

**Descubrimiento de la bacteria *Helicobacter pylori*
y su impacto en las enfermedades
gastroduodenales: Premio Nobel 2005,
merecido aunque retrasado**

Recibido el 2 de febrero de 2006

JOSÉ MARÍA PAJARES GARCÍA
Catedrático Emérito de Medicina. UAM

RESUMEN

La asamblea Nobel resumía la aportación de Marshall y Robin a la ciencia médica: «Extraordinario e inesperado descubrimiento que la inflamación del estómago (gastritis), así como la úlcera de estómago o duodeno (enfermedad ulcerosa péptica), son el resultado de una infección del estómago causada por la bacteria *Helicobacter pylori* (Hp)».

Ambos investigadores contribuyeron de forma diferente: Warren, anatómopatólogo, observó la bacteria en el tejido inflamado de la mucosa gástrica, considerándola agente causal. También lo identificó en la úlcera gástrica y duodenal. La utilización de colorantes de plata y la microscopía electrónica colaboraron.

Marshall, gastroenterólogo, logró cultivar la bacteria con la aplicación de medios adecuados. Para cumplir el decisivo postulado de Koch, se autoinoculó con ingestión de un cultivo de *Helicobacter*, enfermando de gastritis que curó con antibióticos. Inició la terapéutica antiinfecciosa y planificó ensayos clínicos para conseguir pautas terapéuticas eficientes. Ideó la prueba diagnóstica de Ureasa en la biopsia gástrica (CLO-test) y el de aliento con urea marcada con C14.

Este descubrimiento, al principio criticado y no aceptado por muchos, estimuló a otros para investigar lesiones de la mucosa gástrica por Hp. Estudios epidemiológicos demostraron la prevalencia de 20-80% en población asintomática, variable en relación con nivel económico, social e higiénico-sanitario. En enfermos de gastritis, úlcera péptica, carcinoma gástrico y linfoma, la infección alcanza de un 80-100%. En consecuencia, su diagnóstico incluye los métodos histológico, cultivo, prueba de ureasa, de aliento, serología y otros. El tratamiento introduce antibióticos.

Palabras clave: Premio Nobel Medicina.—*Helicobacter pylori*.—Marshall-Warren Premio Nobel.—Premio Nobel de Medicina y Fisiología 2005.—*Helicobacter pylori* gastritis.—*Helicobacter pylori* úlcera péptica.

ABSTRACT

The discovery of the bacterium *Helicobacter pylori* and its role in gastro-duodenal diseases: The Nobel Prize 2005, deserved but delayed

The Nobel Assembly summarized the contribution of Marshall and Robin to the medical science: «the remarkable and unexpected discovery that inflammation in the stomach (gastritis) as well as ulceration of the stomach or duodenum (peptic ulcer disease) is the result of an infection of the stomach caused by the bacterium *Helicobacter pylori*».

The contribution of both researchers were different: Warren, pathologist, observed the bacterium in the inflamed gastric tissue and ascribed it as causal agent. Also, he identified the bacterium in the inflamed tissue of the gastric and duodenal ulcer. The use of silver staining and electron-microscopy contributed to identify the bacterium.

Marshall, gastroenterologist, obtained the bacterium culture by the use of a suitable nutritious media. To fulfil the Koch's postulates he self-inoculated by oral ingestion of a *Helicobacter* culture resulting en acute gastritis that cured by antibiotics. Also, he planned clinical assays to achieve efficient eradication regimes. He discovered the rapid urease test with gastric biopsies (CLO-test) and the 14C-urea breath test for the diagnosis.

The Hp discovery, criticized at the beginning and non-accepted by the most, inspired and stimulated to many others to research on the injuries of the gastro-duodenal mucosa related to Hp infection. In fact, epidemiological studies showed 20-80% prevalence of Hp in healthy people, variable in relationship to economic, social and hygienic levels. In patients with gastritis, peptic ulcer, gastric carcinoma and lymphoma the infection achieved 80-90%. Consequently, their diagnosis included the histology, culture, urease, urea breath test and others. Their treatment is based on antibiotics to cure the infection.

Key words: *Helicobacter pylori*.—Nobel Prize in Medicine.—Marshall-Warren Nobel Prize.—Nobel Prize in Physiology or Medicine for 2005.—*Helicobacter pylori* gastritis.—*Helicobacter pylori* peptic ulcer.

El 3 de octubre de 2005, la Nobel Assembly at Karolinska Institutet otorgó el Premio Nobel en Fisiología y Medicina de 2005, conjuntamente, a Barry J. Marshall y J. Robin Warren por su descubrimiento de: «The bacterium *Helicobacter pylori* and its role in gastritis and peptic ulcer disease».

Resumían su aportación a la ciencia con estas palabras: «extraordinario e inesperado descubrimiento que la inflamación del estómago (gastritis), así como la úlcera de estómago y duodeno (enfermedad ulcerosa péptica) son el resultado de una infección del estómago causada por la bacteria *Helicobacter pylori*» (1).

Han transcurrido veintidós años desde que Warren y Marshall dieron a conocer al mundo científico sus hallazgos en dos breves cartas enviadas, separadamente, al editor de la prestigiosa revista *Lancet*, que fueron publicadas el 4 de junio de 1983. Encabezaban las cartas el mismo y único título: «Unidentified Curved Bacilli on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis» (2, 3), que ha sido citado, desde entonces, miles de veces en las principales revistas médicas. Su importancia radica en la modificación de conceptos etiopatogénicos, en el cambio en la práctica clínica de diagnóstico y terapéutica de las enfermedades de estómago y duodeno, especialmente de la úlcera péptica.

HISTORIA DEL DESCUBRIMIENTO

Ambos investigadores jugaron un papel diferente, aunque complementario, en el descubrimiento: Robin Warren tenía cuarenta y dos años y ocupaba una posición de Consultor Patólogo o Anatómopatólogo en el Hospital Real de Perth (Australia). Barry Marshall había cumplido treinta y dos años y seguía un programa de formación de Medicina Interna y Gastroenterología en el Servicio de Medicina del mismo Hospital.

Warren observó la bacteria que relacionó con la inflamación de la mucosa gástrica o gastritis, por primera vez el 11 de junio de 1979, día de su 42 cumpleaños. Comenta su hallazgo de esta forma: «Trabajaba en mi diaria tarea de examinar las preparaciones para estudio microscópico de las biopsias gástricas. En una preparación de mucosa gástrica con gastritis crónica activa, observé una **línea azul** en la superficie del epitelio gástrico que nunca había visto. Con mayor aumento pude distinguir numerosos **pequeños bacilos** que componían la línea azul, firmemente adheridos a la superficie del epitelio. Cuando apliqué el objetivo de inmersión en aceite, comprobé con claridad que eran bacterias. Entusiasmado, comuniqué el hallazgo a mi

colega Doctor Len Matz, uno de los más prestigiosos anatomopatólogos de Perth, que trabajaba en el mismo Departamento. Le invité a mirar la preparación; para mi desgracia no vio las bacterias» (4).

Durante los 18 meses siguientes, estudió y recogió más casos en los que la bacteria acompañaba, siempre, a las lesiones histológicas de gastritis. La imagen de la bacteria se había adueñado de su memoria. Le obsesionaba. Le obligaba a permanecer en el Laboratorio hasta la madrugada. Su cerebro trabajaba día y noche, de forma insistente en buscar una relación entre la bacteria y la inflamación de la mucosa gástrica. Como patólogo tenía claro que la presencia de bacterias en cualquier tejido inflamado debía ser considerada agentes causales. Pero, recordaba las enseñanzas y los dogmas mantenidos durante más de cien años, que aseguraban que las bacterias no crecían en el estómago, porque el medio ácido originado por la secreción gástrica de ácido clorhídrico, lo impedía (4). Nadie creía en él, excepto su esposa Win, médico psiquiatra, quien le animaba con entusiasmo. Lo reconocía Warren en una entrevista con estas palabras: «admiro a mi esposa y le agradezco su ayuda moral porque, madre de cinco hijos y teniendo toda la razón para estar disgustada, su marido había gastado su tiempo y su dinero buscando “no-existentes” bacterias, no obstante, le escuchaba y fortalecía cuando regresaba a casa, a veces, de madrugada» (5). Ahora, cuando piensa en aquellos días, cree que su esposa disponía de todos los argumentos para haberle obligado a consultar como enfermo, a sus compañeros psiquiatras (4).

