

Efecto de la administración exógena de PDGF y EGF en la cicatrización de la úlcera duodenal en ratas tratadas con indometacina

A. Pérez Aisa^a, F. Sopena Biarge^a, E. Arceiz Gonzalo^b, R. Sainz Samitier^a, J. Ortego Díez de Retana^c y A. Lanas Arbeloa^a

Servicios de ^aAparato Digestivo y ^cAnatomía Patológica. Hospital Clínico Universitario. Zaragoza. ^bDepartamento de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina. Huesca.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Los antiinflamatorios no esteroides (AINE) retrasan la cicatrización de la úlcera péptica por mecanismos en parte desconocidos. Los factores de crecimiento cumplen un papel importante en el proceso de cicatrización.

OBJETIVO: Evaluar si la administración exógena del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) revierten el efecto de la indometacina en la úlcera duodenal experimental en ratas, y definir los mecanismos potenciales involucrados en este proceso.

MÉTODO: Se indujo úlcera duodenal con ácido acético en ratas Wistar macho y se trató con indometacina (2 mg/kg/día), PDGF-BB (30 ng/100 g/día), EGF (50 µg/kg/día) o famotidina (control positivo) (1 mg/kg/día) o las posibles combinaciones. Se analizaron el área macroscópica, la reducción del diámetro microscópico, la proliferación en el tejido epitelial y de granulación, la secreción de colágeno por este tejido y la secreción ácida gástrica.

RESULTADOS: La indometacina retrasó la cicatrización de la úlcera duodenal disminuyendo la proliferación celular y originó una inhibición de la secreción de colágeno. PDGF y EGF aceleraron la cicatrización y revirtieron el efecto de la indometacina en la cicatrización. Los mecanismos involucrados se asociaron a un aumento en la proliferación y secreción de colágeno sin afectar a la secreción ácida gástrica. La famotidina también aceleró la cicatrización y revirtió el efecto de la indometacina asociado a la profunda inhibición de la secreción ácida gástrica y al aumento de la secreción de colágeno por parte del tejido de granulación.

CONCLUSIONES: La administración exógena de PDGF y EGF acelera y revierte el efecto deletéreo de la administración de indometacina en un modelo experimental de úlcera duodenal.

EFFECT OF EXOGENOUS ADMINISTRATION OF PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR AND EPIDERMAL GROWTH FACTOR ON DUODENAL ULCER HEALING IN RATS TREATED WITH INDOMETHACIN

BACKGROUND: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) delay peptic ulcer healing through mechanisms that are still not entirely understood. Growth factors play a significant role in healing.

AIM: To evaluate whether exogenous administration of platelet-derived growth factor (PDGF) reverses the effect of indomethacin in experimental duodenal ulcers in rats and to define the potential mechanisms involved in this process.

METHOD: Duodenal ulcer was induced in male Wistar rats with acetic acid. The rats were then administered indomethacin (2 mg/kg/day), PDGF-BB (30 ng/100 g/day), epidermal growth factor (EGF) (50 µg/kg/day) or famotidine (positive control) or the possible combinations of these. Macroscopic area, reduction in microscopic diameter, epithelial and granulation tissue proliferation, collagen secretion by granulation tissue, and gastric acid secretion were analyzed.

RESULTS: Indomethacin delayed duodenal ulcer healing by decreasing cellular proliferation and inhibiting collagen secretion. PDGF and EGF accelerated healing and reversed the effects of indomethacin. The mechanisms involved were associated with an increase in collagen proliferation and secretion without affecting gastric acid secretion. Famotidine also accelerated healing and reversed the effect of indomethacin, and these effects were associated with a marked inhibition of gastric acid secretion and increase in collagen secretion by granulation tissue.

CONCLUSIONS: Exogenous administration of PDGF and EGF accelerated healing and reversed the harmful effects of indomethacin in an experimental model of duodenal ulcer.

Correspondencia: Dr. A. Pérez Aisa.
Secretaría de Digestivo. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.
Avda. San Juan Bosco, 10. 50009 Zaragoza.

Recibido el 29-3-2001; aceptado para su publicación el 20-11-2001.

INTRODUCCIÓN

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) promueven la producción de la úlcera péptica, retrasan su cicatrización y son uno de los factores principales involucrados en la refractariedad de la cicatrización a la terapia antisecretora¹. Los mecanismos por los que los AINE interfieren en la cicatrización y promueven la recurrencia se han relacionado con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, pero este hecho por sí solo no explica totalmente el retraso en la cicatrización que estos fármacos originan². Otros mecanismos que se han asociado al consumo de AINE³ son la disminución de la angiogénesis en el tejido de granulación y en la proliferación de las células epiteliales en los márgenes de la úlcera que no dependen de la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, y por eso se ha propuesto la posibilidad de una potencial interferencia entre los factores de crecimiento y los AINE que podría explicar de forma adicional el efecto de estos fármacos sobre el proceso de cicatrización⁴. Así, se ha comprobado cómo la ingestión de ácido acetilsalicílico previene en humanos el crecimiento fibroblástico inducido por las plaquetas⁵ y el consumo de AINE podría retrasar la liberación de estos factores en los márgenes de la úlcera⁶. En un estudio previo, Hudson et al³ demostraron cómo la disminución en la angiogénesis (creación de nuevos vasos) en la base de la úlcera estaba fuertemente correlacionada con la extensión y la rapidez en la cicatrización, que resultaba inhibida por los AINE.

El factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el TGF- α son dos factores de crecimiento que intervienen tanto en el proceso de cicatrización como en la prevención del daño originado por diferentes agentes^{5,8}. Así, se ha observado que en presencia de úlceras gastrointestinales se desarrolla una nueva línea celular productora de EGF, adyacente a la úlcera, que promueve el proceso de cicatrización mediante una inhibición de la secreción ácida, un incremento en la síntesis de ADN y mediante la regulación de la microcirculación^{4,9}. Datos recientes apuntan a que el EGF origina un aumento en la proliferación y migración de las células epiteliales de los márgenes de la úlcera¹⁰.

El factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) ha despertado interés ya que acelera el proceso de cicatrización estimulando la migración celular, la proliferación e induciendo la expresión de otros factores de crecimiento¹¹ sin afectar a la secreción ácida gástrica. Se ha demostrado la presencia de receptores de PDGF en células epiteliales gástricas, lo que indica que la administración oral de este factor de crecimiento podría interactuar directamente en estos receptores localizados en la luz gástrica.

En este trabajo se evalúa si la administración exógena del PDGF y del EGF revierte el efecto de la indometacina en la úlcera duodenal experimental en ratas, y se definen los mecanismos potenciales implicados en este proceso.

MÉTODO

Los animales estudiados se obtuvieron a través del Servicio de Biomedicina y Biomateriales de la Universidad de Zaragoza, inscrito como Centro de Investigación para el uso y manejo adecuado de todos los animales de experimentación bajo las normas del Good Laboratory Practices dictadas por la Comunidad Europea.

Modelo experimental

Se utilizó como animal de experimentación ratas Wistar (250-300 g) induciendo una úlcera crónica duodenal mediante la aplicación de ácido acético al 75% siguiendo la técnica descrita por Konturek et al⁹.

Los animales permanecieron en ayunas (acceso libre al agua) durante 24 h antes de la inducción de la úlcera. Después de la anestesia con ketamina (10 mg/kg) y diazepam (40 mg/kg), se procedió a la apertura del abdomen exponiendo el duodeno. En la primera porción duodenal (cara anterior) en contacto con la serosa se aplicó un tubo de plástico de diámetro conocido (3 mm) en el que se depositaron 100 μ l de ácido acético al 75% durante 10 s. Está comprobado que esta técnica origina una rápida necrosis de toda la pared duodenal en el área de aplicación del ácido acético, siendo el resultado la formación de úlceras duodenales después de dos o tres días⁹. En estas condiciones, las úlceras no penetran en los órganos circundantes y la cicatrización es rápida.

Análisis de las úlceras duodenales y diseño del estudio

En grupos de 5-11 animales se administró placebo (vehículo, 250 μ l de suero salino), indometacina (2 mg/kg/día vía subcutánea), EGF (50 μ g/kg/día vía oral), PDGF (30 ng/100 g/día vía oral)¹¹, o las posibles combinaciones de indometacina con los diferentes factores de crecimiento. De igual forma, se administró en unos grupos famotidina (1 mg/kg/día) como control positivo de cicatrización con objeto de evaluar la acción de estos factores de crecimiento en comparación con un fármaco de demostrada eficacia cicatrizadora. Para permitir un contacto más directo de los diferentes tratamientos con la mucosa gástrica, antes de la aplicación de cada tratamiento las ratas debían permanecer 4 h en ayunas y estos tratamientos se administraron como dosis única por la mañana disueltos en 250 μ l de suero salino.

El sacrificio de los animales se llevó a cabo en el día 5 u 8 después de la inducción de la úlcera realizando la extracción del estómago, localización y fotografía de la úlcera. Para la identificación de la úlcera se utilizó un microscopio de disección (Leica Wild M 650, Heerbrugg, Suiza), para posteriormente fijar la pieza en formol al 10%. Para el examen histológico se utilizaron secciones, teñidas con hematoxilina-eosina, obtenidas de la zona central de la úlcera duodenal. La medición de los parámetros mucosos se llevó a cabo por investigadores (A.P.A., F.S. y E.A.) que desconocían los tratamientos que habían recibido esos animales. En cada pieza, se analizaron los siguientes parámetros: área macroscópica, tamaño microscópico de la úlcera y datos sobre proliferación celular y secreción de colágeno en el tejido de granulación. En el caso de los factores de crecimiento, estos datos sólo fueron analizados en el día 8 después de la inducción de la úlcera, ya que en estudios similares observamos que era el punto de análisis donde las diferencias alcanzan su máxima expresión, y alargar los tiempos de tratamiento incrementaba mucho el coste.

