

Estudio comparativo que correlaciona los elementos bacterianos ocasionales (*Helicobacter pylori*) en la mucosa gástrica con la citología gástrica existente

Alvarez, Sandra; Kraiselburd, Berta; Madariaga, María; Trapé, Marcela; Filipovic, Gladys; Hernández, Horacio

Área Morfología. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Suipacha 570. (2000) Rosario.Santa Fe. Argentina. Teléfono: 341-4804592/3/7 Fax: 341- 4804598 - E-mail: morfo@uol.com.ar

RESUMEN: En el presente trabajo se determinó la presencia de *Helicobacter pylori* (H.p.) en biopsias utilizando métodos de tinción diferenciales. Las 23 biopsias estudiadas pertenecen a pacientes que presentaban síntomas de dispepsia gástrica hipersecretoria y/o ulcerosa.

En los cortes histológicos H.p. positivos (+) se estudió la mucosa gástrica. En ella se observaron la existencia de moco producido tanto por las células epiteliales de la mucosa como por las células de las glándulas antrales y la presencia o ausencia de alteraciones nucleares en las mismas células.

Los infiltrados celulares hallados presentaron un aumento de neutrófilos y mastocitos en las infecciones agudas y un aumento de linfocitos en las crónicas.

Los mastocitos a través de mediadores preformados (5-hidroxitriptamina [5-HT], heparina e histamina) y algunas citoquinas (Interleukina 1 [IL-1], Interleukina 6 [IL-6] y Factor de necrosis tumoral alfa [TNF-alpha]), serían los responsables del daño de la mucosa. Este mecanismo dependiente de la generación de óxido nítrico (NO) originado por las citoquinas actuaría sobre la proliferación, apoptosis y diferenciación celular.

Palabras clave: *Helicobacter pylori* – Mucosa gástrica – Gastritis – Mastocitos.

SUMMARY: Comparative study on gastric mucosa correlating occasional bacterial elements (*Helicobacter pylori*) with the gastric cytology. In this work, the presence of *Helicobacter pylori* (H.p.) in differentially stained biopsies was determined. Twenty three biopsies studied correspond to patients with hypersecretory and/or ulcerous gastric dyspepsia symptoms.

Gastric mucous membrane of Hp positive (+) histologic sections was studied. The existence of mucus either from mucous epithelial cells or from antral glands cells, as well as the presence or absence of nuclear alterations of the same cells were observed.

White cells infiltrations found presented a raised number either of neutrophils and mast cells in acute infections or of lymphocytes in chronic ones. Mast cells, by means of preformed mediators (5-hydroxytryptamine [5-HT], heparine and histamine) and some cytokines (Interleukine 1 [IL-1], Interleukine 6 [IL-6] and alfa tumor necrosis factor [alfa-TNF]) would be the responsible for mucous membrane injury. This mechanism dependent on the nitric oxide (NO) generated by cytokines, would influence cell proliferation, differentiation and apoptosis.

Key word: *Helicobacter pylori* – Gastric mucosa – Gastritis – Mast cells.

Introducción

El primer aislamiento del *Helicobacter pylori* (H.p.) en 1982 por Marshall y Warren (1) inicia una nueva etapa en la microbiología gástrica. Esta bacteria espiralada, gram negativa (-) y flagelada, se observó por primera vez a partir de especímenes de biopsias de estómago (2).

Estos investigadores describieron una asociación entre algunos cuadros digestivos, tales como la gastritis crónica "tipo B" y la úlcera gastroduodenal, con un grupo de bacterias curvas pertenecientes a la

familia de las *Campilobacter* (1,3). A esta familia pertenece el *Helicobacter pylori*.

Este organismo está bien adaptado a sobrevivir en el entorno gástrico durante largo tiempo, en especial en la mucosa de la zona antral del estómago (4,5,6).

La infección por H.p. ha modificado de manera sustancial el enfoque diagnóstico y terapéutico de las afecciones gastroduodenales al identificarse una relación etiopatogénica definida con la úlcera gástrica y duodenal. También desempeña un papel trascen-

dente en otras entidades como el linfoma tipo MALT y el adenocarcinoma gástrico (7,8,9).

La prevalencia de la infección por H.p. se relaciona básicamente con la influencia de factores medioambientales, como el nivel higiénico-sanitario y la edad del individuo (10,11,12).

El principal mecanismo de transmisión es interhumano, con dos posibilidades no excluyentes como son la vía fecal-oral y la vía oral-oral (13,14).

El H.p. coloniza la mucosa de la cavidad gástrica, principalmente en la superficie epitelial del área gástrica no secretora (antro pilórico) aunque puede encontrarse en cualquier zona del estómago y en áreas de metaplasia gástrica de otras localizaciones (esófago, duodeno, recto) (15).

El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia del H.p. en biopsias ciegas utilizando métodos de tinción diferenciales. En las biopsias H.p. positivas (+) se estudió:

- la presencia del moco producido por las células epiteliales del estómago y las células de las glándulas antrales;

- la existencia o no de alteraciones nucleares en las células epiteliales del estómago y las células de las glándulas antrales;

- la presencia de un infiltrado celular en la mucosa;

- los distintos tipos celulares presentes en el infiltrado;

- la presencia de trombos hialinos y/o celulares en la luz de las glándulas antrales.

