the proton pump. A history of the science of gastric acid secretion and the surgery of peptic ulcer. *SG&O*, 1990; 170: 81-96.
- (269) Black JW, Duncan WAM, Durant CJ, Ganellin CR, Parsons ME. Definition and antagonism of histamine H2 receptors. *Nature*, 1972; 236: 385.
- (270) Penston JG, Dixon JS, Selway SA, Wormsley KG. Gastric history and plasma gastrin response to a meal in patients with duodenal ulcer disease after five years treatment with ranitidine. *Aliment Pharmacol Ther*, 1990; 4(4): 381-392.

- (271) Lindberg P, Nordberg P, Alminger T, Brändström A, Wallmark B. The mechanism of action of the gastric acid secretion inhibitor omeprazole. *J Med Chem* 1986; 29: 1327-1329.
- (272) Lindberg P, Brändström A, Wallmark B, Mattsson H, Rikker L, Hoffmann KJ. Omeprazole: the first proton pump inhibitor. *Med Res Rev*, 1990; 10: 1-59.
- (273) Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat G. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16(2):167-180.

IX. ABREVIATURAS

Ac: anticuerpo.

Ach: acetilcolina.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

AINE: antiinflamatorio no esteroideo.

AMPc: adenosín monofosfato cíclico.

APUD: células captadoras y decarboxiladoras de precursores de aminas.

ARN: ácido ribonucleico.

ARNm: ácido ribonucleico mensajero.

ATP: adenosín trifosfato.

CagA: proteína antigénica asociada a la citotoxina vacuolizante.

CCK: colecistoquinina.

CCK-A: receptor de la gastrina, presente en cerebro, intestino, células D del fundus, células principales.

CCK-B: receptor de la gastrina, presente en la mucosa gástrica.

CD4 +: Cluster Designation que identifica linfocitos T cooperadores.

CD8 +: Cluster Designation que identifica linfocitos T citotóxicos.

Células D: células productoras de somatostatina.

Células EC: células enterocromafines.

Células ECL: células similares a las enterocromafines.

Células G: células productoras de gastrina.

Células NK: células “asesinas” naturales.

CGRP: péptido gen relacionado con la calcitonina.

DC: densidad celular.

EDA: endoscopia digestiva alta.

EGF: factor de crecimiento epidérmico.

EGF-r: receptor del factor de crecimiento epidermal.

G-34: progastrina.

G-17: gastrina.

GABA: ácido gamma aminobutírico.

GAL-1: receptor para la galanina, presente en la célula ECL.

Gi: enzima fijadora de nucleótidos de guanina, inhibidora.

GIP: polipéptido inhibidor gástrico.

GLP: péptido glucagón-like.

GMPc: guanosín monofosfato cíclico.

GRP: polipéptido liberador de gastrina.

Gs: enzima fijadora de nucleótidos de guanina, estimulante.

GTP: guanosín trifosfato.

H1, H2, H3: receptores de histamina.

HB-EGF: factor de crecimiento epidérmico unido a la heparina.

HCL: ácido clorhídrico.

HDC: histidín-decarboxilasa.

HP: *Helicobacter pylori*.

H. pylori: *Helicobacter pylori*.

IBP: inhibidor de la bomba de protones.

Ig: inmunoglobulina.

IL: interleuquina.

IRR: receptor de la insulina.

M1, M2, M3, M4, M5: receptores muscarínicos de la acetilcolina.

MALT: tejido linfoide asociado a mucosas.

MFB: región medial de la circunvolución frontal.

NDMV: núcleo dorso motor del vago.

NTS: núcleo del tracto solitario.

PAC-1 ó PACAP-1: receptor para el PACAP.

PACAP: péptido activador de la adenilato-ciclasa-pituitaria.

PAS: ácido peryódico de Schiff.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

PG: prostaglandina.

PIG: péptido inhibidor gástrico.

PMN: leucocitos polimorfonucleares.

PYY: péptido tirosina-tirosina.

SNC: sistema nervioso central.

SNE: sistema nervioso entérico.

SNED: sistema neuroendocrino difuso.

SNP: sistema nervioso periférico.

SST: somatostatina.

SST-2: receptor para la somatostatina, presente en la célula ECL.

SSTR: receptores para la somatostatina, en la mucosa gástrica.

TGF-alfa: factor transformador del crecimiento alfa.

TGF-beta: factor transformador del crecimiento beta.

TRH: hormona estimulante tireotropina

UD: úlcera duodenal.

UG: úlcera gástrica.

VIP: polipéptido intestinal vasoactivo.

VMAT-2: transportador vesicular de monoaminas.

VMH: núcleo ventromedial del hipotálamo.