Los bloques de inclusión fueron cortados en serie con un grosor de 5 μ m. El diámetro microscópico de la úlcera se midió en las secciones teñidas con hematoxilina-eosina con un micrómetro a diferentes aumentos (Olympus OC-M; 20.4 m/m cross 10/100). Para investigar el grado de proliferación, se incubaron los diferentes cortes con el anticuerpo primario antiángulo de proliferación celular (PCNA) (clone PC10, Dako, Glostrup, Dinamarca) durante 30 min a temperatura ambiente y los siguientes pasos se realizaron siguiendo la técnica descrita en el procedimiento estándar¹² (fig. 1). Las preparaciones fueron teñidas con trícromico de Masson para investigar la secreción de colágeno por parte del tejido de granulación. Tanto la proliferación celular como la secreción de colágeno fueron cuantificadas mediante una técnica computarizada de imagen (NIH-Image 6.1, EE.UU.)¹³ midiendo la totalidad del área teñida en azul en las preparaciones para cuantificar colágeno y por el número de células positivas (teñidas en marrón) en el tejido de granulación para cuantificar el grado de proliferación celular.

Por otro lado, se estudiaron los efectos de los diferentes tratamientos sobre la secreción ácida gástrica en un grupo de animales en un modelo de píloro ligado. Se administró, por vía oral 20 min después de ligar el píloro, vehículo (placebo), EGF, famotidina o PDGF. La secreción ácida gástrica se recogió después durante 1 h y se midieron los parámetros de volumen de secreción y secreción de ácido como se describe en el modelo¹⁴.

Análisis estadístico

Los datos (media \pm DE) se analizaron mediante análisis de la variancia, seguido de análisis *post hoc* mediante la prueba de la t de Student para variancias iguales o desiguales. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas si el valor de la p era inferior a 0,05.

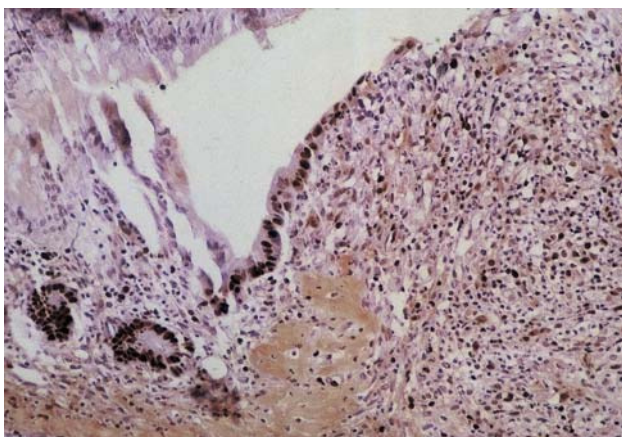


Fig. 1. Imagen microscópica con tinción con PCNA (véase «Métodos») de las células que están en fase de proliferación en el tejido epitelial (aparecen con coloración más oscura).

RESULTADOS

Efecto de la administración de indometacina, PDGF, EGF y famotidina en la cicatrización de la úlcera duodenal

Tamaño de la úlcera duodenal

En el grupo control se observó a lo largo del tiempo (días 5, 8 y 12) una reducción progresiva del área macroscópica, de tal forma que en el día 20 el 100% de las úlceras inducidas estaban cicatrizadas. La administración de indometacina originó un incremento del tamaño ulceroso (tabla I) retrasando la cicatrización y, así, en el día 20 el 40% de las úlceras duodenales del grupo indometacina permanecían activas. La reducción del diámetro microscópico evolucionó de forma paralela a la disminución del área macroscópica y fue significativamente inferior en el grupo de ratas tratadas con indometacina especialmente en el día 8 (tabla II).

El tratamiento con PDGF oral disminuyó de forma temprana y significativa el área macroscópica y el diámetro microscópico de la úlcera, en comparación con el grupo control. De igual forma, la administración de PDGF revirtió el efecto deletéreo de la indometacina consiguiendo reducir, en el día 8, de forma muy significativa los pará-

metros de área y diámetro ulceroso (tablas I y II). La administración de PDGF no afectó a la secreción ácida gástrica en el modelo de píloro ligado utilizado para medir este parámetro (pH: $2,56 \pm 0,97$ frente a $1,26 \pm 0,15$ y $116 \pm 55,8$ frente a $128 \pm 6,1$ $\mu\text{Eq/h}$ en los grupos control y PDGF, respectivamente).

La administración oral de EGF no modificó el área macroscópica de la úlcera comparándolo con lo que sucedió en el grupo control. Sin embargo, la administración de EGF en animales previamente tratados con indometacina redujo el área macroscópica y diámetro microscópico de la úlcera (tablas I y II). Este factor de crecimiento indujo una disminución significativa de la secreción ácida gástrica (pH: $2,56 \pm 0,97$ frente a $1,24 \pm 0,15$ y en $116 \pm 55,8$ frente a $52,90 \pm 80$ $\mu\text{Eq/h}$ en los grupos control y EGF, respectivamente).

