

11297

6
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**SUBDIRECCION GENERAL MEDICA
DELEGACION No. 3 SUROESTE DEL
DISTRITO FEDERAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
" DR. BERNARDO SEPULVEDA "
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**

**DETERMINACION DE FACTOR DE CRECI-
MIENTO EPIDERMICO EN PACIENTES
CON ESCLERODERMA SISTEMICA
Y C. R. E. S. T.**

TESIS DE POSTGRADO

**PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN REUMATOLOGIA**

P R E S E N T A

DR. ANTONINO RUIZ CHAPARRO



IMSS

MEXICO, D. F.

1999

270782

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

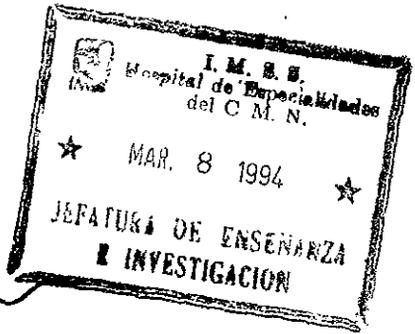
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAG IN ACCION

D ISCONTINUA.



Dr. Niels Wachter Rodarte

Jefe de la División de Enseñanza e Investigación
Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda"
Centro Médico Nacional siglo XXI



Dr. José Moreno Rodríguez

Profesor Titular del Curso
Jefe del Servicio de Reumatología
Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI



Dr. Francisco Javier Jiménez Balderas

Asesor de tesis
Servicio de Reumatología
Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI

AGRADECIMIENTO

Quiero expresarles las gracias a las:

Dra. María Eugenia Fonseca Yerena
Jefe del Laboratorio de Endocrinología
Hospital de Especialidades
Centro Médico Nacional Siglo XXI

Q.F.B. Dalila Pascoe Lira
Laboratorio de Endocrinología
Hospital de Especialidades
Centro Médico Nacional Siglo XXI

por la asistencia técnica del laboratorio sin la cual este trabajo no hubiera sido posible realizarlo.

INDICE

	PAG.
ANTECEDENTES CIENTIFICOS	1
MATERIAL Y METODOS	7
ANALISIS ESTADISTICO	11
RESULTADOS	12
DISCUSION	16
CONCLUSIONES	18
BIBLIOGRAFIA	19

ANTECEDENTES CIENTIFICOS

La escleroderma se define como una enfermedad crónica de etiología desconocida con una gran variedad de presentaciones clínicas. La principal característica de la enfermedad es la presencia de fibrosis y los cambios degenerativos en la piel, vasos sanguíneos y órganos como tubo gastrointestinal, pulmón y riñón¹. En términos generales escleroderma quiere decir "piel dura", con características que incluyen, hiperpigmentación e hipopigmentación, engrosamiento y adelgazamiento de la piel y pérdida de su elasticidad.²

Laacroescleroderma se caracteriza por alteraciones vasculares, edema y esclerosis de la piel, casi siempre limitada a áreas distales, mientras que la escleroderma difusa puede afectar tronco y extremidades con una progresión más rápida y síntomas inflamatorios pronunciados³. Un subgrupo de pacientes conacroescleroderma muestra telangiectasias diseminadas, calcinosis, afección del esófago y fenómeno de Raynaud, constituyendo el denominado síndrome de C.R.E.S.T.⁴

Una clasificación reciente (cuadro 1), distingue tres tipos de escleroderma sistémica de acuerdo con la extensión de la afección cutánea. En pacientes conacroescleroderma las manifestaciones cutáneas permanecen confinadas a las áreas distales durante varios años (tipo I). En laacroescleroderma con esclerosis ascendente, la afección cutánea progresa proximalmente a brazos, piernas, tronco superior y al final a toda la piel (tipo II), estos sujetos sufren a menudo de miositis y

artritis. En la escleroderma difusa, los cambios cutáneos primero aparecen en tronco y luego se diseminan en un período de tiempo relativamente corto, estos enfermos presentan manifestaciones internas más graves y son quienes tienen peor pronóstico (tipo III).^{5,6}

La escleroderma se ha descrito en todo el mundo y en todas las razas. La incidencia anual se estima entre 4.5 a 20 nuevos casos por millón de individuos y su frecuencia aumenta con la edad, alcanzando su pico máximo entre los 30 y 50 años de edad y es poco común en la infancia. En un estudio de la Clínica Mayo, de un total de 727 casos sólo 1.5% se presentó en menores de 9 años y 8.7% antes de los 20 años.⁹ Es más frecuente en mujeres (3:1) y esta relación se eleva en la edad reproductiva. Existen algunos factores predisponentes, tales como la exposición a cloruro de polivinilo, uso de hidrocarburos clorados y aromáticos en solventes como tolueno y benceno y exposición a polimerización de resinas epóxicas.^{7,8}, aunque estos casos de escleroderma secundaria, no necesariamente corresponden a la enfermedad idiopática, no obstante sus similitudes clinicopatológicas.

