



UNIVERSITÀ DI PISA

Facoltà di Medicina e chirurgia

Dipartimento: Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia

Direttore: Prof. Giulio Guido

TESI DI LAUREA

**PIROSI FUNZIONALE: DIFFERENZE PH-IMPEDENZIOMETRICHE IN
PAZIENTI CON DIFFERENTE RISPOSTA A TERAPIA CON INIBITORI DI
POMPA PROTONICA**

Candidato:

Lorenzo Macchia

Relatore:

Prof. Santino Marchi

Tutor:

Nicola De Bortoli

Anno accademico 2012-2013

INDICE

INTRODUZIONE	4
QUADRO CLINICO	8
EPIDEMIOLOGIA	11
FISIOPATOLOGIA	16
FATTORI DI RISCHIO E DI PROTEZIONE	30
DIAGNOSI	36
DIAGNOSI DIFFERENZIALE	46
TERAPIA	48
COMPLICANZE	56
CLASSIFICAZIONE DELLA GERD E ALGORITMO DIAGNOSTICO	58
SCOPO DELLA TESI	60
MATERIALI, PAZIENTI E METODI	61
RISULTATI	67
DISCUSSIONE	72
RINGRAZIAMENTI	80
RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI	83

INTRODUZIONE

Il passaggio di contenuto gastrico nell'esofago (reflusso gastroesofageo) è un normale processo fisiologico. La maggior parte degli episodi sono di breve durata e non causano sintomi, danni all'esofago o altre complicanze.

Secondo la definizione nata dalla Consensus Conference di Montreal, si parla di malattia da reflusso gastroesofageo (GERD, dall'acronimo inglese di gastroesophageal reflux disease) quando il reflusso del contenuto gastrico causa sintomi problematici o complicanze.¹ Per "sintomi problematici" si intendono 2 o più episodi di pirosi retrosternale alla settimana i quali peggiorano la qualità di vita.

La GERD può essere classificata basandosi sull'aspetto della mucosa esofagea all'endoscopia:

- Lesioni visibili della mucosa esofagea distale con o senza sintomi da GERD caratterizzano l'esofagite erosiva (EE).
- L'assenza di lesioni visibili in pazienti sintomatici invece viene definita malattia da reflusso non erosiva (NERD, dall'inglese non-erosive reflux disease).

La pH-impedenziometria multicanale monitorata nelle 24 ore (MII-pH) è una tecnica diagnostica attualmente utilizzata per la valutazione della malattia da reflusso gastroesofageo. Questo perché permette di registrare le variazioni dell'impedenza elettrica causate, ad esempio, dal rigurgito di liquido o dal transito retrogrado di gas.²

Grazie alla pH-impedenziometria (vedi capitolo sulla diagnosi) possiamo stabilire se c'è reflusso, se il reflusso è acido e se c'è associazione temporale tra il reflusso ed i sintomi. In questo modo possiamo distinguere:

- Sintomi associati a reflusso acido, caratteristici della NERD.
- Sintomi associati a reflusso non acido, caratteristici dell'esofago ipersensibile (HE, dall'acronimo inglese di Hypersensitive Esophagus).
- Sintomi non associati a reflusso, caratteristici della piroisi funzionale. Questa condizione non fa parte della GERD secondo gli attuali criteri data l'assenza di associazione dei sintomi con il reflusso.

In assenza di episodi di reflusso o di deglutizioni, il lume esofageo collabisce su se stesso ed i contatti metallici vengono ad essere a stretto contatto con la mucosa esofagea. Di conseguenza il livello di impedenza basale (BI dall'acronimo inglese di Baseline Impedance), ovvero a riposo, è determinata dalla conducibilità elettrica intrinseca della parete esofagea circostante.

Farré et al.³ hanno eseguito esperimenti di perfusione di acido in soggetti sani dimostrando che il livello di BI si riduce e si mantiene basso fino a 15 minuti dopo il termine dell'infusione. Inoltre, è stato evidenziato che esiste una correlazione positiva tra BI ed i valori di resistenza trans-epiteliale sia in vitro che in vivo. Sulla base di questi dati gli autori hanno suggerito che le misurazioni della BI potrebbero essere utilizzati per valutare lo stato della mucosa esofagea e per studiarne l'integrità. In

linea con questa ipotesi, Kessing et al.⁴ hanno dimostrato che i livelli di BI distale nei pazienti con GERD sono nettamente inferiori a quelli riscontrabili in volontari sani e che gli stessi valori di BI correlano direttamente con il tempo di esposizione all'acido esofagea sia patologico che fisiologico (AET dall'acronimo inglese di Acid Exposure Time).

I sintomi tipici della GERD (cioè pirosi e/o rigurgito), in presenza di una mucosa esofagea normale, valutata con endoscopia, vengono utilizzati per definire la NERD⁵ e, allo stesso tempo, sono prerequisiti per la diagnosi di pirosi funzionale (FH dall'acronimo inglese di Functional Heartburn). Infatti, secondo i criteri di Roma III, la mancanza di corrispondenza tra sintomi ed episodi di reflusso acido, insieme con una normale esposizione all'acido dell'esofago distale e una risposta negativa alla terapia acido-soppressiva, suggeriscono una diagnosi di FH.^{6, 7} Più recentemente, diversi studi hanno evidenziato che, per essere diagnosticati come FH, i pazienti devono anche escludere la presenza di un'associazione fra sintomo ed episodi di reflusso, mediante esecuzione di MII-pH.⁸⁻¹¹ D'altra parte, i pazienti che mostrano una stretta relazione temporale tra sintomi e reflussi di tipo acido o non-acido sono stati definiti come affetti da HE.^{9, 12, 13} Recentemente, Woodland et al.¹⁴ hanno osservato che, nell'ambito dei pazienti con diagnosi di NERD e di FH, coloro che risultavano positivi al test di sensibilità all'acido, avevano BI inferiore a coloro che invece non avevano sintomi. Inoltre, gli autori hanno evidenziato che in un sottogruppo di pazienti con FH, pur avendo un normale studio MII-pH e una risposta negativa alla terapia con inibitore della pompa protonica (PPI dall'acronimo inglese di

Proton Pump Inhibitor), presentavano un'integrità mucosa ed un fenotipo che era molto più simile a pazienti con NERD. Tuttavia, è noto che nei pazienti che rispondono a PPI e che presentano sintomi tipici di reflusso, la diagnosi di GERD, come definito dalle linee-guida di riferimento attualmente accettate, non è sempre confermata.^{7, 15-17}

Sulla base di queste evidenze, al momento non è chiaro come poter definire questi pazienti.¹⁸

QUADRO CLINICO

La GERD può presentarsi con sintomi tipici, atipici ed extraesofagei. I sintomi tipici sono caratteristicamente esofagei, quelli atipici possono essere esofagei o gastrici mentre quelli extraesofagei meritano una particolare attenzione in quanto solo una percentuale di pazienti è realmente affetta da GERD.

Tra i sintomi tipici, quelli più comuni sono pirosi e rigurgito.

La pirosi è solitamente descritta come una sensazione di bruciore retro sternale. Si presenta più frequentemente nel periodo post-prandiale. È solitamente riportato come sintomo predominante da molti pazienti. Questi soggetti vanno valutati attentamente per studiare la presenza di reflussi patologici o la correlazione degli stessi con il sintomo riportato. Si stima che circa un 25% dei pazienti con pirosi non presentano associazione fra sintomi e reflussi.

La pH-metria ha dimostrato che i sintomi sono dati dal passaggio di materiale gastrico nell'esofago distale. Il bruciore di norma compare entro un minuto dal reflusso. In questo contesto, bisogna anche ricordare che normalmente solo una minima percentuale dei reflussi (5-10%) è percepita normalmente a livello dell'esofago.¹⁹ L'approfondimento dello studio del sintomo pirosi ha permesso di evidenziare che non è solo l'acido a generare il sintomo ma anche il volume del refluito e la presenza di gas nel refluito stesso (reflussi misti).²⁰ Inoltre, il sintomo pirosi può essere associato anche alla presenza di reflussi debolmente acidi (pH compreso tra 4 e 7). Questi dati derivano da studi effettuati con l'utilizzo della pH-

impedenziometria⁹ e sono giustificati anche dal punto di vista fisiopatologico in quanto sono stati evidenziati in esofago recettori sensibili agli ioni H⁺ che sono stimolati da valori di pH fino a 6.²¹

Alcuni pazienti lamentano pirosi senza avere una GERD. Questo perchè non mostrano associazione tra sintomi e reflusso. Il sintomo di questi pazienti viene chiamato "pirosi funzionale" (FH) secondo i criteri diagnostici di Roma III per i disturbi funzionali dell'esofago.

L'altro sintomo tipico di GERD è il rigurgito, definito come percezione del passaggio di contenuto gastrico in esofago fino all'ipofaringe o in cavità orale, in assenza di nausea o conati. Anche il rigurgito può essere associato alla presenza di materiale acido o non-acido.

Alcuni pazienti descrivono invece il sintomo dolore toracico. Questo sintomo viene definito in ambito gastroenterologico, quando associato alla GERD, come dolore toracico non-cardiaco. Questo dolore non è distinguibile, dal punto di vista clinico, dal dolore di tipo anginoso in quanto sia l'intensità che l'irradiazione del dolore non permettono di distinguere le due diagnosi. Infatti, spesso le coronaropatie entrano in diagnosi differenziale con la GERD ed è importante aver eseguito gli appropriati accertamenti diagnostici prima di classificare il sintomo come dolore attribuibile a reflusso anziché di origine cardiaca.

Un altro sintomo che può essere correlato alla GERD è la disfagia definita come la difficoltà al transito del materiale in esofago. Si distingue in "disfagia organica"

(difficoltà progressiva al transito di cibo associata a riduzione del calibro del viscere) e "disfagia funzionale" (difficoltà al transito solo per i liquidi e non per i solidi, probabilmente associata a disturbo di ipercontrattilità esofagea). Come approfondito nel capitolo dedicato, il reflusso non è l'unica causa possibile di disfagia. Tra le cause di disfagia in aumento c'è l'esofagite eosinofila che non è correlata, dal punto di vista fisiopatologico, alla GERD.

Tra i sintomi extra-esofagei troviamo disfonia, tosse, asma e polmoniti ricorrenti. Sebbene l'associazione tra questi sintomi e la GERD sia possibile, stabilirlo con certezza può essere difficile.

Altre manifestazioni meno comuni della GERD possono essere:

- Scialorrea: ipersalivazione associata al reflusso. Essa può arrivare a 10 ml al minuto e il paziente può presentarsi con schiuma alla bocca.
- Globo: persistente sensazione di corpo estraneo in gola nonostante i tentativi di deglutizione. La sua associazione con la GERD non è certa. Alcuni studi correlano questo sintomo al reflusso ma altri lo attribuiscono ad uno sfintere esofageo superiore (SES) ipertensivo.²²
- Odinofagia: dolore durante la deglutizione. Nonostante possa essere sintomo di GERD, solitamente è indicativo di ulcera esofagea.
- Nausea: raramente dovuta a reflusso. Tuttavia la diagnosi di GERD va considerata in pazienti con nausea non spiegabile altrimenti.²³

EPIDEMIOLOGIA

La GERD è sempre più diffusa ed è probabilmente la malattia cronica più comune nel mondo occidentale. Questo è spiegabile, in parte per le caratteristiche anatomiche e funzionali della giunzione gastroesofagea (come approfondito nel capitolo della patogenesi), ed in parte legata alla maggiore presenza di fattori di rischio specialmente nel mondo occidentale (vedi capitolo dedicato). Inoltre questa malattia ha un impatto sulla qualità di vita dei pazienti ed è anche un notevole peso economico.

Un preciso dato sulla prevalenza non è attualmente disponibile. Questo, in parte, è dovuto alla mancanza di un accordo sulla definizione della stessa GERD. Inoltre al mondo ci sono differenze culturali e linguistiche tali che persino l'identificazione e interpretazione dei sintomi possono essere differenti a seconda dei paesi. La situazione migliorerà in futuro viste le definizioni e classificazioni condivise a livello internazionale. Infatti negli ultimi anni sono state accettate a livello globale la definizione di Montreal¹ e la classificazione di Los Angeles delle esofagiti.²²

Negli USA il 7% della popolazione riferisce pirosi quotidiana mentre il 44% riferisce di avere episodi di pirosi almeno una volta al mese.²⁴

In Europa la prevalenza va da 11.9% a 23.7%. Quest'ultima prevalenza è quella registrata in Italia. La variabilità tra paesi è spiegabile sia con le diverse caratteristiche genetiche che per le diverse abitudini di vita.

In uno studio italiano ²⁵ la prevalenza di sintomi tipici una volta al mese risultava di 44.3% mentre quella di sintomi gravi (2 volte a settimana) di 23.7%. Proseguendo lo studio è stato visto che l'11.8% dei pazienti presentava EE all'endoscopia. In particolare l'11.3% aveva lesioni non circonferenziali mentre lo 0.5% aveva erosioni gravi. Dei pazienti che lamentavano sintomi gravi, il 21.2% aveva EE. Invece tra i pazienti con sintomi più lievi si evidenziava EE nel 8.9%. Questa associazione in realtà è puramente casuale in quanto la gravità dei sintomi non correla con la gravità delle lesioni evidenziate all'endoscopia come recentemente confermato da uno degli studi più ampi eseguiti in Europa.²⁶

Nel Regno Unito, i medici di medicina generale diagnosticano 4.5 nuovi casi di GERD ogni anno, con un picco di incidenza tra i 60 e i 69 anni. Inoltre lo stesso studio ha dimostrato che la diagnosi di GERD era associata a sovrappeso, obesità e fumo in maniera statisticamente significativa.²⁷

La GERD, però, coinvolge tutte le età. Ne sono colpiti anche i neonati con un'incidenza di circa l'8%. Per fortuna in questi piccoli pazienti la malattia segue un decorso piuttosto benigno ed i sintomi tendono a risolversi entro i 2 anni di vita,²⁸ probabilmente con la maturazione delle strutture che costituiscono la giunzione gastroesofagea. Il reflusso è strettamente legato al rilassamento transitorio del LES (tLESR dall'acronimo inglese di transient Lower Esophageal Sphincter Relaxation).²⁹

Come negli adulti, un importante fattore implicato nel reflusso è l'ernia iatale. Questa è stata riscontrata nel 40% dei bambini con reflusso contro il 10% dei controlli.³⁰ Uno

studio di popolazione del 2008³¹ ha sottoposto a screening endoscopico bambini dai 0 ai 17 anni. EE è stata riscontrata nel 7.7% dei bambini con ernia iatale mentre era presente in solo il 2.5% dei bambini senza ernia iatale. Studi ecografici hanno evidenziato che l'ernia iatale nei bambini potrebbe essere secondaria ad un esofago corto.³²

Interessante è capire com'è l'andamento della GERD negli anni. Grazie ad alcuni studi a lungo termine, è stato possibile analizzare questo aspetto della malattia. Concentrandoci sull'Europa, secondo uno studio svedese,³³ durante i 10 anni della sua durata, nel 73-79% della popolazione in studio non c'è stato un significativo cambiamento dei sintomi (da 22 a 25% per la piroisi e da 25 a 22% per il rigurgito).

Uno studio norvegese,³⁴ eseguito su 23610 persone e durato 11 anni, ha evidenziato che la prevalenza di sintomi tipici almeno una volta alla settimana è passata da 11.6% a 17.1%. Inoltre questo studio ha cercato di stabilire se ci fosse una differenza di prevalenza tra uomini e donne. In effetti, secondo lo studio, vi è una differenza statisticamente significativa essendo la prevalenza di sintomi settimanali passata da 11.1 a 16.4 nelle donne e da 12.2 a 17.9 negli uomini.

Uno studio italiano³⁵ ha eseguito un follow up dopo 10 anni in pazienti con NERD, ovvero pazienti con GERD senza lesioni esofagee visibili all'endoscopia. 28 pazienti su 29 lamentavano ancora sintomi. Dei pazienti oggetto dello studio, 17 hanno subito una endoscopia durante il follow up mostrando che 16 di questi avevano sviluppato una EE.

Un recente studio svolto su 2721 europei²⁶ ha mostrato come la maggior parte dei pazienti erano stabili dopo 5 anni dal punto di vista endoscopico e sintomatologico. Tuttavia il 6% dei pazienti con NERD, il 12% dei pazienti con EE Los Angeles (vedi capitolo sulla diagnosi) A o B ed il 20% dei pazienti con EE Los Angeles C o D avevano sviluppato un esofago di Barrett. Inoltre è stato visto che la gravità della GERD era correlata con la quantità di tabacco fumato.

L'associazione tra GERD e riduzione della qualità di vita è ben nota.¹ La riduzione della qualità di vita è paragonabile ad altre malattie croniche come il diabete, l'artrite o l'insufficienza cardiaca cronica.³⁶

Secondo uno studio svedese,³⁷ pazienti che lamentavano sintomi di frequenza almeno settimanale presentavano una riduzione significativa della qualità di vita. Questo non era correlato né alla presenza né alla gravità di EE.

Uno studio statunitense³⁸ del 2007 che coinvolgeva 1003 persone con sintomi da GERD, ha dimostrato che quelle con sintomi notturni avevano anche sintomi più gravi e frequenti disturbi del sonno.

I sintomi notturni coinvolgono circa il 75% dei pazienti sintomatici³⁹ ed impattano sulla produttività lavorativa degli stessi oltre che sulla loro qualità di vita. Questo aspetto è stato indagato anche da 2 studi di popolazione statunitensi^{40, 41} che hanno dimostrato come pazienti con GERD presentavano riduzione della produttività ma anche aumentato assenteismo ed utilizzo del sistema sanitario. Quest'ultimo era l'oggetto di uno studio che coinvolgeva pazienti dagli USA e dal Regno Unito⁴² che

ha mostrato un costo totale (non solo legato alla GERD) in spese mediche superiore ai controlli. Riduzione della produttività e aumentato uso di prestazioni sanitarie sono associate a sintomi notturni e giovane età.

Si può affermare quindi che la GERD è una malattia molto comune e la sua prevalenza è in continuo aumento. Di conseguenza il suo peso in termini economici e di riduzione della qualità di vita sono destinati ad aumentare.

FISIOPATOLOGIA

In questo capitolo verrà analizzata la patogenesi della GERD. Prima, tuttavia è necessaria un'introduzione sulla fisiologia degli elementi interessati da questa patologia.

L'epitelio colonnare, presente nello stomaco ed intestino, è molto resistente al basso pH e all'attività proteolitica dell'acido gastrico e della pepsina. Al contrario, l'epitelio squamoso della mucosa esofagea viene velocemente aggredito e danneggiato se esposto a questo ambiente chimico.⁴³ La mucosa esofagea è separata dalla mucosa cilindrica acido-secernente da uno strato di mucosa cilindrica non acido-secernente. Nonostante questo strato "tampone", la distanza tra la mucosa esofagea e la mucosa gastrica acido-secernente è di pochi millimetri.⁴⁴ L'epitelio squamoso, esposto cronicamente all'acido, può subire una metaplasia cilindrica ovvero una trasformazione in un tipo colonnare normalmente più resistente agli agenti dannosi. Questa metaplasia della mucosa esofagea prende il nome di esofago di Barrett ed è una delle possibili complicanze della GERD.

La giunzione gastroesofagea ha la funzione di impedire all'acido secreto dalla mucosa gastrica di refluire nell'esofago.