Materiales y Métodos

Se estudiaron 23 biopsias humanas provenientes del Servicio de Gastroenterología del Hospital del Centenario. Dichas biopsias pertenecían a pacientes que presentaban signos de dispepsia gástrica hipersecretoria y/o ulcerosa.

El material fue obtenido por endoscopia, extrayéndose muestras de 1 a 3 mm de diámetro de la zona antral. Las zonas elegidas mostraban lesiones de aspecto histológico anormal al ser observadas a través del sistema óptico del endoscopio.

Las biopsias fueron fijadas en formaldehído al 4% y procesadas histológicamente hasta su inclusión en parafina.

Se realizaron cortes de 5 micras de espesor.

Las tinciones utilizadas para determinar la presencia de H.p. fueron Hematoxilina-eosina (HE), Giemsa y Whartin-Starry (16,17,18,19). La presencia del bacilo fue determinada con un aumento de 1000X.

El estudio del moco fue realizado a través de las reacciones histoquímicas P.A.S. – Alcian Blue, tinción conjunta que permite visualizar los mucopolisacáridos neutros y ácidos respectivamente (18,19). Se utilizó un aumento de 200X.

La determinación de las alteraciones nucleares en las células epiteliales superficiales y glandulares se realizó utilizando la tinción con Verde de Metilo – Pironina (19), específica para DNA y RNA. El aumento utilizado fue de 1000X.

En los preparados H.p. (+) teñidos con Hematoxilina – eosina se estudió el grado de infiltración celular de la mucosa gástrica. Se establecieron los siguientes niveles de infiltración:

- Nivel 1 (superficial): infiltrado celular presente en la lámina propia;

- Nivel 2 (intermedio): infiltrado celular presente en la muscularis mucosa;

- Nivel 3 (profundo): infiltrado celular presente en la submucosa.

Este estudio se realizó con un aumento de 200X (20).

Los distintos tipos celulares fueron identificados a través de distintas coloraciones:

- mastocitos: azul de toluidina (19).

- polimorfonucleares (eosinófilos y neutrófilos) y mononucleares (monocitos, linfocitos y plasmocitos): Giemsa y Hematoxilina - eosina (19).

El estudio semicuantitativo de los tipos celulares citados precedentemente se realizó mediante un score :

0 : ausencia de elementos celulares.

+ : hasta 75 elementos celulares.

++ : hasta 150 elementos celulares.

+++ : hasta 300 elementos celulares.

Se contaron 10 campos al azar en cada una de las biopsias. El aumento utilizado fue de 1000X.

Se determinó la existencia de trombos hialinos y celulares dentro de las glándulas antrales, utilizando los preparados teñidos con Giemsa y Hematoxilina – eosina (19). Se trabajó con un aumento de 200X.

Resultados

En la TABLA 1 se muestran los resultados del estudio para determinar la presencia del bacilo H.p. en las preparaciones teñidas con HE, Giemsa y Whartin-Starry. Como se ve, trece de las veintitrés muestras resultaron positivas.

Tabla 1: Determinación de la presencia del H.p. en las biopsias ciegas

Biopsia Ciega nº	Helicobacter Pylori
1 (1256)	+
2 (0726)	+
3 (1257)	+
4 (0776)	+
5 (0727)	+
6 (1019)	+
7 (0992)	+
8 (2820)	+
9 (2818)	+
10 (2712/2)	+
11 (2617)	+
12 (2342)	+
13 (2821)	+
14 (2994)	-
15 (2960)	-
16 (2712/1)	-
17 (1875)	-
18 (1504)	-
19 (1311)	-
20 (1947)	-
21 (1020)	-
22 (0880)	-
23 (1196)	-

En las fotos nº 1 y 2 se muestran biopsias de mucosa gástrica positivas para H.p. con las tinciones de Whartin-Starry y Giemsa.

En la TABLA 2 se muestran los resultados del estudio para determinar la presencia de mucus en las biopsias de mucosa gástrica H.p. (+)

Tabla 2: Determinación de la presencia de mucus en las biopsias de mucosa gástrica H.p. (+)

Biopsia Ciega nº	Mucus
1 (1256)	-
2 (0726)	-
3 (1257)	+
4 (0776)	-
5 (0727)	-
6 (1019)	-
7 (0992)	-
8 (2820)	-
9 (2818)	+
10 (2712/2)	+
11 (2617)	-
12 (2342)	-
13 (2821)	+

En la TABLA 3 se presentan los resultados de la determinación de alteraciones nucleares en las cé-

lulas epiteliales superficiales y glandulares. Este estudio sólo se realizó en las muestras H.p. (+).

Tabla 3: Determinación de la presencia de alteraciones nucleares en las biopsias de mucosa gástrica H.p. (+)

Biopsia Ciega nº	Alteración Nuclear
1256	No
0726	Si
1257	Si
0776	Si
0727	No
1019	Si
0992	Si
2820	Si
2818	Si
2712/2	No
2617	Si
2342	No
2821	Si

Cabe aclarar que si bien la tinción del verde de metilo pironina es la coloración específica para ADN y ARN, en las muestras coloreadas con Whartin-Starry se observaron engrosamientos de tipo nucleolar.