Se ha sugerido predisposición hereditaria a la escleroderma, con base en el hecho de que los familiares de pacientes con escleroderma sistémica difusa están afectados con otras enfermedades de probable etiología autoinmune. De esta manera, se han encontrado anticuerpos antinucleares en un 25% de los familiares de estos pacientes contra un 8% de individuos control. Sin embargo, la presentación familiar de esta enfermedad es poco frecuente. Se ha sugerido también una

predisposición genética por el informe anecdótico de la coincidencia de escleroderma en una madre y en su hijo de 6 meses de edad.⁹ No obstante, dado que ambos estuvieron expuestos a un posible agente etiológico, la influencia de factores externos no puede ser descartada, aún en este caso.

Se ha sugerido que los factores autoinmunes, metabólicos u otros, que participan en la patogenia de la escleroderma, estén determinados genéticamente. Se ha propuesto sobre la base de que varias moléculas del complejo principal de histocompatibilidad como: A24, A9, B8, B35, DR1, DR3 y DR5, pudieran estar asociadas con la activación de fibroblastos.⁹

Aunque algunos autoanticuerpos son altamente específicos para escleroderma, aún no existe evidencia de su posible papel en la patogenia de la enfermedad. La inmunidad mediada por células podría jugar un papel primordial en el desarrollo del proceso fibrótico local y de las alteraciones vasculares.¹⁰ Se ha reportado una relación elevada de linfocitos T CD4/CD8 y un aumento de la función de las células CD4,¹⁴ estas últimas, a nivel local, liberan factores solubles, que junto con los liberados por macrófagos y trombocitos, favorecen la quimiotaxis de mononucleares, además de mitosis y síntesis de colágena por los fibroblastos.⁹

Se han encontrado en una misma biopsia distintas poblaciones de fibroblastos, diferentes en su capacidad de biosíntesis de colágena,¹¹ sugiriendo que ocurre una selección de ellos mediante la actividad de ciertos mediadores tisulares que podrían ser importantes en la patogenia de la

escleroderma.¹² La activación de síntesis de colágena por fibroblastos anormales puede obedecer a un trastorno en el control transcripcional, resultando en sobreproducción de colágenas tipos I y III estructuralmente normales. La presencia de fibrillas de colágena delgada, pudiera ser explicada por la alteración en la unión de los péptidos de procolágena aminoterminales.^{9,11}

Algunos péptidos con actividad mitogénica han sido implicados en la patogenia de la escleroderma sistémica; entre otros, los factores transformadores del crecimiento α (FTC- α) y β (FTC- β) se distinguen químicamente por su única secuencia de aminoácidos y por su diferente biología celular. El FTC- α es mitogénico para fibroblastos, mientras el FTC- β tiene efecto bifuncional en células en crecimiento y puede estimular o inhibir el crecimiento de algunas células en ciertas condiciones. El FTC- α es un péptido de cadena única de 50 a 53 aminoácidos con tres puentes de disulfuro. El FTC- β tiene una estructura homodimérica compuesta de dos cadenas de 112 residuos de aminoácidos, cada uno contiene 9 residuos de cisteína. Las interacciones entre estos dos péptidos pueden ser sinérgicas o antagónicas dependiendo de las circunstancias.^{13,14}

El FTC- β tiene por lo menos, seis subtipos, de los cuales, los mejor caracterizados son el FTC- β 1, que es el más abundante, y el FTC- β 2. Ambos se unen a receptores que se localizan en dermis y alrededor de los vasos sanguíneos y han sido reconocidos como promotores de la síntesis de colágena por los fibroblastos y por consiguiente de aumento de la matriz celular en pacientes con escleroderma sistémica en comparación a controles normales.^{15,16}