Questa giunzione è costituita da 3 componenti principali:

- Sfintere esofageo inferiore (LES): è un segmento di 3-4 cm di muscolo liscio tonicamente contratto e si trova all'estremità distale dell'esofago.

Normalmente sviluppa una pressione intraluminale a riposo (RP dall'acronimo inglese di Resting Pressure) tra i 10 e i 35 mm Hg. Questa pressione varia durante la giornata ed in base ai pasti ed alle attività svolte. Infatti essa è più bassa dopo i pasti e più alta durante la notte. Durante l'inspirazione la pressione toracica si abbassa e si crea un gradiente di pressione tra stomaco ed esofago. Questo gradiente aumenta anche ogni volta che aumenta la pressione intra-addominale come durante sforzi o colpi di tosse.⁴⁵ Il LES prende anche il nome di “sfintere intrinseco” in quanto facente parte dell’esofago.

- Crura diaframmatica: l’apertura diaframmatica attraverso cui l’esofago ed i nervi vaghi passano in cavità addominale è chiamata “iato esofageo”. La corretta posizione della giunzione gastroesofagea nello iato esofageo è mantenuta dal legamento freno-esofageo.^{43, 44} Intorno allo iato troviamo due nastri muscolari, i pilastri diaframmatici, ovvero la crura diaframmatica. Essi esercitano un’azione compressiva sul LES, partecipando alla barriera anti-reflusso. Lo sfintere dato dalla crura, non facendo anatomicamente parte dell’esofago, prende il nome di “sfintere estrinseco”.

- Valvola di Von Gubaroff: l’inserimento dell’esofago nel fondo gastrico determina l’angolo di His ed un lembo mucoso che prende il nome di “valvola di Von Gubaroff”. Anche se non si tratta di una vera e propria valvola, essa partecipa alla barriera anti-reflusso.⁴⁶

Il LES deve impedire il reflusso di materiale gastrico ma allo stesso tempo deve permettere l'uscita dell'aria accumulatasi nello stomaco. Questa è una delle funzioni più complesse di questo sfintere ed il suo adempimento avviene con i temporanei rilassamenti del LES (tLESRs dall'acronimo inglese di transient Lower Esophageal Sphincter Relaxations).³² I tLESRs sono mediati da un riflesso vagale scatenato dalla distensione gastrica. Questi rilassamenti sono differenti da quelli che si hanno durante le deglutizioni. Infatti i tLESRs non si accompagnano né a contrazione faringea né a peristalsi esofagea e hanno una più lunga durata (più di 10 secondi).⁴⁷ Inoltre durante i tLESRs non coinvolgono solo il LES, ma vi è anche inibizione della crura diaframmatica e contrazione del muscolo longitudinale dell'esofago con conseguente accorciamento dell'esofago stesso. Gli altri casi in cui il LES si rilassa sono durante la deglutizione e durante peristalsi secondaria.⁴⁸

La peristalsi secondaria è stimolata dalla presenza di materiale refluito in esofago. La sua funzione è di rimandare il materiale gastrico nello stomaco.⁴⁵ Questo meccanismo funziona anche durante il sonno, quando la deglutizione è relativamente soppressa.^{49,}

⁵⁰ La saliva è lievemente alcalina (pH 7,8-8,0) e, quando deglutita, aiuta a neutralizzare l'acidità del materiale refluito.⁵¹ Inoltre nella sottomucosa dell'esofago stesso sono presenti ghiandole che secernono bicarbonato come ulteriore meccanismo protettivo verso l'acido.⁵²

L'integrità della mucosa esofagea in individui sani è il risultato dell'equilibrio tra elementi dannosi ed elementi protettivi.

Vista la complessa fisiologia della giunzione gastroesofagea, non sorprende che possa mostrare vari gradi di disfunzione.

Disfunzione della giunzione gastroesofagea:

I tLESRs sono il più comune meccanismo di reflusso. Infatti, in individui con normale pressione del LES, si associano a praticamente tutti i reflussi.^{32, 45, 53}

La frequenza dei tLESRs è aumentata dalla distensione gastrica e dalla posizione ortostatica.⁵⁴ Questi rilassamenti sono dovuti ad un riflesso vagale scatenato dalla distensione gastrica che permette la riduzione della pressione intragastrica attraverso la liberazione dei gas accumulati. È interessante notare che la frequenza di tLESRs è simile in pazienti con e senza GERD.⁵⁵ Questo significa che la causa della GERD non è tanto la frequenza dei tLESRs quanto la aumentata proporzione di tLESRs associati a reflusso rispetto a quelli rilascianti gas e quindi fisiologici. Una possibile ragione per l'aumento del numero di rilassamenti associati a reflusso è l'indebolimento o la dilatazione dello iato esofageo.⁵⁶ Questo comporta un'aumentata compliance della giunzione gastroesofagea che a sua volta comporta un aumentato volume del reflusso ed una ridotta capacità di limitare il reflusso al solo gas.

Il LES può essere ipototonico ovvero sviluppare una pressione più bassa del normale. Si definisce ipototonico se la pressione a riposo (RP) del LES è inferiore a 10 mmHg. La pressione a riposo viene calcolata durante una manometria (vedi capitolo sulla diagnosi) ed è la pressione media in un periodo

di 30 secondi in cui il paziente deve respirare superficialmente e non deglutire. Solo una minoranza di pazienti con GERD presenta un LES ipotonico. Va ricordato che esistono molti fattori che possono ridurre la pressione del LES come distensione gastrica, colecistochinina, cibi grassi, cioccolata, caffeina, alcol, fumo e molti farmaci.

Quasi tutti i pazienti con GERD grave e molti di quelli con GERD più lieve, hanno una ernia iatale. Si tratta quindi di un'altra causa comune di indebolimento della zona ad alta pressione della giunzione gastroesofagea. L'ernia iatale consiste nel passaggio di parte dello stomaco attraverso lo iato esofageo. In questo modo lo sfintere intrinseco si viene a trovare sopra lo iato formato dalla crura diaframmatica.⁵⁷

Si pensa che a causare l'ernia sia un indebolimento o rottura del legamento frenoesofageo, il quale collega la giunzione gastroesofagea con la crura. È stato dimostrato che con il tempo il legamento perde fibre elastiche, le quali vengono sostituite da tessuto adiposo.⁵⁸ Inoltre è possibile che il legamento possa essere danneggiato acutamente da stress meccanici quali aumento della pressione intra-addominale ed una elevata differenza di pressione tra stomaco ed esofago. Un'altra causa di ernia potrebbe essere l'acido stesso. Infatti il reflusso di acido causa una contrazione del muscolo longitudinale dell'esofago, provocando un accorciamento dello stesso e quindi una trazione sulla giunzione gastroesofagea verso il torace.^{59, 60} Tuttavia sembra improbabile che

questo sia la causa primaria della formazione dell'ernia iatale visto che richiederebbe una grande quantità di reflusso acido il quale solitamente avviene solo dopo che si è formata l'ernia.

Una volta instaurata, l'ernia causa GERD attraverso vari meccanismi:^{56, 61-63}

- intrappolamento di acido nella sacca erniaria (acid pocket),
- perdita della valvola di Von Gubaroff,
- aumento del diametro dello iato esofageo permettendo un aumentato reflusso,
- riduzione della pressione sfinteriale che permette il reflusso da sforzo,
- possibile aumentata frequenza di tLESRs associati a reflusso acido,
- allungamento della clearance esofagea.

L'ernia può essere diagnosticata con l'endoscopia, radiografia con bario o con manometria ad alta risoluzione. Con quest'ultima tecnica si osservano due picchi di pressione a livello della zona ad alta pressione nella giunzione gastroesofagea: uno dovuto allo sfintere intrinseco ed uno alla crura diaframmatica.⁶⁴ Con le attuali tecniche, è possibile diagnosticare solo le ernie di almeno 2 cm. Tuttavia potrebbero esistere delle ernie parziali o intermittenti, non rilevabili con le attuali tecniche, che spiegherebbero la GERD della porzione di pazienti senza ernia documentata. A favore di questa ipotesi è stata dimostrata un'associazione tra la perdita della valvola di Von Gubaroff ed il reflusso anche in assenza di una apparente ernia iatale.^{65, 66} La perdita della

valvola inoltre ha caratteristiche simili all'ernia iatale come ridotta pressione sfinteriale, sintomi prevalentemente notturni e ridotta clearance esofagea. La perdita completa della valvola di Von Gubaroff avviene insieme alla formazione dell'ernia iatale ed una perdita parziale potrebbe essere indicativa di un'ernia iniziale o parziale.

Disfunzione della motilità esofagea:

La rimozione dell'acido gastrico dall'esofago avviene grazie alla peristalsi esofagea (primaria e secondaria) ed all'effetto tampone della saliva.⁶⁷ Il periodo di tempo in cui, a seguito di un reflusso, il pH rimane sotto 4 è chiamato "clearance esofagea chimica". Come visto precedentemente, la saliva ha un potere tamponante verso l'acido grazie ai bicarbonati in essa contenuti. Infatti 7 ml di saliva neutralizzeranno approssimativamente 1 ml di HCl 0.1 normale. La normale salivazione è di 0.5 ml al minuto ma è aumentata durante manovre come il consumo di gomme da masticare. La salivazione è ridotta durante il sonno e questo contribuisce alla gravità dei sintomi notturni riscontrati da molti pazienti.

Una prolungata clearance esofagea avviene in circa la metà dei pazienti con esofagite. È stato trattato precedentemente come l'ernia iatale possa causare un allungamento della clearance ed infatti ne rappresenta la causa più frequente. Tuttavia un'altra causa di prolungata clearance è la disfunzione della motilità esofagea. Sia una peristalsi a bassa pressione (<30 mmHg) che una peristalsi

assente risultano in una incompleta e ritardata rimozione del materiale gastrico dalla mucosa esofagea. La relazione tra disfunzione della motilità esofagea ed esofagite è stata confermata da vari studi.⁶⁸⁻⁷⁰

Ridotto svuotamento gastrico:

Lo svuotamento gastrico è rallentato in pazienti con GERD, specialmente quello dello stomaco prossimale nel periodo post-prandiale. Tuttavia non è stata trovata una associazione tra questo e un aumento del reflusso, suggerendo che il ridotto svuotamento gastrico non sia un evento determinante nello sviluppo di GERD.^{71,72}

Secrezione acida gastrica:

L'acido è la componente più aggressiva del succo gastrico anche se non è l'unico componente del reflusso gastroesofageo. Infatti anche la bile può provocare lesioni ed evocare sintomi.

L'acido, oltre a danneggiare direttamente il tessuto, crea un ambiente adatto all'attivazione della pepsina. La secrezione acida ha una notevole variabilità da persona a persona ed è stato dimostrato come la capacità secretoria individuale è un fattore che partecipa a determinare la quantità del refluito.⁷³ L'importanza dell'acido è provata dall'efficacia della terapia acido-soppressiva e dall'associazione tra la guarigione dell'esofagite ed il controllo del pH gastrico.

Esiste un'associazione negativa tra infezione da *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) e GERD. Inoltre l'infezione si correla negativamente anche con la gravità della GERD e le sue complicanze. Questo effetto può essere spiegato dall'interazione con la secrezione acida gastrica. Questa infatti si riduce di pari passo con la progressione della gastrite atrofica causata da *H. pylori*. Infatti in popolazioni infette la secrezione acida si riduce con gli anni fino a valori del 50% in meno tra i 20 e i 50 anni.⁷⁴ Invece in popolazioni sane la secrezione rimane stabile negli anni, o addirittura aumenta. Uno studio coreano del 2007⁷⁵ ha reso noto che vi è anche una correlazione con il tipo di gastrite atrofica causata dall'infezione di *H. pylori*. Infatti la gastrite che interessa la regione vicina alla giunzione gastroesofagea mostra un'associazione negativa più stretta con la GERD rispetto alle gastriti che non coinvolgono questa regione. Questo suggerisce che la produzione acida locale potrebbe essere importante.

Paesi dell'Asia orientale come il Giappone hanno una prevalenza di infezioni da *H. pylori* superiore a quella dei paesi occidentali. Questo potrebbe essere una spiegazione per la ridotta incidenza di malattia da reflusso in questi paesi orientali.

Aumentata pressione intragastrica:

Il meccanismo alla base della genesi di un evento di reflusso è da ricercare nella presenza di una pressione aumentata a livello dello stomaco prossimale rispetto a quella nell'esofago. Questo gradiente di pressione aumenta durante

attività che aumentano la pressione intra-addominale come sforzi e colpi di tosse. Inoltre è aumentato in gravidanza ed in condizioni di sovrappeso. Infatti l'obesità è associata ad un aumentato rischio di sintomi da reflusso, esofagite ed esofago di Barrett.⁷⁶⁻⁷⁹

Sacca acida:

Il cibo solitamente svolge un'azione tamponante sull'acidità gastrica riducendo quindi l'acidità nella fase post-prandiale. Tuttavia, grazie alla pH-metria ad alta risoluzione (prototipo non commercializzato di pH-metro a 36 sensori di pH), è stato visto che il reflusso acido è spesso più pronunciato dopo i pasti. Questo è spiegabile dalla formazione della sacca acida ovvero uno strato di materiale gastrico non tamponato che galleggia al di sopra del pasto, vicino alla giunzione squamo-cilindrica.⁸⁰⁻⁸² L'ernia iatale aumenta la sacca acida e peggiora i sintomi dovuti ad essa. Questo probabilmente perché la mucosa all'interno dell'ernia secerne acido ma questo non è tamponato dal cibo, il quale risiede nel lume principale dello stomaco.

Reflusso intrasfinterico:

Il reflusso gastroesofageo è convenzionalmente confermato dalla pH-metria con un sensore posto a 5 cm prossimalmente al margine superiore del LES. Il sensore non viene posto più distalmente per le possibili interazioni con la mucosa gastrica acido-secerne che potrebbero falsare i risultati dell'esame. Tuttavia questo significa che vengono rilevati solo i reflussi che passano

completamente il LES, ovvero i reflussi trans-sfinterici. Studi fatti ponendo il sensore più in prossimità della giunzione gastroesofagea hanno dimostrato che vi è una quantità di reflusso superiore rispetto a 5 cm prossimalmente al LES con conseguente incremento di alterazioni: infiammazione, metaplasia intestinale, esofago di Barrett ultra-corto ed una esposizione all'acido più marcata a cui ci si riferisce col nome di "reflusso a segmento corto".⁸³ Tra le alterazioni riscontrate vi sono un aumento della lunghezza della mucosa gastrica non-acido secernente, lo spostamento in senso prossimale della giunzione squamo-colonnare e lo spostamento in senso prossimale del punto di passaggio tra pH esofageo e pH gastrico. Queste tre alterazioni suggeriscono un'aumentata esposizione all'acido ed è stato visto che si associano ad un'aumentata pressione intra-addominale (obesità, indossare cinture strette, ecc)^{84, 85} ed all'età. Le alterazioni da reflusso intrasfinterico avvengono in pazienti asintomatici ma è ipotizzabile che possano evolvere e quindi la loro diagnosi potrebbe essere clinicamente importante.

Percezione dei sintomi:

Una delle particolarità della GERD è che alcuni pazienti sono completamente asintomatici nonostante danni gravi all'esofago mentre altri lamentano gravi sintomi nonostante l'assenza di danni macroscopicamente rilevabili. Quindi un elemento importante nella comprensione della malattia è il meccanismo di percezione dei sintomi. La gravità del reflusso stabilita con pH-

impedenziometria nelle 24 ore è proporzionale al danno della mucosa esofagea.^{86, 87} Invece i sintomi non seguono questo andamento ma al contrario sembrano essere inversamente proporzionali all'esposizione acida.

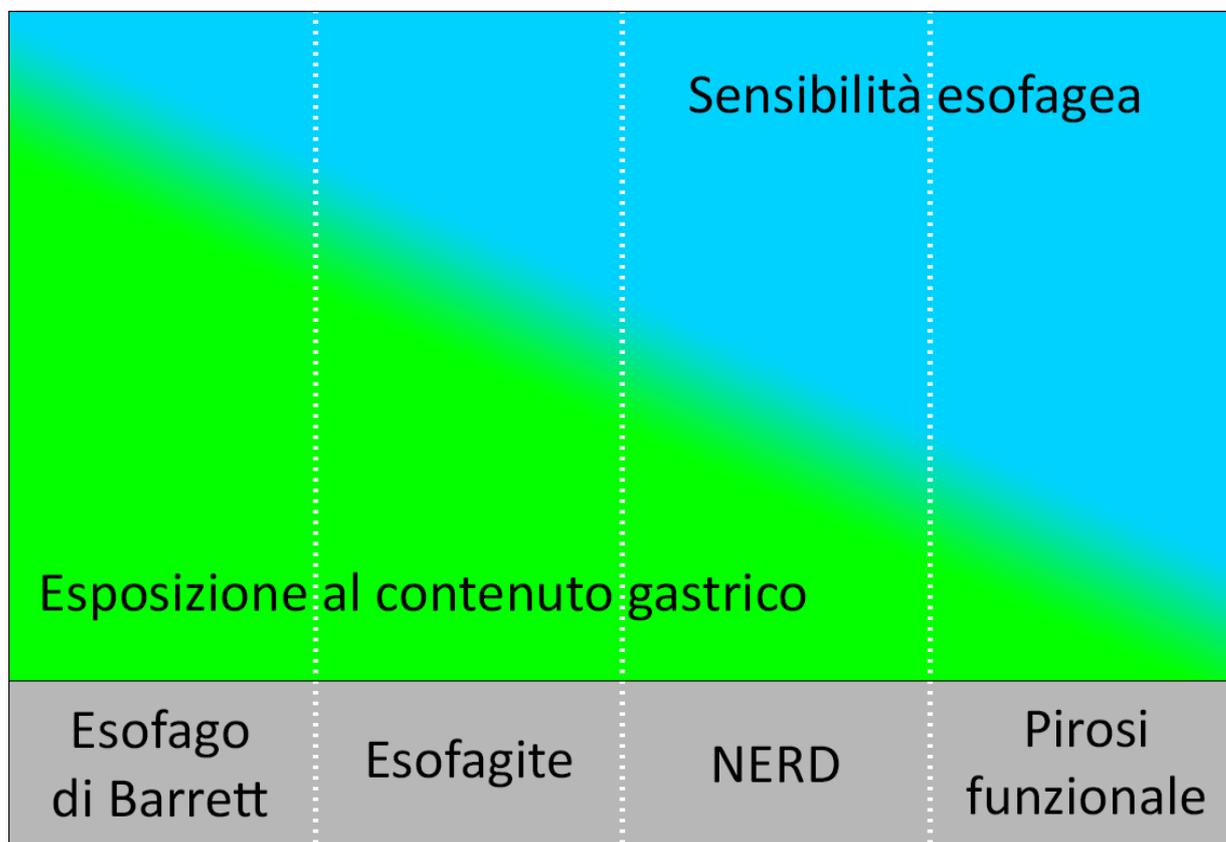


Fig. 1. Rappresentazione della combinazione di sensibilità esofagea ed esposizione al contenuto gastrico nella genesi dei sintomi nei diversi sottotipi di malattia da reflusso. NERD, non-erosive reflux disease (malattia da reflusso non erosiva).