En la foto nº 3 se observan las condensaciones nucleolares en las células epiteliales y glandulares de una biopsia de mucosa gástrica positiva para H.p. con la tinción de Whartin-Starry.

En la TABLA 4 se muestran los resultados del estudio de los infiltrados celulares observados en las mucosas gástricas H.p. (+).

Tabla 4: Determinación del grado de infiltración y del tipo de infiltrado celular en las mucosas gástricas H.p. (+)

Biopsia ciega nº	Nivel de infiltración	Eosinófilos	Neutrófilos	Monocitos	Linfocitos	Plasmocitos	Mastocitos
1256	1	X	X	X	X	X	-
0726	1	X	X	X	X	X	-
1257	1	X	X	X	X	X	X
0776	2	X	XX	X	XX	XX	X
0727	1	X	X	X	X	X	X
1019	1	X	X	XX	XX	XXX	X
0992	1	X	X	X	XX	XX	X
2820	1	X	X	X	X	X	X
2818	1	X	X	X	XXX	XXX	-
2712/2	1	X	X	XX	XXX	XXX	X
2617	1	X	X	X	XXX	XXX	X
2342	3	XX	XX	XX	XXX	XXX	X
2821	2	X	X	X	X	X	X

En las fotos nº 4 y 5 se muestran infiltrados en biopsias de mucosa gástrica positivas para H.p. con la tinción de HE.

En las fotos nº 6, 7, 8 y 9 se muestran biopsias de mucosa gástrica H.p. (+) donde se observan distintos tipos celulares en los infiltrados.

En la TABLA 5 se muestra la existencia de trombos hialinos y/o celulares en la luz de las glándulas antrales de biopsias H.p. (+)

Tabla 5: Determinación de la presencia de trombos hialinos y/o celulares en muestras H.p. (+)

Biopsia ciega nº	Trombo Hialino	Trombo celular
1256	No	Si
0726	No	Si
1257	Si	No
0776	No	Si
0727	No	No
1019	Si	Si
0992	Si	Si
2820	Si	Si
2818	Si	No
2712/2	Si	No
2617	Si	Si
2342	No	Si
2821	Si	Si

En la TABLA 6 se resumen los datos obtenidos para las biopsias de mucosa gástrica H.p. (+).

Tabla 6: Resumen de todos los datos obtenidos para las biopsias de mucosa gástrica H.p. (+)

Biopsia Ciega nº	Helicobacter Pylori	Grado de infiltración	Eosinófilos	Neutrófilos	Monocitos	Linfocitos	Plasmocitos	Mastocitos	Alteración nuclear	Trombo Hialino	Trombo celular
1256	X	1	X	X	X	X	X	-	No	No	Si
0726	X	1	X	X	X	X	X	-	Si	No	Si
1257	X	1	X	X	X	X	X	X	Si	Si	No
0776	XXX	2	X	XX	X	XX	XX	X	Si	No	Si
0727	X	1	X	X	X	X	X	X	No	No	No
1019	XX	1	X	X	XX	XX	XXX	X	Si	Si	Si
0992	XX	1	X	X	X	XX	XX	X	Si	Si	Si
2820	X	1	X	X	X	X	X	X	Si	Si	Si
2818	XX	1	X	X	X	XXX	XXX	-	Si	Si	No
2712/2	XX	1	X	X	XX	XXX	XXX	X	No	Si	No
2617	XX	1	X	X	X	XXX	XXX	X	Si	Si	Si
2342	XXX	3	XX	XX	XX	XXX	XXX	X	No	No	Si
2821	XXX	2	X	X	X	X	X	X	Si	Si	Si

Discusión

Si bien en la mayoría de las biopsias fue suficiente la coloración de rutina de HE para la identificación del H.p., se realizaron las tinciones específicas complementarias de Giemsa y Whartin-Starry con el fin de disminuir los falsos negativos. La especificidad de la coloración de Whartin-Starry, un método de impregnación argéntica, se debe a que la plata precipita sobre la membrana del microorganismo haciéndola aparecer más gruesa y más fácil de identificar. Existe un claro contraste entre el color negro que toman los bacilos y el amarillo dorado de la mucina y las células epiteliales.

Del análisis de las observaciones de las biopsias teñidas con estos tres métodos, trece de las veintitrés muestras resultaron positivas para H.p..

En la infección por H.p., las células epiteliales de la mucosa gástrica sufren una alteración que conlleva a una producción inadecuada de mucus. Esta alteración se observó en nueve de las trece biopsias H.p. (+). El estudio se realizó con Alcian blue-PAS, tinción histoquímica que permite la visualización de los mucopolisacáridos neutros y ácidos.

El porcentaje de transformación de los epitelios mucosos parece estar acelerado en las mucosas con alteraciones gástricas. Las alteraciones regresivas de las células epiteliales pueden presentarse tanto por la acción de jugos digestivos como también representan la expresión de una exfoliación celular incrementada. Al primer grupo atribuimos los fenómenos de digestión de citoplasma celular y la relajación de los núcleos hasta una fibrilación difuminada de la cromatina nuclear. Como formas de degradación, constituidas independientemente de las secreciones gástricas, se mencionan la picnosis nuclear, el entramado cromatínico más grueso y vasto, la aparición de vacuolas en los núcleos y la destrucción de los mismos para formar pequeñas esférulas homogéneas y densas que, en contraste con células nativas se manifiesta por la formación de "collares de perlas", constituidas por gotas oscuras pseudoesféricas dispuestas en torno a la membrana nuclear.