El factor de crecimiento epidérmico (FCE) es un polipéptido de 53 residuos de aminoácidos, es sintetizado en glándulas salivales y de Bruner en el duodeno, fibroblastos, megacariocitos, probablemente en plaquetas y riñón. El FCE tiene función mitogénica en una variedad amplia de células y se le ha atribuido función hormonal *in vivo* en la maduración de varios tejidos.¹⁷ Tiene diferentes funciones biológicas entre las cuales se encuentran el crecimiento y replicación celular, estimulación de la proliferación y diferenciación de células epidérmicas en la piel y en el epitelio de tracto digestivo, maduración de epitelio pulmonar, inhibición de la secreción de ácidos a nivel gástrico.¹⁸ El FCE se ha localizado en diferentes líquidos corporales; incluyendo, saliva, plasma, leche y orina, por lo que se ha sugerido que este factor tiene un papel importante en la homeostasis.^{18,19}

La actividad del FCE a nivel celular es dependiente de receptores celulares. Diversos estudios indican que el receptor de FCE es una molécula con actividad de proteincinasa, que se activa durante la unión del FCE, lo cual lleva a una fosforilación de proteínas intracelulares. También se han localizado receptores intracelulares pero aún no se conoce su importancia.¹⁹ Estudios en pacientes con escleroderma sistémica progresiva demuestran que el número de receptores para FCE en los fibroblastos se encuentra disminuido y los que permanecen presentes están alterados y tienen poca afinidad para el factor de crecimiento. Esto no sucede en fibroblastos de piel normal.^{20,21}

La síntesis de colágena de fibroblastos normales es regulada por los FTC- β 1 y FTC- β 2, mientras que el FTC- α compite con los receptores para el FCE. El FCE tiene una función reguladora

sobre el FTC- β . Estudios *in vitro* han sugerido que la producción de FCE esta disminuida en pacientes con escleroderma sistémica. Dado su efecto antagonista con el FTC β , lo anterior activaría a los fibroblastos, favoreciendo la síntesis de colágena en forma desordenada, lo cual podría explicar, en parte, la patogenia de la enfermedad.^{15,16,22}

Con base en lo anterior, y considerando que no existe un estudio hasta ahora que haya determinado los niveles del FCE en líquidos biológicos de pacientes con escleroderma, que por los antecedentes ya comentados se esperarían bajos en pacientes con escleroderma sistémica en comparación con individuos control, se efectuó este estudio para comprobar y determinar su importancia.

MATERIAL Y METODOS

El presente estudio se llevó a cabo en el Instituto Mexicano del Seguro Social, en el Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepulveda" del Centro Médico Nacional siglo XXI, en México, D.F. Se incluyeron todos los pacientes con escleroderma sistémica o síndrome de C.R.E.S.T.(ESP/CREST), de la consulta externa del Departamento de Reumatología, en un período de tiempo comprendido de octubre a noviembre de 1993.

Se incluyeron 11 pacientes que llenaron criterios para ESP según la Asociación Americana de Reumatología (ARA),²(tabla 2) y 3 pacientes con criterios clínicos para C.R.E.S.T. (calcinosis extensa, fenómeno de Raynaud, trastornos en la motilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasias).⁴ Además, se incluyeron en el estudio 19 sujetos control de edad, sexo y costumbres similares y cuyas características se describen en la tabla 3. Todos los sujetos fueron informados e invitados para la realización del proyecto de investigación, mediante aprobación y firma de hoja de consentimiento.

A todos los sujetos se les tomaron muestras de saliva previa estimulación de la secreción de la misma mediante el uso de parafina masticada. Estas muestras fueron depositadas en alícuotas que contenían 50 ul de trasilol y posteriormente se guardaron, para su conservación, a una temperatura de 4°C antes de su procesamiento. Se tomaron también muestras de sangre del pliegue del codo y se siguió el mismo proceso ya descrito. Se recolectó además la primera orina de la mañana en un

volumen aproximado de 200 ml que también se guardaron en refrigeración hasta su procesamiento. Cabe mencionar que todas las muestras en todos los pacientes fueron recolectadas a la misma hora del día (08:00hrs).

TABLA 1

Criterios de clasificación para la esclerodermia sistémica

CRITERIO PRINCIPAL

- Escleroderma proximal: Cambios esclerodermatosos típicos en la piel (excluyendo formas localizadas de escleroderma) que afectan áreas proximales a las articulaciones metacarpofalángicas o metatarsofalángicas.