Quindi esiste una diversa sensibilità dell'esofago agli stimoli intraluminali nei pazienti con GERD. Bernstein e Baker furono i primi nel 1958 a descrivere un'aumentata sensibilità all'acido in pazienti con esofagite rispetto ai volontari sani.⁸⁸ Da allora molti studi hanno dimostrato che l'infusione di acido è

percepita più rapidamente ed intensamente da pazienti con GERD rispetto ai controlli sani. Questo indipendentemente dalla presenza di erosioni esofagee.⁸⁹⁻

⁹¹ Inoltre i pazienti con NERD sembrano essere più sensibili all'acido rispetto a quelli con esofagite^{92, 93} e persino ipersensibili ad infusione di soluzione salina.⁹⁴ In contrasto con questa ipersensibilità dei pazienti con NERD, pazienti con grave esposizione all'acido e conseguente esofago di Barrett (metaplasia cilindrica della mucosa esofagea) spesso sono paucisintomatici o addirittura asintomatici.⁹⁵

L'esofago è anche capace di percepire stimoli meccanici come ad esempio la distensione. Un reflusso voluminoso potrebbe distendere l'esofago, attivando i meccanocettori e quindi causando i classici sintomi da GERD ovvero pirosi e dolore a prescindere dalla composizione del refluito. Uno studio ha sottoposto i pazienti a distensione dell'esofago con un palloncino ed ha dimostrato che i pazienti con GERD hanno effettivamente una aumentata sensibilità a stimoli meccanici.⁹⁶

Il meccanismo che sta dietro all'ipersensibilità non è chiaro ma una delle ipotesi è che l'acido danneggi le terminazioni nervose periferiche esofagee rendendole più sensibili.⁹⁷

Ipersensibilità esofagea:

i pazienti con ipersensibilità esofagea riferiscono sintomi da reflusso anche quando il pH nell'esofago rimane nella norma. Questo è indicativo di una

soglia del dolore da acido più bassa rispetto ai controlli normali ⁹⁸ e quindi una ipersensibilità all'acido. ⁹⁶

I fattori che contribuiscono a questa aumentata sensibilità sono perdita della funzione di barriera della mucosa, upregulation dei nocicettori e sensibilizzazione centrale. ⁹⁹⁻¹⁰²

FATTORI DI RISCHIO E DI PROTEZIONE

Obesità:

È considerata uno dei maggior fattori di rischio per lo sviluppo di GERD. Questo è particolarmente vero per l'obesità di tipo centrale la quale si associa anche a complicanze come l'esofago di Barrett e l'adenocarcinoma esofageo.¹⁰³

L'obesità aumenta il rischio di sintomi da reflusso attraverso due meccanismi principali.

Il primo è di tipo pressorio. Infatti i pazienti obesi presentano un'aumentata pressione intra-addominale. Oltre a questa vi è un aumento della pressione intra-esofagea. Tuttavia questa aumenta meno della pressione intra-addominale quindi il gradiente pressorio gastroesofageo è aumentato.⁷⁷ Questo porta ad un aumento del materiale refluito durante i periodi di rilasciamento del LES.

Inoltre, per l'aumentata pressione intra-addominale, la giunzione gastroesofagea tenderà ad essere spinta prossimalmente verso la cavità toracica, predisponendo all'ernia iatale. L'aumentata incidenza di ernia iatale è il secondo meccanismo attraverso cui l'obesità aumenta il rischio di sintomi da GERD. Infatti è stata dimostrata un'associazione tra obesità centrale ed ernia iatale,¹⁰⁴ la cui importanza è stata analizzata nel capitolo della patogenesi della GERD.

Quindi l'obesità aumenta il rischio di sviluppare un'ernia iatale, e questa è associata a sintomi da reflusso. Purtroppo però la perdita di peso non risolve l'ernia iatale⁷⁶ e quindi i sintomi ad essa associata.¹⁰⁵

Si può dunque concludere che vi è un'associazione diretta tra indice di massa corporea (BMI) e sintomi da reflusso.

Attività fisica:

Nonostante sia stata stabilita l'associazione tra riduzione del peso e riduzione dei sintomi, i risultati degli studi sull'associazione tra sintomi ed attività fisica sono contrastanti. Infatti mentre alcuni studi mostrano un effetto benefico sui sintomi,^{106, 107} altri autori sostengono che l'esercizio fisico possa provarli aumentando i tLESR.¹⁰⁸

Gravidanza:

Comporta uno spostamento degli organi della donna oltre ad un aumento della pressione intra-addominale. Quindi comporta un aumentato rischio di GERD, con un meccanismo simile a quello visto per l'obesità.

Anche gli estrogeni contribuiscono al manifestarsi o aggravarsi dei sintomi. Questo è confermato da studi fatti anche su donne in menopausa in terapia ormonale sostitutiva.¹⁰⁹ Sembra infatti che gli estrogeni diminuiscano il tono del LES, facilitando il reflusso.

Cibi e bevande:

Alcuni cibi influenzano il rilassamento del LES, incrementando il rischio di reflusso. Si ipotizza che cibi grassi e cioccolata indeboliscano il LES. Al contrario le proteine ne aumenterebbero il tono.^{110, 111} Tuttavia non è stato provato che questi abbiano un effetto clinicamente rilevante.¹¹² Infatti gli effetti visti in alcuni studi potrebbero essere attribuibili a fattori psicologici. Nonostante ciò le modifiche della dieta comunemente continuano ad essere parte della terapia d'attacco della GERD.

Soggetti con GERD lamentano sensibilità a bevande acide, come il succo d'arancia, e cibi acidi, come il pomodoro. I dati sugli effetti dell'alcol e del caffè sono contrastanti. Grandi pasti potrebbero distendere lo stomaco aumentando la pressione intragastrica e facilitando quindi il reflusso gastroesofageo. Anche l'ingestione rapida di cibo potrebbe peggiorare i sintomi da reflusso.¹¹³

Il consumo di sale sembra essere associato a sintomi da reflusso come anche il consumo di carne e pesce.¹⁰⁷

Uno studio tedesco svolto su 7124 soggetti,¹⁰⁵ ha reso noto come anche il consumo di caramelle o pane bianco almeno una volta al giorno sia associato a sintomi da reflusso in maniera statisticamente significativa. Lo stesso studio ha trovato un'associazione significativa anche con il consumo di bevande ad alta gradazione alcolica ma non con il consumo di vino e birra o bevande

analcoliche come caffè e tè. Al contrario, il consumo di frutta, verdura e fibre era associata ad un miglioramento dei sintomi.

Consumo di tabacco:

Molti studi sono stati pubblicati riguardo all'associazione tra fumo di tabacco e sintomi da reflusso ma gli autori non sono sempre in accordo.^{106-108, 114} Sembra tuttavia che il fumo di sigaretta riduca il tono del LES e quindi la pressione da esso sviluppato. Questo effetto sembra si abbia sia acutamente che cronicamente.¹¹⁵ I pazienti fumatori, oltre a presentare una pressione a livello del LES inferiore rispetto ai controlli, sembrano presentare tLESR con maggior frequenza.

Questi effetti del tabacco sul reflusso sembrano essere validi anche per gli ex-fumatori. Di conseguenza smettere di fumare non sembra associato ad un miglioramento dei sintomi rilevante. Nonostante la mancanza di conferme statistiche, consigliare al paziente di smettere di fumare è una pratica comune in ambito clinico come parte della iniziale terapia per la GERD.

Bisogna inoltre notare che il tabacco da fiuto, largamente utilizzato nei paesi scandinavi, parte degli USA ed in India, non è associato a sintomi da reflusso.¹¹⁶ La probabile spiegazione di questo è che il tabacco da fiuto è alcalino.

Attività lavorativa e differenti professioni:

Secondo i dati di uno studio ungherese del 2009,¹¹⁷ alcuni professionisti sono a maggior rischio di GERD. Tra questi troviamo i coristi, i suonatori di strumenti a fiato ed i soffiatori di vetro. Questo potrebbe trovare una spiegazione nell'aumento di pressione intra-addominale che queste persone attuano durante lo svolgimento della loro professione.

Ruolo dei farmaci:

I calcio-antagonisti vengono usati nella terapia del dolore anginoso cardiaco e dell'ipertensione arteriosa. Vengono anche usati per alleviare il dolore correlato ad ipermotilità esofagea.¹¹⁸

Nel 2007 è stato fatto uno studio su 371 pazienti in terapia con calcio-antagonisti per valutare i loro effetti sul reflusso gastroesofageo.¹¹⁹ Dei 130 pazienti con preesistenti sintomi da reflusso, il 45.4% hanno riportato un peggioramento dei sintomi durante la terapia con calcio antagonisti. Questo era più comune nei pazienti in terapia con amlodipina (61.3%) e meno comune in quelli che usavano diltiazem (12.5%). Nei 241 pazienti inizialmente asintomatici, il 35.3% ha sviluppato sintomi da reflusso durante la terapia. In questo caso il verapamil era il farmaco più frequentemente associato all'insorgenza di nuovi sintomi (39.1%) mentre quello meno correlato era il diltiazem (30.7%). Quindi quest'ultimo calcio antagonista sembra essere il

meno associato con il peggioramento di sintomi già esistenti e lo sviluppo di nuovi.

Anche altri farmaci miorilassanti sembrano essere associati al peggioramento dei sintomi da reflusso.¹²⁰ Tuttavia ulteriori studi sono necessari sull'argomento.

DIAGNOSI

La diagnosi di GERD sarebbe di per se clinicamente molto semplice. La presenza di pirosi e rigurgito sarebbero, ad una prima analisi, sufficienti per l'inquadramento della malattia e l'impostazione di una terapia. La necessità di utilizzare esami invasivi in genere dipende dall'età del paziente, dalla durata della malattia e dall'eventuale presenza di sintomi allarmanti.

A seguire sono descritte tutte le differenti metodiche per la diagnosi di GERD, partendo dalla terapia ex-adjuvantibus fino agli esami fisiopatologici più raffinati.

Test con inibitori di pompa protonica (PPI):

I PPI riducono l'acidità gastrica e possono essere somministrati ai pazienti per valutare se si ha un miglioramento dei sintomi maggiore del 50% (PPI-test positivo). Tuttavia questo test può risultare positivo anche in altre patologie acido-correlate come ulcera peptica e dispepsia funzionale. Inoltre è stato visto che c'è un importante effetto placebo. Di conseguenza la specificità di questo test è bassa (24-65%) e non è statisticamente più alta del placebo (38-41%). Nonostante ciò, i PPI hanno pochi effetti avversi ed incontrano una buona compliance dei pazienti quindi il test con PPI è ritenuto utile dato che una risposta positiva in pazienti senza sintomi allarmanti rende non necessari ulteriori approfondimenti diagnostici.

Esofago-gastro-duodenoscopia (EGDS):

L'endoscopia è una procedura diagnostica con alta specificità ma bassa sensibilità per GERD. Ha indicazione in pazienti con sintomi allarmanti come disfagia, ematemesi e perdita di peso poiché potrebbero essere associati alla presenza di complicanze della GERD o di altre malattie (esofagite eosinofila, infezioni, lesioni ulcerative, rotture di esofago, ecc). Invece è oggetto di discussione sia il timing che l'eventuale follow-up endoscopico in pazienti con GERD ma senza sintomi gravi.¹²¹ Questo perché la maggior parte dei pazienti con GERD non presenta soluzioni di continuo della mucosa.

L'esofagite classificata da un punto di vista endoscopico²² con la classificazione della malattia erosiva secondo Savary-Miller:

- Grado 1: erosioni singole o multiple che interessano una singola plica.

Le erosioni possono essere essudative o eritematose.

- Grado 2: erosioni multiple che coinvolgono molteplici pliche. Le erosioni possono essere confluenti.

- Grado 3: erosioni circonfenziali multiple

- Grado 4: ulcera, stenosi esofagea o accorciamento esofageo.

- Grado 5: esofago di Barrett. Metaplasia cilindrica.

Questa classificazione è stata recentemente superata dalla più recente classificazione di Los Angeles, la quale è focalizzata completamente sull'esofagite

erosiva e non considera la presenza di complicanze, le quali vengono descritte separatamente. I dati ottenuti dal momento della validazione indicano una concordanza inter-operatore molto più alta rispetto alla precedente classificazione.

La classificazione di Los Angeles descrive 4 gradi di malattia:

- Grado A: una o più soluzioni di continuo della mucosa (ulcere o erosioni) non più lunghe di 5 mm, senza continuità tra le pliche.
- Grado B: una o più soluzioni di continuo della mucosa più lunghe di 5 mm ma senza continuità tra le pliche.
- Grado C: soluzioni di continuo della mucosa con continuità tra due o più pliche ma che coinvolgono meno del 75% della circonferenza della mucosa.
- Grado D: soluzioni di continuo della mucosa che coinvolge più del 75% della circonferenza della mucosa.

L'EGDS permette anche la raccolta di campioni bioptici.

Biopsia della mucosa esofagea:

La microscopia ottica di una biopsia della mucosa esofagea in pazienti con GERD può mostrare iperplasia delle cellule dello strato basale, spazi intercellulari dilatati e papille allungate. Si possono trovare anche cellule infiammatorie tra le quali granulociti eosinofili. Bisogna puntualizzare che più di 15 eosinofili per campo a forte ingrandimento (HPF dall'acronimo inglese di High Power Field) sono più indicativi di esofagite eosinofila che di GERD.

Dato che l'analisi istologica è molto operatore-dipendente e che sensibilità e specificità sono basse, la sua utilità è limitata ai casi in cui sono sospettate anche altre cause di esofagite oltre alla GERD.

pH-metria ambulatoriale nelle 24 ore:

La pH-metria convenzionale permette di rilevare l'acidità a livello esofageo grazie ad un sensore posizionato su un catetere, il quale è a sua volta connesso ad un registratore esterno. Il catetere viene inserito per via trans-nasale e posizionato in modo che il sensore si trovi a circa 5 cm dal margine superiore del LES. Questa posizione è scelta per prevenire artefatti dovuti alla vicinanza con la mucosa gastrica. Il sensore registra l'andamento del pH ed ogni caduta sotto 4 è interpretata come reflusso. Il paziente segnala, su un diario o attraverso apposite funzioni dell'apparecchio di registrazione, quando ha sintomi, quando pasteggia e quando è sdraiato. Solitamente la registrazione viene fatta per 24 ore. Successivamente si passa ad analizzare il tracciato per constatare se vi è o meno una associazione temporale tra i sintomi che il paziente riferisce e l'eventuale reflusso registrato dall'apparecchio.

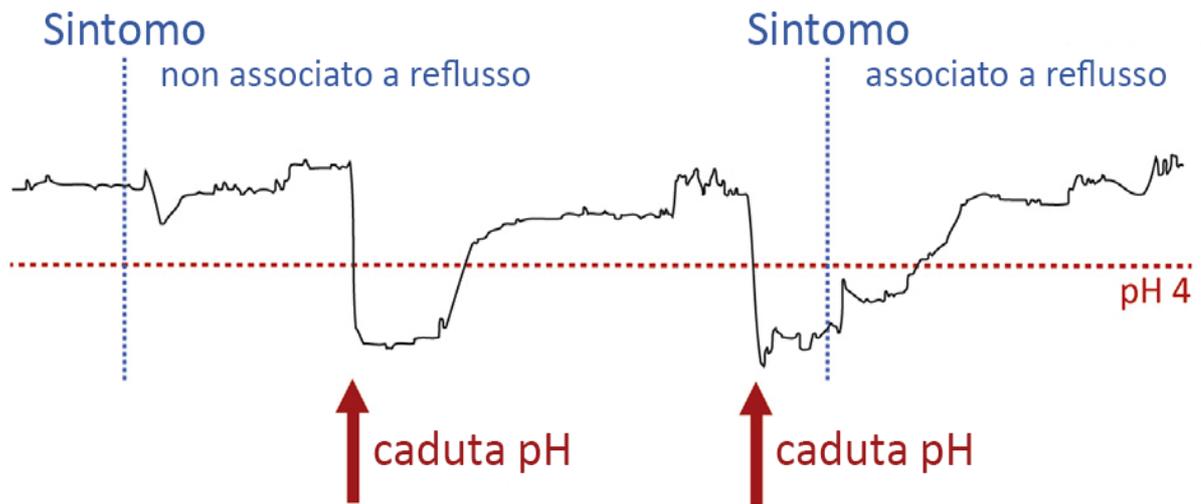


Fig. 2. Tratto di registrazione pH-metrica che dimostra la associazione tra reflussi acidi e sintomi. Il primo sintomo precede la tipica caduta del pH e quindi non è correlato all'evento di reflusso. Il secondo sintomo, invece, si manifesta subito dopo la caduta del pH ed è quindi correlato all'episodio di reflusso.

Esistono anche sensori da fissare alla mucosa esofagea e connessi all'apparecchio esterno senza fili. Questa tecnologia prende il nome di ph-metria wireless (BRAVO). Il costo di questa tecnica è molto più elevato, tuttavia il grande vantaggio di questo dispositivo, oltre alla comodità per il paziente, è la possibilità di eseguire l'esame non più sulle sole 24 ore ma potendone aumentare la durata fino a 96 ore. Questo permette di ridurre uno dei limiti degli esami fisiopatologici che è la variabilità giornaliera (day-to-day variability), di calcolare la media dei reflussi (acidi) su tutti i giorni ed di calcolare il giorno peggiore. Il numero di diagnosi di GERD con il BRAVO è risultato superiore a quello con pH-metria standard nelle 24 ore.

I farmaci che interferiscono con l'acidità gastrica devono essere sospesi almeno 5 giorni prima della registrazione altrimenti i risultati potrebbero essere falsati.

Infatti possono esserci reflussi non acidi ($\text{pH}>4$) e quindi non interpretati come reflussi durante l'analisi del tracciato. I pazienti possono lamentare sintomi anche durante un reflusso non acido e per questo motivo è importante sospendere la terapia acido-soppressiva al fine di poter distinguere anche questo tipo di reflusso.

Impedenziometria:

Si tratta di una tecnica relativamente recente che ha rivoluzionato lo studio della GERD e non solo.^{122, 123}

La impedenziometria sfrutta dei sensori, distribuiti su un catetere, che misurano l'impedenza elettrica all'interno dell'esofago. Questa diminuisce con il passaggio di liquido ed aumenta con il passaggio di aria. Il catetere, inserito per via trans-nasale e connesso con un apparecchio esterno, permette di registrare l'eventuale passaggio di aria o liquido e la sua direzione (es. reflusso o deglutizione).