Si bien la tinción del verde de metilo pironina es la coloración para observar alteraciones nucleares, en las biopsias coloreadas con el método de Whartin-Starry, las mismas se evidenciaron en mayor grado. Las células glandulares mostraron un engrosamiento de la cromatina de tipo nucleolar.

La determinación del grado de infiltración se realizó en base al sistema Sydney.

Tras la colonización de la mucosa gástrica por el H.p., se produce una reacción lesiva tisular principalmente de carácter inmunológico caracterizada por endocitosis, exposición antigénica y liberación de las sustancias tóxicas bacterianas. Esto facilita la infiltración por leucocitos polimorfonucleares, monocitos, linfocitos y plasmocitos, así como la liberación de mediadores de la reacción inflamatoria (prostaglandinas, leucotrienos, proteasas, superóxidos) que aumentan el daño tisular.

La mucosa gástrica secreta quimiocinas y citoquinas en respuesta a la agresión del H.p.. Las quimiocinas tienen su rol en la iniciación aguda de la inflamación. Las variaciones de magnitud y características de las respuestas de las citoquinas han sido consideradas como factores determinantes del grado de inflamación alcanzado en la etapa de cronicidad. (21)

Las quimiocinas se dividen en dos grandes grupos: familia c-x-c y familia c-c, basado en aminoácidos homólogos y especificidad de células blanco. La interleukina 8 (IL-8) es uno de los representantes de la familia de quimiocinas c-x-c y la actividad específica target es para neutrófilos. El MCP-1 pertenece a la familia de quimiocinas c-c, que actúan sobre monocitos y linfocitos.

La estimulación bacteriana de la superficie apical del epitelio resulta de la secreción basal de IL-8 y la formación de un gradiente subepitelial de quimiocinas, el cual promueve la migración direccional de neutrófilos hacia el epitelio (en el caso de infección o inflamación aguda).

En la mayoría de las biopsias H.p. (+) se observó un aumento en la mucosa de neutrófilos conjuntamente con mastocitos. Se considera que la aparición temprana de neutrófilos es índice indiscutible de un proceso de evolución aguda. (22,23)

La mucosa normal del estómago no presenta tejido linfoide organizado. En la infección crónica por H.p. aparecen agregados linfoides asociados. (24,25,26)

Se observaron infiltrados de eosinófilos conjuntamente con mastocitos que estarían determinando procesos de anafilaxia de iniciación local en donde los mastocitos, a través de la secreción de histamina, serotonina y en mucho menor grado heparina, iniciarían el proceso que sería desencadenante de la aparición secundaria de los eosinófilos a los efectos de fagocitar los antígenos producidos.

Las glándulas mostraron dentro de su lumen conglomerados de células y / o material hialino que representan trombos celulares (granulosos) y/o hialinos respectivamente. El proceso por el cual se formarían dichos trombos o cilindros comenzaría con la división celular, que desplazaría los elementos deteriorados formando una protrusión de células en el fondo de la glándula. De allí iniciaría su ascenso hasta la eliminación en la cripta correspondiente. El tiempo de formación del trombo determinaría la naturaleza del mismo, siendo los hialinos los de más larga data.

La importancia de los mastocitos radica en los mediadores citoplasmáticos preformados (5-hidroxitriptamina [5-H-T], heparina, e histamina) y algunas citoquinas (Interleukina 1 [IL-1], Interleukina

6 [IL-6] y Factor de necrosis tumoral alfa [TNF-alfa]) que estimulan la formación de óxido nítrico (NO) por medio de la inducción de la expresión de iNOs (sintetasa inducible de óxido nítrico). Esto se traduciría en el daño de la mucosa gástrica a través de su acción sobre la microcirculación, las células epiteliales y los fibroblastos.

El NO unido a las citoquinas y otras hormonas tisulares actúan sobre el sistema de control de proliferación, apoptosis y diferenciación de células. (27)

Agradecimiento

A la histotecnóloga Alejandra I. Martínez, por su colaboración en el procesamiento histológico de las muestras.

Foto 1: Biopsia de mucosa gástrica H.p. (+) teñida con Whartin-Starry. (1000X)



Foto 2: Biopsia de mucosa gástrica H.p. (+) teñida con Giemsa (1000X)