Sin embargo, no todo era negativo. La nueva tecnología de fibroendoscopia, usada en la rutina clínica para diagnosticar enfermedades del estómago suministraba biopsia de mucosa gastroduodenal, lo que permitía estudiar la mucosa fijada en formol, con inmediatez a su toma. Con anterioridad, las muestras procedían de resecciones gástricas quirúrgicas que solían permanecer varias horas antes de la fijación en formol. Otras veces procedían de autopsias parcial o totalmente, autodigeridas por el jugo gástrico péptico. Lo que impedía apreciar detalles microscópicos de las lesiones. Ello explica, que su interés principal fueran las úlceras y el cáncer; desdeñaban a las gastritis crónica por su irrelevancia clínica.

Warren poseía una mente lógica, aumentada por el estudio de las matemáticas. También dominaba las técnicas de coloraciones histo-

lógicas. Para identificar los componentes de la «línea azul» probó varios colorantes. Con la tinción de Gran consiguió teñir la bacteria de color azul. Ensayó con la tinción de Wartin y Starry, colorante argéntico, el más adecuado para espiroquetas, obteniendo unas imágenes negras de las bacterias (Figura 1). Posteriormente, examinó con el microscopio electrónico, observando los cuerpos bacterianos adheridos con firmeza a la superficie del epitelio (Figura 2). Len Matz, su compañero, también los vio y le dijo: «si realmente crees que es un hallazgo importante, continúa la búsqueda en más pacientes» (4).

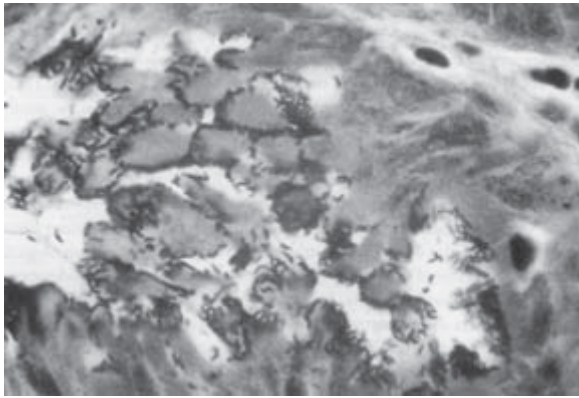


FIGURA 1. Bacterias *Campylobacter-like* teñidas con colorantes de plata, siguiendo el método de Warthin-Starry. Primer caso de gastritis causada por esta bacteria (tomada de referencia 4, con permiso del autor).

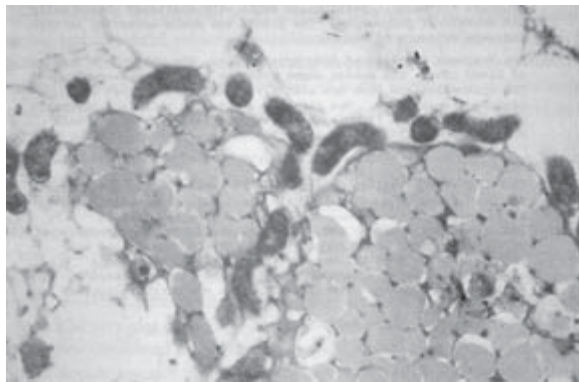


FIGURA 2. Imágenes de la bacteria tomadas por microscopía electrónica (tomada de referencia 4, con permiso del autor).

Su intuición de que la bacteria causaba la gastritis adquirió mayor evidencia con los datos obtenidos por investigadores clínicos y básicos con el uso rutinario de la Fibroendoscopia en el diagnóstico de las enfermedades gástricas y duodenales. Muy particularmente le inspiró el término de «actividad aguda» y el concepto dinámico de gastritis postulado en la clasificación de Whitehead, Truelove y Gear (6).

Warren prosigue la búsqueda de bacterias en todas las preparaciones histológicas de gastritis crónica con «actividad aguda». En casi todas, las bacterias aparecían en focos pequeños. Aunque la presencia era evidente, no convencía a sus compañeros de su patogenicidad, incluso, algunos dudaban de que fueran bacterias. Para asegurarse, muestra las imágenes de microcopia electrónica (ME) a los expertos, quienes confirman como bacterias similares a las observadas y publicadas previamente por Fung y col. (7).

No dejaba de pensar en la posibilidad de que las bacterias fueran saprofitas. ¿Cómo demostrarlo? Si no son patógenas, debieran colonizar la mucosa gástrica normal. Nueva tarea: localizar preparaciones de mucosa gástrica normal sin infiltrado inflamatorio. El trabajo no resultó fácil. Finalmente, localizó veinte casos en los que la histología no mostraba inflamación y las bacterias no aparecieron.

APORTACIÓN DE BARRY MARSHALL

Barry Marshall, de treinta y un años, seguía el programa de especialización clínica del Real Colegio de Médicos de Australia. El programa tenía un ciclo de tres años de especialización avanzada, con una rotación de seis a doce meses por especialidades. Una exigencia del programa era la realización y presentación anual de un trabajo de investigación. Su Jefe le indica un tema, que rechaza porque le pareció poco interesante e irrelevante. Si quieres algo interesante, contesta, posiblemente lo encuentres en el Departamento de Anatomía Patológica. Visita al «Chalado» de Warren, que está intentando convertir las gastritis en **«una enfermedad infecciosa»**.

En la primera entrevista (Figura 3), Marshall, aunque no quedó muy convencido de las explicaciones de Warren, aceptó el compromiso de biopsiar a veinte pacientes con endoscopia de la mucosa

gástrica normal. Con satisfacción comprobó la ausencia de bacteria. Desde entonces se apasionó por el proyecto, al que dedicó toda su inteligencia, su voluntad y su tiempo laboral y de ocio. Ambos investigadores diseñaron un ensayo clínico sobre cien pacientes consecutivos. Elaboraron un minucioso protocolo, en el que constaba un detallado cuestionario clínico y metodológico de las zonas de la mucosa gástrica, donde deberían recogerse biopsias para estudio histopatológico y para cultivo microbiológico.

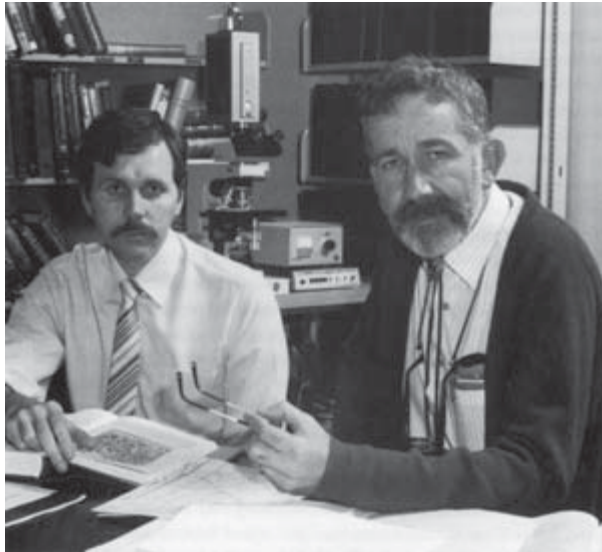


FIGURA 3. Fotografía de Warren y Marshall realizada en julio de 1984 (tomada de referencia 8, con permiso del autor).