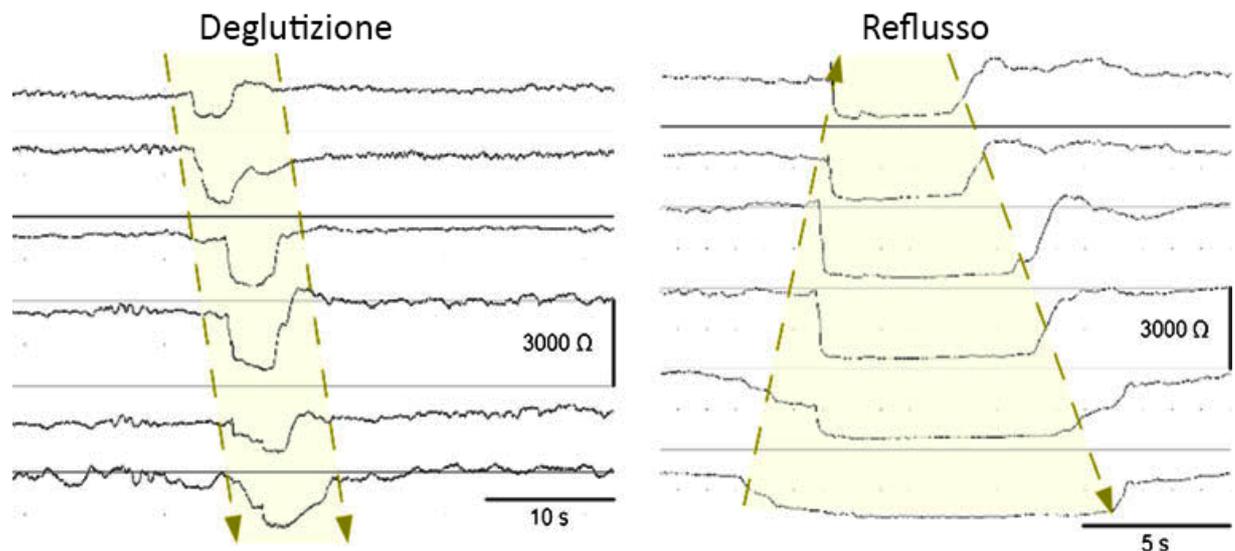


Fig. 3. Tratto di registrazione impedenziometrica che evidenzia la differenza tra una deglutizione ed un reflusso. Nel primo si può osservare una temporanea caduta dell'impedenza dall'alto verso il basso data dal passaggio di liquido. Durante il reflusso invece possiamo osservare che l'impedenza ha una caduta dal basso verso l'alto per poi ristabilirsi dall'alto verso il basso man mano che il materiale refluito ritorna nello stomaco.

Quindi l'impedenziometria permette la rilevazione di reflusso, a prescindere dal suo pH. Inoltre permette di discernere il reflusso di liquido da quello di gas e la distribuzione del reflusso nell'esofago.

pH-impedenziometria multicanale (MII-pH):

Questa tecnica diagnostica è il risultato della combinazione della pH-metria e della impedenziometria. Si tratta della tecnica di scelta per lo studio del reflusso in quanto ci permette di sapere se vi è reflusso, qual è il suo pH e se vi è associazione con i sintomi. Anche in questo caso, solitamente si analizza la pH-impedenziometria nelle 24 ore. In questo modo è possibile fare una

distinzione tra reflusso acido ($\text{pH}<4$), debolmente acido (pH compreso tra 4 e 7) e alcalino ($\text{pH}>7$).¹²⁴ Nonostante questo permetta l'identificazione di reflussi non acidi, al contrario della sola pH-metria, è consigliabile sospendere la terapia acido-soppressiva se non è ancora stata fatta una diagnosi di GERD. Se invece si punta a capire perché il paziente con GERD non risponde alla terapia, è consigliabile non interrompere la terapia prescritta.

I pazienti che mostrano un'associazione tra sintomi e reflussi non-acidi vengono classificati come “esofago ipersensibile” (HE). Questi pazienti vengono considerati affetti da GERD e beneficiano della relativa terapia praticamente allo stesso modo.

Come già accennato, esistono anche pazienti che non mostrano una associazione tra sintomi e reflussi registrati con la MII-pH. Questa condizione non rientra per definizione nella GERD ed è classificata come pirosi funzionale (FH) secondo i criteri di Roma III per i disturbi funzionali dell'esofago.⁶

Manometria esofagea:

Sfrutta dei sensori che registrano la pressione all'interno dell'ipofaringe, esofago e stomaco prossimale. Come per le tecniche descritte precedentemente, i sensori sono distribuiti su di un catetere inserito per via trans nasale. È una tecnica utile per identificare disfunzioni della motilità ma di conseguenza non ha un'alta specificità. La principale indicazione è l'esclusione di patologie come l'acalasia e la peristalsi assente, prima di un intervento chirurgico anti-reflusso.

Infatti alcune patologie possono dare sintomi simili alla GERD (pirosi e rigurgito) e quindi essere erroneamente diagnosticate come tale.

Recentemente una nuova tecnica, la manometria ad alta risoluzione (HRM dall'acronimo inglese di High Resolution Manometry), ha permesso uno studio ancora più dettagliato della motilità rendendo questa tecnica ancora utile in questo campo.

Radiografia con mezzo di contrasto:

Al paziente viene fatto ingerire un liquido denso contenente bario (pasto baritato). Questo si distribuisce sulle pareti del tratto gastrointestinale nella sua interezza permettendo di evidenziare lesioni di minus (lesioni aggettanti nel lume esofageo o gastrico) o lesioni di plus (in genere associate alla presenza di soluzioni di continuo della mucosa). Inoltre la presenza di aria nel lume farà da ulteriore contrasto. Per questo motivo questo esame viene anche chiamato "radiografia a doppio contrasto".

La radiografia a doppio contrasto può mostrare due tipi di alterazioni in caso di GERD:

-mucosa del terzo distale dell'esofago di apparenza granulare o nodulare con piccole aree (1-3 mm) più radiotrasparenti, indicativo di esofagite e può portare alla diagnosi di esofagite nei suoi stadi iniziali.

-ulcere superficiali ed erosioni appaiono come piccole raccolte radiopache di bario nell'esofago distale, talvolta circondate da un alone radiotrasparente dovuto alla mucosa edematosa.

La sensibilità di questo esame verso la GERD è piuttosto bassa e la sua utilità per questa diagnosi è limitata.

La radiografia a doppio contrasto è invece utile nella diagnosi di stenosi peptica. Infatti il reperto di un'area liscia e uniforme di restringimento concentrico dell'esofago distale, da 1 a 4 cm di lunghezza e da 0,2 a 2 cm di diametro è virtualmente patognomonico di stenosi peptica. Tuttavia molte stenosi peptiche appaiono asimmetriche a causa della cicatrizzazione eccentrica.

DIAGNOSI DIFFERENZIALE

Alcune malattie possono presentarsi con sintomi e segni simili a quelli della GERD. Tra queste troviamo l'esofagite infettiva, esofagite eosinofila, ulcera peptica, dispepsia non ulcerosa, disordini della motilità esofagea e coronaropatie. In alcuni di questi casi i sintomi non bastano a fare una diagnosi certa.⁴⁸ Inoltre la gravità e durata dei sintomi mal si correlano con la effettiva gravità dell'esofagite.

La disfagia può essere dovuta a GERD. Altre cause comuni di disfagia sono l'esofagite eosinofila e l'ipomotilità esofagea. La prima è caratterizzata solitamente da un elevato numero di eosinofili a livello della mucosa esofagea insieme ad altre caratteristiche istologiche. Può anche avere delle distintive caratteristiche endoscopiche come anelli concentrici e riduzione del lume. Di conseguenza l'endoscopia e la conseguente analisi istologica sono utili alla diagnosi. L'ipomotilità esofagea, ovvero la ridotta o assente peristalsi esofagea può essere molto ben studiata e diagnosticata con la manometria. Recentemente, con l'avvento della manometria ad alta risoluzione, il livello di precisione diagnostica di questa tecnica è aumentata ancora di più.

Un'altra patologia che può entrare in diagnosi differenziale ed essere studiata con la manometria è lo spasmo esofageo. Si tratta di una contrazione incontrollata della muscolatura liscia esofagea che aumenta enormemente la pressione all'interno del lume esofageo.

Se il paziente lamenta una disfagia ai solidi, lentamente progressiva con episodi di ostruzione esofagea, si deve pensare ad una stenosi peptica.

Infine un'altra causa, fortunatamente rara, di disfagia è il cancro esofageo. Questo può essere un adenocarcinoma, sviluppato probabilmente da una metaplasia di Barrett, oppure un carcinoma squamo-cellulare, al momento meno frequente nei paesi occidentali rispetto al resto del mondo.

TERAPIA

Molte terapie sono state proposte negli anni. Di seguito un'analisi di quelle più comunemente utilizzate.

Modifiche dello stile di vita e della dieta:

Negli anni sono state proposte molteplici modifiche dello stile di vita e della dieta ma, secondo trial clinici randomizzati,^{112, 125-129} gli unici provvedimenti utili sono la perdita di peso e l'elevazione della parte craniale del letto. Questi provvedimenti hanno dimostrato un miglioramento dei sintomi e del profilo pH-metrico dei pazienti.

Tuttavia esistono altri provvedimenti che hanno fondamento da un punto di vista fisiologico ma la cui efficacia non è stata sufficientemente dimostrata:

-modifiche alla dieta come eliminazione di cibi grassi, caffeina, bevande gassate, menta piperita, cibi piccanti e qualunque cibo o bevanda che il paziente riferisce essere correlata ai sintomi;

-evitare vestiario stretto per prevenire l'aumento della pressione intragastrica e quindi migliorare il gradiente pressorio gastroesofageo;

-promuovere la salivazione per mezzo di gomma da masticare per neutralizzare l'acido refluito ed aumentare la clearance esofagea;

-evitare alcol e fumo in quanto riducono la pressione del LES;

-svolgere esercizi di respirazione addominale per rafforzare lo sfintere esofageo inferiore.

Antiacidi:

Gli antiacidi hanno un ruolo nella GERD lieve e forniscono un sollievo dai sintomi rapido ma di breve durata (30-60 minuti). È stato visto che questi farmaci interferiscono con la sacca acida riducendo quindi la gravità del reflusso.¹³⁰

Essi sono solitamente a base di idrossido di alluminio, carbonato di calcio o trisilicato di magnesio.

È importante sottolineare come questa categoria di farmaci non previene la GERD.

Alginati (raft-forming gel):

Sono polisaccaridi derivati da un'alga bruna. Grazie alla presenza di bicarbonati (di sodio e di calcio) legati alla mucillagine, quando questi farmaci reagiscono con l'acidità gastrica, producono un gas che rimane intrappolato all'interno della mucillagine e si sposta in superficie (al di sopra del contenuto gastrico). Questi presidi, detti "raft-forming gel", formano una sostanza viscosa che galleggia all'interno dello stomaco riducendo l'esposizione acida dello stomaco prossimale e dell'esofago.^{131, 132}

Non ci sono studi che dimostrano la capacità di questi farmaci di guarire l'esofagite, ma sono in grado, utilizzati come "add-on therapy" di migliorare la gestione dei sintomi in pazienti già in trattamento con PPI o nei periodi di wash-out terapeutico previsti prima di esami endoscopici o fisiopatologici.

Sucralfato:

È un composto di saccarosio solfato e alluminio che aderisce alla mucosa evitando che essa venga a contatto con il materiale acido. Oltre a prevenire lesioni, promuove anche la guarigione della mucosa.

Tuttavia data la sua limitata durata d'azione, il suo utilizzo è prevalentemente ristretto alla terapia della GERD in gravidanza come alternativa all'utilizzo di alginati.

Antagonisti del recettore H2 dell'istamina (anti-H2):

Questa categoria di farmaci agisce bloccando il recettore H2 dell'istamina espresso sulla parete basolaterale della cellula gastrica quindi riducendo la secrezione acida.

Hanno un'azione più lenta degli antiacidi ma più duratura (4-10 ore) e si sono dimostrati più efficaci anche nella terapia di quei pazienti con EE di lieve entità. Si sono invece dimostrati inefficaci nei pazienti con EE grave.

Il loro utilizzo è limitato dallo sviluppo di tolleranza dopo 2-6 settimane.

Inibitori di pompa protonica (PPI):

Questi farmaci sono bloccanti irreversibili della pompa idrogeno-potassio ATPasi e sono i più potenti inibitori della secrezione acida gastrica.

Sono farmaci di primo approccio alla GERD. Essi portano a risoluzione delle lesioni in 8 settimane nell'86% dei pazienti con EE.

Rispetto agli anti-H2, i PPI danno un sollievo più rapido e costante dei sintomi.

Inoltre sono più efficaci nel trattamento della EE. Una metanalisi che include 34 studi clinici e 1314 pazienti dimostra che i PPI sono significativamente più efficaci degli anti-H2 nella risoluzione del bruciore retrosternale in pazienti con GERD.¹³³

Questi farmaci sono generalmente ben tollerati e raramente danno effetti avversi clinicamente rilevanti. Tra questi comunque troviamo reazioni da ipersensibilità, nausea, diarrea, cefalea, carenza di vitamina B12, aumentato rischio di sviluppare allergie al cibo e di contrarre infezioni per la ridotta protezione dell'acido.¹³⁴⁻¹³⁷

Lo schema terapeutico con questi farmaci può essere di due tipi:

- Step-up: viene incrementata gradualmente la dose e la potenza dei farmaci fino al controllo dei sintomi.
- Step-down: si comincia con farmaci potenti e ad alte dosi per poi ridurle gradualmente fino ad individuare la dose minima efficace.

Sebbene vi sia dibattito su quale sia la strategia migliore, entrambe hanno dei vantaggi.¹³⁸⁻¹⁴⁰ Infatti la step-up minimizza l'uso di PPI e quindi i relativi costi ed effetti collaterali. La step-down invece velocizza il controllo dei sintomi.

Terapia chirurgica laparoscopica:

La fundoplicatio secondo Nissen (360°) è la principale tecnica chirurgica antireflusso. La maggiore indicazione alla terapia chirurgica è la persistenza di sintomi, in particolare rigurgito, in pazienti con risposta positiva ma incompleta ai PPI. Un'altra indicazione si può avere in pazienti che non intendono assumere PPI per tutta la vita. Il tasso di riduzione dei sintomi durante i 5 anni successivi all'intervento non differisce dai pazienti che hanno seguito una terapia medica con PPI. Tuttavia, mentre in questi ultimi si ha maggior prevalenza di rigurgito, nei pazienti trattati con fundoplicatio secondo Nissen sono più comuni disfagia, gonfiore e flatulenza.¹⁴¹

Una variante di questo intervento è la fundoplicatio secondo Toupet (270°) che si associa meno frequentemente a disfagia.^{142, 143}

La fundoplicatio ha una mortalità a 30 giorni di 0,05% in pazienti di età inferiore ai 70 anni.¹⁴⁴

In pazienti obesi con GERD, invece, il bypass gastrico Roux-en-Y si è dimostrato molto efficace nel ridurre i sintomi da reflusso.¹⁴⁵

Al momento due nuove tecniche laparoscopiche anti-reflusso sono oggetto di studio. I primi risultati si sono dimostrati positivi ma sono necessari ulteriori studi prima di poter far entrare queste tecniche nella routine terapeutica.^{146, 147}

Terapia endoscopica:

Esistono varie tecniche endoscopiche per la terapia della GERD che hanno profili di sicurezza sovrapponibili alla terapia chirurgica. Tuttavia non sono altrettanto efficaci nel ridurre l'esposizione acida e ridurre i sintomi.

Terapia in pazienti refrattari:

I PPI assunti a dosi adeguate per 4-8 settimane danno un miglioramento dell'esofagite erosiva nel 84-95% dei pazienti ed un miglioramento dei sintomi in circa il 75-85% dei pazienti.¹⁴⁸⁻¹⁵⁰

Sono definiti refrattari quei pazienti che continuano a presentare sintomi o lesioni dovute a reflusso nonostante la terapia con dosi elevate di PPI.¹⁵¹

Il primo passo consiste nel sottoporre questi pazienti a MII-pH nelle 24 ore (previa esecuzione di manometria esofagea) per vedere se i sintomi del paziente sono davvero imputabili al reflusso. Sulla base dei dati raccolti, i pazienti vengono suddivisi in 3 sottogruppi (NERD, HE, FH) che generalmente tendono ad avere una differente risposta alla terapia con PPI.

La risposta alla terapia con PPI può essere interpretata sulla base del risultato della MII-pH:

- Esame negativo e assenza di correlazione tra sintomi e reflusso: se il paziente lamenta pirosi ma non risponde sufficientemente alla terapia con PPI, si parla di pirosi funzionale (FH).²⁷

-Esame francamente positivo per alterato AET (Acid Exposure Time) e/o numero di reflussi: la terapia con PPI può essere stata insufficiente. Infatti la soppressione dell'acidità gastrica non è mai completa ma l'acido rimanente solitamente non è sufficiente a dare sintomi o erosioni.^{152, 153} Quando la pH-metria mostra esposizione prolungata all'acido o cadute di pH pari a 1, la causa è spesso scarsa aderenza alla terapia o assunzione della terapia inferiore all'80% di quella prescritta.¹⁵⁴ La mancata aderenza alla terapia avviene nel 25-47% dei pazienti con GERD. Quando la soppressione dell'acidità è insufficiente nonostante l'adeguata terapia, si dovrebbe considerare una terapia chirurgica.

-AET normale o lievemente alterato, numero di reflussi alterato, sintomi correlati alla presenza di reflussi non-acidi: i PPI riducono l'acidità del reflusso ma non la sua frequenza o la quantità di materiale refluito.^{155, 156}

I sintomi di questi pazienti possono essere dovuti a stimoli meccanici (aria), chimici (bile), infiammatori (esofagite eosinofila) o emozionali.^{157,}

¹⁵⁸ In questi pazienti dovrebbe essere considerata la possibilità di un esofago ipersensibile (HE).

GABA-B agonisti:

Questa categoria di farmaci sembra riduca il numero di tLESRs e migliori i sintomi. Secondo alcuni studi, questi farmaci aumentano anche la pressione basale del LES. Baclofen e Lesogaberan sono i due farmaci più studiati e potrebbero rappresentare una valida opzione terapeutica in futuro.¹⁵⁹⁻¹⁶³

COMPLICANZE

La stenosi peptica:

Il processo di guarigione di una esofagite erosiva include la deposizione di collagene ed un certo grado di fibrosi. Questo può portare a restringimento del lume esofageo. Altre possibili cause di stenosi esofagea sono l'esofagite eosinofila, malattie dermatologiche, lesioni caustiche e neoplasie.

Il paziente con stenosi peptica può presentarsi con i tipici sintomi della GERD ma anche con disfagia o ostruzione per ostacolo al passaggio del bolo.

La terapia si basa su PPI e dilatazione endoscopica.¹⁶⁴ La tecnica può variare sulla base dell'esperienza dell'endoscopista ma se la stenosi è refrattaria è possibile iniettare farmaci steroidei nella lesione o posizionare una endoprotesi.^{165, 166}

L'esofago di Barrett:

la GERD può portare ad una metaplasia intestinale delle cellule squamose esofagee formando una lesione precancerosa. Questo avviene specialmente in pazienti obesi, fumatori, con ernia iatale e sintomi notturni. Vi è molta confusione nel mondo scientifico persino sulla definizione corretta di questa complicanza. Vi è accordo sul fatto che possa evolvere verso una neoplasia maligna e che quindi ne vada seguito l'andamento. Una possibile terapia è

l'ablazione endoscopica ma vi sono opinioni contrastanti sulle sue indicazioni.¹⁰²

CLASSIFICAZIONE DELLA GERD E FLOW CHART DIAGNOSTICA

Nel 2006, la Consensus di Roma III ha definito la piroisi funzionale (FH) come il verificarsi di piroisi retrosternale in mancanza di diagnosi di GERD o di disturbi della motilità esofagea, basandosi sia su risposte di esami fisiopatologici che sulla totale mancanza di risposta alla terapia acido-soppressiva.⁶ In particolare, per escludere la presenza di GERD, i pazienti devono essere sottoposti a endoscopia digestiva superiore e, in assenza di esofagite, ad un monitoraggio ambulatoriale del pH delle 24 ore. È inoltre necessario osservare sia la completa mancanza di corrispondenza tra sintomi ed episodi di reflusso¹⁹ sia, come sopra descritto, la mancata risposta ad una terapia con PPI. Ad oggi, in realtà, mancano ancora accordi sulla durata (2 o più settimane) e sul dosaggio necessario (dose standard di PPI o raddoppiata).