La famotidina indujo una rápida reducción del tamaño de la úlcera y revirtió los efectos negativos que la indometacina indujo tanto en el tamaño macroscópico como en el diámetro microscópico de la úlcera (tablas I y II). De igual forma, en los animales previamente tratados con indometacina, la administración de famotidina revirtió los efectos deletéreos de ésta en la cicatrización. A las dosis utilizadas, famotidina produjo una inhibición profunda de la secreción ácida gástrica (pH: $2,56 \pm 0,97$ frente a 5 ± 2 y en $116 \pm 55,8$ frente a $0,45 \pm 90$ $\mu\text{Eq/h}$ en los grupos control y famotidina, respectivamente).

Efecto de los diferentes tratamientos en la proliferación de las células epiteliales y en el tejido de granulación

Proliferación en las células epiteliales

Ni en el grupo de ratas control ni en el grupo tratado con indometacina se observaron células epiteliales PCNA positivas cubriendo el nicho ulceroso o migrando-proliferando desde la zona de cicatrización al borde ulceroso.

El tratamiento con PDGF aumentó de forma significativa el número de células PCNA positivas en el borde de reepitelización de la úlcera tanto en el día 5 como en el 8 (25 ± 5 y 32 ± 6 , respectivamente, en los días 5 y 8 frente a 0 observadas en el grupo control). Ese mismo efecto de aumentar la proliferación se observó en el grupo de PDGF con indometacina (20 ± 7 en el día 5 y 5 ± 2 en el día 8

TABLA I. Evolución del área macroscópica ($\text{mm}^2 \pm \text{DE}$) según el tratamiento administrado

Grupo	Día 5	Día 8	Día 12	Día 20
Control	$6,67 \pm 3,80$	$2,96 \pm 2,11$	$1,5 \pm 1,1$	0 ± 0
IND	$17,24 \pm 6,74^*$	$13,1 \pm 9,24^*$	$6,21 \pm 3,2^*$	$2,1 \pm 0,8$
PDGF	$2,17 \pm 1,5^*$	$0,8 \pm 0,5^*$	—	—
PDGF + IND	$5,2 \pm 2,02^{**}$	$0,98 \pm 2,08^{**}$	—	—
EGF	—	$2,67 \pm 2,37$	—	—
EGF + IND	—	$3,53 \pm 2,18^*$	—	—
FAM	$1,56 \pm 2,46^*$	$1,24 \pm 2$	$1,098 \pm 2,04^*$	$0,195 \pm 0,39$
FAM + IND	$2,38 \pm 0,89^{**}$	$1,81 \pm 2,15^{**}$	$4,05 \pm 2,13$	$2,54 \pm 2,73$

*p < 0,01 frente al grupo control; **p < 0,01 frente a indometacina; (media ± 1 DE) (n = 6-9). IND: indometacina; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas; EGF: factor de crecimiento epidérmico; FAM: famotidina.

TABLA II. Evolución de la reducción del diámetro microscópico ($\text{mm} \pm \text{DE}$) según el tratamiento administrado

Grupo	Día 5	Día 8	Día 12	Día 20
Control	$1,16 \pm 0,71$	$1,72 \pm 0,93$	$1,74 \pm 0,74$	3 ± 0
IND	$0,67 \pm 0,50^*$	$1,11 \pm 0,23^{**}$	$2,12 \pm 0,93$	$2,44 \pm 0,52$
PDGF	$1,85 \pm 0,4^*$	$2,5 \pm 0,31^{**}$	—	—
PDGF + IND	$0,8 \pm 0,9$	$2,43 \pm 0,4^{**}$	—	—
EGF	—	$1,26 \pm 0,53$	—	—
EGF + IND	—	$1,66 \pm 0,50^{**}$	—	—
FAM	$1,7 \pm 0,36$	$2,9 \pm 0,24^*$	3 ± 0	3 ± 0
FAM + IND	$1,3 \pm 0,2^{**}$	$1,42 \pm 1,01$	$2,3 \pm 0,58$	$1,5 \pm 1,7$

*p < 0,05 frente a grupo control; **p < 0,05 frente a indometacina; (media ± 1 DE) (n = 6-9). IND: indometacina; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas; EGF: factor de crecimiento epidérmico; FAM: famotidina.

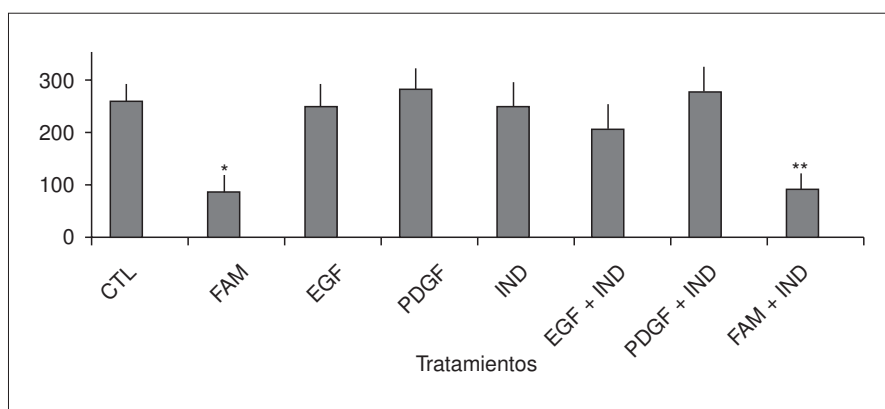


Fig. 2. Número de núcleos PCNA positivos en el tejido de granulación en el día 8 según los tratamientos administrados. Los valores expresan la media \pm DE de los núcleos de PCNA positivos ($n = 7-170$). * $p < 0,01$ frente a control; ** $p < 0,01$ frente a indometacina. CTL: control; IND: indometacina; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas; EGF: factor de crecimiento epidérmico; FAM: famotidina.