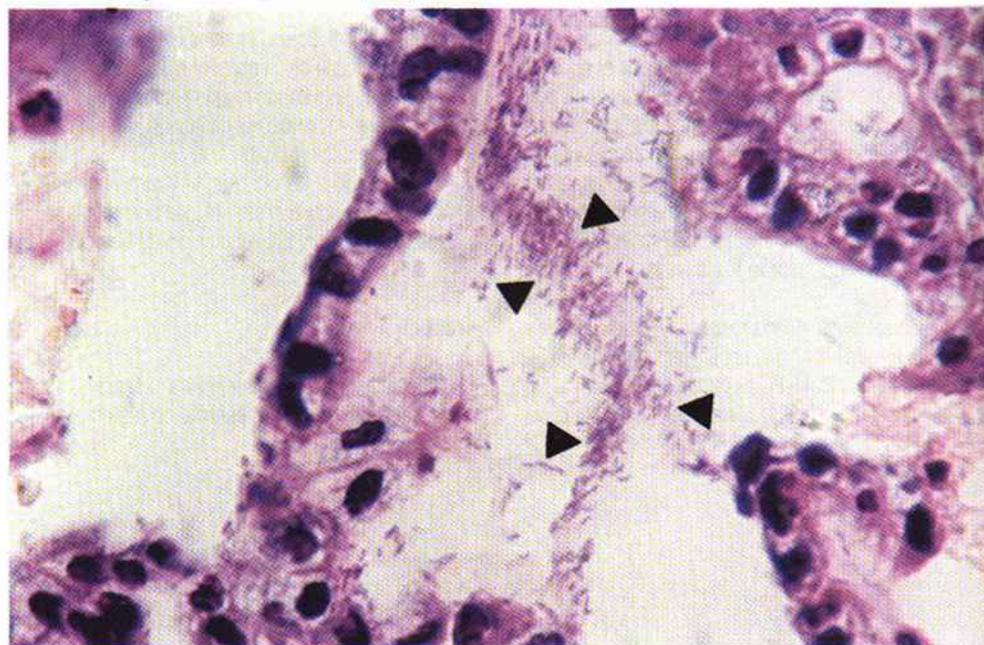


Foto 3: biopsia de mucosa gástrica H.p. (+) teñida con Whartin-Starry mostrando los engrosamientos de tipo nucleolar. (1000X)

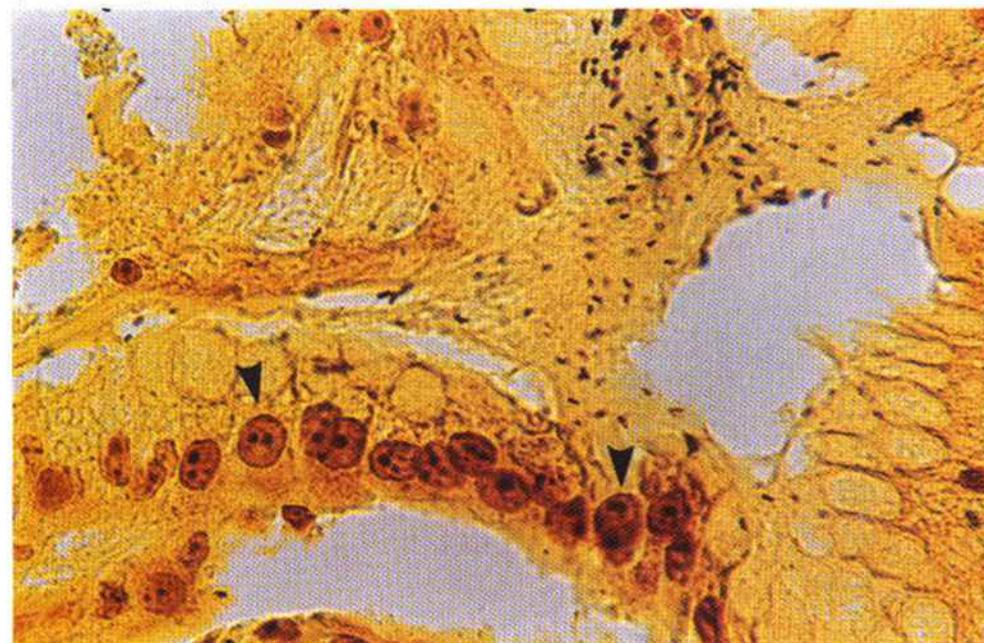


Foto 4: Biopsia de mucosa gástrica H.p. (+) mostrando un infiltrado de nivel 1. HE. (200X)



Foto 5: biopsia de mucosa gástrica H.p. (+) mostrando un infiltrado de nivel 2. HE. (200X)