Los microbiólogos colaboraron en el cultivo. Por su parecido al *Campylobacter* eligieron el medio y el tiempo de incubación utilizado para esta bacteria. Con este método fracasaron los primeros intentos. Sin embargo el azar o fortuna, que tantas veces ha ayudado a los investigadores tenaces, facilitó el éxito. Resumo el acontecimiento: vacaciones de cinco días de Semana Santa. A la vuelta, la Técnico de Laboratorio retira la placa de cultivo de la biopsia 35, olvidada en la cámara de cultivo. Como acostumbraba, observa la placa y comprueba la existencia de «Tiny transparent colonies» (minúsculas colonias transparentes). Procede a la extensión y coloración. Las bacterias identificadas son similares a las observadas en las prepa-

raciones histológicas. De la misma forma, el azar premió al bacteriólogo Alexander Fleming en septiembre de 1928, al observar que en una placa de cultivo de estafilococos abandonada durante varios días en el laboratorio, habían crecido colonias del hongo «penicillium» en medio de las colonias de estafilococos a las que había destruido.

Marshall, todavía escéptico, lo manda examinar con ME. Las imágenes muestran bacterias curvas, como el *Campylobacter*, del que difería por la existencia de cuatro flagelos en forma de palillo de tambor, salientes de una de las extremidades, lo que sugería que se trataba de una nueva bacteria. Sin embargo, inicialmente recibió el nombre de «*Campylobacter pilory-like*», por su parecido y por localizarse, preferentemente, en la mucosa pilórica. Su definitivo nombre sería *Helicobacter*. Con algunas modificaciones metodológicas logran incrementar el número de crecimientos y eliminar los falsos positivos.

Marshall dirige el ensayo clínico. Anima a los clínicos a participar en el estudio, enviando pacientes para completarlo. Finalizado, reúne todos los documentos del protocolo y los lleva, junto a su familia, a un pueblo alejado de Perth, donde debería practicar un año de médico rural. Examinados los informes comprueba la presencia de la bacteria en trece pacientes de Úlcera Duodenal (UD), y en 24 de 28 examinados de Úlcera Gástrica (UG). Por lo que concluye que la bacteria «*Campylobacter-like*» estaba presente en gastritis crónica activa, podía cultivarse y se relacionaba al cien por cien con la UD y en menor proporción con la UG.

INFORMACIÓN DE LOS RESULTADOS A LA COMUNIDAD CIENTÍFICA

En octubre 1982, Marshall presenta los datos iniciales en la reunión local del Colegio de Médicos que son muy criticados. Objetaban que no había gastritis en la UD. Para rebatir este argumento revisó la literatura y encontró un artículo de Magnus escrito en 1950 (12), en que informaba que el 100% de pacientes con UD padecían gastritis antral. En febrero de 1983 remiten un abstract a la Asociación Australiana de Gastroenterología, que no fue aceptado. El comité

científico, en la carta de respuesta, disculpaba la no aceptación por la limitación numérica de aceptar 56 de los 67 recibidos. El suyo carecía de interés científico.

La negativa no desanimó a los investigadores. Lo comentan con el patólogo David McGeachie. Les recomienda contactar con el microbiólogo Martín Skirrow (Inglaterra), quien aceptó examinar los resultados de los cultivos. Aconsejó, también, enviar el Abstract al Workshop sobre *Campylobacter*, organizado por los microbiólogos en Bruselas. Skirrow, entusiasmado, lo invita a su Hospital de Worcester a una Sesión de la Unidad de Endoscopia. En ella toman biopsias antrales a una paciente de ochenta años con UG. En la extensión teñida observan bacterias curvas Gran negativas que crecen en el cultivo con numerosas colonias.

El primer nombre de la nueva bacteria fue decidido en una comida organizada por Skirrow para Marshall, a la que había invitado a un prestigioso dermatólogo, descubridor del *Campylobacter laridis* en una gaviota, quien sugiere la denominación *Campylobacter-like* (por su parecido a esta bacteria) pilory o piloridis por su localización preferente en la región pilórica (9).

Presenta su primera comunicación con el título: «Spiral bacteria in the human stomach, a common finding in patients with gastritis and peptic ulceration». Consiguió interesar a prestigiosos microbiólogos asistentes que, desde ese momento, ampliaron su línea de investigación al *Campylobacter-like* pilory. Marshall, en su empeño de interesar a gastroenterólogos y patólogos en la investigación de esta bacteria, escribe a los que habían publicado artículos sobre gastritis y úlcera péptica, especialmente dedicados a las lesiones histopatológicas. Revisa la literatura y encuentra dos artículos muy interesantes: Uno que describe una epidemia de hipoclorhidria en un grupo de voluntarios sanos para un estudio con sondajes gástricos en un Hospital de Dallas, Texas. Telefona a Ramsey, principal autor del artículo, a quien pide que revise las preparaciones histológicas de la mucosa gástrica. En todas había gastritis con la bacteria espiral (11).

El otro refiere la historia de un paciente con hiperclorhidria por gastrinoma, que tras un episodio de gastritis aguda había disminuido la secreción gástrica. Pidió las preparaciones histológicas a Tytgat, uno de los autores (10). Comprobó la presencia de bacterias en

los focos de tejido inflamado. Estos hallazgos reforzaban la hipótesis de patogenicidad de la bacteria que, en la fase aguda, originaba inflamación aguda e hipoclorhidria.

En 1983, convencidos de la importancia de su descubrimiento deciden escribir un artículo. Discreparon en el contenido, en la redacción y en el orden en el que figurarían los autores. Surgió un amistoso celo entre ambos investigadores porque no querían ser coautores. Cada uno deseaba ser el primero en publicar. Lo solucionaron siguiendo el consejo de sus esposas de que enviaran, por separado, una carta con el mismo título.

David Fox, subdirector de la revista *Lancet*, mostró perplejidad al recibir las dos cartas con el mismo título, escritas por diferentes autores. Para conocer sus razones, habló con ellos. Warren argumentaba que había sido el primero en ver las bacterias, por lo que reclamaba su derecho de descubridor original. Marshall reivindicaba prioridad, porque había coordinado e impulsado los cultivos, el ensayo clínico, el contacto con otros microbiólogos, etc. Para complacerles, el editor publicó las cartas con el mismo título, primero la de Warren, como observación original. Después la de Marshall (Figura 4).

LA BÚSQUEDA DE FÁRMACOS PARA TRATAR LA INFECCIÓN

En octubre de 1981 tratan al primer paciente, varón anciano de origen ruso, con una intensa gastritis cuya biopsia mostraba innumerables *Campylobacter*. Le aplicaron tratamiento de tetraciclina durante catorce días, porque la especie *Campylobacter* es sensible a este antibiótico. Ellos sabían que, con este tratamiento, rozaban la ética y que el resultado obtenido era anecdótico, sin valor científico. Expuestas estas consideraciones al paciente, así como las dudas de la respuesta, el enfermo aceptó tomar el antibiótico. Con el tratamiento desaparece el dolor abdominal y las náuseas. En la endoscopia de control, aunque la mucosa gástrica seguía enrojecida, el componente inflamatorio agudo había mejorado en el estudio histológico y las bacterias habían desaparecido.

THE LANCET		
No 8336	BOSTON, MASS. AND LONDON · SATURDAY 4 JUNE 1983	VOL 1 FOR 1983
LETTERS TO THE EDITOR		
1262	Influence of Sedation on Mortality in Critically Ill Multiple Trauma Patients Prof I. McA. Ledingham, Mr Ian Watt, FRCS	1270
1264	Potential Hazards of Prolonged Steroid Anaesthesia Dr P. G. P. Lawler and others	1270
1264	Detection of Dengue Virus by Immunofluorescence Following Inoculation of Mosquito Larvae Dr T. Pang and others	1271
1268	Maternal Chloroquine Prophylaxis and Sickle-cell Anaemia Dr G. T. Nurse	1271
1269	Tetracycline for Chloroquine-resistant Malaria Dr Nicholas White	1271
1289	Stability of Human Diploid Cell Rabies Vaccines Dr Chantapong Wasi and others	1272
1289	Hepatitis Vaccination Policy for Hospital Staff Prof C. J. Oon and others	1272
1289	Unidentified Curved Bacilli on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis Dr J. Warren; Dr Barry Marshall	1273
1289	Vasodilator Prostanoids and ACTH-Dependent Hypertension	1275

FIGURA 4. Citación de la carta en la primera página de *Lancet*, 4 de junio de 1983 (tomada de referencia 8 con permiso del autor).