CRITERIO MENOR

- Esclerodactilia: Cambios esclerodermatosos limitados a los dedos.
 - Cicatrices digitales resultantes de isquemia.
 - Fibrosis pulmonar bibasal no atribuible a enfermedad pulmonar primaria.
-

ARA (Asociación Americana de Reumatología)

La determinación de los niveles de FCE en los líquidos biológicos obtenidos se realizó mediante un estudio de radioinmunoanálisis, que tiene como principio básico, una competencia entre un antígeno marcado radiactivamente (I^{125} FCE humano) y uno no marcado, presente en la muestra a estudiar del individuo. Se agregó un anticuerpo contra el FCE localizado en el líquido biológico y por lo tanto los sitios presentes en este para el antígeno, se saturan de manera que cuando se agrega el antígeno marcado (I^{125} FCE) a la muestra en estudio podrá encontrar o no sitios disponibles de unión

en el anticuerpo. De esta forma, la cantidad de I^{25} FCE humano que se une es inversamente proporcional a la cantidad de FCE localizada en las muestras biológicas. Una vez efectuada la reacción, se realiza separación del antígeno radiactivo libre, mediante la adición de un segundo anticuerpo dirigido contra la gamaglobulina del primer anticuerpo.

Como el método se desarrolló originalmente para cuantificar el FCE en orina, hubo necesidad de estandarización para cuantificar este factor en saliva y suero, diluyendo tanto el anticuerpo como el I^{125} FCE e incrementando la cantidad de la muestra con el objeto de aumentar la sensibilidad.

El procedimiento consiste en incubar en alcuotas 100 μ l de suero, saliva y orina de pacientes con ESP/C.R.E.S.T., controles y calibradores con 100 μ l de antisuero y 100 μ l de I^{125} FCE durante una hora a temperatura ambiente. Después de este tiempo se agrega el reactivo inmunoprecipitante (segundo anticuerpo más polietilenglicol) a las muestras y se incuban por 15 minutos más a temperatura ambiente y luego se practica centrifugación durante 15 a 20 minutos, dejando sólo el sedimento, posteriormente se procesan en un contador de radiaciones gamma y los resultados se obtienen al extrapolar las cuentas obtenidas para controles y pacientes problema en la curva estándar elaborada. El reporte se hace en nanogramos por mililitro (ng/ml).

ANALISIS ESTADISTICO

T de Student para muestras independientes.

RESULTADOS

Se estudiaron 14 pacientes con ESP/CREST con edad media de 50.36 ± 11.24 años (30-66 años), 13 fueron del sexo femenino y uno del sexo masculino. Once pacientes llenaron criterios para ESP y tres para CREST, con evolución promedio de la enfermedad de 12.3 años. Nueve pacientes cursaban con Síndrome de Sjögren (SS), cuatro con hipertensión arterial, dos con cirrosis biliar primaria y uno con síndrome mielodisplásico. Tres pacientes tenían alcoholismo positivo ocasional y dos tabaquismo. El tratamiento médico en 10 de estos pacientes era con D-Penicilamina y en tres con colchicina.

El grupo control estuvo formado por 19 sujetos aparentemente sanos con edad media de 49.1 ± 11.5 (29-70 años), 18 del sexo femenino y uno masculino, dos de ellos tenían hipertensión arterial controlada, siete eran fumadores y tres con alcoholismo ocasional (tabla 2).

Se tomaron muestras de saliva a 13 pacientes con ESP/CREST, no siendo posible recolectarla en uno de ellos por xerostomía acentuada. Los niveles de FCE fueron de 8.1 ± 8.1 ng/ml en pacientes con ESP/CREST en comparación a 15.1 ± 18.8 ng/ml del grupo control con una $P = 0.17$ (tabla 3).

No fue posible la toma de muestra sanguínea en tres pacientes por secuelas propias de la enfermedad, que impedían la venopunción. Además, hubo hemólisis en otras tres muestras, este último

problema también se presentó en 5 de los sujetos control. Los niveles de EFC en ESP/CREST fueron 1.29 ± 2.2 ng/ml y 1.39 ± 1.8 ng/ml en el grupo control, con una $P=0.89$ (tabla 3).

La recolección se llevó a cabo en todos los pacientes con ESP/CREST y en 18 controles. Los resultados fueron de 67.8 ± 40 ng/ml y 84.2 ± 56.9 ng/ml respectivamente, con una $P=0.36$ (tabla 3).

Para tener una mejor evaluación de la excreción de FCE en orina, tomando en cuenta que el nivel de este péptido varía de acuerdo a alteraciones en la función hormonal y renal, se hizo una relación entre los valores del FCE urinario por cada gramo de creatinina. Los resultados en pacientes con ESP/CREST fueron de 76.7 ± 33.4 ug/gr de creatinina y 107 ± 44.5 ug/gr de creatinina para controles (tabla 3).