Recenti evidenze hanno suggerito che per essere diagnosticati con FH, i pazienti dovrebbero avere una endoscopia superiore negativa, un tempo di esposizione all'acido (AET) nell'esofago distale normale, e un'associazione fra sintomo e reflussi (SAP) negativa sia nei confronti di reflussi acidi che nei confronti di reflussi non-acidi.⁸ La valutazione di quest'ultima condizione è resa possibile solo dall'introduzione della MII-pH, che è in grado di riconoscere sia i reflussi acidi che i reflussi non-acidi.¹⁶⁷ D'altra parte, i pazienti che mostrano un'endoscopia normale ma una stretta relazione temporale tra sintomi e reflussi non-acidi possono essere definiti come esofago ipersensibile (HE).⁹

I pazienti con malattia da reflusso non-erosiva (NERD), mostrando sintomi da reflusso in assenza di esofagite erosiva all'endoscopia, sono stati per lungo tempo considerati come scarsi-responder alla terapia con PPI.¹⁶⁸ Tuttavia, una recente meta-analisi ha mostrato che il dato precedentemente descritto di risposta nella NERD è probabilmente il risultato dell'inclusione di pazienti affetti da GERD.¹⁴⁹

La Consensus di Roma III non trova una collocazione precisa per i pazienti con pirosi ed endoscopia negativa, ma una buona risposta PPI. Tuttavia, questi pazienti risultano ad oggi ancora poco studiati e non è noto se sia adeguato considerarli all'interno dei pazienti affetti da GERD.

SCOPO DELLA TESI

Il presente lavoro di tesi parte dall'ipotesi che, come evidenziato in un precedente lavoro,¹⁶⁹ i soggetti con piroso ed una risposta positiva alla terapia con PPI ma senza alterazioni agli esami strumentali (EGDS e MII-pH), possano essere distinti dai soggetti veri FH grazie allo studio dei valori di BI. Pertanto abbiamo ipotizzato che i livelli di BI possono essere di ulteriore aiuto per distinguere i pazienti con NERD da quelli con FH. L'obiettivo del presente studio è stato dunque quello di confrontare i livelli di BI nei pazienti con piroso e le caratteristiche fisiopatologiche legate alla FH divisi sulla base della risposta positiva o negativa alla terapia con PPI. In seguito abbiamo confrontato ulteriormente questi pazienti con volontari sani (HVs dall'acronimo inglese di Healthy Volunteers) e pazienti affetti da esofago ipersensibile (HE).

MATERIALI, PAZIENTI E METODI

Nel periodo da gennaio a dicembre 2013, presso gli ambulatori della Gastroenterologia di questa Università, sono stati arruolati, in modo consecutivo, 90 pazienti con sintomi tipici di MRGE (pirosi e rigurgito) ed assenza di lesioni macroscopicamente percepibili alla EGDS.

Questi 90 pazienti sono stati suddivisi in tre sottogruppi sulla base della diagnosi fisiopatologica: 30 pazienti con “functional heartburn/PPI non responder” (PPI-FH), 30 pazienti con “functional heartburn/PPI responder” (PPI+FH) e 30 pazienti con “hypersensitive esophagus” (HE). I pazienti sono stati arruolati in modo che i 3 sottogruppi fossero *matchati* per età e sesso.

Sono stati arruolati inoltre 20 volontari sani (HVs). I HVs venivano definiti sulla base della totale assenza di sintomi a carico del tratto gastrointestinale superiore e mai sottoposti a terapia con PPI.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a terapia con inibitori di pompa protonica a dosaggio standard (pantoprazolo 40 mg/die o esomeprazolo 40 mg/die) per almeno 8 settimane. I HVs non sono stati sottoposti a terapia con PPI.

Tutti i pazienti arruolati avevano eseguito una EGDS entro 15gg dopo l'arruolamento.

Tutti i pazienti che assumevano PPI in precedenza hanno eseguito la EGDS previo wash-out terapeutico di almeno 20-30gg.

I pazienti sono stati arruolati presso l'Ambulatorio di Fisiopatologia Esofagea dello stesso reparto dopo accurata visita gastroenterologica. Durante la visita sono stati acquisiti i dati anamnestici e clinici di ciascun paziente: peso, altezza, BMI, storia della GERD (durata in mesi o anni dalla diagnosi), comorbilità e quindi eventuali altre terapie in atto. Durante l'anamnesi è stato quindi sottoposto a ciascun paziente un questionario sui sintomi della GERD conosciuto come “GERD Impact Scale” (GIS)¹⁷⁰ ed è stata valutata la presenza di pirosi e rigurgito sulla base della Visual Analogue Scale (VAS).^{171, 172}

Il questionario GIS comprende 8 domande che indagano la frequenza dei più frequenti sintomi di GERD nella precedente settimana, in dettaglio: sintomi acido-correlati, dolore toracico, sintomi extra-esofagei oltre che l'impatto degli stessi sintomi sulla qualità di vita (QoL) come sul sonno, sull'attività lavorativa, sull'alimentazione o gli eventi di vita sociale oltre che sull'utilizzo addizionale di farmaci non prescritti per controllare i sintomi della GERD. Ogni domanda prevedeva 4 possibili opzioni di risposta in grado di descrivere la frequenza: (1) assenza di sintomi (mai); (2) sintomi presenti in modo sporadico (ogni tanto) meno di 2 volte a settimana; (3) sintomi presenti per la maggior parte del tempo (spesso) almeno da 2 a 5 volte alla settimana; (4) sintomi presenti tutti i giorni (sempre).

Le risposte al questionario GIS esplorano soprattutto 3 differenti aree della diagnosi di GERD: presenza di sintomi tipici (domande 1a, 1b, 1c), altri sintomi acido-correlati (1d e 1e) e l'impatto dei sintomi sulla QoL (2,3,4,5).

Ad ogni domanda è stato assegnato un punteggio da 0 a 3 (0=assente; 3=quotidiano) mediante l'utilizzo della scala di Likert.

Per quanto riguarda la VAS sono stati indagati i sintomi “pirosi” e “rigurgito” mediante una linea continua di 10 cm di lunghezza, dove l'estremità sinistra (indicata con 0) corrispondeva alla presenza di sintomi gravi, quotidiani e fastidiosi mentre l'estremità destra (10) corrispondeva alla completa assenza del sintomo indagato. Sulla base del punteggio calcolato con la VAS e con il GIS il paziente veniva definito come “sufficiente o responder” (miglioramento sintomatico maggiore del 50%) oppure “inadeguato o non-responder” (miglioramento sintomatico inferiore al 50%).

Tutti i pazienti e gli HVs sono stati inoltre sottoposti a manometria esofagea stazionaria per determinare la distanza del bordo superiore dello sfintere esofageo inferiore (LES) dalle narici e per escludere la presenza di anomalie della peristalsi.

L'esame è stato eseguito con sondino del diametro di 4.5mm con 8 canali, perfusi con acqua bi-distillata (Dyno 2000(R) Menfis – Biomedica – Bologna). La presenza della peristalsi esofagea e della fase di rilassamento del LES sono state valutate mediante 10 deglutizioni di un bolo di 5 cc di acqua. L'ampiezza e la durata delle onde è stata valutata rispettivamente a 5, 10, 15 e 20 cm dal LES. Mediante la tecnica del “pull-through” è stata misurata la pressione massima e media del LES.

Tutti i pazienti sono stati inoltre sottoposti a pH-impedenziometria multicanale delle 24 ore (MII-pH). Mediante l'utilizzo del catetere in polivinile della Sandhill (*Sandhill Scientific Inc. - Highland Ranch – CO*). La misura dell'impedenza, come descritto nel

capitolo delle tecniche diagnostiche, è stata eseguita mediante elettrodi adiacenti ed accoppiati e definiti come unità di calcolo dell'impedenza.

Il catetere per il calcolo dell'impedenza è stato posizionato con il sensore di pH posto a 5 cm dal margine superiore del LES. I sensori di pH sono posti rispettivamente a 3, 5, 7, 9, 15 e 17 cm dal LES. Tutti i pazienti hanno consumato almeno 3 pasti (pranzo alle ore 13, cena alle ore 20 e colazione alle ore 8) secondo uno schema di dieta Mediterranea, la stessa dieta utilizzata per la registrazione dei dati di normalità,¹⁷³ senza utilizzo di alcol e caffè per ridurre la variabilità dovuta alla dieta. Tutti i pazienti sono stati istruiti ad indicare l'inizio e la fine di ogni pasto su un apposito diario e mediante lo specifico tasto di segnalazione sul *data logger*. Tutti i pazienti dovevano rimanere in posizione ortostatica per la maggior parte del tempo, riposare per non più di 8 ore ed eseguire uno stile di vita più simile possibile a quello usuale. Ogni paziente che aveva eseguito l'esame doveva segnalare la presenza di sintomi sull'apposito diario e sul *data logger*.

Ogni tracciato di MII-pH è stato eseguito manualmente utilizzando delle finestre di analisi di 5 minuti. I reflussi sono stati indicati sulla base delle loro caratteristiche chimiche in: reflussi acidi ($\text{pH} < 4$), debolmente-acidi ($4 < \text{pH} < 7$) e debolmente alcalini ($\text{pH} > 7$); inoltre sono stati classificati sulla base delle loro caratteristiche fisiche in: reflussi liquidi (caduta di impedenza in almeno 2 canali successivi), reflussi misti (presenza di un picco gassoso all'interno della caduta di impedenza in 2

canali successivi), reflussi gassosi (presenza di un picco positivo dell'impedenza in tutti i canali, con andamento retrogrado).

Sono stati indicati tutti i reflussi che interessavano e raggiungevano gli elettrodi posti a 15 cm dal LES(reflussi prossimali).

La correlazione fra sintomi e reflussi è stata suddivisa in 3 differenti gruppi:

- a) associati a reflussi acidi;
- b) associati a reflussi non-acidi (includendo nell'analisi sia i reflussi debolmente-acidi che quelli debolmente-alcalini) se registrati all'interno di una finestra temporale di 2 minuti da un evento di reflusso;
- c) non associati a reflusso se questi ultimi venivano registrati all'esterno della finestra temporale di 2 minuti dall'evento reflusso.

Per l'analisi dei dati sono stati considerati: AET, numero complessivo di reflussi, numero di reflussi prossimali, percentuale di reflussi prossimali, correlazione fra sintomi e reflussi.

I valori della BI sono stati calcolati a livello del canale più distale (z3, 3 cm dal bordo superiore del LES) durante la fase di riposo notturno mediante l'esclusione di reflussi, deglutizioni o cadute del valore di pH. I valori di BI sono stati calcolati come la media di tutti i valori all'interno di una finestra di 10 minuti presa rispettivamente alle ore 1, alle ore 2 ed alle ore 3. In un precedente lavoro¹⁶⁹ è stata eseguita un'analisi di confronto fra il calcolo della BI mediante la tecnica sopra descritta ed un

calcolo simile effettuato però su 6 ore consecutive (sempre escludendo episodi di reflusso, deglutizione o caduta del valore di pH) dimostrando una completa concordanza fra i dati.

Per ciascun paziente è stato poi calcolato il valore della clearance chimica denominato PSPW (*Post-reflux Swallow-induced Peristaltic Wave*) che esprime la capacità di *clearance* dell'esofago in seguito ad un reflusso ed espressa come indice mediante il seguente calcolo: $\text{PSPW} = \frac{\text{numero dei reflussi seguiti da una deglutizione spontanea entro 30 sec}}{\text{numero di reflussi totali}}$.¹⁷⁴

RISULTATI

Nel periodo di 6 mesi trascorso per l'arruolamento e la valutazione dei pazienti che hanno eseguito lo studio clinico scopo di questa tesi, sono stati arruolati 90 soggetti con diagnosi clinica ed endoscopica di NERD e 20 HVs.

Il rapporto maschi/femmine era 1:2 (30 maschi e 60 femmine). L'età media (\pm ds) era 52.8 anni (\pm 12.7). Il valore medio (\pm ds) del BMI era 25.7 (\pm 3.1).

Il sintomo predominante (definito come il sintomo più frequente o fastidioso durante il giorno) riscontrato nei pazienti in studio è stato la piroisi 71/90 (78.9%) seguito da rigurgito 19/90 (21.1%). Erano comunque presenti altri sintomi come: dolore toracico non cardiaco, eruttazione e dolore epigastrico.

Il rapporto maschi/femmine nel gruppo di HVs era 1:1. L'età media (\pm ds) era 49.9 anni (\pm 14.7). Il valore medio (\pm ds) del BMI era 24.3 (\pm 2.6).

L'esame di manometria esofagea non ha evidenziato anomalie della peristalsi sia di tipo ipo- che iper-cinetico a carico del corpo esofageo. Il valore medio di pressione dello sfintere esofageo inferiore (\pm ds) era 34.3 (\pm 12.6) mmHg. Il valore medio di ampiezza delle onde peristaltiche (\pm ds) registrato durante l'esame era 75.8 (\pm 19.4) mmHg. In nessun segmento del viscere esplorato sono stati osservati valori di pressione al di sotto di 25mmHg. Nessun soggetto fra i HVs presentava anomalie alla manometria dell'esofago. I dati epidemiologici dei 3 sottogruppi di pazienti e dei HVs sono stati riportati in Tabella 1.

Tab. 1: caratteristiche epidemiologiche nei vari sottogruppi studiati

	PPI+FH	PPI-FH	HE	HV	P
	(N=30)	(N=30)	(N=30)	(N=20)	(PPI+FH vs HE)
Rapporto M:F	10:20	10:20	10:20	10:10	n.s.
Età media (sd)	49,7(±12,4)	50,3(±11,5)	58,3(±14,2)	49,9(±14,7)	n.s.
BMI (sd)	25,9(±3,1)	26,3	24,9	24,3(±2,6)	n.s.
Fumo di sigaretta	4	3	3	3	n.s.
Consumo di alcol	3	2	3	2	n.s.
Caffè/die	8	8	7	5	n.s.
Helicobacter pylori	3	3	2	0	n.s.
Ernia iatale	12	10	14	---	n.s.

Sulla base della risposta alla terapia farmacologica con PPI e della MII-pH i pazienti sono stati suddivisi in tre sottogruppi:

- *Functional Heartburn PPI non responder* (PPI-FH): che presentavano mancata risposta alla terapia con PPI, AET nei limiti, numero di reflussi nei limiti, mancata correlazione sintomatologica fra sintomi e reflussi (SI-/SAP-).
- *Functional Heartburn PPI responder* (PPI+FH): che presentavano una

buona risposta alla terapia con PPI, nonostante AET nei limiti, numero di reflussi nei limiti, mancata correlazione sintomatologica fra sintomi e reflussi (SI-/SAP-).

– *Hypersensitive Esophagus* (HE): AET e numero di reflussi nei limiti, presenza di associazione sintomatologica positiva fra sintomi e reflussi (SAP >95% ed SI>50%) in presenza di una buona risposta alla terapia con PPI.

Nonostante la classificazione suggerita da Fass et al.¹⁷⁵ e la classificazione dei disturbi funzionali di Roma III¹⁷⁶ non facciamo riferimento alla presenza di PPI+FH e che difatti nella definizione di FH i pazienti con non presentano un'adeguata e sufficiente risposta alla terapia con PPI, abbiamo preferito utilizzare tale acronimo dal momento che i pazienti PPI+FH oggetto del nostro studio presentano una risposta alla terapia con PPI superiore al 50% ma le caratteristiche fisiopatologiche (MII-pH) dei pazienti affetti da FH.

I dati di confronto raccolti dai tre sottogruppi di pazienti hanno evidenziato che i pazienti PPI+FH rispetto a quelli PPI-FH hanno presentato un valore medio più elevato di AET ($1.4\% \pm 0.8$ vs $0.5\% \pm 0.6$, $p < 0.05$), del numero medio di reflussi (30.4 ± 8.7 vs 24 ± 6.9 , $p < 0.05$), del numero medio di reflussi prossimali (11.1 ± 5.2 vs 8.2 ± 3.6 , $p < 0.05$) e dei reflussi acidi (17.9 ± 6.1 vs 10.7 ± 6.9 , $p < 0.05$).

I pazienti definiti come HE hanno mostrato un valore medio di AET ($1.8\% \pm 0.8$) ed un numero totale di reflussi (34.4 ± 8.2) sovrapponibile a quello registrato nei pazienti

PPI+FH (p=ns). Nei soggetti HVs i valori medi di AET (0.7 ± 0.6) e il numero medio di reflussi (17.9 ± 10.8) è risultato sovrapponibile a quello riportato per i pazienti PPI-FH.

I valori medi di BI sono risultati infine nettamente più bassi nel gruppo di pazienti HE (2125.3 ± 450.8) e nel gruppo PPI+FH (2169.7 ± 580.4) (p=ns) rispetto a quello registrato nei pazienti PPI-FH (3782.2 ± 821.5) o negli HVs (3427.8 ± 42.7).

Per concludere, anche i valori dell'indice PSPW sono risultati più bassi nei soggetti diagnosticati come HE (55.9 ± 4.6) e come PPI+FH (56.2 ± 8.8) rispetto a quelli dei soggetti PPI-FH (71.1 ± 6.1) o dei HVs (76.1 ± 13). Tutti i dati sono stati dettagliati in Tabella 2.

Tab. 2: parametri MII-pH nelle differenti sottocategorie di pazienti con pirosi e HVs

	PPI+FH	PPI-FH	HE	HV	P
	(N=30)	(N=30)	(N=30)	(N=20)	(PPI+FH vs HE)
AET totale (sd)	1.4±0.8*	0.5±0.6	1.8±0.8#	0.7±0.6	n.s.
Reflussitot. (sd)	30.4±8.7*	24±6.9§	34.4±8.2#	17.9±10.8	n.s.
Reflussi prox. (sd)	11.1±5.2	8.2±3.6	11.8±5.6	9.5±9.5	n.s.
BI (sd)	2169.7±580.4*	3782.2±821.5	2125.3±450.8#	3427.8±42.7	n.s.
PSPW (sd)	56.2±8.8*	71.1±6.1	55.9±4.6#	76.1±13	n.s.
Risposta a PPI	100%	0%	100%	N.A.	--

(*) p<0.05 gruppo PPI+FH *versus* PPI-FH; (§) p<0.05 gruppo PPI-FH *versus* HV; (#) p<0.05 HE *versus* PPI-FH e HV

Il questionario GIS ha dimostrato un adeguata valutazione dei sintomi in tutti i pazienti esaminati. Le medie delle singole risposte di ciascun elemento sono state riportate in Tabella 2.