Animados por el resultado, proyectan un ensayo terapéutico en los enfermos con UD y UG, infectados. ¿Cómo financiar el ensayo? ¿Qué fármacos elegir? Estos y otros muchos problemas no desanimaron a Marshall, a pesar de que era un joven desconocido, de una lejana ciudad, en el otro extremo del mundo. Como único mérito ofrecía la publicación de una carta en la revista *Lancet*, con un descubrimiento revolucionario, en el que muy pocos creían. Carecía de crédito para los Comités Científicos evaluadores de proyectos y para las Compañías farmacéuticas.

Su convencimiento de la importancia del hallazgo y su tenacidad le anima a contactar con el Director General de Smith-Kline-French, compañía farmacéutica descubridora de la Cimetidina (Tagamet) que había modificado el tratamiento de la úlcera péptica (UP). Se mostró

interesado. Le promete un Ordenador IBM y consultar con sus superiores la financiación del ensayo clínico en que se comparara el tratamiento de Tagamet frente a antibióticos en la UP. El ensayo no fue aceptado y el Director cesado, aunque cumplió su promesa de comprar el Ordenador (8).

En Holanda, la compañía farmacéutica Gist-Brocades había obtenido la sal de bismuto tripotasio-dicitrato-bismutato y comercializado con el nombre de Denol, que era usado en el tratamiento de la UP con gran satisfacción de los pacientes y de sus médicos. Dotada de una farmacocinética especial, impedía la absorción intestinal, al contrario de otras sales de bismuto utilizadas en el pasado, que se absorbían, acumulaban y resultaban tóxicas para algunos pacientes por lo que habían sido retiradas.

Gist-Brocades responde a la petición de ayuda de Marshall con el envío de varios artículos con resultados de ensayos clínicos sobre Denol en UP. Uno de ellos demostraba mejor epitelización y menor número de recidivas en pacientes de UP tratados con la sal de Bi que en los que recibieron Cimetidina (13). Otro, al estudiar las modificaciones de las lesiones histológicas de la mucosa duodenal antes y después del tratamiento con sales de Bi con microscopía electrónica (ME) en UD (14), comprobaba la desaparición de las bacterias, observadas en el borde de la úlcera. Inspirado en estos datos, incluye placas de Denol y de Cimetidina en cultivos de *Campilobacter pilory*. Demuestra «zonas de inhibición bacteriana» alrededor de la placa de Bi, que no aparecían en las placas de cimetidina. Lo interpreta como acción bactericida del Bi.

Con escasa información, aunque con base científica, Marshall diseña un ensayo clínico, prospectivo de pacientes para distribuir en dos brazos: en uno, los enfermos recibirían suspensión de Denol, y en el otro, Cimetidina. La condición de doble ciego no pudo cumplirse porque era investigador único. Sólo pudo reclutar quince pacientes en cada grupo. Los resultados no fueron satisfactorios porque comprobaron el mismo número de recidivas en los dos grupos. Algunos colegas, remitentes de enfermos, expresaron escepticismo y desánimo.

Sin embargo, no todo había sido negativo. El análisis de las biopsias demostró que la inflamación de gastritis había disminuido en los tratados con sales de Bi, mientras que no se modificó en los que

recibieron Cimetidina. ¿Por qué sólo uno de los quince tratados con Bi había curado la infección? Varias causas: los pacientes confesaron haberlo suprimido por el sabor desagradable de la suspensión de Denol; a otros, atendidos en Hospitales Privados, su médico les cambió a Cimetidina, de efectos más conocidos (8).

Una vez más, la suerte ayuda a los que persisten con fe en el proyecto. En efecto, en el seguimiento del protocolo, a un paciente con recidiva ulcerosa le recomienda Denol, en su nueva presentación de tabletas masticables. En el curso del tratamiento desarrolla una periodontitis que cura con Metronidazol. En la endoscopia de control, la UD había curado y desaparecida la bacteria. ¿Coincidencia o efecto sinérgico del Bi con metronidazol? Para contestar a la pregunta, Marshall prueba la susceptibilidad bacteriana del Metronidazol en diez cultivos. Demuestra áreas de inhibición bacteriana en nueve. Añade este antibiótico al Denol. Con la bi-terapia cura la infección (erradica) a ocho de diez pacientes tratados.

Durante el año 1984 experimenta otros antibióticos asociados a sales de Bi. Ensayo las pautas duales de Bi con amoxicilina o con eritromicina, que resultaron eficaces, aunque menos que con la anterior.

Ese mismo año, los dos investigadores habían redactado un artículo completo recopilando los datos obtenidos. Tras múltiples cambios, lo envían a la misma revista *Lancet*. Los editores tardan en aceptarlo, porque los revisores, a quienes habían remitido el artículo, no lo consideraban lo suficientemente importante como para ser publicado en esta prestigiosa revista. Los autores sugieren otros revisores, quienes, después de una meticulosa lectura y de alguna sugerencia, aconsejan su publicación. Los editores acompañaron al artículo una nota editorial muy elogiosa, destacando la originalidad e importancia del descubrimiento (15). En el mismo número aparecieron varias cartas relacionadas con la nueva bacteria: MacNulty y Watson, del laboratorio de Skirrow, referían el hallazgo de bacterias espirales en el antro gástrico (16); Langerberg y cols., de Amsterdam, comunican la existencia de ureasa en las bacterias; Eldridge y cols. mencionan la detección de anticuerpos anti-*Campylobacter* en pacientes infectados (17).

CUMPLIMIENTO DE LOS POSTULADOS DE KOCH

Posteriormente, varios grupos de investigadores publicaron resultados parecidos en otras revistas científicas. Los clínicos pasaron del rechazo a la duda. Para aceptar al *Campylobacter* como agente causal de gastritis y UP, precisaba cumplir uno de los postulados de Koch: la producción de la inflamación de la mucosa gástrica por la inoculación de la bacteria en un animal de experimentación.

En enero de 1984, Marshall acuerda con Stuart Goodwin, microbiólogo que trabajaba en el Departamento de Microbiología Experimental, la inoculación de cultivos puros de *Campylobacter* en cerdos. Eligieron a este animal porque padece gastritis y UP y porque su tamaño facilitaba las gastroscopias. Los experimentos fracasaron.

Marshall no se desanimaba. Sabía que la gastritis asociada a *Campylobacter*-like no es una enfermedad grave. Además, había comprobado la posibilidad de curación con antibióticos. Decide autoinocularse la bacteria. Su mente obsesiva trabajaba con este proyecto, que no comunica ni a su esposa ni a sus cuatro hijos. Informa a su Jefe Ian Hislop y a su amigo patólogo David Mac Gechie, que intentan disuadirle, exponiéndole diversos argumentos de índole científica y ética. Pese a las razones que desaconsejaban el auto-experimento, determina realizarlo.

¿Obraba irresponsablemente? ¿Actuaba como un héroe visionario? Ni lo uno, ni lo otro. Como él mismo ha afirmado en repetidas ocasiones, conocía el riesgo de infectarse, pero había comprobado su curación. Él confiaba en la eficacia de los antibióticos. En junio de 1984 acude en ayunas a la Unidad de Endoscopia, media hora antes de iniciarse la sesión diaria. Pide al Jefe que comience por él, porque, aunque no padecía molestias digestivas, quería comprobar la normalidad de su mucosa gástrica. Las biopsias gástricas resultaron normales.

En la misma sesión de endoscopias fue biopsiado un varón adulto con síntomas de dispepsia. La biopsia gástrica demostró gastritis. En el cultivo crecieron abundantes *Campylobacter*, sensibles al Metronidazol. El tratamiento de biterapia: sales de bismuto asociado a metronidazol curó la infección. La segunda endoscopia de control comprobó la desaparición de la inflamación y de las bacterias.