frente a ninguna observada en el grupo control). Igualmente hasta en un 40% de las úlceras tratadas con la combinación EGF-indometacina se observaron células epiteliales PCNA positivas (35 ± 10 en el día 8 frente a 0 en el grupo control). No se observaron células PCNA positivas cuando se administró aisladamente EGF.

Tejido de granulación

En el tejido de granulación no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el número de células PCNA positivas entre el grupo indometacina y el grupo control. La administración tanto de EGF como de PDGF no modificó de forma significativa los resultados en el número de núcleos PCNA positivos que aparecían en el tejido de granulación de la úlcera duodenal en el día octavo (fig. 2). Cuando se combinó EGF con indometacina apareció una disminución estadísticamente significativa en el total de núcleos PCNA positivos frente a lo observado en el grupo indometacina. De igual forma, la famotidina, tanto sola como combinada con indometacina, disminuyó el número de células PCNA positivas en el tejido de granulación (figs. 2 y 3).

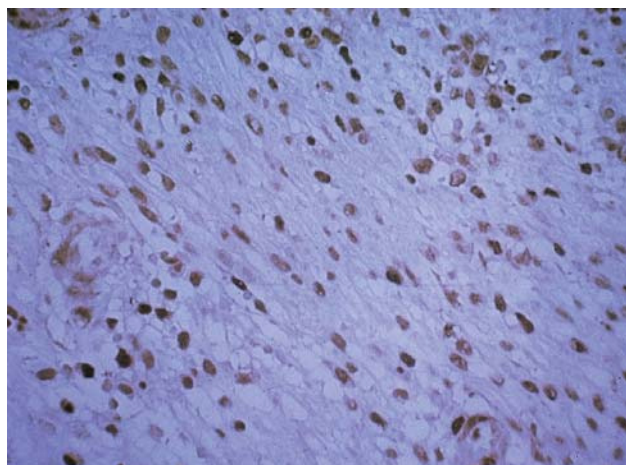


Fig. 3. Imagen microscópica de tinción PCNA (+) en el tejido de granulación cuando se administra famotidina.

Efecto de los diferentes tratamientos en la secreción de colágeno en el tejido de granulación

La indometacina redujo de forma significativa la cantidad de colágeno secretado por el tejido de granulación en comparación con lo ocurrido en el grupo control. La administración aislada o combinada de EGF, PDGF con indometacina no modificó la secreción de colágeno por parte del tejido de granulación en las úlceras duodenales. Por el contrario, la administración de famotidina sola o combinada con indometacina aumentó la cantidad de colágeno secretado en el tejido de granulación (fig. 4).