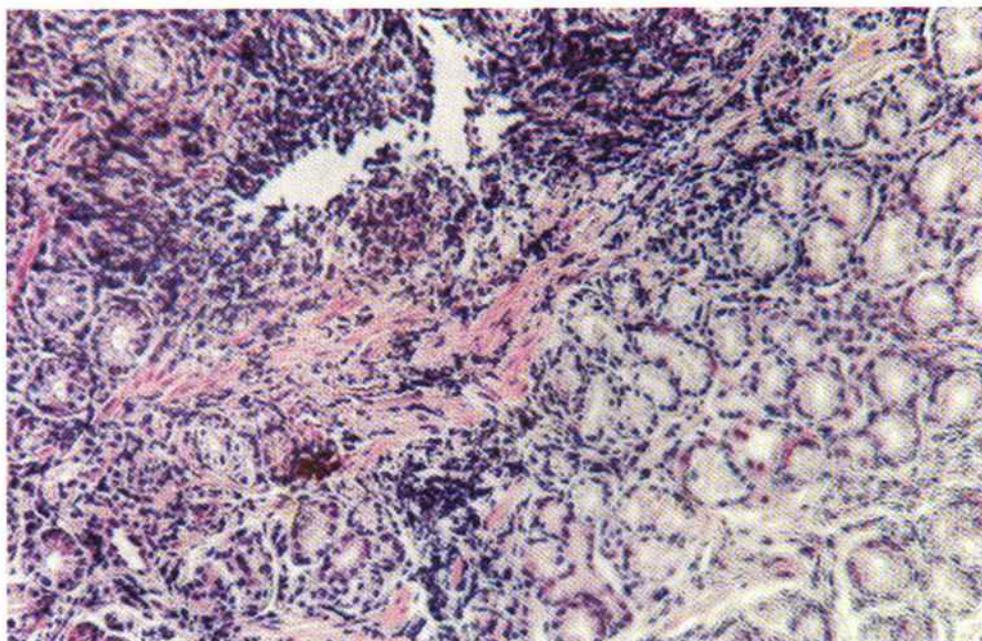


Foto 6: Biopsia de mucosa gástrica H.p. (+) con eosinófilos Giemsa. (1000X)

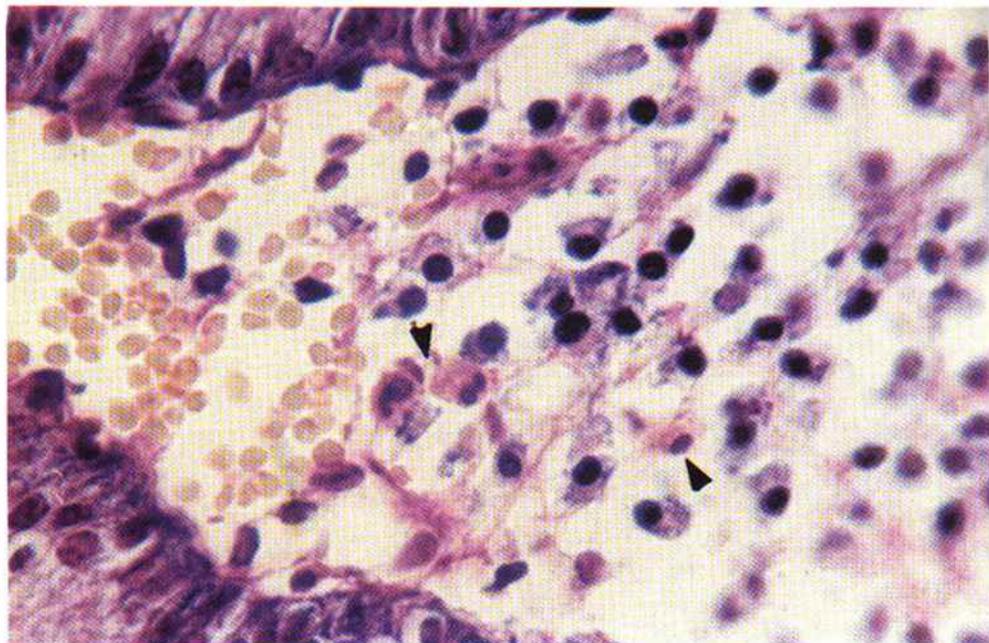


Foto 7: biopsia de mucosa gástrica H.p. (+) con infiltración neutrofilica en epitelio superficial. Giemsa. (1000X)

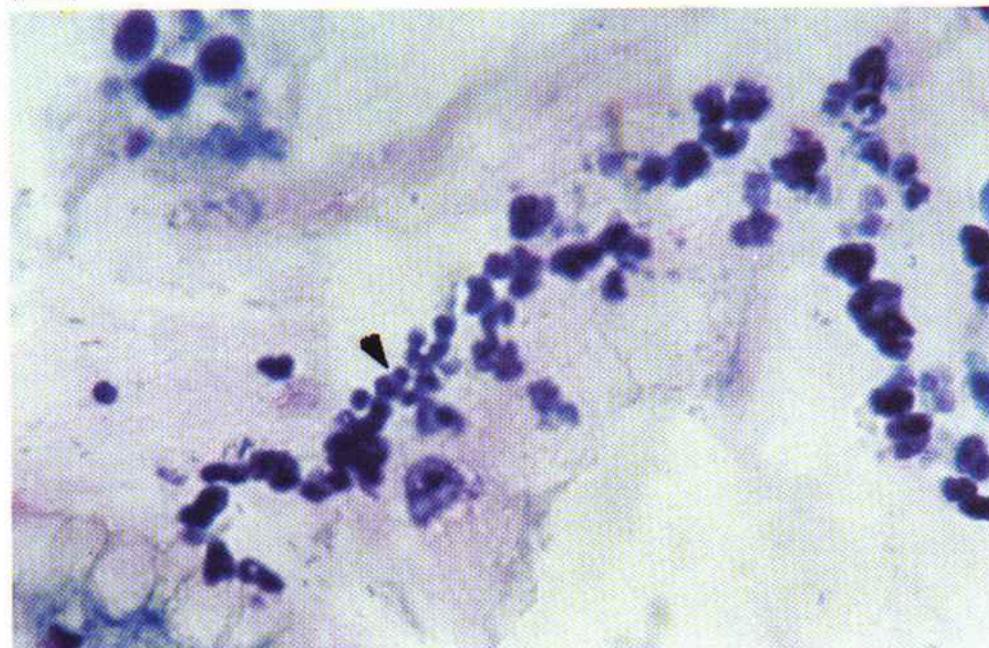


Foto 8: Biopsia de mucosa gástrica H.p. (+) con infiltración linfomonocitaria. HE. (1000X)