Marshall había seguido al evolución de esta paciente. Al conocer la curación eligió el cultivo de la misma para su inoculación personal. Separa 30 mL, que ingiere después de haber tomado 400 mgs de Cimetidina para disminuir la secreción gástrica (8). Los seis primeros días permaneció asintomático. Al séptimo día, intensas náuseas y vómitos le despertaron. Continuaron durante tres días más. El material de los vómitos tenía un color claro y carecía de sabor ácido. En el décimo día, repite la segunda endoscopia que realizan al final de la sesión, por el gran número de pacientes citados. A pesar de que sentía apatía y debilidad física, durante la mañana realizó el trabajo habitual. La endoscopia resultó mucho más molesta. La extensión de la biopsia mostró bacterias. En el cultivo crecieron *Campilobacter*. El examen histológico detectó signos de inflamación aguda en el epitelio y ligero infiltrado inflamatorio crónico en la lámina propia. También fueron observadas bacterias, en moderado número, con las tinciones de Hematoxilina eosina (Figura 5), pero en mayor número y agrupadas con los colorantes de plata (Figura 6) (8).

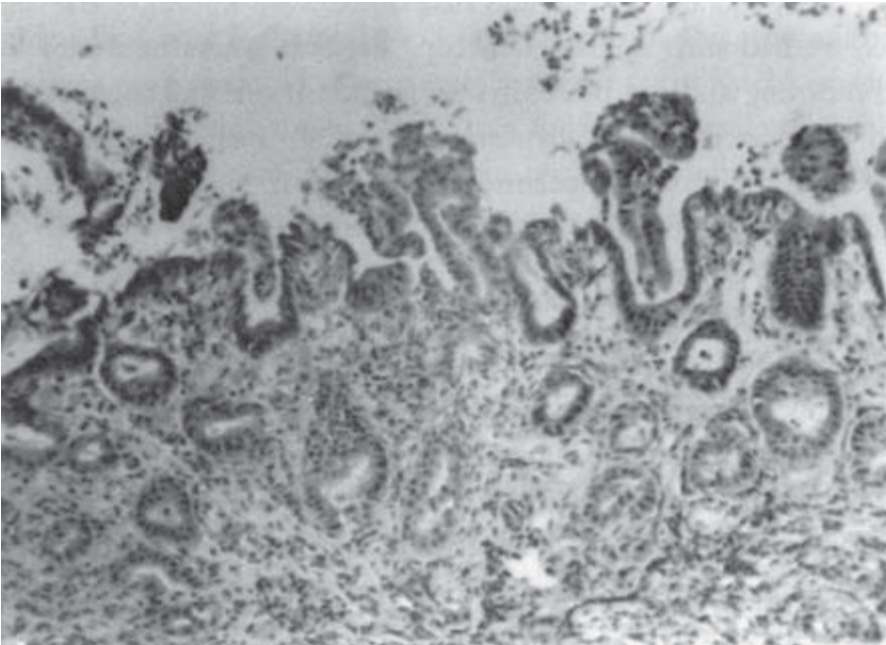


FIGURA 5. Muestra de la mucosa gástrica tomada por biopsia endoscópica en el décimo día de la inoculación (tomada de referencia 8, con permiso del autor).

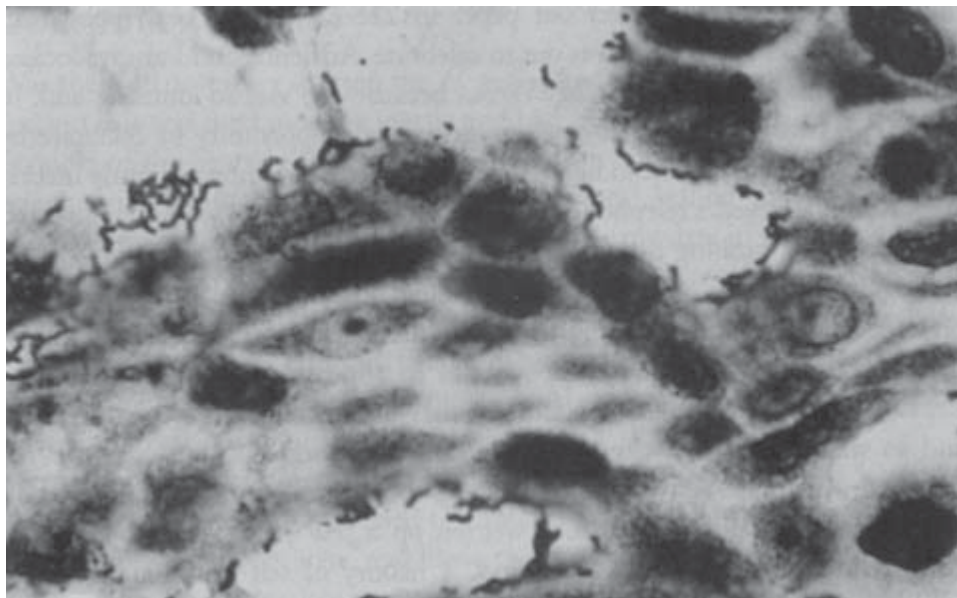


FIGURA 6. Morfología de las bacterias teñidas con el método de Warthin-Starry, obtenida en la muestra de la mucosa gástrica tomada por biopsia endoscópica en el décimo día de la inoculación (tomada de referencia 8, con permiso del autor).

Este día informó a su mujer de la autoinoculación. Ella le miró enojada y le mostró a sus cuatro hijos. Marshall hizo las paces al recordarle, con sentido del humor y muy serio, que la mayor parte de la comunidad científica aseguraba que la bacteria inoculada no era patógena. Inicia una cura de sales de bismuto y metronidazol durante catorce días. Las molestias desaparecen. En la tercera endoscopia realizada, al mes de finalizado el tratamiento, la histología había recuperado la normalidad; las bacterias habían desaparecido (19).

CLASIFICACIÓN DEFINITIVA DE LA BACTERIA A LA ESPECIE *HELICOBACTER*

La nueva bacteria había sido incluida en la especie *Campylobacter* provisionalmente. Con los miembros del grupo compartía la morfología espiral, la capacidad de microaerofilia, el crecimiento en el mismo medio de cultivo y otras características bioquímicas. Difierían, sin embargo, en dos rasgos esenciales: la presencia de múltiples

flagelos en uno de los extremos (Figura 7) y su gran contenido en la enzima ureasa. El análisis comparativo con ME, de distintas bacterias espirales del género y de otras especies, el *Campylobacter pylori* mostraba mayor semejanza con el *Aquaspirillum*, miembro del género *Spirillum* (20).

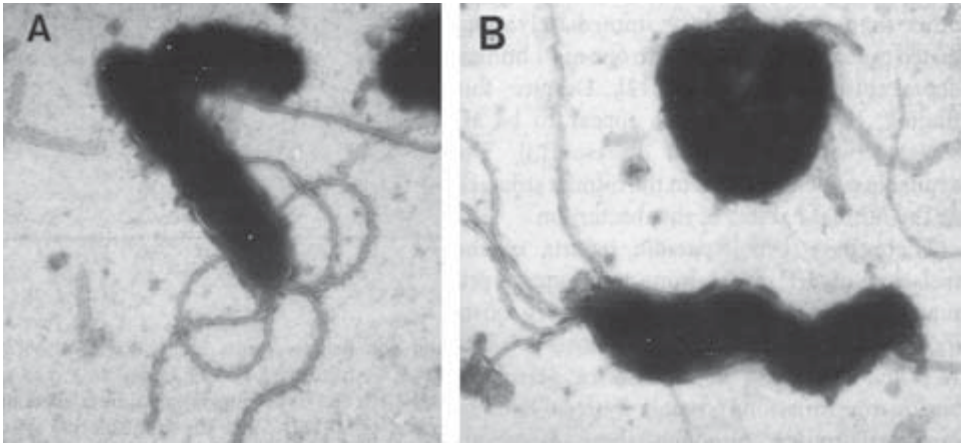


Figura 7. Morfología del *Helicobacter pylori*.