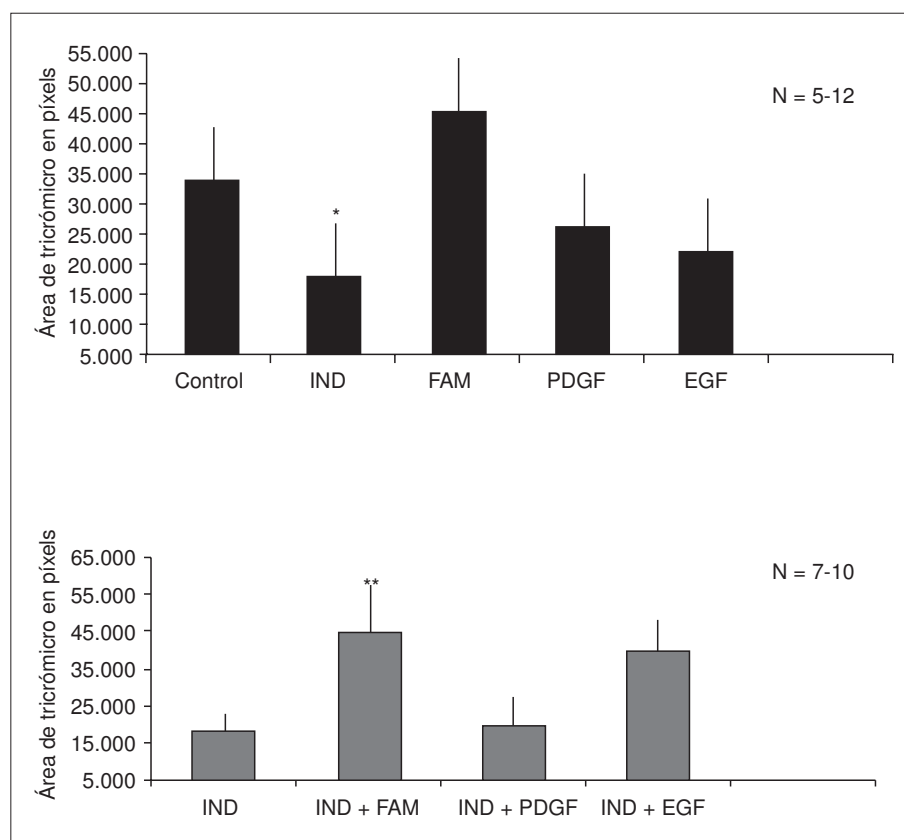
DISCUSIÓN

Existen pocos datos en la bibliografía en relación con la dinámica de cicatrización de la úlcera duodenal experimental bajo el impacto de la indometacina y la administración de factores de crecimiento. En este sentido, la administración de dichos factores de crecimiento podría plantearse en el caso de úlcera refractaria, y en el ámbito nivel clínico. Hull et al¹⁵ han comprobado, en un modelo de producción de úlceras gástricas mediante biopsias repetidas en humanos, cómo la administración de FGF (factor de crecimiento fibroblástico) se asocia a una reducción de la recurrencia originada por la toma de AINE, planteando de forma práctica la posibilidad de asociar el tratamiento de este factor como forma de mejorar las recurrencias ulcerosas.

En este estudio experimental se confirma el efecto negativo de la indometacina en la cicatrización de la úlcera duodenal inducida por ácido acético en ratas, como nuestro grupo había demostrado previamente en el modelo de úlcera gástrica¹³. La administración exógena de los diferentes factores de crecimiento en este modelo (EGF y PDGF) no sólo mejora los parámetros de cicatrización, sino que también revierte el efecto inducido por la indometacina en la cicatrización ulcerosa. En ese mismo sentido, la administración oral de famotidina se asoció con un efecto beneficioso en la cicatrización de las úlceras asociadas o no con la indometacina.

En este modelo, el retraso en la cicatrización de la úlcera inducido por el uso de indometacina se asocia a una ten-

Fig. 4. Efecto de los diferentes tratamientos en la producción de colágeno en el tejido de granulación de la úlcera duodenal en el día 8. Los valores se expresan como media \pm DE de píxeles en relación con el área del colágeno secretado ($n = 7-10$). * $p < 0,05$ frente al grupo control; ** $p < 0,05$ frente al grupo indometacina. IND: indometacina; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas; EGF: factor de crecimiento epidérmico; FAM: famotidina.



dencia a la disminución no significativa en las tasas de proliferación tanto en las células epiteliales como en el tejido de granulación, así como a una inhibición de la secreción de colágeno por dicho tejido. Estos resultados concuerdan con estudios previos^{2,3} que demuestran cómo la administración de indometacina disminuye las tasas de mitosis tanto en los márgenes de las úlceras gástricas inducidas experimentalmente en animales como en las úlceras de personas que toman AINE. La disminución en la secreción de colágeno en el tejido de granulación se ha comprobado en un estudio reciente¹⁶ y podría estar relacionada no sólo con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, sino con otros mecanismos celulares o moleculares, aún por establecer, que consiguieran explicarlo de forma más completa.

La administración oral de PDGF acelera la cicatrización y revierte el efecto inducido por la indometacina, datos que confirman para la úlcera duodenal lo que nuestro grupo descubrió en el modelo de úlcera gástrica⁴. Los mecanismos por los que se induce este efecto beneficioso no se conocen bien, pero al menos en parte se relacionan con un aumento en las tasas de proliferación en las células epiteliales que podría depender tanto de efectos directos como indirectos (p. ej., la inducción de la síntesis de prostaglandinas) localmente. Se han detectado receptores de PDGF en la mucosa gástrica y en las células epiteliales gástricas, y recientemente Watanabe et al¹⁷ han demostrado que el PDGF acelera la migración y la proliferación en

cultivos de células epiteliales gástricas de conejo. Este mismo efecto se ha comprobado en otras líneas celulares. Nuestro grupo ha demostrado, en un modelo de fibroblastos humanos de origen colónico, que la administración de PDGF se asocia con un aumento drástico en la proliferación de estos fibroblastos midiendo la incorporación de timidina tritiada al ADN, lo que se traduce en una mejoría en la cicatrización de la úlcera artificial originada por denudación mecánica¹⁸. Otro mecanismo involucrado en la aceleración de la cicatrización en el modelo de úlcera gástrica es el índice de contracción en la base de la úlcera, que depende de la contracción de los miofibroblastos que responden a la presencia de este factor de crecimiento, pero en el modelo de úlcera duodenal resulta un parámetro difícilmente aplicable al no poder diferenciar con nitidez la *muscularis* mucosa y no poderse medir de forma correcta. En relación con la secreción de colágeno por el tejido de granulación, no se apreció ninguna variación respecto a lo observado en el grupo control. En algunos trabajos realizados con cultivos de fibroblastos aislados *in vitro* de origen dérmico, se ha comprobado un aumento en la secreción de colágeno con la adición de este factor de crecimiento. Sobre el efecto de la administración de PDGF en fibroblastos de origen gástrico hay pocos datos y es difícil extrapolar los resultados obtenidos en los fibroblastos dérmicos a los de origen gástrico^{19,20}. Nuestro grupo estudió la diferente respuesta a los mismos estímulos por parte de fibroblastos de distinto origen (gástricos

y dérmicos), objetivando que los fibroblastos humanos de origen gástrico producían menos colágeno en comparación con el producido por los fibroblastos humanos de origen dérmico como respuesta a la administración de suero y EGF²¹.