Tabla 2

Datos demograficos de pacientes con esp/crest y controles

	ESP/CREST	CONTROLES
Pacientes	14	19
Edad	50.36±11.24	49.11±11.5
Sexo M/F	1/13	1/18
Diagnóstico	11/13	
Evolución años	12.3	
Alcoholismo	3	3
Tabaquismo	2	7
Otros diagnosticos		
* Cirrosis B.P.	2	0
** H.T.A.	4	2
s. Sjögren	9	
Tratamiento		
D-Penicilamina	10	
Colchicina	3	

* Cirrosis biliar primaria, ** Hipertensión arterial

Tabla 3
Factor de crecimiento epidérmico en pacientes con esp/crest y controles

	ESP/CREST	CONTROLES	Valor de P
Saliva	8.1±8.1	15.15±18.85	0.17
Suero	1.3±2.22	1.40±1.86	0.89
Orina	67.8±40.41	84.28±56.95	0.36
FCE/μg/g. creatinina	76.76±33.4	107.00±44.5	0.025

DISCUSION

En el presente estudio se encontró que los pacientes con ESP/CREST tienen niveles medios de FCE disminuido en suero, saliva y orina. El FCE se produce en glándulas salivales, y glándulas de Brunner en el duodeno, también en la sangre por megacariocitos, los cuales son reconocidos como la principal fuente de FCE. A nivel renal se le han detectado en sujetos sanos los niveles más altos de FCE, sugiriendo que además del FCE que se produce se suma a su excreción una producción propia del riñón en los túbulos.^{17,18}

En nuestros pacientes cuando se tomaron las cifras absolutas de FCE en orina, las diferencias no fueron estadísticamente significativas, al compararse con los controles, pero cuando se tomó la relación de las cantidades del FCE por gramo de creatinina se encontró una P de 0.02 (figura 4).

Por lo anterior nuestros datos muestran que no sólo hay una disminución de la excreción renal del FCE en los pacientes con ESP/CREST, sino que pudiera evidenciar una lesión renal subclínica como se había sugerido,²² ya que ninguno de nuestros pacientes tuvieron lesión renal evidente, sino que además, tuvieron niveles medios de FCE bajos tanto en sangre como en la saliva, y esto pudiera sugerir que el FCE no se produce en forma normal, o es fijado por receptores celulares que los secuestran y por tal motivo, los niveles en suero están disminuidos.

Se ha sugerido que el FCE actúa sobre otros factores del crecimiento, regulando el efecto de estos sobre la actividad de los fibroblastos y por tal motivo frenando la producción de colágena.^{15,16}

De esta manera como nuestros pacientes tienen niveles medios de FCE bajos se pudiera inferir que esa carencia estaría jugando un papel importante como factor en la patogenia de ESP/CREST.

CONCLUSIONES

1.- Los pacientes con ESP/CREST tienen niveles medios de FCE bajos en saliva y orina en comparación a controles, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas (debido quizá al reducido número de pacientes estudiado), los hallazgos podrían tener relevancia biológica.

2.- Esta disminución pudiera explicar de cierta manera la patogenia de la ESP/CREST por la falta del efecto regulador del FCE sobre el $FTC\beta 1$, lo cual tiene como consecuencia una sobreproducción de colágena por los fibroblastos.

3.- Es necesario hacer estudios para determinar si existe captación del FCE a nivel endotelial, que pudiera ser la causa de niveles bajos de este factor a nivel sérico.