Un grupo de investigadores, aplicando el método de medida del porcentaje del contenido de guanina y citosina (GC) del DNA bacteriano, analizaron y compararon el contenido de GC en bacterias de la especie *Campylobacter* con el del *Campylobacter-like pylori* y con la del *Helicobacter*, recién descubierta por microbiólogos australianos en el intestino de corzos (21). Este método había sido utilizado, con gran eficacia, en la clasificación taxonómica de las bacterias, por investigadores de nuevas familias bacterianas. La proporción de GC, del 35-38% hallado en el *Campylobacter-like* fue más parecida a la del *Helicobacter* (22).

Otros microbiólogos, con técnicas de biología molecular, compararon la secuenciación del 16S RNA ribosómico del *Campylobacter pylori* con diferentes bacterias. Comprobaron la mayor semejanza con las bacterias espirales del género *Wolinella*, aunque diferían por su contenido de GC (23). Otros análisis estructurales bioquímicos, comparando ambas especies, demostraron que el *Campylobacter pylori* carecía de menaquinona-6, marcador bioquímico de la especie *Campylobacter* (24).

También, la utilización del método de medición del contenido de ácidos grasos por cromatografía líquida de gas (GLC) aplicado en la taxonomía de las bacterias, permitió completar la clasificación de la especie *Campylobacter* (25). Lo aplicaron al estudio del contenido de ácidos grasos del *Campylobacter pylori* con otros *Campylobacter*, obtuvieron resultados diferentes (26).

Finalmente, con la agrupación de datos del contenido de ácidos grasos por GLC y de los de hibridización DNA-DNA, comparados con los obtenidos en otras bacterias, un grupo de microbiólogos, liderados por Goodwin, demostraron que sus características morfológicas y estructura bioquímica eran más parecidas a la nueva especie *Helicobacter*. En 1989 publican un artículo en el que exponen los hechos que avalaron el cambio de nombre de *Campylobacter* a *Helicobacter pylori* (27). Desde entonces esta denominación ha sido reconocida y aceptada por la comunidad científica mundial.

IMPACTO DEL DESCUBRIMIENTO DEL *HELICOBACTER PYLORI* EN LA MEDICINA

El descubrimiento de la bacteria ha significado cambios importantes en las enfermedades gastroduodenales y, en menor medida, en algunas enfermedades extra-digestivas. Informaré de modo resumido.

NUEVA PATOGENIA DE GASTRITIS Y DE ÚLCERA PÉPTICA

Numerosos artículos informaban datos epidemiológicos de prevalencia de Hp en gastritis del 80%, en la forma multifocal de la clasificación de Correa (28), al 100% en la tipo B o antral. La gastritis multifocal suele asociarse a UG y la antral a UD (15, 29, 30).

¿Cómo explicar el mecanismo causal del Hp para originar la UP? Dos datos apoyaban la hipótesis: uno epidemiológico y otro clínico. El primero demostraba la asociación de Hp con UD en casi el 100% de los pacientes y en el 80-95% de las úlceras gástricas. El clínico: los pacientes tratados con fármacos antiseoretos cicatrizaban la úlcera, pero recidivaban al cabo de los doce meses hasta el 100%.

Mientras que al añadir antibióticos o sólo con ellos para curar la infección, la UP no reactivaba (32, 33).

¿Cómo integrar los dos agentes Hp y Ph (ácido) en la patogenia de la UP?

Varios estudios de la mucosa duodenal en ulcerosos gástricos demostraron la existencia de mucosa gástrica en el bulbo o metaplasia gástrica (MG), la inflamación de la mucosa o duodenitis y la presencia de la bacteria Hp en la mucosa del bulbo duodenal en las proximidades de la MG (29, 35). La hipoclorhidria de la gastritis aguda mejoraba espontáneamente, alcanzando la normosecreción y la hiperclorhidria, cuando la infección se cronificaba. La reacción inflamatoria de la mucosa gastroduodenal genera mediadores inflamatorios y reducción de la hormona somatostatina que causan hipergastrinemia (35, 36). La Figura 8, emitida por la Comisión Nobel, muestra los procesos y etapas del Hp para causar gastritis y UP simple y complicada, desde su penetración en el estómago. Señala la localización e infección predominante en el antro gástrico; la inflamación crónica o gastritis, que suele ser asintomática; el aumento de acidez gástrica, la UP y sus complicaciones.

MODIFICACIÓN DEL CONCEPTO DE GASTRITIS. EVOLUCIÓN E HISTORIA NATURAL DE LA GASTRITIS POR *HELICOBACTER PYLORI*

Un grupo de investigadores, clínicos y básicos, acuerdan establecer una clasificación con criterios endoscópicos, topográficos, histopatológicos y etiológicos denominada clasificación de Sydney (31). Desde entonces los patólogos examinan las preparaciones de tejido de mucosa gástrica con estos criterios y consideran el aspecto dinámico de la lesión inflamatoria que puede evolucionar a UP, carcinoma y linfoma gástrico en relación con factores genéticos y ambientales.

La asociación de infección Hp con el desarrollo del carcinoma gástrico fue demostrado por estudios epidemiológicos de prevalencia y caso-control (37, 38). Aunque faltaban datos experimentales, los datos epidemiológicos fueron tan demostrativos que, en 1994, la Organización Mundial de la Salud, declaró al Hp, agente cancerígeno

tipo I (39). Posteriormente, se logró desarrollar carcinoma gástrico en el animal de experimentación Gerbo morgoliano infectado con *Helicobacter pylori* (40).

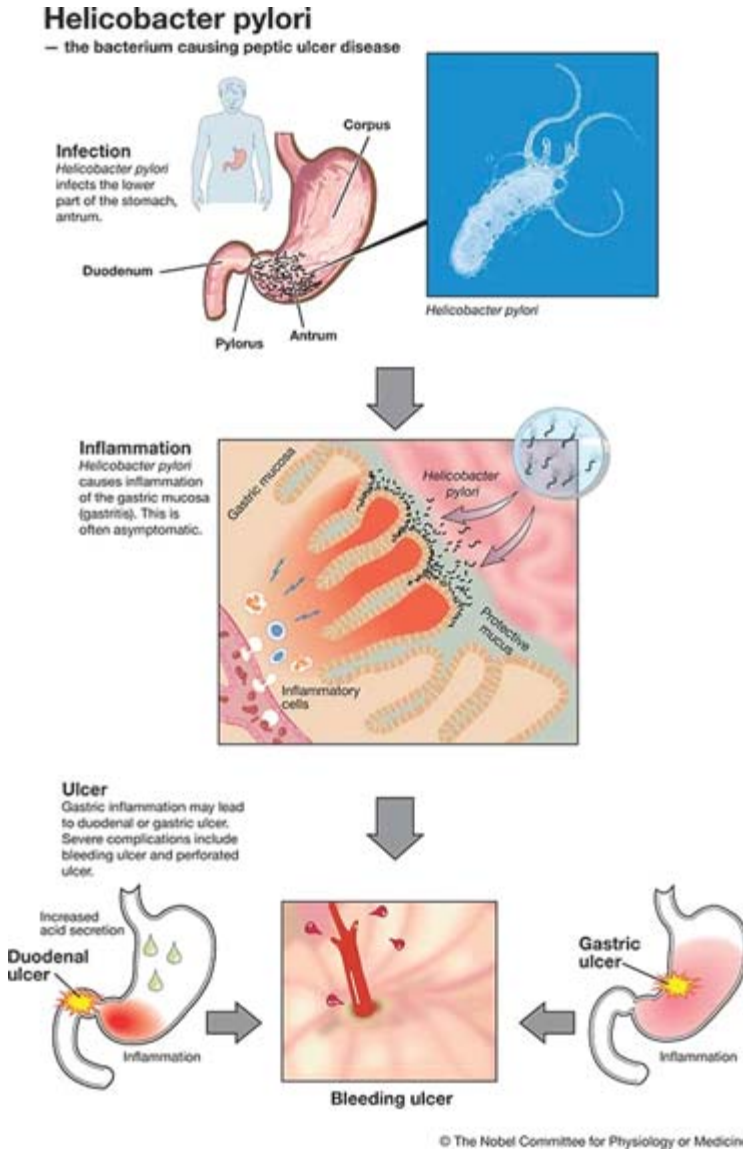


FIGURA 8. Esquema del mecanismo patogénico de la infección por *Helicobacter pylori*.