En nuestro modelo, el tratamiento con EGF oral revirtió el retraso en la cicatrización inducido por la indometacina. Se redujo el tamaño tanto macroscópico como microscópico de la úlcera. Hay múltiples estudios sobre el efecto del EGF en la cicatrización ulcerosa incluso en un modelo con humanos²², pero existen pocos datos sobre los efectos de la administración de este factor cuando se usan AINE y sobre cuáles son los mecanismos por los que actúa en estas circunstancias. Los datos obtenidos en este trabajo contrastan con los obtenidos por Kuwahara y Okabe²³, quienes no comprueban ningún efecto beneficioso de la administración de EGF en un modelo de úlcera gástrica inducido por ácido acético en la rata en el que se administra de forma simultánea AINE. Y esa misma ausencia de efecto se comprueba en los trabajos de Schmassmamm et al²⁴. No obstante, la administración de EGF produce una disminución de la secreción gástrica que podría estar regulada por mecanismos paracrinós o autocrinos y que podría explicar la disminución de la gravedad de las lesiones duodenales inducidas por cisteamina²⁵. La proliferación celular medida en el tejido de granulación disminuye cuando se asocia la administración de EGF con indometacina comparándola con la respuesta que induce la administración aislada de este factor, que tiende a aumentar la proliferación, aunque no llega a tener significación estadística. En un modelo *in vitro* de células gástricas KATO III, Fujiwara et al²⁶ coinciden con nuestros datos observando cómo la administración conjunta de EGF e indometacina disminuye los parámetros de proliferación contrariamente a lo que sucede cuando se administra sólo EGF.

La famotidina es un fármaco de comprobada eficacia, tanto en el plano experimental como en el clínico, en la cicatrización de lesiones pépticas relacionadas o no con la administración de AINE²⁷, motivo por el cual se utiliza como control positivo frente a los factores de crecimiento. También nos planteamos estudiar otros mecanismos de acción en relación con la calidad de la cicatrización ya que, aunque es bien conocido su efecto antisecreto, su efecto en la proliferación celular y en la secreción de colágeno por parte del tejido epitelial y de granulación resultaba desconocido. Nuestros datos indican una aceleración temprana de la curación de las úlceras duodenales, disminuyendo de forma significativa y temprana el diámetro ulceroso y la altura del tejido de granulación. Se comprueba además esta eficacia cuando se administra en animales tratados previamente con indometacina, consiguiendo revertir el retraso en la cicatrización que éstos inducen. En cuanto a la proliferación celular en el tejido de granulación, la administración de famotidina se traduce en una disminución de los núcleos PCNA positivos, datos que contrastan con otros resultados obtenidos en modelos *in vitro* sobre cultivos celulares de líneas celulares gástricas de origen canceroso^{28,29} en los que la administración