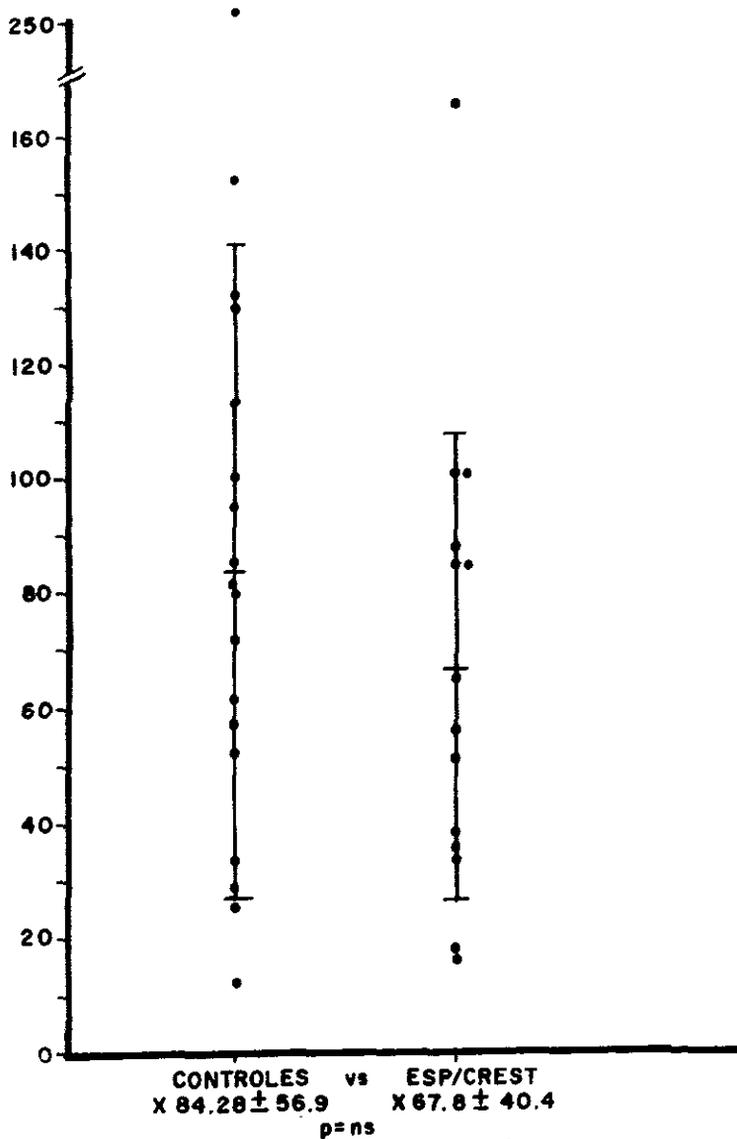


FIGURA 3. NIVELES ABSOLUTOS DE FACTOR DEL CRECIMIENTO EPIDERMICO URINARIO

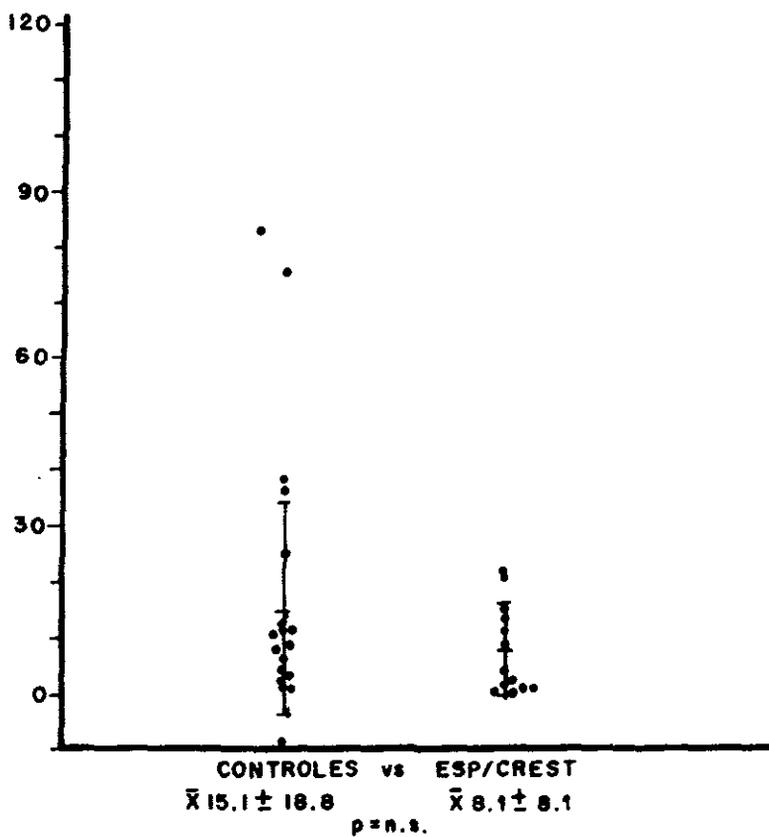


FIGURA 1. NIVELES DE FACTOR DEL CRECIMIENTO EPIDERMICO EN LA SALIVA.