DISCUSSIONE

Lo scopo principale di questa tesi è stato quello di determinare se vi è una differenza nei livelli di *baseline impedance* (BI) fra differenti sottogruppi di pazienti con sintomi da GERD. I dati della letteratura e l'esperienza del gruppo del Prof. Marchi suggeriscono che la presenza di valori di impedenza più bassi può correlare con una compromissione dell'integrità della mucosa esofagea. Per questo motivo sono stati valutati con attenzione un gruppo di pazienti con test di MII-pH negativo nonostante una risposta positiva alla terapia con PPI (PPI+FH). Al momento questa tipologia di pazienti non presenta una collocazione specifica né all'interno della diagnosi di GERD (assenza di parametri fisiopatologici) né fra i soggetti affetti da *functional heartburn* (indicati in questo lavoro come PPI-FH). Quest'ultimo è un disturbo funzionale dell'esofago che prevede la presenza di sintomi tipici da reflusso (pirosi in particolare) ma non presenta alterazione degli esami fisiopatologici né alcun beneficio dalla terapia con PPI. Come obiettivo secondario, abbiamo valutato negli stessi sottogruppi di pazienti il PSPW-*index*, indicato come parametro che rappresenta l'efficacia della clearance esofagea secondaria ad un reflusso, al fine di comprendere se anche questo parametro desse un'indicazione indiretta dell'integrità microscopica della mucosa. Analizzando questi due gruppi di pazienti (PPI+FH ed PPI-FH) con pirosi, endoscopia normale e MII-pH negativa, con un gruppo di HVs ed un gruppo di soggetti ipersensibili (HE) abbiamo dimostrato che:

1. i pazienti PPI-responder (PPI+FH) presentavano dei valori più elevati di

AET, del numero totale di reflussi, del numero di reflussi acidi e del numero dei reflussi prossimali rispetto a pazienti PPI-FH ma in modo del tutto sovrapponibile ai soggetti con HE;

2. i pazienti PPI+FH avevano livelli di BI e di PSPW-index inferiori rispetto ai pazienti PPI-FH ma sovrapponibili a quelli del gruppo HE;

3. è stato inoltre evidenziato una correlazione diretta tra i livelli di BI e PSPW-index ed al contrario una correlazione inversa tra livelli di BI ed AET;

4. pazienti PPI-FH hanno mostrato valori di BI e di PSPW-index simili ai HVs.

Questo è il primo studio che considera attentamente i pazienti con pirosi, endoscopia ed esami fisiopatologici negativi, ma con risposta sintomatologica alla terapia con PPI. Per mezzo dei valori di BI e PSPW-index, questo studio evidenzia le differenze tra i pazienti con risposta diversa alla terapia con PPI, mentre i parametri di associazione fra sintomo e reflusso (SI e SAP) non riescono a farlo con la stessa precisione. In questo studio, i livelli della BI sono stati valutati nelle ore notturne poiché vi è una maggiore possibilità di evitare deglutizioni e/o reflussi, che di solito si verificano in numero ridotto durante la notte. A tale proposito, Kessing et al.⁴ hanno eseguito la misurazione dei valori di BI in pazienti con GERD senza trovare una chiara differenza fra i valori durante le ore diurne e quelle notturne. Abbiamo calcolato i valori di BI solo a livello dell'esofago distale. Infatti, è stato dimostrato che i livelli della BI prossimale erano superiori a quelli distali nei pazienti con

GERD, sebbene differenze significative nei livelli di BI prossimali siano state trovate tra pazienti con GERD e controlli sani.^{3,4,177}

Ad oggi non è mai stato indagato se minime modificazioni dell'integrità della mucosa possano svolgere un ruolo nella percezione del sintomo pirosi nei pazienti PPI+FH. Con i dati di questo lavoro abbiamo dimostrato che PPI+FH presentano un AET significativamente più elevato ed un numero di reflussi acidi e livelli di BI inferiori rispetto ai pazienti PPI-FH. Inoltre lo stesso gruppo (PPI+FH) presentava valori del tutto sovrapponibili a quelli presentati dai pazienti con HE. Questo a sua volta diventa importante poiché permette di spiegare due cose ad oggi non dimostrate:

1. un sottogruppo di pazienti FH può, sulla base di questi nuovi parametri fisiopatologici e della risposta alla terapia con PPI, essere considerato come un paziente affetto da GERD;
2. questi nuovi parametri fisiopatologici (PSPW-index e BI) potrebbero essere aggiunti ai parametri al momento disponibili (AET, N° reflussi, SI, SAP) per meglio identificare i pazienti affetti da GERD.

Questi dati, in linea con i precedenti,^{4, 14, 178, 179} suggeriscono un possibile ruolo dell'acido, anche a livelli fisiologici, sia nella percezione del sintomo bruciore che nella risposta alla soppressione acida. In linea con gli studi di cui sopra, abbiamo anche osservato una correlazione negativa tra AET ed i valori di BI dell'esofago distale. I meccanismi responsabili della percezione reflusso non sono ancora pienamente compresi. A questo proposito, probabilmente il reflusso acido rimane

importante nella generazione di sintomi, sebbene studi di MII-pH hanno dimostrato che sia il reflusso acido che non-acido sono in grado di generare sintomi.^{87, 180-182}

Secondo recenti studi, la pepsina attivata può rappresentare un fattore patogenetico rilevante sia nei reflussi acidi che in quelli debolmente-acidi,¹⁸³⁻¹⁸⁵ questo soprattutto perché l'attivazione della pepsina avviene a $\text{pH} < 4.5$ ma la sua attività proteolitica è mantenuta fino a $\text{pH} 5.5$ e la sua denaturazione avviene ad un $\text{pH} > 7$.¹⁸⁶ Inoltre, il reflusso duodeno-gastro-esofageo può essere implicato nello sviluppo del danno mucosale a causa degli effetti tossici di componenti quali gli acidi biliari e gli enzimi pancreatici.¹⁸⁵ Oltre ad erosioni della mucosa, i fattori patogenetici complessivi potrebbero compromettere l'integrità della mucosa, per rottura delle *tight-junctions* e formazione di spazi intercellulari dilatati (DIS dall'acronimo inglese di Dilated Intercellular Spaces) ed aumentare la permeabilità della mucosa anche in assenza di lesioni macroscopiche della stessa.¹⁸⁷

In generale, è ragionevole ipotizzare che i livelli di BI aumentano in parallelo con la gravità della malattia da reflusso gastroesofageo, a partire da HVs e PPI-FH a PPI+FH e HE, fino ai NERD ed a coloro con malattia da reflusso erosiva (ERD dall'acronimo inglese di Erosive Reflux Disease). Pertanto secondo Ribolsi et al.¹⁷⁹ i livelli di BI potrebbero rivelarsi utili per aumentare la sensibilità diagnostica della MII-pH.

Recentemente, in un ampio gruppo di pazienti PPI+FH (miglioramento sintomatico maggiore del 75% dopo 8 settimane di terapia acido soppressiva) non abbiamo

trovato caratteristiche fisiopatologiche di GERD nel 19% dei casi.¹⁸⁸ Abbiamo definito questi pazienti come PPI+FH e attribuito il loro esito terapeutico positivo ad un effetto placebo piuttosto che a limiti intrinseci della tecnica MII-pH nel correlare sintomi ad eventi di reflusso. Invece, i risultati dello studio attuale sono in linea con l'opinione che bassi valori di BI potrebbero spiegare diversi risultati terapeutici osservati nei pazienti con livelli fisiologici di esposizione acida e senza associazione tra sintomi e reflusso.

Un altro importante risultato del presente studio riguarda l'indice PSPW. Dopo un episodio di reflusso, la *clearance* esofagea dipende dal volume del refluito e dall'abilità di eliminare l'insulto chimico. La *clearance* sarebbe indotta da un'onda peristaltica secondaria, che rimuove circa il 90% del materiale refluito.

La neutralizzazione dell'acido nel lume esofageo distale si verifica solo dopo il trasporto di saliva da parte di un'onda peristaltica indotta dalla deglutizione. La registrazione dei valori dell'impedenza endoluminale riesce ad evidenziare con precisione il transito del bolo e di conseguenza l'efficienza dei meccanismi di clearance chimica dell'esofago. E' stato dimostrato che l'alterazione della clearance chimica esofagea rappresenta un meccanismo fisiopatologico primario specifico della GERD, e non è influenzato dalla terapia medica o chirurgica.¹⁷⁴ Inoltre, questa alterazione sembra avere un ruolo importante nello sviluppo e persistenza del danno alla mucosa esofagea nella GERD. Inoltre sarebbe di elevata accuratezza diagnostica nel distinguere i soggetti non-GERD sia che questi siano valutati durante la terapia

con PPI o meno.¹⁷⁴ In effetti, Frazzoni et al.¹⁷⁴ hanno dimostrato che i pazienti con ERD avevano un indice PSPW più basso rispetto ai pazienti con NERD. Nel presente studio, i pazienti PPI+FH hanno mostrato un indice di PSPW inferiore a quello dei pazienti PPI-FH e dei HVs. Nella stessa analisi invece i valori di PSPW dei pazienti PPI+FH risultano sovrapponibili a quelli degli HE. Inoltre, una correlazione positiva è stata osservata tra i valori di BI ed il *PSPW-index*. Questi risultati dimostrano che l'integrità della mucosa esofagea è legata alla presenza di un'efficace clearance chimica. La perdita di efficacia della clearance esofagea viene poi considerata un meccanismo primario nella patogenesi del danno alla mucosa nei pazienti con GERD.

Diversi studi hanno dimostrato che l'acido può indurre dilatazione degli spazi intercellulari (DIS) fra le cellule dell'esofago. Queste alterazioni sono più comuni nei pazienti con aumento del AET e si riducono dopo terapia con PPI.^{2, 189} Farré et al.³ hanno dimostrato che l'esposizione prolungata dell'esofago di coniglio all'acido provoca modifiche dell'integrità della mucosa, con conseguente aumento dell'ampiezza degli spazi intercellulari. Nei pazienti con GERD, Zhong et al.¹⁷⁸ hanno osservato una significativa correlazione negativa tra l'aumento degli spazi intercellulari ed il BI. Nei soggetti con NERD, la sensibilizzazione delle terminazioni nervose esofagee potrebbe essere facilitata dalla presenza dei DIS, portando ad un aumento della permeabilità paracellulare secondario all'esposizione acida.^{190, 191} D'altra parte, i pazienti con FH non hanno DIS.^{189, 192, 193} Come già sottolineato l'insulto acido è anche in grado di determinare alterazione della permeabilità

dell'epitelio esofageo (con formazione dei DIS) tramite interruzione della normale morfologia tight-junction.¹⁹⁴⁻¹⁹⁶

Uno dei punti chiave di questo lavoro di tesi è che, secondo i nostri dati, alcuni pazienti con pirosi possono essere stati erroneamente classificati come FH a causa delle limitazioni della MII-pH,¹⁶⁷ anche se una limitazione di questo lavoro è l'assenza di un braccio trattato con placebo. In particolare, confermiamo che, secondo i nostri dati, la validità del symptom index (SI) o del symptom association probability (SAP) è limitata al determinare la correlazione tra sintomi e reflussi in pazienti con GERD.¹⁹⁷ A conferma di questo, in un recente studio di Slaughter et al.¹⁹⁸ gli autori hanno concluso che la validità del SI e del SAP, nei pazienti con sintomi refrattari alla terapia con PPI, è limitata dalla numerosità dei sintomi registrati. Visti i nostri risultati, crediamo che una valutazione di nuovi parametri fisiopatologici dei tracciati MII-pH per l'aggiunta di nuove variabili quantitative, quali i livelli di BI e l'indice PSPW, potrebbe essere di aiuto per studiare meglio i pazienti con pirosi e meglio identificare i pazienti con malattia da reflusso. Nel complesso, il gruppo di pazienti con pirosi, endoscopia normale e MII-pH negativa con buona risposta alla terapia con PPI, possono avere l'integrità della mucosa alterata rispetto ai pazienti FH, pertanto dovrebbero essere considerati come pazienti GERD, ed in particolare come HE. I dati di questo lavoro hanno infatti per la prima volta evidenziato che questo sottogruppo di pazienti PPI+FH presenta delle caratteristiche fisiopatologiche sovrapponibili ai pazienti HE. A questo proposito, è ragionevole affermare che entrambi i valori di BI e indice PSPW potrebbero essere utili per confermare la diagnosi di GERD nei

pazienti responsivi a terapia con PPI e con endoscopia negativa, in cui tutte le variabili classiche della MII-pH (cioè AET, numero reflussi, SI e SAP) risultano nel range di normalità.

In conclusione, per quanto a nostra conoscenza, questo è il primo studio che valuta nuove variabili della MII-pH (livelli di BI e l'indice PSPW) in pazienti con pirosi e MII-pH negativa ma risposta positiva ai PPI. Probabilmente i pazienti che presentano la modificazione di questi parametri percepiscono come patologici livelli di acido da considerarsi, sulla base degli studi attuali, fisiologici.

Tuttavia, i risultati di questo studio meritano tuttavia di essere approfonditi con ulteriori ricerche per convalidare il ruolo dei valori di BI mediante studi su casistiche più ampie e con l'intervento di operatori differenti, anche al fine di rendere tale parametro non operatore-dipendente.

RINGRAZIAMENTI

Ci tengo a ringraziare il Professor Marchi ed il Dottor De Bortoli per avermi guidato e insegnato in questi anni e poi durante la preparazione di questo lavoro di tesi. Un ringraziamento anche per aver partecipato all'organizzazione del mio periodo di studio in Olanda col Dottor Bredenoord.

Già che siamo in tema, un ringraziamento anche ai componenti del SISM di Pisa e a tutti coloro che mi hanno dato la possibilità di imparare un po' di medicina durante i miei periodi all'estero.

A questo proposito un grosso "grazie" a mia madre per avermi sempre supportato e sopportato (anche se va detto che questo è stato reciproco) e per avermi insegnato ad essere indipendente sia fisicamente che mentalmente.

Grazie anche a mio padre che mi ha insegnato a darmi sempre da fare secondo la filosofia del "strike while the iron is hot". E grazie anche per esserci stato quando avevo bisogno nonostante la distanza fisica.

Un ringraziamento speciale a Ilaria che mi ha accompagnato durante tutti gli anni di questo corso di laurea e che mi ha aiutato nei momenti brutti fino a guadagnarsi ogni tanto un soprannome che solo uno studente in medicina poteva darle: Paroxetina...tragicomico! Grazie a Ila anche per essermi stata accanto anche quando progettavo di andare all'estero per un po' e, in generale, per essermi stata sempre accanto. Decisamente non sarei stato quello che sono adesso senza di lei.

Grazie anche alla famiglia di Ilaria ed alla mia famiglia lucchese!

Grazie poi a tutto il resto della mia famiglia di qualunque parte del mondo siano!

E poi ci sono tutti i miei amici!

Grazie al Ciotti per esserci sempre da quasi 12 anni a questa parte. Grazie al Sussi per essere sempre un'ottima fonte di consigli e battute "addiaccianti"! Grazie a Tizi nonostante la sua recente mutazione in Brontosauo.

Grazie al Luschi, Stefano, Dario, Talamino, Nicola per le serate dai tempi della pallanuoto in poi!

Grazie all'Ingegnere, Nico, Luchino e Simone per le cene assurde che ogni volta portano più in là il concetto di "mangiata"!

Grazie a Claudia, Gabri, Virgi, Obe, Silvia, Cà, Marco, ecc per essere la brave persone e ottimi amici che sono.

Grazie agli amici di Medicina! A Lorenzo per le ore passate a studiare insieme o scambiare materiali e consigli per gli esami fin dal primo anno. A Francesco per i grandi consigli sugli esami...anche se ho imparato con gli anni a filtrare quello che mi diceva conoscendo l'ansia del soggetto! Grazie ai miei compagni livornesi (Chiara, Claudia, Corri, Pippo, Vitto, Eli, Pencio, Marti e tutti gli altri) per i consigli, i passaggi, le medicene e in generale per aver portato a Medicina la veracità tipica di Livorno! Grazie anche alle pisane (Ila, Elena, Claudia e Laura), a Giova, insomma se

sto qui a elencarli tutti ci faccio notte...ma tanto se stai leggendo probabilmente sei da ringraziare...e se no passa la tesi a qualcun'altro!!

Insomma grazie a tutti! Grazie dei momenti belli o brutti che abbiamo passato. Spero di continuare a viverne insieme.

E dopo questa giornata me ne andrò in mezzo alla folla ad urlare:

"fate largo! Sono un medico!"

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *The American journal of gastroenterology* 2006; **101**(8): 1900-20; quiz 43.
2. Bredenoord AJ, Tutuian R, Smout AJ, Castell DO. Technology review: Esophageal impedance monitoring. *The American journal of gastroenterology* 2007; **102**(1): 187-94.
3. Farre R, Blondeau K, Clement D, et al. Evaluation of oesophageal mucosa integrity by the intraluminal impedance technique. *Gut* 2011; **60**(7): 885-92.
4. Kessing BF, Bredenoord AJ, Weijenberg PW, Hemmink GJ, Loots CM, Smout AJ. Esophageal acid exposure decreases intraluminal baseline impedance levels. *The American journal of gastroenterology* 2011; **106**(12): 2093-7.
5. An evidence-based appraisal of reflux disease management--the Genval Workshop Report. *Gut* 1999; **44 Suppl 2**: S1-16.
6. Galmiche JP, Clouse RE, Bálint A, et al. Functional Esophageal Disorders. *Gastroenterology* 2006; **130**(5): 1459-65.
7. Numans ME, Lau J, de Wit NJ, Bonis PA. Short-term treatment with proton-pump inhibitors as a test for gastroesophageal reflux disease: a meta-analysis of diagnostic test characteristics. *Annals of internal medicine* 2004; **140**(7): 518-27.
8. Savarino E, Pohl D, Zentilin P, et al. Functional heartburn has more in common with functional dyspepsia than with non-erosive reflux disease. *Gut* 2009; **58**(9): 1185-91.
9. Savarino E, Zentilin P, Tutuian R, et al. The role of nonacid reflux in NERD: lessons learned from impedance-pH monitoring in 150 patients off therapy. *The American journal of gastroenterology* 2008; **103**(11): 2685-93.
10. Surdea Blaga T, Dumitrascu D, Galmiche JP, Bruley des Varannes S. Functional heartburn: clinical characteristics and outcome. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2013; **25**(3): 282-90.
11. Zerbib F, Sifrim D, Tutuian R, Attwood S, Lundell L. Modern medical and surgical management of difficult-to-treat GORD. *United Eur Gastroenterol J* 2013.
12. Savarino E, Marabotto E, Zentilin P, et al. The added value of impedance-pH monitoring to Rome III criteria in distinguishing functional heartburn from non-erosive reflux disease. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2011; **43**(7): 542-7.
13. Savarino E, Zentilin P, Savarino V. NERD: an umbrella term including heterogeneous subpopulations. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology* 2013; **10**(6): 371-80.
14. Woodland P, Al-Zinaty M, Yazaki E, Sifrim D. In vivo evaluation of acid-induced changes in oesophageal mucosa integrity and sensitivity in non-erosive reflux disease. *Gut* 2013; **62**(9): 1256-61.
15. Bytzer P, van Zanten SV, Mattsson H, Wernersson B. Partial symptom-response to proton pump inhibitors in patients with non-erosive reflux disease or reflux oesophagitis - a post hoc analysis of 5796 patients. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2012; **36**(7): 635-43.
16. Jonasson C, Wernersson B, Hoff DA, Hatlebakk JG. Validation of the GerdQ questionnaire for the diagnosis of gastro-oesophageal reflux disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2013; **37**(5): 564-72.
17. Dent J, Vakil N, Jones R, et al. Accuracy of the diagnosis of GORD by questionnaire, physicians and a trial of proton pump inhibitor treatment: the Diamond Study. *Gut* 2010; **59**(6): 714-21.
18. Bytzer P, Jones R, Vakil N, et al. Limited ability of the proton-pump inhibitor test to identify patients with gastroesophageal reflux disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2012; **10**(12): 1360-6.
19. Martinez SD, Malagon IB, Garewal HS, Cui H, Fass R. Non-erosive reflux disease (NERD)--acid reflux and symptom patterns. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2003; **17**(4): 537-45.
20. Emerenziani S, Sifrim D, Habib FI, et al. Presence of gas in the refluxate enhances reflux perception in non-erosive patients with physiological acid exposure of the oesophagus. *Gut* 2008; **57**(4): 443-7.