Igualmente, estudios epidemiológicos demostraron la prevalencia de hasta el 100% de infección Hp en linfomas gástricos, tipo MALT de baja penetración (41). La curación de la infección eliminó el tumor (42).

Estos datos completaban las posibilidades evolutivas de la gastritis por Hp, su **Historia natural** desde la primoinfección. La Figura 9 resume la evolución potencial desde la primoinfección del Hp en la mucosa gástrica. La primera lesión es gastritis superficial que puede progresar a atrofia, Metaplasia Intestinal (MI) y displasia. El siguiente paso evolutivo es la transformación carcinomatosa. Este ciclo ocurre sólo en algunos pacientes. Otros agentes cancerígenos ambientales dietéticos complementan la acción del Hp. La otra línea evolutiva es el desarrollo de UD y de UG. En el primer caso, la gastritis suele afectar al antro. La capacidad de producción de ácido clohídrico queda intacta o aumentada que también pudiera contribuir a la patogenia.

La evolución a linfoma, posiblemente, venga determinada por el tipo de gastritis inicial, con gran infiltrado linfocitario, asociada a factores genéticos, aún desconocidos.

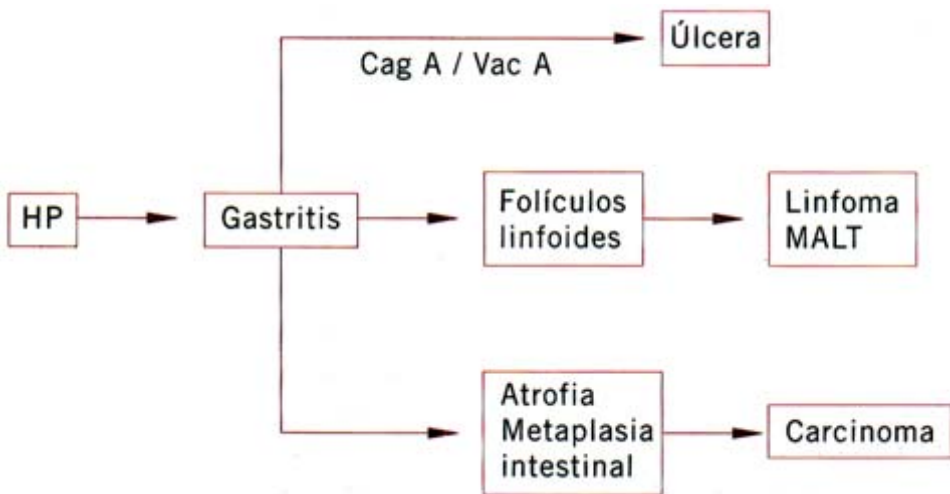


FIGURA 9. Esquema de la historia natural de la infección *H.pylori*.

MODIFICACIONES EN EL DIAGNÓSTICO Y TERAPEÚTICA DE LAS ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES

La consistencia de los hechos que probaron la relación de la infección Hp con la gastritis, UD y UG, Carcinoma y linfoma gástrico, decidieron el uso de nuevos métodos diagnósticos y pautas terapéuticas. Los **métodos diagnósticos** fueron orientados a identificar la bacteria: en biopsia gástrica endoscópica: Histología, cultivo y ureasa rápido. Sin necesidad de endoscopia: la serología, la prueba de aliento con urea marcada, la determinación de antígenos en heces facilitaba el diagnóstico. El de mayor especificidad es el cultivo, pero es el menos sensible. La prueba de aliento, con urea marcada, es muy sensible y específica y la preferida de pacientes. Consiste en marcar la urea con C14, radioactivo o con C13, isótopo estable. El marcador C14 no alcanzó difusión por el riesgo de los pacientes, aunque mínimo. El marcaje con isótopo estable C13, ideado por Graham y Klein en 1987 y denominado «Urea Breath Test» (prueba o test de aliento), asienta en la reacción, que la ureasa del Hp activo y presente en la mucosa gástrica desarrolla sobre la solución de urea marcada con C13 ingerida (42). La ureasa desdobra la urea en amoníaco, agua y ^{13}CO , que se expulsa con el aire expirado. Con diversas variantes metodológicas para facilitar su aplicación, esta prueba es la más aceptada por los pacientes, por la carencia de efectos adversos, su excelente tolerancia, su gran sensibilidad y especificidad (95-98%) y por la facilidad de realización. La indicación preferente es la comprobación de la eficacia del tratamiento.

El **tratamiento** de la UP ha experimentado un cambio sustancial: de disminuir la secreción gástrica a curar la infección Hp. Las modernas pautas terapéuticas combinan antiseoretos potentes de la familia de Inhibidores Bomba de protones con dos antibióticos (amoxicilina y claritromicina o un compuesto nitroimidazólico) en el régimen primero de inducción. Con esta asociación se consigue la curación en el 80-90% de los pacientes (44). La inclusión de IBP beneficia a los pacientes, precozmente porque alivia o suprime el dolor, casi de forma inmediata. Con lo que se consigue cumplir los criterios ideales del tratamiento antiulceroso: Suprimir el dolor, cicatrizar y evitar las recaídas o recidivas de la UP si se obtiene la curación de la infección con los antibióticos. En los que no se logra la curación, un cambio de

antibiótico, la adición de un tercero, la combinación con sales de Bi logra la curación en la casi totalidad de los tratados (45).

En resumen, Warren y Marshall demostraron la patogenicidad del Hp, rompiendo con las creencias tradicionales. Ambos eran intuitivos. Marshall unía a estas cualidades valentía, sentido del humor y desparpajo para enfrentarse a situaciones inesperadas para convencer a un auditorio escéptico. Sin entrar en valoraciones comparativas del grado de aportación de cada uno al descubrimiento, la de Warren fue cualitativa y esencial. Sin embargo, sin el trabajo de Marshall, sin su decisión valiente, tal vez poco responsable de autoinocularse y sin su continua y absoluta entrega a la causa del Hp, dedicando todos sus esfuerzos, posiblemente la relación de la infección con las lesiones inflamatorias, con sus consecuencias de diagnóstico y tratamiento, no hubieran sido aceptadas por la comunidad médica y científica.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) PRESS RELEASE: *The 2005 Nobel Prize in Physiology or Medicine*. 3 October 2005. Nobelprize.org.
- (2) WARREN, J. R. (1983): «Unidentified Curved Bacilli on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis». *Lancet* 1: 1273.
- (3) MARSHALL, B. (1983): «Unidentified Curved Bacilli on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis». *Lancet* 1: 1273-4.
- (4) WARREN, J. R. (2002): «The discovery of *Helicobacter pylori* in Perth, Western Australia. En *Helicobacter Pioneers* (Firsthand account from the scientists who discovered *Helicobacters*. 1892-1982)». B. Marshall (ed.) Blacwell Science Asia, 151-164.
- (5) ALLEN, PIN (2001): «What's the story H *Pylori*?» (Feature). *Lancet* 1: 694.
- (6) WHITEHEAD, R.; TRUELOVE, S. C., GEAR, W. M. L. (1972): «The histological diagnosis of Chronic gastritis in fiberoptic gastroscopie biopsy specimens». *J Clin.Pathl.* 25: 1-11.
- (7) FUNG, W. P.; PAPADIMITRIU, J. M., MATZ, L. R. (1979): «Endoscopic, histological and ultrastructural correlations in chronic gastritis». *Am. J. Gastroenterol.* 71: 269-79.
- (8) MARSHALL, B. J. (2002): «The discovery that *Helicobacter pylori*, a spiral bacterium, caused peptic ulcer disease. En *Helicobacter Pioneers* (Firsthand account from the scientists who discovered *Helicobacters*. 1892-1982)». B. Marshall (ed.). Blacwell Science Asia, 165-202.