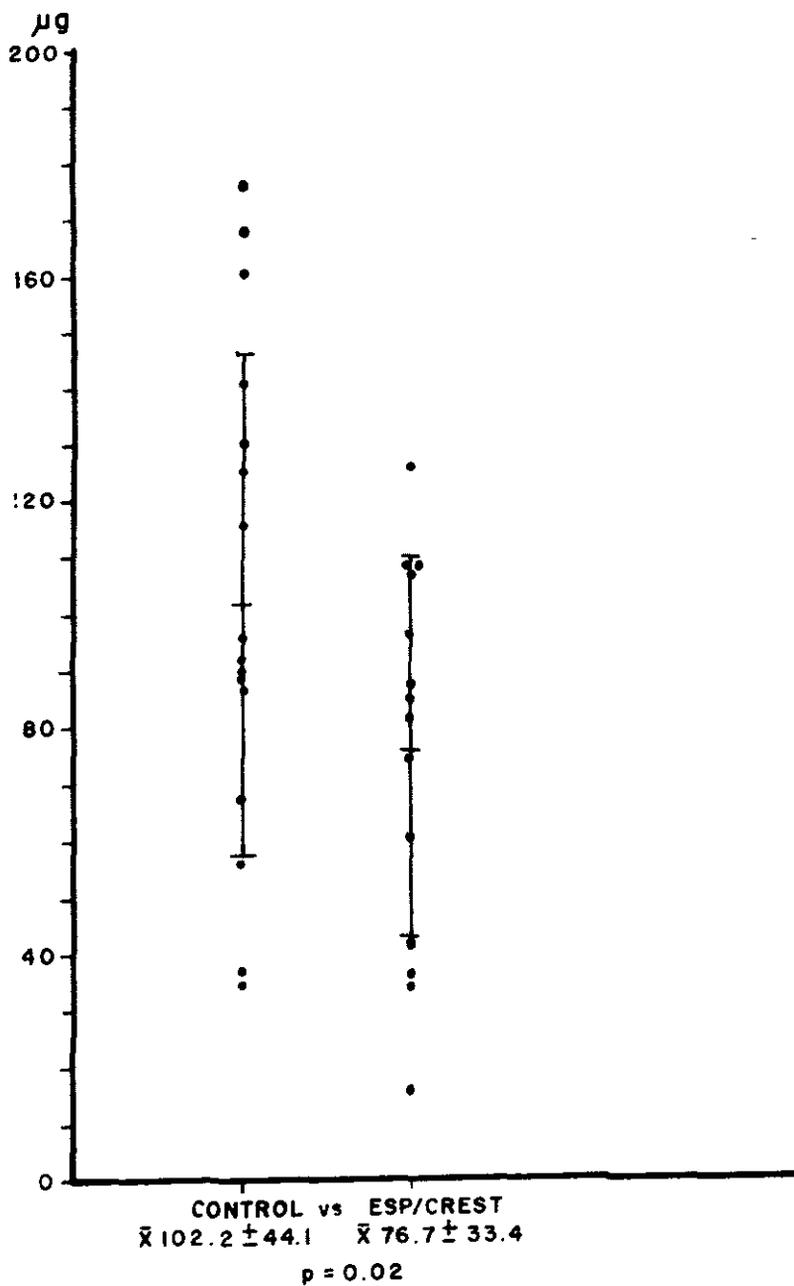


FIGURA 4. FACTOR DEL CRECIMIENTO EPIDERMICO EXCRETADO (µg) POR GRAMO DE CREATININA URINARIA

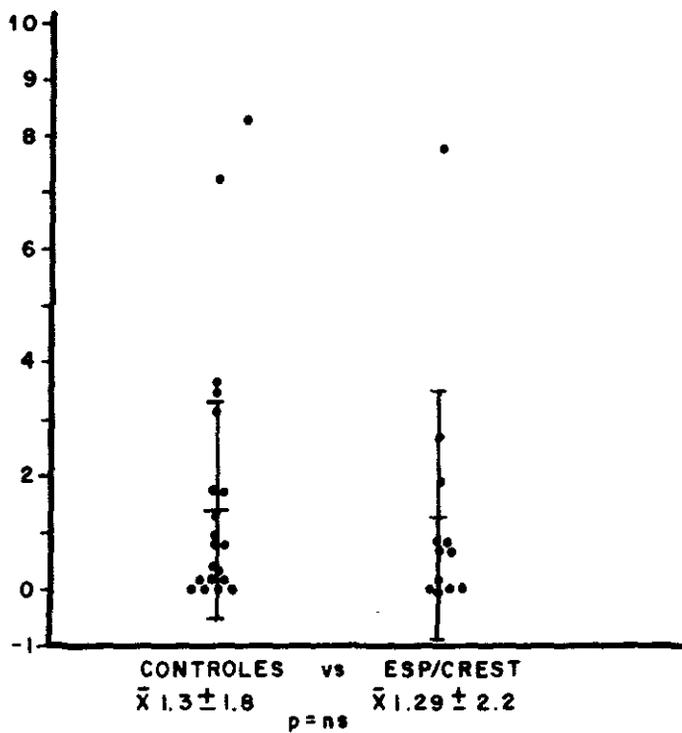


FIGURA 2. NIVELES DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMICO EN SUERO.