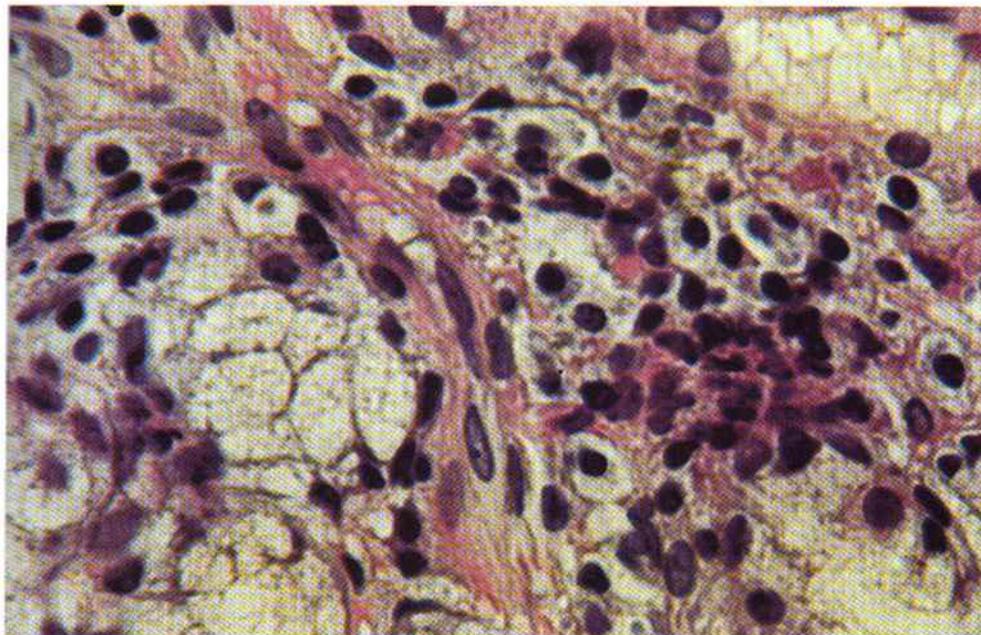
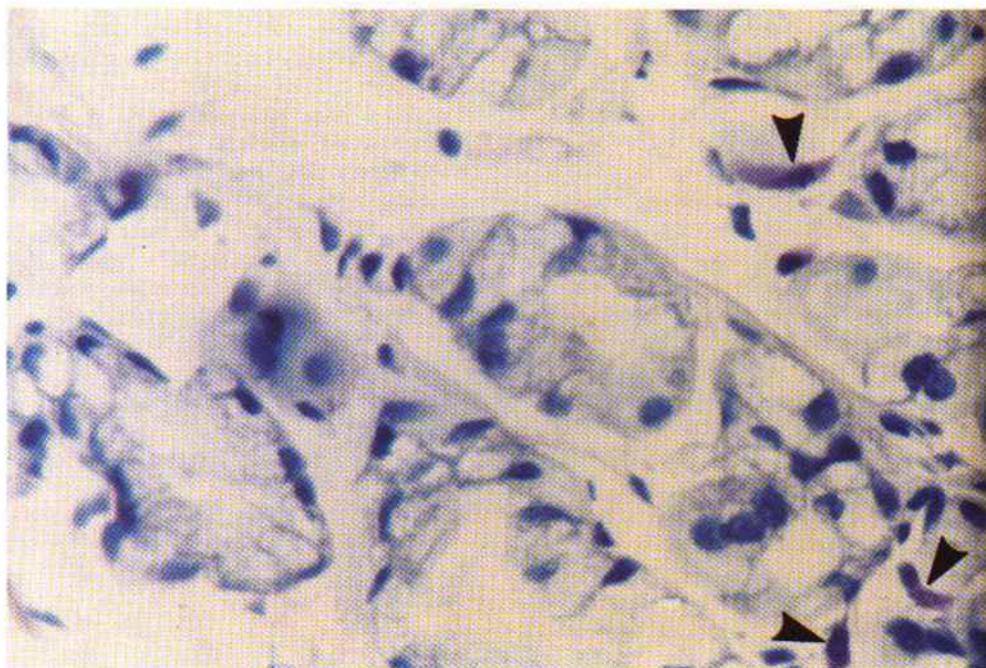


Foto 9: Biopsia de mucosa gástrica H.p. (+) con mastocitos en el infiltrado. Azul de toluidina. (1000X)