21. Knowles CH, Aziz Q. Visceral hypersensitivity in non-erosive reflux disease. *Gut* 2008; **57**(5): 674-83.
22. Corso MJ, Pursnani KG, Mohiuddin MA, et al. Globus sensation is associated with hypertensive upper esophageal sphincter but not with gastroesophageal reflux. *Digestive diseases and sciences* 1998; **43**(7): 1513-7.
23. Brzana RJ, Koch KL. Gastroesophageal reflux disease presenting with intractable nausea. *Annals of internal medicine* 1997; **126**(9): 704-7.
24. Talley NJ, Zinsmeister AR, Schleck CD, Melton LJ, 3rd. Dyspepsia and dyspepsia subgroups: a population-based study. *Gastroenterology* 1992; **102**(4 Pt 1): 1259-68.
25. Zagari RM, Fuccio L, Wallander M-A, et al. Gastro-oesophageal reflux symptoms, oesophagitis and Barrett's oesophagus in the general population: the Loiano–Monghidoro study. *Gut* 2008; **57**(10): 1354-9.
26. Malfertheiner P, Nocon M, Vieth M, et al. Evolution of gastro-oesophageal reflux disease over 5 years under routine medical care--the ProGERD study. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2012; **35**(1): 154-64.
27. El-Serag H, Hill C, Jones R. Systematic review: the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease in primary care, using the UK General Practice Research Database. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2009; **29**(5): 470-80.
28. Hegar B, Dewanti NR, Kadim M, Alatas S, Firmansyah A, Vandenplas Y. Natural evolution of regurgitation in healthy infants. *Acta Pædiatrica* 2009; **98**(7): 1189-93.
29. Omari TI, Barnett C, Snel A, et al. Mechanisms of gastroesophageal reflux in healthy premature infants. *The Journal of Pediatrics* 1998; **133**(5): 650-4.
30. Thomas PS, Carré IJ. Findings on Barium Swallow in Younger Siblings of Children with Hiatal Hernia (Partial Thoracic Stomach). *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 1991; **12**(2): 174-7.
31. Gilger MA, El-Serag HB, Gold BD, et al. Prevalence of Endoscopic Findings of Erosive Esophagitis in Children: A Population-based Study. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2008; **47**(2): 141-6
10.1097/MPG.0b013e31815eeabe.
32. Mittal RK, Holloway RH, Penagini R, Ashley Blackshaw L, Dent J. Transient lower esophageal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 1995; **109**(2): 601-10.
33. Ruth M, Finizia C, Lundell L. Occurrence and future history of oesophageal symptoms in an urban Swedish population: Results of a questionnaire-based, ten-year follow-up study. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2005; **40**(6): 629-35.
34. Ness-Jensen E, Lindam A, Lagergren J, Hveem K. Changes in prevalence, incidence and spontaneous loss of gastro-oesophageal reflux symptoms: a prospective population-based cohort study, the HUNT study. *Gut* 2012; **61**(10): 1390-7.
35. Pace F, Bollani S, Molteni P, Bianchi Porro G. Natural history of gastro-oesophageal reflux disease without oesophagitis (NERD) – a reappraisal 10 years on. *Digestive and Liver Disease* 2004; **36**(2): 111-5.
36. Wiklund I. Review of the quality of life and burden of illness in gastroesophageal reflux disease. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 2004; **22**(2): 108-14.
37. Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, et al. Gastro-oesophageal reflux symptoms and health-related quality of life in the adult general population – the Kalixanda study. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2006; **23**(12): 1725-33.
38. Dubois RW, Aguilar D, Fass R, et al. Consequences of frequent nocturnal gastro-oesophageal reflux disease among employed adults: symptom severity, quality of life and work productivity. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2007; **25**(4): 487-500.
39. Farup C, Kleinman L, Sloan S, et al. The impact of nocturnal symptoms associated with gastroesophageal reflux disease on health-related quality of life. *Archives of internal medicine* 2001; **161**(1): 45-52.
40. Wahlqvist P, Karlsson M, Johnson D, Carlsson J, Bolge SC, Wallander MA. Relationship between symptom load of gastro-oesophageal reflux disease and health-related quality of life, work productivity, resource utilization and concomitant diseases: survey of a US cohort. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2008; **27**(10): 960-70.

41. Dean BB, Crawley JA, Schmitt CM, Wong J, Ofman JJ. The burden of illness of gastro-oesophageal reflux disease: impact on work productivity. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2003; **17**(10): 1309-17.
42. Toghanian S, Wahlqvist P, Johnson D, Bolge S, Liljas B. The Burden of Disrupting Gastro-Oesophageal Reflux Disease. *Clinical drug investigation* 2010; **30**(3): 167-78.
43. Delattre JF, Palot JP, Ducasse A, Flament JB, Hureau J. The crura of the diaphragm and diaphragmatic passage. *Anat Clin* 1985; **7**(4): 271-83.
44. Kwok H, Marriz Y, Al-Ali S, Windsor JA. Phreno-oesophageal ligament re-visited. *Clinical anatomy (New York, NY)* 1999; **12**(3): 164-70.
45. Dent J, Dodds WJ, Friedman RH, et al. Mechanism of gastroesophageal reflux in recumbent asymptomatic human subjects. *The Journal of Clinical Investigation* 1980; **65**(2): 256-67.
46. Thor KB, Hill LD, Mercer DD, Kozarek RD. Reappraisal of the flap valve mechanism in the gastroesophageal junction. A study of a new valvuloplasty procedure in cadavers. *Acta chirurgica Scandinavica* 1987; **153**(1): 25-8.
47. Holloway RH, Penagini R, Ireland AC. Criteria for objective definition of transient lower esophageal sphincter relaxation. *The American journal of physiology* 1995; **268**(1 Pt 1): G128-33.
48. Boeckstaens GE. The lower oesophageal sphincter. *Neurogastroenterology & Motility* 2005; **17**: 13-21.
49. Schoeman MN, Holloway RH. Integrity and characteristics of secondary oesophageal peristalsis in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Gut* 1995; **36**(4): 499-504.
50. Holloway RH. Esophageal body motor response to reflux events: secondary peristalsis. *The American journal of medicine* 2000; **108 Suppl 4a**: 20s-6s.
51. Sarosiek J, Scheurich CJ, Marcinkiewicz M, McCallum RW. Enhancement of salivary esophagoprotection: Rationale for a physiological approach to gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1996; **110**(3): 675-81.
52. Sarosiek J, McCallum RW. Mechanisms of oesophageal mucosal defence. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2000; **14**(5): 701-17.
53. Dodds WJ, Dent J, Hogan WJ, et al. Mechanisms of gastroesophageal reflux in patients with reflux esophagitis. *The New England journal of medicine* 1982; **307**(25): 1547-52.
54. Martin CJ, Patrikios J, Dent J. Abolition of gas reflux and transient lower esophageal sphincter relaxation by vagal blockade in the dog. *Gastroenterology* 1986; **91**(4): 890-6.
55. Trudgill NJ, Riley SA. Transient lower esophageal sphincter relaxations are no more frequent in patients with gastroesophageal reflux disease than in asymptomatic volunteers. *The American journal of gastroenterology* 2001; **96**(9): 2569-74.
56. Pandolfino JE, Shi G, Trueworthy B, Kahrilas PJ. Esophagogastric junction opening during relaxation distinguishes nonhernia reflux patients, hernia patients, and normal subjects. *Gastroenterology* 2003; **125**(4): 1018-24.
57. Kahrilas PJ, Kim HC, Pandolfino JE. Approaches to the diagnosis and grading of hiatal hernia. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2008; **22**(4): 601-16.
58. Curci JA, Melman LM, Thompson RW, Soper NJ, Matthews BD. Elastic Fiber Depletion in the Supporting Ligaments of the Gastroesophageal Junction: A Structural Basis for the Development of Hiatal Hernia. *Journal of the American College of Surgeons* 2008; **207**(2): 191-6.
59. Dunne DP, Paterson WG. Acid-induced esophageal shortening in humans: a cause of hiatus hernia? *Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie* 2000; **14**(10): 847-50.
60. Paterson WG, Kolyn DM. Esophageal shortening induced by short-term intraluminal acid perfusion in opossum: a cause for hiatus hernia? *Gastroenterology* 1994; **107**(6): 1736-40.
61. Sloan S, Kahrilas PJ. Impairment of esophageal emptying with hiatal hernia. *Gastroenterology* 1991; **100**(3): 596-605.
62. Kahrilas PJ, Lin S, Chen J, Manka M. The effect of hiatus hernia on gastro-oesophageal junction pressure. *Gut* 1999; **44**(4): 476-82.

63. Kahrilas* PJ, Shi* G, Manka* M, Joehl† RJ. Increased frequency of transient lower esophageal sphincter relaxation induced by gastric distention in reflux patients with hiatal hernia. *Gastroenterology* 2000; **118**(4): 688-95.
64. Pandolfino JE, Kim H, Ghosh SK, Clarke JO, Zhang Q, Kahrilas PJ. High-resolution manometry of the EGJ: an analysis of crural diaphragm function in GERD. *The American journal of gastroenterology* 2007; **102**(5): 1056-63.
65. Öberg S, Peters JH, DeMeester TR, et al. Endoscopic grading of the gastroesophageal valve in patients with symptoms of gastroesophageal reflux disease (GERD). *Surgical endoscopy* 1999; **13**(12): 1184-8.
66. Kim GH, Kang DH, Song GA, et al. Gastroesophageal flap valve is associated with gastroesophageal and gastropharyngeal reflux. *Journal of gastroenterology* 2006; **41**(7): 654-61.
67. Helm JF, Dodds WJ, Pelc LR, Palmer DW, Hogan WJ, Teeter BC. Effect of esophageal emptying and saliva on clearance of acid from the esophagus. *The New England journal of medicine* 1984; **310**(5): 284-8.
68. Kahrilas PJ, Dodds WJ, Hogan WJ, Kern M, Arndorfer RC, Reece A. Esophageal peristaltic dysfunction in peptic esophagitis. *Gastroenterology* 1986; **91**(4): 897-904.
69. Singh P, Adamopoulos A, Taylor RH, Colin-Jones DG. Oesophageal motor function before and after healing of oesophagitis. *Gut* 1992; **33**(12): 1590-6.
70. Timmer R, Breumelhof R, Nadorp JH, Smout AJ. Esophageal motility in low-grade reflux esophagitis, evaluated by stationary and 24-hour ambulatory manometry. *The American journal of gastroenterology* 1993; **88**(6): 837-41.
71. Penagini R, Bravi I. The role of delayed gastric emptying and impaired oesophageal body motility. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2010; **24**(6): 831-45.
72. Stacher G, Lenglinger J, Bergmann H, et al. Gastric emptying: a contributory factor in gastro-oesophageal reflux activity? *Gut* 2000; **47**(5): 661-6.
73. Cadiot G, Bruhat A, Rigaud D, et al. Multivariate analysis of pathophysiological factors in reflux oesophagitis. *Gut* 1997; **40**(2): 167-74.
74. McColl KEL. Review article: Helicobacter pylori and gastro-oesophageal reflux disease – the European perspective. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2004; **20**: 36-9.
75. Kim DH, Kim GH, Kim JY, et al. Endoscopic grading of atrophic gastritis is inversely associated with gastroesophageal reflux and gastropharyngeal reflux. *The Korean journal of internal medicine* 2007; **22**(4): 231-6.
76. Barak N, Ehrenpreis ED, Harrison JR, Sitrin MD. Gastro-oesophageal reflux disease in obesity: pathophysiological and therapeutic considerations. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity* 2002; **3**(1): 9-15.
77. Pandolfino JE, El-Serag HB, Zhang Q, Shah N, Ghosh SK, Kahrilas PJ. Obesity: a challenge to esophagogastric junction integrity. *Gastroenterology* 2006; **130**(3): 639-49.
78. Wilson LJ, Ma W, Hirschowitz BI. Association of obesity with hiatal hernia and esophagitis. *The American journal of gastroenterology* 1999; **94**(10): 2840-4.
79. Veugelers PJ, Porter GA, Guernsey DL, Casson AG. Obesity and lifestyle risk factors for gastroesophageal reflux disease, Barrett esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Diseases of the esophagus : official journal of the International Society for Diseases of the Esophagus / ISDE* 2006; **19**(5): 321-8.
80. Fletcher J, Wirz A, Young J, Vallance R, McColl KE. Unbuffered highly acidic gastric juice exists at the gastroesophageal junction after a meal. *Gastroenterology* 2001; **121**(4): 775-83.
81. Beaumont H, Bennink RJ, de Jong J, Boeckxstaens GE. The position of the acid pocket as a major risk factor for acidic reflux in healthy subjects and patients with GORD. *Gut* 2010; **59**(4): 441-51.
82. Pandolfino JE, Zhang Q, Ghosh SK, Post J, Kwiatek M, Kahrilas PJ. Acidity surrounding the squamocolumnar junction in GERD patients: "acid pocket" versus "acid film". *The American journal of gastroenterology* 2007; **102**(12): 2633-41.
83. Fletcher J, Wirz A, Henry E, McColl KEL. Studies of acid exposure immediately above the gastro-oesophageal squamocolumnar junction: evidence of short segment reflux. *Gut* 2004; **53**(2): 168-73.

84. Lee YY, Whiting JG, Robertson EV, et al. PTU-138 Central Obesity and Waist Belt Cause Partial Hiatus Hernia and Short Segment Acid Reflux in Healthy Volunteers. *Gut* 2013; **62**(Suppl 1): A103-A4.
85. Robertson EV, Derakhshan MH, Wirz AA, et al. Central obesity in asymptomatic volunteers is associated with increased intrasphincteric acid reflux and lengthening of the cardiac mucosa. *Gastroenterology* 2013; **145**(4): 730-9.
86. Bredenoord AJ, Hemmink GJM, Smout AJPM. Relationship between gastro-oesophageal reflux pattern and severity of mucosal damage. *Neurogastroenterology & Motility* 2009; **21**(8): 807-12.
87. Savarino E, Tutuian R, Zentilin P, et al. Characteristics of reflux episodes and symptom association in patients with erosive esophagitis and nonerosive reflux disease: study using combined impedance-pH off therapy. *The American journal of gastroenterology* 2010; **105**(5): 1053-61.
88. Bernstein LM, Baker LA. A clinical test for esophagitis. *Gastroenterology* 1958; **34**(5): 760-81.
89. Fass R, Naliboff B, Higa L, et al. Differential effect of long-term esophageal acid exposure on mechanosensitivity and chemosensitivity in humans. *Gastroenterology* 1998; **115**(6): 1363-73.
90. Hartono J, Qua C-S, Goh K-L. Non-Erosive Reflux Disease (NERD), Symptomatic and Asymptomatic Erosive Reflux Disease (ERD): From Hypersensitive to Hyposensitive Esophagus. *Digestive diseases and sciences* 2011; **56**(1): 90-6.
91. Yang M, Li ZS, Chen DF, et al. Quantitative assessment and characterization of visceral hyperalgesia evoked by esophageal balloon distention and acid perfusion in patients with functional heartburn, nonerosive reflux disease, and erosive esophagitis. *The Clinical journal of pain* 2010; **26**(4): 326-31.
92. Miwa H, Minoo T, Hojo M, et al. Oesophageal hypersensitivity in Japanese patients with non-erosive gastro-oesophageal reflux diseases. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2004; **20**: 112-7.
93. Thoua NM, Khoo D, Kalantzis C, Emmanuel AV. Acid-related oesophageal sensitivity, not dysmotility, differentiates subgroups of patients with non-erosive reflux disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2008; **27**(5): 396-403.
94. Nagahara A, Miwa H, Minoo T, et al. Increased Esophageal Sensitivity to Acid and Saline in Patients With Nonerosive Gastro-oesophageal Reflux Disease. *Journal of clinical gastroenterology* 2006; **40**(10): 891-5 10.1097/01.mcg.0000225673.76475.9d.
95. Stein HJ, Hoeft S, DeMeester TR. Functional foregut abnormalities in Barrett's esophagus. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 1993; **105**(1): 107-11.
96. Trimble KC, Pryde A, Heading RC. Lowered oesophageal sensory thresholds in patients with symptomatic but not excess gastro-oesophageal reflux: evidence for a spectrum of visceral sensitivity in GORD. *Gut* 1995; **37**(1): 7-12.
97. Krarup AL, Olesen SS, Funch-Jensen P, Gregersen H, Drewes AM. Proximal and distal esophageal sensitivity is decreased in patients with Barrett's esophagus. *World journal of gastroenterology : WJG* 2011; **17**(4): 514-21.
98. Hemmink GJ, Bredenoord AJ, Weusten BL, Timmer R, Smout AJ. Does acute psychological stress increase perception of oesophageal acid? *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2009; **21**(10): 1055-e86.
99. Barlow WJ, Orlando RC. The pathogenesis of heartburn in nonerosive reflux disease: a unifying hypothesis. *Gastroenterology* 2005; **128**(3): 771-8.
100. Sarkar S, Aziz Q, Woolf CJ, Hobson AR, Thompson DG. Contribution of central sensitisation to the development of non-cardiac chest pain. *Lancet* 2000; **356**(9236): 1154-9.
101. Guarino MP, Cheng L, Ma J, et al. Increased TRPV1 gene expression in esophageal mucosa of patients with non-erosive and erosive reflux disease. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2010; **22**(7): 746-51, e219.
102. Bredenoord AJ, Pandolfino JE, Smout AJ. Gastro-oesophageal reflux disease. *Lancet* 2013; **381**(9881): 1933-42.
103. FriedenberG FK, Xanthopoulos M, Foster GD, Richter JE. The Association Between Gastroesophageal Reflux Disease and Obesity. *The American journal of gastroenterology* 2008; **103**(8): 2111-22.
104. Menon S, Trudgill N. Risk factors in the aetiology of hiatus hernia: a meta-analysis. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2011; **23**(2): 133-8 10.1097/MEG.0b013e3283426f57.