- (9) MARSHALL, B. J. (1989): «History of the discovery of *C. Pylori*». In *Campylobacter pylori* in gastritis and Peptic Ulcer Disease. M. J Blaser (ed). Igaku-Shoin. New York, Tokio, 7-23.
- (10) WIERSINGA, W. M., TYTGAT, G. N. (1977): «Clinical recovery owing to parietal cell failure in a patient with Zollinger-Ellison syndrome». *Gastroenterology* 73: 1413-1417.
- (11) RAMSEY, E. J.; CAREY, K. V.; PETERSON, W. L., et al. (1979): «Epidemic gastritis with acholrhidria». *Gastroenterology* 76: 1449-1457.
- (12) MAGNUS, H. A. (1952): «Gastritis». In Jones, F. A. (ed). *Modern Trends in Gastroenterology*. London: Buterworth, 323-51.
- (13) MARTÍN, D. F.; HOLLANDERS, D.; MAY, S. J., et al. (1981): «Differences in relapse rates of duodenal ulcer after healing with cimetidina or tripotassium dicitrato bismuthate». *Lancet* 1: 7-10.
- (14) GREGORY, M. A.; MOSHAL, M. G., SPITAEELS, J. M. (1982): «The effect of tripotassium di-citrato bismuthate on the duodenal mucosa during ulceration. An ultrastructural study». *S Afr Med J.* 62: 52-5.
- (15) MARSHALL, B. J., WARREN, J. R. (1984): «Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration». *Lancet* 1: 1311-15.
- (16) McNULTY, C. A., WATSON, D. M. (1984): «Spiral bacteria of the gastric antrum». *Lancet* 1: 1068-9.
- (17) LANGEBERG, W.; TYTGAT, G. N.; SHIPPER, M.E., et al. (1984): «*Campylobacter*-like organism in the stomach of patients and healthy individuals». *Lancet* 1: 1348-9.
- (18) ELDRIDGE, J.; LESSELS, A. M., JONES, D. M. (1984): «Antibody to spiral organisms on gastric mucosa». *Lancet* 1: 1237.
- (19) MARSHALL, B. J.; ARMSTRONG, J. A.; MCGECHIE, D. B., GLANCY, R. J. (1985): «Attempt to fulfill Koch's postulates for *pyloric Campylobacter*». *Med J Aust* 142: 436-9.
- (20) JONES, D. M.; CURRY, A., FOX, A. J. (1985): «An ultrastructural study of the gastric *Campylobacter*-like organism "*Campylobacter pyloridis*"». *J Gen Microbiol* 131: 2335-41.
- (21) DAVIS, C. P.; CLEVEN, D.; BROWN, J., BALISH, E. (1976): «Anaerobiospirillum, a new genus of spiral-shaped bacteria». *Int J Syst Bacteriol* 26: 498-504.
- (22) BEJL, A.; MEGRAUD, F., VINCENT, P. et al. (1988): «GC content of DNA of *Campylobacter pylori* and other species belonging to the genus *Campylobacter*». *Ann Inst Pasateur/Microbiol* 138: 527-34.
- (23) THOMPSON, L. M.; SMIBERT, R. M.; JOHNSON, J. L., KRIEG, N. R.: «Phylogenic study of the genus *Campylobacter*». In *J Syst Bact* 1988; 38: 109-200.
- (24) LAMBERT, M. A.; PATTON, C. M.; BARRET, T. J., MOSS, C. W. (1987): «Differentiation of *Campylobacter* and *Campylobacter*-like organisms by cellular fatty acid composition». *J Clin Microbiol* 25: 706-13.
- (25) HAZELL, S. L. (1991): «Microbiology and taxonomy of *Helicobacter pylori* and related bacteria». En: *Helicobacter pylori* in peptic ulceration and gastritis. BJ Marshall, R., McCallum, R. L. Guerrant (Edts.). Boston Blackwell Scientific Publications, 19-34.

- (26) GOODWIN, C. S.; MCCONNELL, C., MCCULLOCH et al. (1989): «Cellular fatty acid composition of *Campylobacter pylori* from primates and ferrets compared with those of other *Campylobacters*». *J Clin Microbiol* 27: 938-43.
- (27) GOODWIN, C. S.; AROMSTRONG, J. A.; CHILVERS, T., et al. (1989): «Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen.nov.as *Helicobacter pylori* comb.nov. and *Helicobacter mustelae* comb.nov., respectively». *Int J Syst Bacteriol* 39: 397-405.
- (28) CORREA, P. (1988): «Chronic gastritis: A clinico-pathological classification». *Am J Gastroentrol* 83: 504-509.
- (29) JOHNSTON, B. J.; REED, P. I., ALI, M. H. (1986): «*Campylobacter*-like organisms in duodenal and antral endoscopic biopsies: Relationship to inflammation». *Gut* 27: 1132-1137.
- (30) JIANG, S. J.; LIU, W. Z.; ZHANG, D. Z., et al. (1987): «*Campylobacter*-like organisms in chronic gastritis, peptic ulcer, and gastric carcinoma». *Scand J Gastroentrol* 22: 553-558.
- (31) MISSIEWIEZ, J. J.; TYTGAT, G. N. J.; GOODWIN, C. S., et al. (1991): «The Sidney system: a new classification of gastritis». *J Gastro Hepato.* 6: 207-52.
- (32) COGHLAN, J. G.; GILLIGAN, D.; HUMPHRIES, H., et al. (1987): «*Campylobacter pylori* and recurrence of duodenal ulcers-a 12 month follow-up study». *Lancet* ii: 1109-1110.
- (33) RAWES, E. A. J., TYTGAT, G. N. J. (1990): «Cure of duodenal ulcer associated with eradication of *H pylori*». *Lancet* 335: 1233.
- (34) WYAT, J. I.; RATHBONE, B. J.; DIXON, M. F., et al. (1987): «*Campylobacter pyloridis* and acid-induced gastric metaplasia in the pathogenesis of duodenitis». *J Clin pathol* 40: 841-848.
- (35) CRABTREE, J. E.; SHALLROSS, HEATLEY, R. V., et al. (1991): «Mucosal tumor necrosis factor alpha and interleukin-6- in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis». *Gut* 32: 1473-7.
- (36) MOSS, S. F.; LEGON, S.; BISHOP, A. E., et al. (1992): «Effect of *Helicobacter pylori* on gastric somatostatin in duodenal ulcer disease». *Lancet* 340: 930-32.
- (37) PARSONNET, J.; FERDMAN, G. D.; VANDERSTEEN, D. P., et al. (1991): «*Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma». *New Eng J Med* 325: 1127-1131.
- (38) NOMURA, A.; STEMMERMAN, G. N.; CHYOU, P. H., et al. (1991): «*Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii». *New Eng J Med* 325: 1132-1136.
- (39) IARC: «Monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risks to Human». Vol. 61. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. International Agency for Research on Cancer. Lyon 1994.
- (40) WATANABE, T.; TADA, M.; NAGAI, H., et al. (1998): «*Helicobacter pylori* induces gastric cancer in mongolian gerbils». *Gastroenterology* 115: 642-648.
- (41) WOTHERSPOON, A. C.; ORTIZ-HIDALGO, C.; FALZON, M. R., ISSACSON, P. G. (1991): «*Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma». *Lancet* 338: 1175-1176.

- (42) WHITHERSPOON, A. C.; DOGLIONI, C.; DISS, T. C., et al. (1993): «Regression of primary low-grade B cell lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*». *Lancet* 342: 575-577.
- (43) GRAHAM, D. Y.; KLEIN, P. D.; EVANS, D. J., et al. (1987): «*Campylobacter pylori* detected noninvasively by the 13C-urea breath test». *Lancet* i: 1174-7.
- (44) PAJARES, J. M. (2000): «The treatment of *Helicobacter pylori* infection: General aspects and the therapy regimens». In *Helicobacter pylori* infection in gastroduodenal lesions. The second decade. Pajares, J. M.; Correa, P., Pérez Pérez, G. (Edtrs.). *Prous Science*. Barcelona, pp. 225-235.
- (45) EUROPEAN *HELICOBACTER PYLORI* STUDY GROUP (1997): «Current concepts on the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus». *Gut* 41: 8-13.