de anti-H2 origina un aumento en la proliferación, pero no en la migración de células de la mucosa gástrica humana. Estos resultados deben valorarse con precaución ya que podrían responder a una respuesta peculiar de las células de origen tumoral, y no a lo que sucedería con células de origen no tumoral de las que desconocemos más datos. Se confirma una profunda inhibición en los parámetros de secreción gástrica que se podría asociar al aumento significativo en la secreción de colágeno en el seno del tejido de granulación. Una posible explicación sería que esa inhibición de la secreción gástrica favorecería la acción de algunos factores de crecimiento, que actuando de forma local conseguirían modular la matriz extracelular y así originar un aumento en la secreción de colágeno.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lanas A, Remacha B, Esteva F, et al. Risk factors associated with refractory peptic ulcers. *Gastroenterology* 1995;109:1124-33.
2. Levi S, Goodlad RA, Lee CY, et al. Inhibitory effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on mucosal cell proliferation associated with gastric ulcer healing. *Lancet* 1990;336:840-3.
3. Hudson N, Balsitis M, Hawkey CJ. Reduction in angiogenesis in non-steroidal antiinflammatory drug associated gastric ulcers. *Digestion* 1991;49:19.
4. Arceiz E, Lanas A, Ortego J, Sainz R. Platelet derived growth factor reverses the effects induced by NSAIDs on ulcer healing. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997;9:1179-84.
5. Lanas A, Haggerty P, Hirschowitz BI. *In vitro* studies of antiinflammatory agents and prostaglandin E2 effects on stimulated normal human fibroblast cultures. *Inflammopharmacology* 1994;2:377-87.
6. Tarnaswki A, Stachura J, Douglas TG, et al. Indomethacin impairs quality of experimental gastric ulcer healing: a quantitative histological and ultrastructural analysis. En: Garner A, O'Brien P, editors. Mechanisms of injury, protection and repair of the upper gastrointestinal tract. New York: John Wiley, 1991; p. 521-31.
7. Calabro A, Milani S, Paladini Y, Orsini B, Salvadori G, Surrenti C. Role of epidermal factor in peptic ulcer healing. *Dig Dis Sci* 1995;2497-504.
8. Ross R. Platelet derived growth factor. *Lancet* 1989;1:1179-82.
9. Konturek SJ, Dembinski A, Warzecha Z, et al. Role of epidermal growth factor in healing of chronic gastroduodenal ulcers in rats. *Gastroenterology* 1988;94:1300-7.
10. Szabo S, Vincze A. Growth factors in ulcer healing: lessons from recent studies. *J Physiol Paris* 2000;94:77-81.
11. Guglietta A, Hervada T, Nardi RV, et al. Effect of platelet-derived growth factor-BB on indomethacin-induced gastric lesions in rats. *Scand J Gastroenterol* 1992;27:673-6.
12. Penney AG, Andrews FJ, O'Brien PE. Effects of misoprostol on delayed ulcer healing induced by ASA. *Dig Dis Sci* 1994;39:934-9.
13. NIH Image 6.1. Disponible en: <http://rsb.info.nih.gov/nih-image/>.
14. Lanas A, Hirschowitz BI. Influence of smoking on basal and on vagally and maximally stimulated gastric acid and pepsin secretion. *Scand J Gastroenterol* 1992;27:208-12.
15. Hull MA, Knifton A, Filipowicz B, Brough JL, Vautier G, Hawkey CJ. Healing with basic fibroblast growth factor is associated with reduced indomethacin induced relapse in a human model of gastric ulceration. *Gut* 1997;40:204-10.
16. Mc Carthy DM. Mechanisms of mucosal injury and healing: the role of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Scand J Gastroenterol* 1995;30(Suppl 208):24-9.
17. Watanabe S, Wang X, Hirose M, et al. Platelet-derived growth factor accelerates gastric epithelial restoration in a rabbit cultured cell model. *Gastroenterology* 1996;110:775-9.
18. Piazuelo E, Jiménez P, Lanas A, García A, Esteva F, Sainz R. Platelet-derived growth factor and epidermal growth factor play a major role in human colonic fibroblast repair activities. *Eur Surg Res* 2000;32:191-6.

19. Lepisto J, Peltonen J, Vähä-Kreula M, Söderström KO, Niini koski J, Laato M. Selective modulation of collagen gene expression by different isoform of platelet-derived growth factor in experimental wound healing. *Cell Tissue Res* 1996;286:449-55.
20. Martens M, Huyben C, Hendriks T. Collagen synthesis in fibroblast from human colon: regular aspects and differences with skin fibroblast. *Gut* 1992;33:1664-70.
21. Lanas A, García-González A, Esteva F, Piazuelo E, Jiménez P, Morandeira JR. Collagen secretion by human gastric and skin fibroblasts: implications for ulcer healing. *Eur Surg Res* 1998; 30:48-54.
22. Itoh M, Joh T, Inai S. Experimental and clinical studies on epidermal growth factor for gastric mucosal protection and healing of gastric ulcers. *J Clin Gastroenterol* 1988;10(Suppl 1):7.
23. Kuwahara Y, Okabe S. Effects of human epidermal growth factor on natural and delayed healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats. *Scand J Gastroenterol* 1989;24(Suppl 162):162-5.
24. Schmassmann A, Tarnawski A, Peskar BM, Varga L, Flogerzi B, Halter F. Influence of acid and angiogenesis on kinetics of gastric ulcer healing in rats: interaction with indomethacin. *Am J Physiol* 1995;268:G276-G85.
25. Konturek SJ, Brzozowski T, Konturek PK, Majka J, Dembinski A. Role of salivary glands and epidermal growth factor in gastric secretion and mucosal integrity in rats exposed to stress. *Regul Pept* 1991;32:203-15.
26. Fujiwara Y, Schamassmann A, Arawaka T, Halter F, Tarnawski A. Indomethacin interferes with epidermal growth factor binding and proliferative response of gastric KATO III cells. *Digestion* 1995;56:364-9.
27. Taha A, Hudson N, Hawkey A, Swannell A, et al. Prevention of NSAID related gastric and duodenal ulcers by famotidine: a placebo controlled double blind study. *N Engl J Med* 1996; 334:1435-9.
28. Ciacchi C, Zarrilli R, Ricci V, De Luca A, Mazzacca G, Del Vecchio C. Histamine H2-receptor antagonist stimulate proliferation but not migration of human gastric mucosal cells *in vitro*. *Dig Sis Sci* 1996;41:972-8.
29. Hahm KB, Park IS, Kim HC, Lee KJ, Kim JH, Cho SW, et al. Comparison of antiproliferative effects of 1-histamine-2 receptor antagonists, cimetidine, ranitidine and famotidine, in gastric cancer cells. *Int J Immunopharmacol* 1996;18:393-9.