BIBLIOGRAFIA

1. Rodnan GP. Progressive systemic sclerosis in arthritis and allied conditions, 9th Ed. Edited by DJ Mc Carty. Philadelphia, LEA & Febiger, 1979, pp. 762-809.
2. Masi AT. Clinical criteria for early diagnosed systemic sclerosis: Preliminary results of the ARA multicenter cooperative study. *Arthritis Rheum* 1978;21:576-577.
3. Alarcon-Segovia D. Progressive systemic sclerosis. Management part IV. colchicine. *Clin Rheum Dis* 1979;5:294-302.
4. Kumagai Y. Clinical spectrum of connective tissue disease after cosmetic surgery. Observations of eighteen patients an review of the japanese literature. *Arthritis Rheum* 1984;36:157-158.
5. Rodnan GP, Jablonska S, Medsger TA. Clasification and nomenclatura of progressive sclerosis (scleroderma). *Clin Rheum dis* 1979;5:5-13.
6. Meurer M, Krieg T, Brawn-Falco O. Systemic scleroderma, localized scleroderma, mixed connective disease. *Immunologic disease of the skin*. Appleton Lange 1991;3:389-399.
7. Walder BK. Solvents cause scleroderma? *Int J Dermatol* 1983;22:157-659.
8. Finch WR. Bleomycin-induced scleroderma. *J Rheumatol Dis* 1980;32:651-659.
9. Khonsanteen I, Wrigh TB, Russell ML. Localized bone resorption in systemic sclerosis. *J Rheumatol Dis* 1981;31:7-15.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

10. Jones EM, Caller JP. Collagen vesicular disease of childhood. *Pediatr Clin North AM* 1991;38:1019-1039.
11. Kahaleh MR. Vascular disease in scleroderma. Endothelial T lymphocyte-fibroblast interaction. *Rheum Dis Clin North AM* 1990;46:53-73.
12. Whiteside TL, Kumagai Y, Roumm AD. Suppressor cell function and T lymphocyte subpopulations in peripheral blood of patients with progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1983;7:841.
13. Falanga V, Tiede SL, Alstadt SP, Roberts AB, Sporn MB. Transforming growth factor B: selective increase in glycosaminoglycan synthesis by cultures of fibroblasts from patients with progressive systemic sclerosis. *J Invest Dermatol* 1987;89:100-4.
14. Roberts AB, Sporn MB. Transforming growth factors. *Cancer Surv* 1985;4:683-705.
15. Falanga V, Gerhardt CO, Dash JR, Takehara K, Ksander GA. Skin distribution and differential expression of transforming growth factor B1 and B2. *J Dermatol Sci* 1992;2:131-6.
16. Takehara K, Soma Y, Igarashi A, Kikuchi K, Moro A, Ishibashi Y. Response of scleroderma fibroblasts to various growth factors. *Arch Dermatol Res* 1991;283:461-4.
17. Ben-Ezra J, Sheibani K, Huang DL, Lev-Ran A. Megakaryocyte synthesis I: the source of epidermal growth factor in human platelets. *Am J Pathol* 1990;137:755-9.
18. Goodlay RA, Wright NA. Peptides and epithelial growth regulation. *Experientia* 1987;43:780-2.
19. Carpenter G. Epidermal growth factor: biology and receptor metabolism. *J Cell Sci Suppl* 1985;3:1-9.

20. Tokiyama K, Yokota E, Niho Y. Epidermal growth factor receptor of fibroblasts from patients with scleroderma. *J Rheumatol* 1990;17:1463-8.
21. Unemori EN, Amento EP. Corrective tissue metabolism including cytokines in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* 1991;3:953-9.
22. Mattica AL, Pasternack A, Viinikka L, Perheentupa J. Subnormal concentrations of urinary epidermal growth factor in patients with kidney disease. *Endocrinol Metabol* 1986;62:1180.
23. Blanc P, Etienne H, Maurer P. Mitotic Responsiveness of cultured adult human hepatocytes to epidermal growth factor, transforming growth factor alfa, and human serum. *Gastroenterology* 1992;102:1340-50.
24. Leitch GJ. Role of the salivary glands in protecting the stomach against ethanol. *Alcohol-Alcohol* 1985;20:305-11.