Bibliografía

- Marshall, B.J. and Warren, J.R., 1984. Unidentified curve Bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1: 1311-1315.
- Godwin, C.S., McCulloch, R.K.; Armstrong, J. A. and Wee, S.H., 1987. Uncellular fatty acid and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastritis mucosa. *J. Med. Microbiol.* 19: 257-267.
- Marshall, B.J., 1989. History of the discovery of *Campylobacter pylori*, p 7-24. In M. J. Blaser (ed). *Campylobacter pylori in gastritis and peptic ulcer disease*. Igaku Shoin Publishers. New York. N.Y.
- Jones, D. M., Lessells, A. M and Eldridge, J., 1984. *Campylobacter* like organisms on the gastritis mucosa: culture, histological and serological studies. *J. Clin. Pathol.* 37: 1002-1006.
- Langenberg, M. L.; Tytgat, G. N. J.; Shipper, M. E. J.; Rietra, P. J. G. M. and Zanen, H.C., 1984. *Campylobacter*-like organisms in the stomach of patients and healthy individuals. *Lancet* 1: 1348.
- Mc Nutty, C. M. A. and Watson, D.M., 1984. Spiral bacteria of the gastric antrum. *Lancet* 1: 1068-1069.
- Taley, N. J. A. R.; Zinsmeister, A. Weaver, E.P.; Magno, H.A.; Carpenter, G. I.; Perez-Perez and Blaser, M. J., 1991. Gastric Adenocarcinoma and *Helicobacter pylori* infection. *J. Natl Cancer Inst.* 83: 1734-1739.
- Forman, D. D. G.; Newell, F.; Fullerton, J. W.; Yarnell, A. R.; Starcey, N. Wald and F. Sitas., 1991. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer, evidence from a prospective investigation. *Br. Med. J.* 302: 1302-1305.
- Patchett, S; S. Beattie; E. Lee; C. Keane and C. O'Morain, 1992. *Helicobacter pylori* and duodenal ulcer recurrence. *Am. J. Gastroenterol.* 87: 24-27.
- Katoh, M. D.; Saito, T.; Noda, S.; Yoshida, Y.; Oguro, Y. Yazaki, T. Sugimura and M. Terada. 1993. *Helicobacter pylori* may be transmitted through gastrofiberscope even after manual hyamine Washing Jpn. J. Cancer. Res. 84: 117-119.
- Tytgat, G. N., 1995. Endoscopic transmission of *Helicobacter pylori*. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 9 (suppl 2): 105-110.
- Thomas, J. E.; G. R. Gibson; M. K. Darboe; A. Dale and L. T. Weaver, 1992. Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *Lancet* 340: 1194-1195.
- Klein, P. D.; D. Y. Graham; A. Gaillour, A. R. Opekun and E. O. Smith, 1991. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection Peruvian children. *Lancet* 337: 1503-1506.
- McGraud, F., 1995. Transmission of *Helicobacter pylori*: faecal - oral versus oral-oral route. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 9 (suppl 2): 85-91.
- Morris, A. G.; Nicholson, J.; Zwi and M. Varderwee, 1989. *Campylobacter pylori* infection in Meckel's diverticula containing gastric mucosa. *Gut* 30: 1233-1235.
- Madam, E.; Kemp, J.; Weatblon, T. U et al., 1986. Evaluation of staining methods for identifying *Campylobacter pylori*. *Am. J. Clin. Pathol.* 90: 450-453.
- Genta, R. M.; Robasan, G. O; Graham, D. Y., 1994. Simulation visualization of *Helicobacter pylori* and gastritis morphology: a new stain. *Hum. Pathol* 25: 221-226
- R. García del Moral. Laboratorio de Anatomía Patológica. Mc Graw Hill- Interamericana de España. 1993.
- E. B. Prophet; B. Mills, J. B. Arkington, L.H. Sobin., 1996. Métodos histotecnológicos. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los E.E.U.U.
- Dixon M. F; Genta R. M; Yardley, J. H; Correa. P and the participants in the International Workshop on the histopathology of gastritis. Classification and grading of gastritis: the up dated Sydney system. *Am. J. Surg. Pathol.* 1996. 20: 1161-81
- Crabtree, J. E. Role of cytokines in Pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced mucosal damage. *Digestive Diseases and Sciences.* 1998. Vol. 43. Nº 9, 46 S- 55 S.
- Mooney, C.; Keenan, J.; Munster, D. et al. Neutrophil activation by *Helicobacter pylori*. *Gut* 1991; 32: 853-857.
- Neilsen, H.; Andersen, L. P. Chemotactic activity of *Helicobacter pylori* sonicate for human polymorphonuclear leucocytes and monocytes. *Gut* 1992; 33: 738 - 742.
- Watherspoon, A. C.; Ortiz Hidalgo, C.; Falzon, M. R.; Isaacson, P. G. *Helicobacter pylori* associated gastritis and primary B cell lymphoma. *Lancet* 1991; 338: 1175-1176
- Van Doorn, N. E. M.; Van Rees, E. P.; Namavar, F. and De Graaf, J. Local cellular immune response in the acute phase of gastritis in mice induced chemically and by *Helicobacter pylori*. *J. Med. Microbiol.* Vol 47 (1998): 863 - 870.
- Lindholm, C.; Quiding-Järbrink, M.; Lönröth, H.; Halmet, A. et al. Local cytokine response in *Helicobacter pylori* infected subjects. *Infection and Immunity.* Dec, 1998. 5694-5971.
- Turpaev, K. T. Nitric oxide in intercellular communication. *Molecular biology.* Vol. 32 Nº4 (1998): 475-484.