105. Nocon M, Labenz J, Willich SN. Lifestyle factors and symptoms of gastro-oesophageal reflux – a population-based study. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2006; **23**(1): 169-74.
106. Nandurkar S, Locke GR, 3rd, Fett S, Zinsmeister AR, Cameron AJ, Talley NJ. Relationship between body mass index, diet, exercise and gastro-oesophageal reflux symptoms in a community. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2004; **20**(5): 497-505.
107. Nilsson M, Johnsen R, Ye W, Hveem K, Lagergren J. Lifestyle related risk factors in the aetiology of gastro-oesophageal reflux. *Gut* 2004; **53**(12): 1730-5.
108. Meining A, Classen M. The role of diet and lifestyle measures in the pathogenesis and treatment of gastroesophageal reflux disease. *The American journal of gastroenterology* 2000; **95**(10): 2692-7.
109. Jacobson BC, Moy B, Colditz GA, Fuchs CS. Postmenopausal hormone use and symptoms of gastroesophageal reflux. *Archives of internal medicine* 2008; **168**(16): 1798-804.
110. Nebel OT, Castell DO. Lower esophageal sphincter pressure changes after food ingestion. *Gastroenterology* 1972; **63**(5): 778-83.
111. Nebel OT, Castell DO. Inhibition of the lower oesophageal sphincter by fat— a mechanism for fatty food intolerance. *Gut* 1973; **14**(4): 270-4.
112. Kaltenbach T, Crockett S, Gerson LB. Are lifestyle measures effective in patients with gastroesophageal reflux disease? An evidence-based approach. *Archives of internal medicine* 2006; **166**(9): 965-71.
113. Wildi SM, Tutuian R, Castell DO. The influence of rapid food intake on postprandial reflux: studies in healthy volunteers. *The American journal of gastroenterology* 2004; **99**(9): 1645-51.
114. Locke GR, 3rd, Talley NJ, Fett SL, Zinsmeister AR, Melton LJ, 3rd. Prevalence and clinical spectrum of gastroesophageal reflux: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology* 1997; **112**(5): 1448-56.
115. Kahrilas PJ, Gupta RR. Mechanisms of acid reflux associated with cigarette smoking. *Gut* 1990; **31**(1): 4-10.
116. Aro P, Ronkainen J, Storskrubb T, et al. Use of tobacco products and gastrointestinal morbidity: an endoscopic population-based study (the Kalixanda study). *European journal of epidemiology* 2010; **25**(10): 741-50.
117. Pregun I, Bakucz T, Banai J, et al. Gastroesophageal reflux disease: work-related disease? *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 2009; **27**(1): 38-44.
118. Gaginella TS, Maxfield DL. Calcium-channel blocking agents and chest pain. *Drug intelligence & clinical pharmacy* 1988; **22**(7-8): 623-5.
119. Hughes J, Lockhart J, Joyce A. Do calcium antagonists contribute to gastro-oesophageal reflux disease and concomitant noncardiac chest pain? *British journal of clinical pharmacology* 2007; **64**(1): 83-9.
120. Ronkainen J, Agreus L. Epidemiology of reflux symptoms and GORD. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2013; **27**(3): 325-37.
121. Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, Inadomi JM, Shaheen NJ. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011; **140**(3): 1084-91.
122. Kahrilas PJ. Will impedance testing rewrite the book on GERD? *Gastroenterology* 2001; **120**(7): 1862-4.
123. Sifrim D, Holloway R, Silny J, et al. Acid, nonacid, and gas reflux in patients with gastroesophageal reflux disease during ambulatory 24-hour pH-impedance recordings. *Gastroenterology* 2001; **120**(7): 1588-98.
124. Sifrim D, Castell D, Dent J, Kahrilas PJ. Gastro-oesophageal reflux monitoring: review and consensus report on detection and definitions of acid, non-acid, and gas reflux. *Gut* 2004; **53**(7): 1024-31.
125. Aslam M, Slaughter JC, Goutte M, Garrett CG, Hagaman D, Vaezi MF. Nonlinear relationship between body mass index and esophageal acid exposure in the extraesophageal manifestations of reflux. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2012; **10**(8): 874-8.
126. Cremonini F, Locke GR, 3rd, Schleck CD, Zinsmeister AR, Talley NJ. Relationship between upper gastrointestinal symptoms and changes in body weight in a population-based cohort.

Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society 2006; **18**(11): 987-94.

127. Jacobson BC, Somers SC, Fuchs CS, Kelly CP, Camargo CA, Jr. Body-mass index and symptoms of gastroesophageal reflux in women. *The New England journal of medicine* 2006; **354**(22): 2340-8.

128. Kjellin A, Ramel S, Rossner S, Thor K. Gastroesophageal reflux in obese patients is not reduced by weight reduction. *Scandinavian journal of gastroenterology* 1996; **31**(11): 1047-51.

129. Ness-Jensen E, Lindam A, Lagergren J, Hveem K. Weight loss and reduction in gastroesophageal reflux. A prospective population-based cohort study: the HUNT study. *The American journal of gastroenterology* 2013; **108**(3): 376-82.

130. Kwiatek MA, Roman S, Fareeduddin A, Pandolfino JE, Kahrilas PJ. An alginate-antacid formulation (Gaviscon Double Action Liquid) can eliminate or displace the postprandial 'acid pocket' in symptomatic GERD patients. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2011; **34**(1): 59-66.

131. Savarino E, de Bortoli N, Zentilin P, et al. Alginate controls heartburn in patients with erosive and nonerosive reflux disease. *World journal of gastroenterology : WJG* 2012; **18**(32): 4371-8.

132. Zentilin P, Dulbecco P, Savarino E, et al. An evaluation of the antireflux properties of sodium alginate by means of combined multichannel intraluminal impedance and pH-metry. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2005; **21**(1): 29-34.

133. Sigterman KE, van Pinxteren B, Bonis PA, Lau J, Numans ME. Short-term treatment with proton pump inhibitors, H2-receptor antagonists and prokinetics for gastro-oesophageal reflux disease-like symptoms and endoscopy negative reflux disease. *The Cochrane database of systematic reviews* 2013; **5**: Cd002095.

134. Abraham NS. Proton pump inhibitors: potential adverse effects. *Current opinion in gastroenterology* 2012; **28**(6): 615-20.

135. Diesner SC, Knittelfelder R, Krishnamurthy D, et al. Dose-dependent food allergy induction against ovalbumin under acid-suppression: a murine food allergy model. *Immunology letters* 2008; **121**(1): 45-51.

136. Pali-Scholl I, Jensen-Jarolim E. Anti-acid medication as a risk factor for food allergy. *Allergy* 2011; **66**(4): 469-77.

137. Untersmayr E, Bakos N, Scholl I, et al. Anti-ulcer drugs promote IgE formation toward dietary antigens in adult patients. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2005; **19**(6): 656-8.

138. Inadomi JM, Jamal R, Murata GH, et al. Step-down management of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 2001; **121**(5): 1095-100.

139. Inadomi JM, McIntyre L, Bernard L, Fendrick AM. Step-down from multiple- to single-dose proton pump inhibitors (PPIs): a prospective study of patients with heartburn or acid regurgitation completely relieved with PPIs. *The American journal of gastroenterology* 2003; **98**(9): 1940-4.

140. Tsuzuki T, Okada H, Kawahara Y, et al. Proton pump inhibitor step-down therapy for GERD: a multi-center study in Japan. *World journal of gastroenterology : WJG* 2011; **17**(11): 1480-7.

141. Galmiche JP, Hatlebakk J, Attwood S, et al. Laparoscopic antireflux surgery vs esomeprazole treatment for chronic GERD: the LOTUS randomized clinical trial. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 2011; **305**(19): 1969-77.

142. Broeders JA, Mauritz FA, Ahmed Ali U, et al. Systematic review and meta-analysis of laparoscopic Nissen (posterior total) versus Toupet (posterior partial) fundoplication for gastro-oesophageal reflux disease. *The British journal of surgery* 2010; **97**(9): 1318-30.

143. Tan G, Yang Z, Wang Z. Meta-analysis of laparoscopic total (Nissen) versus posterior (Toupet) fundoplication for gastro-oesophageal reflux disease based on randomized clinical trials. *ANZ journal of surgery* 2011; **81**(4): 246-52.

144. Niebisch S, Fleming FJ, Galey KM, et al. Perioperative risk of laparoscopic fundoplication: safer than previously reported-analysis of the American College of Surgeons National Surgical Quality Improvement Program 2005 to 2009. *Journal of the American College of Surgeons* 2012; **215**(1): 61-8; discussion 8-9.

145. Ikramuddin S. Surgical management of gastroesophageal reflux disease in obesity. *Digestive diseases and sciences* 2008; **53**(9): 2318-29.

146. Bonavina L, DeMeester T, Fockens P, et al. Laparoscopic sphincter augmentation device eliminates reflux symptoms and normalizes esophageal acid exposure: one- and 2-year results of a feasibility trial. *Annals of surgery* 2010; **252**(5): 857-62.
147. Rodriguez L, Rodriguez P, Neto MG, et al. Short-term electrical stimulation of the lower esophageal sphincter increases sphincter pressure in patients with gastroesophageal reflux disease. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2012; **24**(5): 446-50, e213.
148. Khan M, Santana J, Donnellan C, Preston C, Moayyedi P. Medical treatments in the short term management of reflux oesophagitis. *The Cochrane database of systematic reviews* 2007; (2): Cd003244.
149. Weijenborg PW, Cremonini F, Smout AJ, Bredenoord AJ. PPI therapy is equally effective in well-defined non-erosive reflux disease and in reflux esophagitis: a meta-analysis. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2012; **24**(8): 747-57, e350.
150. El-Serag H, Becher A, Jones R. Systematic review: persistent reflux symptoms on proton pump inhibitor therapy in primary care and community studies. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2010; **32**(6): 720-37.
151. Bredenoord AJ, Smout AJ. Refractory gastroesophageal reflux disease. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2008; **20**(3): 217-23.
152. Klinkenberg-Knol EC, Meuwissen SG. Combined gastric and oesophageal 24-hour pH monitoring and oesophageal manometry in patients with reflux disease, resistant to treatment with omeprazole. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 1990; **4**(5): 485-95.
153. Leite LP, Johnston BT, Just RJ, Castell DO. Persistent acid secretion during omeprazole therapy: a study of gastric acid profiles in patients demonstrating failure of omeprazole therapy. *The American journal of gastroenterology* 1996; **91**(8): 1527-31.
154. Van Soest EM, Siersema PD, Dieleman JP, Sturkenboom MC, Kuipers EJ. Persistence and adherence to proton pump inhibitors in daily clinical practice. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2006; **24**(2): 377-85.
155. Hemmink GJ, Bredenoord AJ, Weusten BL, Monkelbaan JF, Timmer R, Smout AJ. Esophageal pH-impedance monitoring in patients with therapy-resistant reflux symptoms: 'on' or 'off' proton pump inhibitor? *The American journal of gastroenterology* 2008; **103**(10): 2446-53.
156. Vela MF, Camacho-Lobato L, Srinivasan R, Tutuian R, Katz PO, Castell DO. Simultaneous intraesophageal impedance and pH measurement of acid and nonacid gastroesophageal reflux: effect of omeprazole. *Gastroenterology* 2001; **120**(7): 1599-606.
157. Bredenoord AJ. Mechanisms of reflux perception in gastroesophageal reflux disease: a review. *The American journal of gastroenterology* 2012; **107**(1): 8-15.
158. Prakash Gyawali C. Esophageal hypersensitivity. *Gastroenterology & hepatology* 2010; **6**(8): 497-500.
159. Boeckstaens GE, Beaumont H, Mertens V, et al. Effects of lesogaberan on reflux and lower esophageal sphincter function in patients with gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 2010; **139**(2): 409-17.
160. Koek GH, Sifrim D, Lerut T, Janssens J, Tack J. Effect of the GABA(B) agonist baclofen in patients with symptoms and duodeno-gastro-oesophageal reflux refractory to proton pump inhibitors. *Gut* 2003; **52**(10): 1397-402.
161. Lehmann A, Antonsson M, Bremner-Danielsen M, Flardh M, Hansson-Branden L, Karrberg L. Activation of the GABA(B) receptor inhibits transient lower esophageal sphincter relaxations in dogs. *Gastroenterology* 1999; **117**(5): 1147-54.
162. Lidums I, Lehmann A, Checklin H, Dent J, Holloway RH. Control of transient lower esophageal sphincter relaxations and reflux by the GABA(B) agonist baclofen in normal subjects. *Gastroenterology* 2000; **118**(1): 7-13.
163. Locke GR, 3rd, Horwhat J, Mashimo H, et al. Endotherapy for and tailored approaches to treating GERD, and refractory GERD. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2013; **1300**: 166-86.
164. Egan JV, Baron TH, Adler DG, et al. Esophageal dilation. *Gastrointestinal endoscopy* 2006; **63**(6): 755-60.

165. Ramage JI, Jr., Rumalla A, Baron TH, et al. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of endoscopic steroid injection therapy for recalcitrant esophageal peptic strictures. *The American journal of gastroenterology* 2005; **100**(11): 2419-25.
166. Thomas T, Abrams KR, Subramanian V, Mannath J, Ragunath K. Esophageal stents for benign refractory strictures: a meta-analysis. *Endoscopy* 2011; **43**(5): 386-93.
167. Zentilin P, Dulbecco P, Savarino E, Giannini E, Savarino V. Combined multichannel intraluminal impedance and pH-metry: a novel technique to improve detection of gastro-oesophageal reflux literature review. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2004; **36**(9): 565-9.
168. Dean BB, Gano AD, Jr., Knight K, Ofman JJ, Fass R. Effectiveness of proton pump inhibitors in nonerosive reflux disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2004; **2**(8): 656-64.
169. Martinucci I, de Bortoli N, Savarino E, et al. Esophageal baseline impedance levels in patients with pathophysiological characteristics of functional heartburn. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2014.
170. Ferrus JA, Zapardiel J, Sobreviela E. Management of gastroesophageal reflux disease in primary care settings in Spain: SYMPATHY I study. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2009; **21**(11): 1269-78.
171. Miwa H, Inoue K, Ashida K, et al. Randomised clinical trial: efficacy of the addition of a prokinetic, mosapride citrate, to omeprazole in the treatment of patients with non-erosive reflux disease - a double-blind, placebo-controlled study. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2011; **33**(3): 323-32.
172. de Bortoli N, Nacci A, Savarino E, et al. How many cases of laryngopharyngeal reflux suspected by laryngoscopy are gastroesophageal reflux disease-related? *World journal of gastroenterology : WJG* 2012; **18**(32): 4363-70.
173. Zentilin P, Iiritano E, Dulbecco P, et al. Normal values of 24-h ambulatory intraluminal impedance combined with pH-metry in subjects eating a Mediterranean diet. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2006; **38**(4): 226-32.
174. Frazzoni M, Manta R, Mirante VG, Conigliaro R, Frazzoni L, Melotti G. Esophageal chemical clearance is impaired in gastro-esophageal reflux disease--a 24-h impedance-pH monitoring assessment. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2013; **25**(5): 399-406, e295.
175. Fass R, Fennerty MB, Vakil N. Nonerosive reflux disease--current concepts and dilemmas. *The American journal of gastroenterology* 2001; **96**(2): 303-14.
176. Drossman DA, Corazziari E, Talley NJ. Functional Heartburn. 2000.
177. Ribolsi M, Cicala M. Baseline impedance levels and structural and functional integrity of the esophageal mucosa: is acid still the only player? *The American journal of gastroenterology* 2012; **107**(7): 1104; author reply -5.
178. Zhong C, Duan L, Wang K, et al. Esophageal intraluminal baseline impedance is associated with severity of acid reflux and epithelial structural abnormalities in patients with gastroesophageal reflux disease. *Journal of gastroenterology* 2013; **48**(5): 601-10.
179. Ribolsi M, Emerenziani S, Borrelli O, et al. Impedance baseline and reflux perception in responder and non-responder non-erosive reflux disease patients. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2012; **47**(11): 1266-73.
180. Mainie I, Tutuian R, Shay S, et al. Acid and non-acid reflux in patients with persistent symptoms despite acid suppressive therapy: a multicentre study using combined ambulatory impedance-pH monitoring. *Gut* 2006; **55**(10): 1398-402.
181. Zerbib F, Roman S, Ropert A, et al. Esophageal pH-impedance monitoring and symptom analysis in GERD: a study in patients off and on therapy. *The American journal of gastroenterology* 2006; **101**(9): 1956-63.

182. Frazzoni M, Conigliaro R, Melotti G. Reflux parameters as modified by laparoscopic fundoplication in 40 patients with heartburn/regurgitation persisting despite PPI therapy: a study using impedance-pH monitoring. *Digestive diseases and sciences* 2011; **56**(4): 1099-106.
183. Frazzoni M, Conigliaro R, Melotti G. Weakly acidic refluxes have a major role in the pathogenesis of proton pump inhibitor-resistant reflux oesophagitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2011; **33**(5): 601-6.
184. Tsoukali E, Sifrim D. The role of weakly acidic reflux in proton pump inhibitor failure, has dust settled? *Journal of neurogastroenterology and motility* 2010; **16**(3): 258-64.
185. Woodland P, Sifrim D. The refluxate: The impact of its magnitude, composition and distribution. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2010; **24**(6): 861-71.
186. Roberts NB. Review article: human pepsins - their multiplicity, function and role in reflux disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2006; **24 Suppl 2**: 2-9.
187. Farre R, van Malenstein H, De Vos R, et al. Short exposure of oesophageal mucosa to bile acids, both in acidic and weakly acidic conditions, can impair mucosal integrity and provoke dilated intercellular spaces. *Gut* 2008; **57**(10): 1366-74.
188. de Bortoli N, Martinucci I, Savarino E, et al. Proton pump inhibitor responders who are not confirmed as GERD patients with impedance and pH monitoring: who are they? *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2014; **26**(1): 28-35.
189. Zentilin P, Savarino V, Mastracci L, et al. Reassessment of the diagnostic value of histology in patients with GERD, using multiple biopsy sites and an appropriate control group. *The American journal of gastroenterology* 2005; **100**(10): 2299-306.
190. Tobey NA, Hosseini SS, Argote CM, Dobrucali AM, Awayda MS, Orlando RC. Dilated intercellular spaces and shunt permeability in nonerosive acid-damaged esophageal epithelium. *The American journal of gastroenterology* 2004; **99**(1): 13-22.
191. Caviglia R, Ribolsi M, Gentile M, et al. Dilated intercellular spaces and acid reflux at the distal and proximal oesophagus in patients with non-erosive gastro-oesophageal reflux disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2007; **25**(5): 629-36.
192. Savarino E, Zentilin P, Mastracci L, et al. Microscopic esophagitis distinguishes patients with non-erosive reflux disease from those with functional heartburn. *Journal of gastroenterology* 2013; **48**(4): 473-82.
193. Vela MF, Craft BM, Sharma N, Freeman J, Hazen-Martin D. Refractory heartburn: comparison of intercellular space diameter in documented GERD vs. functional heartburn. *The American journal of gastroenterology* 2011; **106**(5): 844-50.
194. Asaoka D, Miwa H, Hirai S, et al. Altered localization and expression of tight-junction proteins in a rat model with chronic acid reflux esophagitis. *Journal of gastroenterology* 2005; **40**(8): 781-90.
195. Jovov B, Que J, Tobey NA, Djukic Z, Hogan BL, Orlando RC. Role of E-cadherin in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease. *The American journal of gastroenterology* 2011; **106**(6): 1039-47.
196. Oguro M, Koike M, Ueno T, et al. Dissociation and dispersion of claudin-3 from the tight junction could be one of the most sensitive indicators of reflux esophagitis in a rat model of the disease. *Journal of gastroenterology* 2011; **46**(5): 629-38.
197. Hershcovici T, Wendel CS, Fass R. Symptom indexes in refractory gastroesophageal reflux disease: overrated or misunderstood? *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2011; **9**(10): 816-7.
198. Slaughter JC, Goutte M, Rymer JA, et al. Caution about overinterpretation of symptom indexes in reflux monitoring for refractory gastroesophageal reflux disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2011; **9**(10): 868-74.